

Исайкина Я.И., Новикова М.А., Лях Е.Г., Емельянова И.В., Кугейко Т.Б.
Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Isaikina Y., Novikova M., Liakh E., Yamelyanova I., Kugeiko T.
Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Колониеобразующая способность клеток-предшественников гемопоэза при иммуносупрессивной терапии у детей с приобретенной апластической анемией

Colony-forming progenitor cells capacity in immunosuppressive
therapy in patients with acquired aplastic anemia

Резюме

В исследовании была проанализирована взаимосвязь между колониеобразующей способностью клеток-предшественников гемопоэза и результатами иммуносупрессивной терапии (ИСТ) у детей с приобретенной апластической анемией (ПАА). 58 пациентов были включены в исследование. Тест на колониеобразующую способность предшественников гемопоэза был выполнен всем пациентам на момент постановки диагноза и 50 пациентам на разных этапах ИСТ (антитимоцитарный глобулин и циклоспорин А). Использовался метод культивирования клеток в полутвердой среде метилцеллюлозы. У 93% пациентов с ПАА до начала лечения колониеобразующие единицы гранулоцитов и макрофагов (КОЕ-ГМ) и бурстобразующие единицы эритроцитов (БОЕ-Э) в культуре отсутствовали или их количество было значительно ниже нормы. Среди детей, получавших ИСТ, 31 (65%) достиг ремиссии и 19 (63%) – не ответили на лечение. Результаты клоногенного теста показали рост количества КОЕ-ГМ и БОЕ-Э в костном мозге у большинства пациентов с клиническим ответом на терапию уже после начала ИСТ. 90% этих пациентов имели КОЕ-ГМ в пределах нормы уже к 64-му дню ИСТ. Восстановление популяции БОЕ-Э до нормы у детей, «ответивших» на ИСТ, происходит позже, чем КОЕ-ГМ. У пациентов, рефрактерных к ИСТ, содержание БОЕ-Э оставалось ниже референсного значения на всем протяжении лечения. Установлено, что восстановление колониеобразующей способности клеток-предшественников гемопоэза коррелирует с клиническим ответом на ИСТ.

Ключевые слова: колониеобразующая способность, клетки-предшественники гемопоэза, КОЕ-ГМ, БОЕ-Э, приобретенная апластическая анемия, иммуносупрессивная терапия.

Abstract

In this investigation we analyzed the relationship between the results of immunosuppressive therapy (IST) in children with acquired aplastic anemia (AA) and the colony formation capacity of bone marrow hematopoietic progenitor cells. Fifty eight patients with AA at diagnosis were studied between 2007 and 2016. We used technique of precursor cell cultures in methylcellulose

semisolid medium. The number of granulocyte-macrophage burst forming units (BFU-E) and colony forming units (CFU-GM) in patients with AA. Fifty children with AA remission (65%) of the patients achieved remission. We examined the numbers of CFUs during the follow-up beginning in most patients with BFU-E within the normal range to 64 days after IST. Thus, recovery hematopoiesis after immunosuppressive therapy in most cases. **Keywords:** colony formation capacity, hemopoiesis, immunosuppressive therapy.

ВВЕДЕНИЕ

Колониеобразующие свойства гемопоэтических предшественников гемопоэза – гранулоцитарные, макрофагальные и смешанные – при культивировании клеток костного мозга в полутвердой среде метилцеллюлозы (Methiel & Metcalf [1]). Каждая колония является результатом деления одной клетки-предшественницы, следовательно, подсчет числа колоний при культивировании клеток костного мозга соответствует числу колониеобразующих единиц (КОЕ). В зависимости от типа клеток, способных к клонированию гемопоэтических предшественников, в которой клетки культивируются, различают КОЕ-ГМ (гранулоцитарно-макрофагальные), КОЕ-Э (эритроидные), КОЕ-М (мегакариоцитарные), КОЕ-В (лимфоцитарные) и т.д. В настоящее время для его проведения используют комбинацию факторов, стимулирующих клеточный рост, в том числе комбинацию факторов, стимулирующих рост клеток костного мозга человека.

Клоногенный тест дает возможность оценить способность клеток костного мозга к размножению. В настоящее время для его проведения используют комбинацию факторов, стимулирующих рост клеток костного мозга человека. В настоящее время для его проведения используют комбинацию факторов, стимулирующих рост клеток костного мозга человека.

