

УДК 616-006.444-006.446.2-036.12-074-097

ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА И НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ

Ходулева С. А., Саноцкая О. В., Искров И. А., Сердюкова Н. В., Пугачева Ж. Н.

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»,
Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Среди заболеваний лимфоидной ткани наиболее распространенным является хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), составляющий от 20 до 40 % всех форм лейкозов. Средняя заболеваемость ХЛЛ находится в пределах 3–3,5 случая на 100 тыс. человек, в том числе среди лиц старше 65 лет — до 20 человек на 100 тыс. населения в год. ХЛЛ (лимфома из малых лимфоцитов или лимфоцитарная лимфома) — опухоль с преимущественным поражением костного мозга, развивающаяся из неопластических В-лимфоцитов (CD5+ клеток В-клеточной природы) и имеющая характерный иммунофенотип. В случае клоновой пролиферации В-лимфоцитов с определением тканевой инфильтрации (лимфоузлов, печени, селезенки) диагностируется неходжкинская лимфома (НХЛ), составляющая ежегодно до 5 % новых опухолей у мужчин и 4 % у женщин, при этом на долю НХЛ приходится 5 % смертей в год. Как ХЛЛ, так и НХЛ с поражением костного мозга (лейкемизацией) могут иметь сходные клинико-лабораторные проявления. В данной ситуации уточнить характер зрелоклеточной лимфатической опухоли позволяет иммунофенотипирование. При этом наибольшую ценность имеет обнаружение клональности В-клеток, прежде всего, по экспрессии специфических маркеров: CD19/CD20/CD22 [1, 2, 3].

Цель

Определение дифференциально-диагностических характеристик ХЛЛ и НХЛ с учетом клинико-лабораторных данных и иммунофенотипирования клеток опухоли.

Методы исследования

На базе Республиканского научно-практического центра радиационной медицины и экологии человека было обследовано 2 группы пациентов: группа 1 — 32 пациента с ХЛЛ (их них 56 % мужчин и 44 % женщин) и группа 2 — 16 пациентов (63 % мужчин и 37 % женщин), больных НХЛ. Медиана возраста в обеих группах составила 60,50 (54,50^{25%} ч 68,00^{75%}) лет. Диагноз ХЛЛ и НХЛ был верифицирован на основании клинических проявлений и данных цито-морфологических характеристик субстрата опухоли с учетом мембранных антигенных маркеров лимфоидных клеток, определенных методом проточной цитофлуориметрии. Работа проводилась на проточном цитометре фирмы Partec «PAS» с использованием моноклональных антител фирмы Becton Coulter и Becton Dickinson.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием стандартного пакета прикладных программ «Statistic for Windows 6.0». Полученные данные обрабатывались непараметрическими методами, так как распределение данных не носило характер нормального (коэффициент асимметрии > 1,8), представлялись в формате медианы (Me 25 % ч 75 %), достоверность различий определялась по критерию Манна-Уитни (U). При сравнении анализируемых лабораторных показателей между выделенными группами различие считалось при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Клиническая картина заболевания в группах наблюдения пациентов с ХЛЛ и НХЛ, имела сходный характер: преобладание лимфопролиферативного синдрома, проявляю-

щегося лимфаденопатией и спленомегалией. Среди паранеопластических симптомов у большинства пациентов обеих групп наблюдались слабость, потливость, режы — субфебрилитет и кожный зуд (таблица 1). При этом следует отметить, что кожный зуд был более характерен для пациентов с НХЛ.

