

# ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

4.1994

июль — август

Двухмесячный научно-практический журнал. Основан в январе 1956 г. Москва

## СОДЕРЖАНИЕ

### Оригинальные статьи

- Оловникова Н. И., Белкина Е. В., Берковский А. Л., Леменева Л. Н., Николаева Т. Л., Чертков И. Л.* Моноклональный анти-D иммуноглобулин для профилактики гемолитической болезни новорожденных ..... 3
- Шахбазян Г. П., Булычева Т. И., Лобова А. В., Исаев В. Г.* Иммунологическое прогнозирование развития рецидивов у больных острыми миелоидными лейкозами ..... 6
- Мазуров В. И., Богданов А. Н., Тимофеев И. В.* Клинико-морфологические сопоставления поражений легких при остром лейкозе ..... 10
- Колосков А. В.* Активность ядрышковых организаторов в мегакариоцитах у больных лейкозами ..... 12
- Остапенко В. А., Кручинский Н. Г., Смирнова Л. А., Чередник А. Б., Нестеров В. Н., Тепляков А. И.* Морфометрический анализ ядер лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе ..... 15
- Токарев Ю. Н., Андреева А. П.* Механизмы патогенеза так называемой анемии астронавтов ..... 17
- Плющ О. П., Изжевская В. Л., Лихачева Е. А.* Профилактика повторных случаев заболевания в семьях больных гемофилией в Москве с использованием генетического регистра ..... 21
- Кузьменко Л. Г., Мишина Г. И., Иноземцева Е. А.* Лейкозы, лимфогранулематоз и гистиоцитоз Лангерганса у детей с увеличенной в анамнезе вилочковой железой ..... 23
- Мачулайтене Е. Р.; Благодосклонный М. В.* Влияние сред, кондиционированных фибробластами костного мозга, на пролиферацию лейкоэмических бластных клеточных линий ..... 26
- Нагоев Б. С.* Изменение функционально-метаболической активности лейкоцитов и содержания иммуноглобулинов сыворотки донорской крови под влиянием облучения гамма-лучами ..... 29

### Чернобыль

- Осечинский И. В., Мартиросов А. Р., Прошин А. Д., Михайлова Г. Н., Милюткина Г. И., Зингерман Б. В., Абрамова М. М., Шорин Д. Ю., Кобеляцкий В. Ф., Абдулкадыров К. М., Самусевич И. Г.* Эпидемиологический регистр лейкозов и других гемобластозов в Брянской области как инструмент исследования последствий аварии на Чернобыльской АЭС ..... 32

### Школа гематолога

- Владимирская Е. Б.* Роль гемопоэтических факторов роста и лимфокинов в патогенезе и лечении лейкозов ..... 36
- Дризе Н. И.* Генотерапия. Возможности ее применения ..... 39

### Обмен опытом

- Брюханов В. Б., Голосова Т. В., Клерман К. М.* Специфический иммуноглобулин против гепатита В, производимый в условиях станции переливания крови ..... 42

## CONTENTS

### ORIGINAL PAPERS

- Olovnikova N. I., Belkina E. V., Berkovsky A. L., Lemeneva L. N., Nikolazeva T. L., Chertkov I. L.* The monoclonal anti-D immunoglobulin for prophylaxis of hemolytic disease of the newborn ..... 3
- Shakhbasyan G. P., Bulycheva T. I., Lobova A. V., Isaev V. G.* Immunological prognostication of recurrences in patients with acute myelogenous leukemia ..... 6
- Mazurov V. I., Bogdanov A. N., Timofeev I. V.* Pulmonary lesions in acute leukemia: clinicomorphological parallels ..... 10
- Koloskov A. V.* The activity of nucleolar organizer regions in megakaryocytes from patients with leukemia ..... 12
- Ostapenko V. A., Kruchinsky N. G., Smirnova L. A., Cherednik A. B., Nesterov V. N., Teplyakov A. I.* Morphometrical analysis of lymphocytes nuclei in chronic lymphocytic leukaemia ..... 15
- Tokarev Yu. N., Andreeva A. P.* Pathogenetic mechanisms of «astronauts' anemia» ..... 17
- Plyusch O. P., Izhevskaya V. L., Likhacheva Ye. A.* Prophylaxis of new cases of family hemophilia in Moscow with help of genetic register ..... 21
- Kuzmenko L. G., Minina G. I., Inosemtseva E. A.* Leukaemia, lymphogranulomatosis and histiocytosis of Langerhans in children with a history of enlarged thymus ..... 23
- Machulaitene Ye. R., Blagosklonny M. V.* The influence of condition media of human bone marrow fibroblasts on proliferation of leukemic blast cell lines ..... 26
- Nagoev B. S.* Change of functional and metabolic activity of white blood cells and rate of donor blood serum immunoglobulins under the influence of gamma-radiation ..... 29