Апластическая анемия (АА) – это заболевание костного мозга, характеризующееся угнетением эритроидного, гранулоцитарного, тромбоцитарного ростков КМ. АА может быть вызвана различными механизмами: патологией кроветворения, нарушением дифференцировки, нарушением регуляции кроветворения, дефектом гемопоэза. АА у детей встречается редко. Приобретенная апластическая анемия встречается у 2-0,6 случая на 100 000 детей в год.

"Hematology. Transfusiology. Eastern Europe", 2017, volume 3

semisolid medium. The number of granulocytes and macrophages colony-forming units (CFU-GM) and erythroid burst forming units (BFU-E) were considerably below normal or lacked in 93% of the patients with AA. Fifty children with AA received IST (antithymocyte globulin and cyclosporine A). Fifty-one (65%) of the patients achieved remission and 19 (35%) didn't respond to treatment. We examined the numbers of CFUs during the therapy. The numbers of CFU-GM and BFU-E increased after IST beginning in most patients with therapeutic response to IST, and 90% of children had CFU-GM within the normal range to 64 day of IST. The increment of BFU-E appeared later in this group of patients. Thus, recovery hematopoietic progenitor CFU-GM to normal level during the immunosuppressive therapy in most cases correlate with hematological response.

Keywords: colony formation capacity, hematopoiesis precursors, CFU-GM, BFU-E, acquired aplastic anemia, immunosuppressive therapy.

ВВЕДЕНИЕ

Колониеобразующие свойства гемопоэтических клеток, то есть способность предшественников гемопоэза *in vitro* формировать гранулоцитарные, макрофагальные и смешанные колонии, были впервые изучены при культивировании клеток костного мозга (КМ) в агаре в работе Bradley & Metcalf [1]. Каждая колония является клоном одной единственной клетки-предшественницы, следовательно, количественное определение числа колоний при культивировании гемопоэтических клеток соответствует числу колониеобразующих единиц (КОЕ) [2]. Для эффективности клонирования гемопоэтических клеток особое значение имеет среда, в которой клетки культивируют, а также сочетание ростовых факторов, стимулирующих клеточную пролиферацию. При оптимальном сочетании колониестимулирующих факторов, добавляемых к среде для культивирования, одна КОЕ обнаруживается на $2-5 \times 10^3$ клеток костного мозга человека.

Клоногенный тест дает возможность оценить пролиферативную способность клеток костного мозга как в норме, так и при различных патологиях. В настоящее время для его проведения используется среда, способствующая оптимизации роста гранулоцитарно-макрофагальных и эритроидных колоний, что позволяет сделать тест рутинным, воспроизводимым анализом, где все типы колоний могут быть оценены одновременно как морфологически, так и количественно.

Апластическая анемия (АА) – это заболевание кроветворной системы, обусловленное угнетением эритроидного, гранулоцитарно-моноцитарного, тромбоцитарного ростков КМ. Развитие заболевания связывают с различными механизмами: патологией на уровне гемопоэтической стволовой клетки, выраженной в утрате ею способности к пролиферации и дифференцировке, нарушениями межклеточных иммунных взаимодействий в организме, дефектом гемопоэтического микроокружения костного мозга [3, 4]. АА у детей может быть врожденная и приобретенная. Приобретенная апластическая анемия (ПАА) встречается с частотой 0,2–0,6 случая на 100 000 детей в год [5].

Для успешного лечения данной патологии важны ранняя диагностика заболевания с установлением степени тяжести и выбор метода лечения. Стандартами способами лечения ПАА являются проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от донора или комбинированная иммуносупрессивная терапия (ИСТ) при отсутствии родственного донора. Для ИСТ используют препараты антилимфоцитарного глобулина (АЛГ) или антиtimoцитарного глобулина (АТГ) в комбинации с циклоспорином А (CsA), которые воздействуют на Т-лимфоциты, ингибируя их пролиферацию и активацию прогенитивных предшественников гемопоэза [6]. Частота развития гематологического ответа на ИСТ составляет, по данным разных авторов, 35–70% [7, 8]. Таким образом, значительная часть детей с ПАА остаются резистентными к ИСТ.