Таблица 1 — Клинические проявления ХЛЛ и НХЛ

Клинические проявления	1 группа (пациенты с ХЛЛ, n=32)		2 группа (пациенты с НХЛ, n=16)	
	абсолютное количество пациентов	%	абсолютное количество пациентов	%
Слабость	26	81	14	88
Потливость	15	47	6	38
Субфебрилитет	6	19	4	25
Кожный зуд	3	9	3	19
Боли в левом подреберье	—	-	4	25
Лимфаденопатия	23	72	16	100
Спленомегалия	17	53	12	75

Анализ показателей периферической крови в группах наблюдения выявил статистически значимое различие по уровню тромбоцитов: так в группе пациентов с ХЛЛ средний показатель тромбоцитов составил $152 (103,00^{25\%} - 245,00^{75\%}) \times 10^9/\text{л}$, в группе с НХЛ выявлена тромбоцитопения — $93,35 (41,50^{25\%} - 99,50^{75\%}) \times 10^9/\text{л}$, ($U = 112,50$; $p = 0,00$). Тромбоцитопению при НХЛ можно объяснить прогрессированием лейкозного процесса, угнетением мегакариоцитарного ряда на уровне костного мозга, а также возможным развитием иммунной тромбоцитопении. Медиана содержания циркулирующих лимфоцитов в 1-й группе пациентов была значительно выше и составила $39,35 (15,50^{25\%} - 89,75^{75\%}) \times 10^9/\text{л}$, во 2-й группе — $10,25 (5,25^{25\%} - 26,00^{75\%}) \times 10^9/\text{л}$ ($U = 135,00$; $p = 0,01$).

Анализ показателей миелограммы у пациентов обеих групп выявил статистически значимое различие по уровню бластных клеток: так в группе больных ХЛЛ уровень бластов в костном мозге составил $0,40\% (0,20^{25\%} - 0,80^{75\%})$, в группе больных НХЛ — $7,10\% (2,70^{25\%} - 9,70^{75\%})$, ($U = 203,00$; $p = 0,04$). Инициальный бластоз в костном мозге при НХЛ свидетельствует о более злокачественном течении патологического процесса в сравнении с таковым при ХЛЛ. Уровень лимфоцитов в костном мозге у пациентов обеих групп был выше 30% , но медианы данного показателя не имели достоверного различия в обеих группах.

Показатели данных иммунофенотипирования опухолевых клеток у пациентов обеих групп представлены в таблице 2. Как видно из полученных данных, в группе 1 пациентов с ХЛЛ экспрессия более 40% выявлена по следующим дифференцировочным антигенам: CD5, CD45/14, CD52, CD43, CD24, CD19, CD19/5 и в меньшей степени (от 20 до 40%) по маркерам CD23, CD20, HL-ADR, CD38. Таким образом, субстрат опухоли при ХЛЛ был представлен клетками, несущими маркеры В-лимфоцитов. Экспрессия антигена CD138 в группе пациентов с ХЛЛ связана с включением в исследование случаев волосатоклеточного лимфолейкоза. Во 2-й группе наблюдения по данным иммунофенотипирования также превалировали В-клеточные кластеры дифференцировки, однако, характер иммунофенотипирования был несколько иным. Отмечена диагностически значимая экспрессия следующих маркеров: CD22, CD19, CD20, CD45/14, CD52, CD79b, CD24, HL-ADR, CD5, sIgM, FMC7, CD43. К общим маркерам анализируемых нозологических форм лимфопролиферативных заболеваний, исходя из полученных данных, следует отнести прежде всего: CD5, CD19, CD20, CD45/14, CD52, CD24, HL-ADR, что соответствует результатам ранее проводимых исследований [1, 4, 5].

При сравнении показателей иммунофенотипирования в группах наблюдения выявлена статистически значимая разница по медиане экспрессии определенных иммунофенотипических маркеров. Так, медиана экспрессии маркера CD2, характерного для субпопуляции Т-лимфоцитов, в группе пациентов с НХЛ составила $2,05\%$, при ХЛЛ — значительно выше ($72,5\%$).