### Chernobyl

- Osechinsky I. V., Martirosov A. R., Proshin A. D., Mikhailova G. N., Miliutina G. I., Singerman B. V., Abramova M. M., Shorin D. Yu., Kobeliatsky V. F., Abdulkadyrov K. M., Samuskevitch I. G.* Epidemiological register of leukemia and other hemoblastoses in Bryansky district as an instrument of investigation of consequences of Chernobyl accident ..... 32

### School of hematology

- Vladimirskaya E. B.* Role of hematopoietic growth factors and lymphokines in pathogenesis and treatment of leukemia ..... 36
- Drize N. I.* Genotherapy. Possibility of its use ..... 39

### Exchange of experience

- Bryukhan V. B., Golosova T. V., Klerman K. M.* Immunoglobulin specific to hepatitis B produced at the blood bank ..... 42

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЯДЕР ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

В. А. Остапенко, Н. Г. Кручинский, Л. А. Смирнова, А. Б. Чередник,  
В. Н. Нестеров, А. И. Тепляков

Могилевский филиал НИИ радиационной медицины, Беларусь

**Резюме.** Работа посвящена изучению использования количественного анализа структуры клеточного ядра для анализа состава лимфоцитов периферической крови у больных хроническим лимфолейкозом. Структуру ядер лимфоцитов здоровых доноров и пациентов с хроническим лимфолейкозом оценивали с помощью окраски толуидиновым синим мазков очищенных клеточных суспензий. Препараты анализировали на телевизионной измерительной системе «Омникон» с определением следующих параметров: площадь ядра, эухроматина, гетерохроматина и отношение площадей гетеро- и эухроматина. Статистический анализ и классификация ядер по указанным признакам показали, что в периферической крови больных хроническим лимфолейкозом присутствует большое количество атипичных лимфоцитов с уменьшенными размерами ядер. Атипичные клетки сохраняют соотношение структурных компонентов хроматина, свойственное нормальным, что свидетельствует об их низкой пролиферативной активности.

**Summary.** Morphometrical analysis of lymphocytes nuclei in chronic lymphocytic leukaemia. V. A. Ostapenko, N. G. Kruchinsky, L. A. Smirnova, A. B. Cherednik, V. N. Nesterov, A. I. Teplyakov. Mogilev Branch of Institute of radiation medicine, Belarus. This work is dedicated to the study of use of quantitative analysis of cell nucleus structure for the analysis of peripheral blood lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukaemia. The structure of lymphocytic nuclei of healthy donors was evaluated by means of staining by toluidine blue purified cell suspensions smears. The preparations were analysed on the television measuring system «omnicon» with measurements of the following parameters: square of the nucleus, euchromatine, heterochromatine, and the ratio of heterochromatine and euchromatine squares.

Actuarial analysis and nuclei classification of the previously mentioned parameters showed, that in peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia a large amount of atypical lymphocytes is present with reduced nucleus sizes. Atypical cells retain the ratio of structural components of chromatine, characteristic to normal cells, which show their low proliferative activity.

Значительные достижения в изучении патологии клетки во многом определили успехи в диагностике и лечении гематологических заболеваний [3, 6, 11]. Но, несмотря на это, остаются неясными многие особенности патогенеза заболеваний кроветворной ткани, поэтому достаточно важным, на наш взгляд, является нахождение таких признаков и критериев, которые могли бы способствовать более детальному выяснению механизмов развития, качественной диагностики и уточнению морфологических критериев классификации, в частности, при лимфопролиферативных заболеваниях [1, 3, 6, 7, 9, 10, 11].

Целью настоящего исследования явилось изучение морфометрических параметров ядер лимфоцитов периферической крови у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ).

Выбор данной патологии и метода анализа объясняется тем, что изучение морфологических признаков лимфоцитов может дать дополнительную информацию как о характере интимно протекающих процессов [1, 3, 5—7, 9—11], так и свидетельствовать о большей стабильности морфометрических характеристик по сравнению с другими параметрами [1, 3, 5, 6, 9—11]. Методы морфометрии оказываются достаточно информативными как при острой [2], так и хронической патологии [6, 7, 9, 11].

Материалы и методы исследования. Анализу подвергнуты морфометрические параметры ядер лимфоцитов периферической крови у 18 пациентов с ХЛЛ (10 со II и 8 с III стадией заболевания) [1, 6]. Длительность болезни колебалась от 3 до 12 лет. Лечение

проводилось по общепринятой схеме: комбинация цитостатических и глюкокортикоидных препаратов [1, 3, 6]. Контрольную группу составили 8 практически здоровых людей аналогичного возраста.