Проведенные исследования позволили установить основные признаки, характерные для гемопоэтических клеток-предшественников пациентов с ПАА. Так, культура КМ при данной патологии характеризуется снижением или полным отсутствием (при тяжелой форме) колониеобразующих единиц гранулоцитов и макрофагов (КОЕ-ГМ), бурстобразующих единиц эритроцитов (БОЕ-Э), колониеобразующих единиц мегакариоцитов (КОЕ-МК) [9–11]. Морфологический анализ колоний выявляет преобладание мелких, морфологически нормальных колоний и кластеров. Эти изменения указывают на существование дефекта на уровне ранних стволовых клеток и на их функциональную неполноценность [11].

Так как около 30% пациентов не отвечает или отвечает только частично на ИТ и установление этой группы пациентов во время постановки диагноза ПАА не представляется возможным, что определяет применение общепринятого алгоритма лечения для всех пациентов. Проведение сравнительного исследования динамики пролиферации предшественников гемопоэза среди пациентов, ответивших и не ответивших на ИСТ, позволит спрогнозировать неэффективность ИСТ для этих пациентов и перейти к поиску неродственного донора для трансплантации ГСК.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить прогностическое значение колониеобразующей способности гемопоэтических предшественников на разных этапах иммуносупрессивной терапии у пациентов с приобретенной апластической анемией для мониторинга эффективности проводимого лечения.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данное исследование нами были включены 58 пациентов с диагнозом «тяжелая ПАА» в возрасте 1–18 лет, проходивших лечение в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии с 2007 по 2016 гг., которым из-за отсутствия родственного донора ГСК была назначена ИСТ. Длительность диагностического периода до начала проведения ИСТ ограничивалась 2 неделями. Комбинированная ИСТ включала антилимфоцитарный глобулин (АЛГ) или антиtimoцитарный глобулин (АТГ), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) в комбинации с циклоспорином А (CsA), метилпреднизолон.

Тест на пролиферативную активность предшественников (клоногенный тест) проводили у всех 58 пациентов с ПАА в качестве контроля. Для проведения теста использовали коммерческий набор реагентов MethoCult H4431, содержащий 10% концентрированную сыворотку и среду MethoCult H4434, обогащенную факторами роста и цитокинами: фактором роста гранулоцитов и макрофагов (ГМ-КСФ), фактором роста эритроцитов (Э-КСФ), фактором роста мегакариоцитов (МК-КСФ), интерлейкином-3 (ИЛ-3). Среда предназначена для определения пролиферации предшественников гемопоэза. Показаниям инструкции, результаты теста оценивали по количеству колоний, указанным для каждой метилирующей субстанции. Колонии выделяли на Гистоплаке, плотность подсчитывали в концентрации 1х10⁴ клеток/мл. Колонии выращивали на основе метилцеллюлозы. Клетки выращивали в камере Sarstedt, Германия) при 37 °C в 5% CO₂ в увлажненной атмосфере. Количество КОЕ-ГМ подсчитывали под инвертированным микроскопом.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы STATISTICA 6 и включала определение медианы, среднего значения, среднего значения. Влияние цитокинов оценивали с использованием парного теста. Для сравнения показателей в различных группах использовали критерий Манна-Уитни для рядов с непараметрическими данными. Различия между группами пациентов оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считались значимыми при p < 0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании клоногенного теста определяли количество колониеобразующих единиц (КОЕ) у пациентов с предполагаемым диагнозом ПАА. Для оценки пролиферативной активности предшественников без дополнительной стимуляции использовали среду MethoCult H4431. Проллиферативная активность предшественников пациентов, т.е. способности к образованию гранулоцитарно-макрофагальных и эритроидных колоний, оценивали по количеству КОЕ-ГМ и КОЕ-Э.