Таблица 2 — Характеристика антигенных маркеров опухолевых клеток при ХЛЛ и НХЛ

Кластер дифференцировки	1 группа (пациенты с ХЛЛ, n=32)			2 группа (пациенты с НХЛ, n=16)			Критерий Манна-Уитни	Критерий достоверности
	Me	0,25 %	0,75 %	Me	0,25 %	0,75 %		
CD 2+, %	72,50	72,50	73,70	2,05	1,70	2,40	3,00	0,04
CD 3+, %	24,60	10,40	60,30	18,10	8,80	34,50	10,00	0,31
CD 4+/8+, %	0,55	0,45	1,05	7,10	0,50	45,60	23,00	0,11
CD 4+/8-, %	10,65	7,55	20,95	4,00	2,30	14,40	27,50	0,31
CD 4-/8+, %	6,80	3,70	12,20	4,95	3,50	7,20	27,50	0,31
CD 5+, %	78,00	70,00	91,50	41,50	18,20	68,80	54,00	0,00
CD 7+, %	27,95	13,20	56,35	16,60	1,80	42,00	41,00	0,21
CD 10+, %	1,50	0,23	6,10	1,90	0,40	11,00	76,00	0,47
CD 11c+, %	11,60	10,20	18,00	5,50	1,90	6,00	3,00	0,05
CD 19+, %	68,00	30,00	83,50	70,00	22,20	91,70	174,00	0,71
CD 19+/5+, %	68,00	43,60	79,00	9,50	5,50	33,60	21,00	0,00
CD 20+, %	33,80	8,00	56,20	67,15	12,85	81,30	158,00	0,20
CD 22+, %	4,40	0,70	26,20	70,80	61,90	93,00	10,00	0,01
CD 23+, %	37,00	15,30	53,00	0,60	0,20	2,00	23,00	0,00
CD 24+, %	73,00	60,00	78,00	67,10	3,30	90,20	32,00	0,77
CD 25+, %	2,90	0,60	2,90	0,60	0,20	4,00	26,50	0,95
CD 38+, %	24,95	10,85	51,70	9,20	7,60	33,30	19,00	0,25
CD 43+, %	78,65	60,30	92,50	21,00	4,08	47,40	36,00	0,00
CD 45+/14-, %	98,00	96,20	99,30	99,00	98,00	99,80	66,50	0,59
CD 52+, %	95,70	92,60	98,20	91,05	89,20	94,65	12,00	0,19
CD 79b+, %	2,65	1,50	3,95	84,60	60,80	93,90	3,00	0,04
CD 95+, %	7,43	3,83	10,70	2,05	0,90	3,63	1,50	0,06
CD 103+, %	18,40	17,70	26,30	0,09	0,07	0,10	0,00	0,05
HLADR+, %	29,15	13,80	48,00	46,60	36,70	70,60	31,00	0,25
FMC7+, %	1,70	0,85	3,65	29,30	6,50	40,10	40,50	0,01
s JgM+, %	9,30	5,00	15,40	38,10	3,70	80,50	62,00	0,06

Известно, что значимым диагностическим маркером ХЛЛ по данным иммунофенотипирования является экспрессия CD5+ антигена [4]. В нашем исследовании данный показатель в группе пациентов с ХЛЛ составил 78,00 % (70,00²⁵%–91,50⁷⁵%), аналогичный показатель во 2-й группе наблюдения был достоверно ниже — 41,50 % (18,20²⁵%–68,80⁷⁵%), ($U = 54,00$; $p = 0,00$). Особое внимание следует обратить на высокую экспрессию антигенного маркера CD22 на клетках опухолевого субстрата при НХЛ, в то время как при ХЛЛ его экспрессия была незначительной. Кроме того выявлена более высокая экспрессия CD19/5, CD23 и CD43 антигенных маркеров при ХЛЛ и CD79b — при НХЛ с лейкемизацией.

Выводы

Проведенное нами исследование позволило сделать следующие выводы.

Заболеваемость ХЛЛ и НХЛ характерна для людей пожилого возраста (средний возраст в обеих группах составил 60,5 лет). Среди клинических проявлений для НХЛ, в отличие от ХЛЛ, чаще характерна лимфаденопатия, спленомегалия и кожный зуд. По данным анализа периферической крови НХЛ отличается умеренным лимфоцитозом и тромбоцитопенией. В костном мозге при НХЛ отмечается бластоз до 10 %, не характерный для ХЛЛ и лимфоцитоз, в большинстве случаев, более 30 %.