Выделение лимфоцитов из периферической крови осуществляли в градиенте фиколл-верографина с плотностью 1,085 [4]. Взвесь клеток из интерфазы, обогащенную лимфоцитами, использовали для приготовления цитологических препаратов: мазки фиксировали в смеси 96° этанола и ледяной уксусной кислоты, а затем окрашивали 1% раствором толуидинового синего [8]. Измерение структурных фракций хроматина ядер лимфоцитов проводили с помощью телевизионной измерительной системы анализа изображений «Omnicon» (Reichert, Австрия). Для каждого ядра измеряли два параметра: площадь ядра и площадь эухроматина. Затем определяли площадь гетерохроматина (как разность ранее измеренных величин) и отношение площади гетерохроматина к площади эухроматина [5]. В каждом случае анализировали 100 клеток. Обработка полученных результатов включала статистический анализ (определение различия средних с помощью критерия Стьюдента) и построение гистограмм распределения лимфоцитов (суммарных и по отдельным случаям).

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены в таблице. Как видно из нее, отмечается статистически значимое различие по всем изучаемым показателям между контролем и пациентами с ХЛЛ. Более низкие значения указанных параметров при ХЛЛ указывают, на наш взгляд, на присутствие в периферической крови функционально дефектных клеток. Классификация форм ХЛЛ на основе функциональных различий лимфоцитов по морфологическим признакам могла бы быть дополнена, поскольку патологические изменения в механизме дифференцировки клеток могут приводить к образованию субпопуляций с новыми или комбинационными признаками [7, 9, 11].

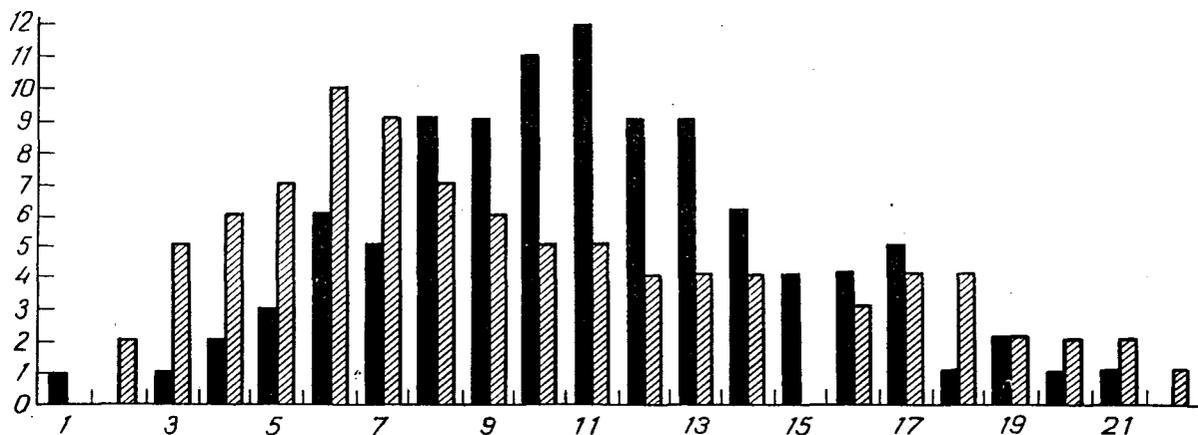
Значение изучаемых показателей возрастает, по нашему мнению, при их изучении в динамике лечения. С этой целью мы провели сравнение

Морфометрические параметры ядер лимфоцитов у пациентов с ХЛЛ

Параметр	Контроль		Больные ХЛЛ		p
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	8	38,00 ± 1,00	18	28,60 ± 0,70	<0,05
Площадь эухроматина, мкм <sup>2</sup>	8	28,30 ± 0,90	18	22,00 ± 0,70	<0,05
Площадь гетерохроматина, мкм <sup>2</sup>	8	9,70 ± 0,30	18	6,70 ± 0,20	<0,05
Отношение площади гетерохроматина к площади эухроматина	8	0,38 ± 0,01	18	0,35 ± 0,01	<0,05

изменений значения площади ядер лимфоцитов крови в динамике проводимого лечения у 10 пациентов с ХЛЛ во II стадии заболевания в период обострения. Исходное значение площади ядер составило  $51,27 \pm 1,64$  мкм<sup>2</sup> и было существенно больше, чем у контрольной группы ( $38,00 \pm 1,00$ ;  $p < 0,001$ ). В середине курса терапии —  $36,40 \pm 1,13$  — указывает на значительное изменение площади ядер по сравнению с исходным состоянием до лечения ( $p < 0,001$ ). В конце курса терапии изучаемый показатель составил  $35,80 \pm 1,53$  и имел статистически значимое отличие со значением до начала лечения ( $p < 0,001$ ). Следует отметить тот факт, что среднее значение площади ядра лимфоцитов у пациентов с ХЛЛ в подгруппе, изучаемой в динамике проводимого лечения, было существенно выше, чем среднее значение этого показателя у первично обследованных пациентов ( $p < 0,001$ ).