Таблица 1
Показатели клоногенного теста у пациентов с ПАА

КОЕ	Цитокины
КОЕ-ГМ	-
КОЕ-Э	+
КОЕ-МК	-
КОЕ-ГМ	+
КОЕ-Э	-
КОЕ-МК	+

Тест на пролиферативную активность гемопоэтических клеток-предшественников (клоногенный тест) был выполнен из проб костного мозга всех 58 пациентов с ПАА в качестве диагностического, а также 33 пациентов на 28, 64, 112, 180 и 360-й день проведения ИСТ. Для постановки теста использовали коммерческую среду метилцеллюлозы MethoCult H4431, содержащую 10% кондиционной среды и эритропоэтин, и среду MethoCult H4434, обогащенную рекомбинантными факторами роста и цитокинами: фактор роста стволовых клеток (SCF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), эритропоэтин, интерлейкин-3 (ИЛ-3) (StemCell Technologies, Канада). Эти среды предназначены для определения количества коммитированных предшественников гемопоэза. Анализ проводили согласно требованиям инструкции, результаты оценивали по референсным значениям, указанным для каждой метилцеллюлозной среды. Мононуклеарный ГМ выделяли на Гистопаке, плотностью 1,077 г/мл (Sigma, США) и дисперсифицировали в концентрации 1×10^5 /мл в двух полужидких средах на основе метилцеллюлозы. Клетки культивировали в 24-луночной планшете (Sarstedt, Германия) при 37 °C и 5% CO₂ в течение 14 дней во влажной атмосфере. Количество КОЕ-ГМ и БОЕ-Э в каждой пробе подсчитывали под инвертированным микроскопом AXIOVERT (Zeiss, Германия).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы STATISTICA 6 и включала методы описательной статистики с определением медианы, среднего значения и стандартной ошибки среднего значения. Влияние цитокинов на число КОЕ-ГМ и БОЕ-Э оценивали с использованием парного теста Уилкоксона. Сравнение аналогичных показателей в различных группах оценивали по тесту Манна-Уитни для рядов с непараметрическим распределением. Различия между группами пациентов оценивали по критерию χ^2 . Статистически значимым считалось различие при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании клоногенного теста в диагностических целях оценивали количество колониеобразующих единиц костного мозга пациентов с предполагаемым диагнозом ПАА в культуре как при условии роста без дополнительной стимуляции цитокинами, так и со стимуляцией. Пролиферативная активность гемопоэтических клеток-предшественников пациентов, т.е. способности образовывать гранулоцитарно-макрофагальные и эритроидные колонии представлена в табл. 1.

Таблица 1
Показатели клоногенного теста у пациентов с диагнозом ПАА

КОЕ	Цитокины	Пациенты (n=58)	Референсные значения
КОЕ-ГМ	-	0 (0–14)	10–60
	+	1 (0–17)	10–85
p		0,0394	
БОЕ-Э	-	0 (0–4)	10–31
	+	0 (0–20)	20–74
p		0,0039	

Как показал анализ полученных результатов, привнесение в среду культивирования цитокинов стимулировало колониеобразующую активность клеток-предшественников и миелоидного и эритроидного ростков кровообращения у пациентов с ПАА ($p < 0,05$).

Описано влияние SCF на стимуляцию ранних предшественников гемопоэза к дифференцировке в эритроидном направлении в ущерб нейтрофильной линии, поэтому при постановке клоногенного теста в среде с ростовыми факторами наблюдается достоверно больше БОЕ-Э, чем в среде без ростовых факторов [12].

У 54 (93%) пациентов при проведении клоногенного теста с диагностической целью в среде без цитокинов и в среде с цитокинами отмечалось или отсутствие КОЕ-ГМ и БОЕ-Э или количество колоний было значительно ниже нормы. И только у 4 (7%) пациентов число КОЕ-ГМ соответствовало нижней границе нормы. Случаи, когда у пациентов с ПАА наблюдается нормальное количество колоний из образцов клеток КМ, отмечены и другими авторами. W.A. Kagan et al., выявив у 1 из 14 обследованных, а T. Hotta et al. у 3 из 9 нормальное количество колоний, пришли к заключению, что в данных случаях аплазия обусловлена патологией гемопоэтического микроокружения [13, 14].

У 50 пациентов с ПАА клоногенный тест выполняли на всем протяжении получения пациентом ИСТ. Клинический ответ на терапию был получен у 31 (62%) пациента, при этом у 21 (65%) пациента наблюдался частичный ответ и у 11 (35%) – полный ответ. В группе пациентов с ПАА, не ответивших на ИСТ, которым был выполнен клоногенный тест, было 19 детей.