Полученные данные подтверждают, что наиболее значимыми иммунологическими маркерами при дифференциальной диагностике ХЛЛ и НХЛ с лейкемизацией являются: CD22, CD23, CD79b и CD43. Результаты можно использовать при разработке панели моноклональных антител для дифференциальной диагностики ХЛЛ и НХЛ с лейкемизацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев, И. А. Иммунофенотипирование опухолей системы крови и лимфатических опухолей / И. А. Воробьев, О. А. Худолеева, Т. Д. Рошупкина // Гематология и трансфузиология. — 2005. — № 1. — С. 7–12.
2. Bain, B. J. Guidelines Revised Guideline on immunophenotyping in acute leukemia and chronic lymphoproliferative disorders / Clin. Lab/ Haematol // B. J. Bain [et al.]. — 2002. — Vol. 24. — P. 1–13.
3. Голенков, А. К. Иммунологический фенотип и клиническое течение неходжкинских лимфом / А. К. Голенков, Г. Ю. Митерев // Гематология и трансфузиология. — 2004. — № 43. — С. 41–43.
4. Селиванова, Е. И. Индивидуальная вариабельность и клиническое значение количественного содержания иммунофенотипических маркеров на клетках В-клеточного хронического лимфолейкоза / Е. И. Селиванова, Ю. Е. Виноградова, И. А. Замулаева // Гематология и трансфузиология. — 2005. — № 3. — С. 25–28.
5. Ковригина, А. М. Дифференциальная диагностика неходжкинских В-клеточных лимфом / А. М. Ковригина, Н. А. Проботова // Онкогематология. — 2007. — № 2. — С. 4–9.

УДК 614.2-057.875:796.81.2

АНАЛИЗ ВЫПОЛНЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ ТЕСТОВ СТУДЕНТАМИ СМГ

Хорошко С. А., Кульбеда В. С.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

В высшем учебном заведении физическое воспитание является самостоятельной дисциплиной и значимой частью в формировании общей и профессиональной культуры современного высокообразованного специалиста.

Учебная программа по дисциплине «Физическая культура» для СМГ предусматривает сдачу контрольных тестов в конце каждого семестра для определения уровня физической подготовленности (УФП). Сдают следующие контрольные тесты: тест Купера; поднятие плечевого пояса из исходного положения, лежа на спине, согнув ноги, руки вдоль туловища; приседания на 2-х ногах; сгибание и разгибание рук из исходного положения, упор, стоя на коленях, кисти рук параллельны; наклон вперед из исходного положения, сидя, ноги вместе.

Цель

Анализ выполнения контрольных тестов юношей СМГ с 1 по 3-й курсы.

Методы исследования

Анализ научно-методической литературы, метод математической обработки полученных результатов, педагогическое наблюдение.

Результаты и обсуждения

Исследование проводилось на кафедре физического воспитания и спорта. Сотрудниками кафедры был проведен анализ выполнения контрольных тестов юношами за три учебных года.

Тест Купера. На 1-м курсе осеннего семестра 2007–2008 учебного года в тесте приняли участие 12 студентов. Средний результат равен $1209,16 \pm 44,3$ м, что соответствует оценке «6». В весеннем семестре приняли участие 9 юношей. Средний результат равен $1256,66 \pm 25,6$ метров, что соответствует оценке «7».

На 2-м курсе осеннего семестра 2008–2009 учебного года в тесте приняли участие 6 юношей. Средний результат равен $1260 \pm 35,1$ м, что соответствует оценке «7». В весеннем семестре приняли участие 8 студентов. Средний результат равен $1275 \pm 45,3$ м, что соответствует оценке «7».

На 3-м курсе осеннего семестра 2009–2010 учебного года в тесте приняли участие 4 студента. Средний результат равен $1170 \pm 101,5$ м, что соответствует оценке «5». В весеннем семестре приняли участие 4 студента. Средний результат равен $1197,5 \pm 51,5$ м, что соответствует оценке «5». Подводя итог результатов сдачи теста Купера студентами на 1-м и 3-м курсах в весенних семестрах, следует отметить, что он незначительно ухудшился, т. е. показатель общей выносливости снизился (рисунок 1).