Более детальный анализ различий по изучаемым параметрам в сравнении с контрольной группой возможен при построении гистограмм, отражающих состав клеточных популяций. Распределение лимфоцитов по площади ядра представлено на рисунке. Как видно из него, площадь ядер лимфоцитов у больных ХЛЛ значительно меньше, чем в контроле. В норме основное количество клеток сосредоточено в интервале от 29,0 до 47,0 мкм<sup>2</sup> с модой 38,0—41,0 мкм<sup>2</sup>. При ХЛЛ больше всего клеток расположено в интервале от 20,00 до 32,00 мкм<sup>2</sup>. В целом, лимфоциты больных имели более мелкие ядра, однако наличие перекрытия показателей указывает на возможность сохранения ядер с размерами, характерны



Гистограмма распределения лимфоцитов по площади ядра.

По оси абсцисс — интервалы площади ядер лимфоцитов (1—21) в мкм<sup>2</sup>: 1 — от 8,1 до 11,0; 3 — от 14,1 до 17,0; 5 — от 20,1 до 23,0; 7 — от 26,1 до 29,0; 9 — от 32,1 до 35,0; 11 — от 38,1 до 41,0; 13 — от 44,1 до 47,0; 15 — от 50,1 до 53,0; 17 — от 56,1 до 59,0; 19 — от 62,1 до 65,0; 21 — от 68,1 до 71,0. По оси ординат — частота (%). Черная штриховка — норма, косая штриховка — ХЛЛ.

ми для клеток здоровых доноров. Это подтверждается и высокими средними значениями площади ядер лимфоцитов у подгруппы больных, обследованных в динамике лечения, по сравнению с данными для всей группы, и сохранением более высоких значений после курса цитостатической и глюкокортикоидной терапии. Подобная динамика указывает, по нашему мнению, на сохранение у обследованных пациентов способности лимфоцитов периферической крови отвечать на применяемую терапию с положительным клиническим эффектом.

Результаты проведенных исследований показывают, что наиболее информативным является анализ гистограмм распределения лимфоцитов, что позволяет установить, что при ХЛЛ происходит изменение состава популяции за счет появления большого количества клеток, ядра которых отличаются меньшими размерами и сниженной площадью ядра, эу- и гетерохроматина.

#### Выводы

1. При ХЛЛ в периферической крови происходит накопление лимфоцитов, отличающихся от нормальных сниженными площадями ядра, эу- и гетерохроматина.

2. Соотношение площадей структурных компонентов хроматина (эухроматина и гетерохроматина) атипичных лимфоцитов может иметь значение для оценки пролиферативного потенциала этих клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюков И. В., Мазуха С. В. // Гематол. и трансфузиол.— 1989. № 2.— С. 29—31.
2. Герасимович Г. И., Остапенко В. А., Лукашевич Г. А. и др. // Акушерство и гинекология.— 1986. № 10.— С. 52—54.
3. Руководство по гематологии. / Под ред. А. И. Воробьева. Том 1.— М.: Медицина.— 1985.
4. Новиков Д. К., Новикова В. И. // Клеточные методы в иммунодиагностике.— Минск— 1979.
5. Погорелов В. М., Захарова А. В. // Проблемы гематол.— 1979.— Т. 24.— С. 44—48.
6. Файнштейн Ф. Э., Зедгенидзе И. Ш., Полянская А. М., Козинец Г. И. // Хронический лимфолейкоз.— Тбилиси— 1976.
7. Binet J., Dighiero G., Debre P. et al. // J. Microsc. et Spectrosc. Electron.— 1980.— V. 5.— N.— P. 631—637.
8. Laurent J., Chappard D., Haour P., Souchier C. // Bull. Assec. Anat.— 1978.— V. 42.— № 178.— P. 305—314.
9. Patterson K., Goldstone A., Richards J., Cawley J. // Brit. J. Haemat.— 1980.— V. 46.— № 2.— P. 337—338.
10. Payene C., Hicks M., Kim A. // Amer. J. Pathol.— 198. V. 120. № 2.— P. 263—275.
11. Ploem J. // 1988.— V. 30.— № 1—2.— P. 45—49.

Поступила 15.10.93