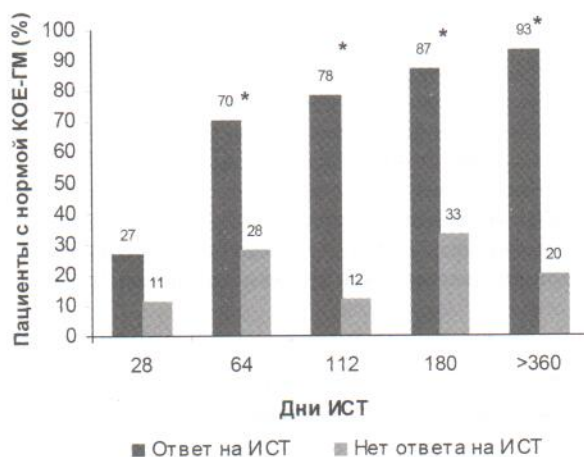


Рис. 1. Относительное число пациентов в группах с клиническим ответом и без ответа на ИСТ, у которых содержание КОЕ-ГМ находилось в пределах нормы, на различных временных отрезках ИСТ

Примечание:
* $p < 0,05$.

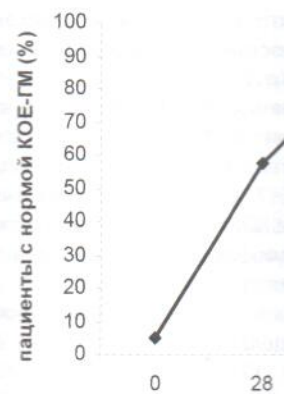


Рис. 2. Относительное число пациентов с нормальным содержанием КОЕ-ГМ при культивировании

Среди детей с клиническим ответом на терапию при культивировании клеток-предшественников в пределах нормы на 28-й день ИСТ – у 27%, на 64-й день ИСТ – у 70%, на 112-й день ИСТ – у 78%, на 180-й день ИСТ – у 87%, на 360-й день ИСТ – у 93%. В группе пациентов с ПАА, не ответивших на ИСТ, у которых было 19 детей, содержание КОЕ-ГМ были в норме на 28-й день ИСТ – у 11%, на 64-й день – у 28%, на 112-й день – у 12%, на 180-й день – у 33%, на 360-й день – у 20%.

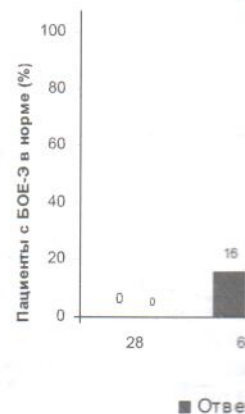


Рис. 3. Относительное число пациентов в группах с клиническим ответом и без ответа на ИСТ, у которых содержание БОЕ-Э определялось

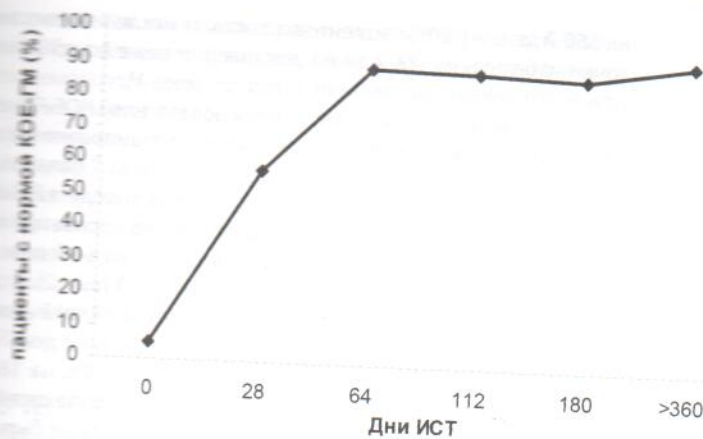


Рис. 2. Относительное число пациентов с клиническим ответом на ИСТ и с показателем КОЕ-ГМ в пределах нормы при культивировании клеток в среде с ростовыми факторами

Среди детей с клиническим ответом на лечение показатели КОЕ-ГМ при культивировании клеток-предшественников в среде без РФ находились в пределах нормы на 28-й день после начала ИСТ у 27% пациентов, на 64-й день ИСТ – у 70%, на 112-й день – у 78%, на 180-й день – у 87% и на 360-й день – у 93%. В группе пациентов без ответа на ИСТ показатели КОЕ-ГМ были в норме на 28-й день после начала ИСТ у 11% детей, на 64-й день – у 28%, на 112-й день – у 12%, на 180-й день – у 33% и

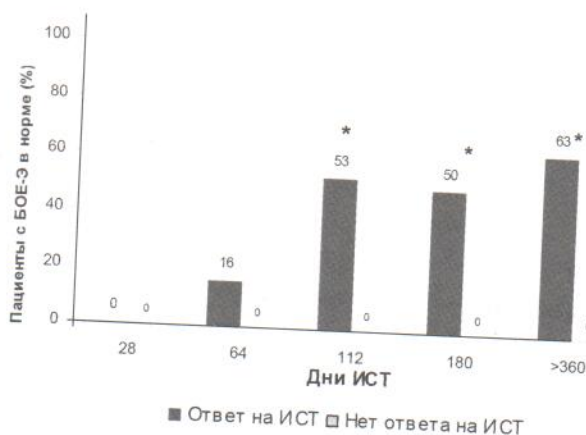


Рис. 3. Относительное число пациентов в группах с клиническим ответом и без ответа на ИСТ, у которых содержание БОЕ-3 определялось в пределах нормы на различных временных отрезках ИСТ

Примечание:

* $p < 0.05$.

на 360-й день – у 20% пациентов, то есть, за исключением самой ранней точки наблюдения (28-й день), достоверно реже по сравнению с группой детей, «ответивших» на ИСТ ($p < 0,05$) (рис. 1).

Анализ динамики восстановления показателей КОЕ-ГМ клоногенного теста до нормальных значений при культивировании в среде с ростовыми факторами в группе «ответивших» на ИСТ показал, что уже на 64-й день лечения значение КОЕ-ГМ у 90% из этих детей было в норме, т.е. ≥ 10 . Таким образом, значение КОЕ-ГМ ниже нормы при культивировании клеток в среде с ростовыми факторами на 64-й день ИСТ может являться предиктором отсутствия ответа на ИСТ (рис. 2).

Показатели БОЕ-Э на 28-е сутки у всех детей с клиническим ответом на ИСТ были ниже нормы. В пределах нормы на 64-й день число БОЕ-Э наблюдали у 16% пациентов, на 112-й день – у 53%, на 180-й день – у 50% и на 360-й день – у 63% детей, тогда как в группе детей, резистентных к ИСТ, количество БОЕ-Э ни у одного пациента не было в пределах нормы на всем протяжении проведения ИСТ (рис. 3).

Таким образом, количество пациентов, имевших значение БОЕ-Э в пределах нормы, среди ответивших на ИСТ достоверно выше, чем среди резистентных к ИСТ начиная с 112-го дня проведения терапии ($p < 0,0001$).

Наши результаты показали, что 70% пациентов с терапевтическим ответом на ИСТ восстановили активность клеток-предшественников миелоидного ряда уже к 64-му дню после начала лечения, тогда как эритроидный росток начал отстраиваться только к 112-му дню и лишь у половины детей колониеобразующий потенциал предшественников эритропоэза восстановился через год после лечения. Аналогичные данные были получены и другими исследователями [15, 16].

Сравнение динамики изменений колониеобразующей активности клеток предшественников гемопоэза по показателям КОЕ-ГМ и БОЕ-Э в группах пациентов с ПАА, «ответивших» и «не ответивших» на ИСТ

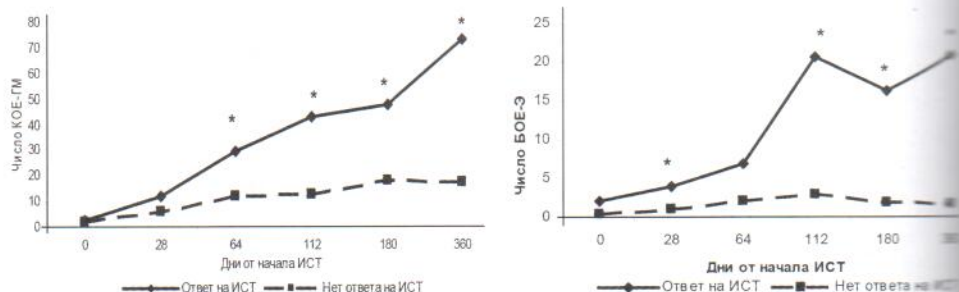


Рис. 4. Динамика изменений колониеобразующей активности клеток-предшественников гемопоэза у пациентов с ПАА в группах с клиническим ответом и без ответа на ИСТ

Примечания:
А – содержание КОЕ-ГМ;
Б – содержание БОЕ-Э;
* $p < 0,05$.

отражено на рис. 4. Как показывают результаты исследования на ИСТ, наблюдается положительная динамика способности гемопоэтических предшественников к колониеобразованию. Проллиферативная активность предшественников этой группы на 64, 112, 180 и 360-й дни проведения ИСТ достоверно выше, чем у детей с клиническим ответом на ИСТ ($p < 0,05$). Таким образом, предшественники в группе детей, реагирующих на ИСТ, пролиферируют и не способны к колониеобразованию. Показатель БОЕ-Э ниже нормы при проведении ИСТ.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование теста на колониеобразующую способность предшественников гемопоэза имеет важное диагностическое значение. Показатели КОЕ-ГМ и БОЕ-Э, показатели клональной формы на этапе постановки диагноза. Наблюдение за динамикой восстановления способности клеток-предшественников к колониеобразованию у детей с ПАА, получающих ИСТ, показывает, что у 90% пациентов наблюдается восстановление показателей КОЕ-ГМ уже к 64-му дню терапии. Восстановление способности клеток-предшественников к колониеобразованию большинства пациентов с клиническим ответом на ИСТ, более быстрое, чем миелоидного, при этом эритроидные предшественники не восстанавливаются. Средний показатель БОЕ-Э ниже нормы на протяжении ИСТ.

■ ЛИТЕРАТУРА

- Bradley T.R., Metcalf D. (1966) The growth of myeloid cells in vitro. *Br J Haematol*, vol. 44, no 3, pp. 287–99.
- Metcalf D. (1970) Studies on colony forming cells in the presence of colony stimulating factor. *J Cell Physiol*, vol. 18, pp. 1–10.
- Wardle G., Amiel J.L., Schwarzenberg B. (1970) Antilymphocytic serum. *BMJ*, no 2, pp. 11–12.
- Loughran T.Jr., Storb R. (1990) Treatment of acute leukemia. *Ann NY Acad Sci*, pp. 559–575.
- Marsh J.C. (2005) Management of acute leukemia. *Ann NY Acad Sci*, pp. 1–10.
- Bacigalupo A., Brand R., Oneto R., Biondi A., Tichelli A., McCann S., Marsh J., Ljungman M. (2005) Management of acute leukemia. *Ann NY Acad Sci*, pp. 1–10.

показано на рис. 4. Как показывают результаты в группе детей, «ответивших» на ИСТ, наблюдается положительная динамика увеличения способности гемопоэтических предшественников образовывать как гранулоцитарные и макрофагальные колонии, так и эритроидные колонии. Пролиферативная активность прогениторных клеток миелопоэза детей этой группы на 64, 112, 180 и 360-й дни, а эритропоэза на 28, 112, 180 и 360-й дни проведения ИСТ достоверно выше, чем у детей без клинического ответа на ИСТ ($p < 0,05$). Важно отметить, что эритроидные предшественники в группе детей, рефрактерных к ИСТ, практически не колонизируются и не способны к колониообразованию, поэтому средний показатель БОЕ-Э ниже нормы при проведении теста на всем протяжении ИСТ.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование теста на колониообразующую способность предшественников гемопоэза имеет важное диагностическое значение. Однократную значимость представляет количество колониообразующих единиц КОЕ-ГМ и БОЕ-Э, показатели которых у 93% пациентов с ПАА в тяжелой форме на этапе постановки диагноза значительно ниже нормы. Наблюдение за динамикой восстановления колониообразующей способности клеток-предшественников гранулоцитов, макрофагов и эритроцитов у детей с ПАА, получающих иммуносупрессивную терапию, показывает, что у 90% пациентов гематологический ответ на ИСТ сопровождается восстановлением показателей КОЕ-ГМ до нормальных значений уже к 64-му дню терапии. Восстановление пролиферативной активности клеток-предшественников эритроидного ростка гемопоэза у большинства пациентов с клиническим ответом на ИСТ, происходит быстрее, чем миелоидного, при этом у детей, рефрактерных к ИСТ, эритроидные предшественники не отвечают на стимуляцию к пролиферации, и средний показатель БОЕ-Э ниже нормы при тестировании на протяжении ИСТ.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Bradley T.R., Metcalf D. (1966) The growth of mouse bone marrow cells in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci*, vol. 44, no 3, pp. 287–99.
2. Metcalf D. (1970) Studies on colony formation in vitro by mouse bone marrow cells. II. Action of colony stimulating factor. *J Cell Physiol.*, vol. 76, no 1, pp. 89–99.
3. Wathé G., Amiel J.L., Schwarzenberg L. (1970) Bone marrow graft in man after conditioning by antilymphocytic serum. *BMJ*, no 2, pp. 131–36.
4. Loughran T.Jr., Storb R. (1990) Treatment of aplastic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am.*, no 4, pp. 559–575.
5. Marsh J.C. (2005) Management of acquired aplastic anaemia. *Blood Rev.*, vol. 19, no 3, pp. 143–51.
6. Bacigalupo A., Brand R., Oneto R., Bruno B., Socie G., Passweg J., Locasciulli A., van Lint M.T., Tichelli A., McCann S., Marsh J., Ljungman P., Hows J., Marin P., Schrezenmeier H. (2000)

- Treatment of acquired severe aplastic anemia: bone marrow transplantation compared with immunosuppressive therapy – the European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. *Semin Hematol.*, vol. 37, no 1, pp. 69–80.
7. Scheinberg Ph., Wu C.O., Nunez O., Scheinberg Pr., Boss C., Sloand E.M., Young N.S. (2009) Treatment of severe aplastic anemia with a combination of horse antithymocyte globulin and cyclosporine, with or without sirolimus: a prospective randomized study. *Haematologica*, no 94, pp. 348–54.
 8. Saracco P., Quarello P., Iori A.P., Zecca M., Longoni D., Svahn J. (2008) Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anaemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up. *Br J Haematol.*, no 140, pp. 197–205.
 9. Novitzky N., Jacobs P. (1999) In aplastic anemia progenitor cells have a reduced sensitivity to the effects of growth factors. *Eur. J. Hematol.*, no 63, pp. 141–148.
 10. Scopes J., Bagnara M., Gordon-Smith E. C. (1994) Haemopoietic progenitor cells are required in aplastic anemia. *Br. J Haematol.*, no 86, pp. 427–430.
 11. Marsh J.C., Chang J., Testa N.G. (1990) The hematopoietic defect in aplastic anemia assessed by long-term marrow culture. *Blood*, no 76, pp. 1748–1757.
 12. Zeuner A., Pedini F., Signore M., Testa U., Pelosi E., Peschle C., De Maria R. (2003) Stem cell factor protects erythroid precursor cells from chemotherapeutic agents via up-regulation of BCL-2 family proteins. *Blood*, vol. 1; no 102 (1), pp. 87–93.
 13. Kagan W.A., Ascensao J.L., Fialk M.A., Coleman M., Valera EB, Good RA. (1979) Studies on the pathogenesis of aplastic anemia. *Amer. J. Med.*, no 66, pp. 444–449.
 14. Hotta T., Kato T., Maeda H. Yamao H, Yamada H, Saito H. (1985) Functional changes in marrow stromal cells in aplastic anemia. *Acta Hemat.*, no 74, pp. 65–69.
 15. Füreder W., Paulitsch-Buckingham A., Rabitsch W., Jäger E., Schwarzingen I., Sperr MR, Valent P. (2014) Evaluation of treatment responses and colony-forming progenitor cells in 50 patients with aplastic anemia after immunosuppressive therapy or hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience. *Wien Klin Wochenschr.*, no 126, pp. 119–25.
 16. Matsuo Y., Iwanaga M., Mori H., Yoshida S., Kawaguchi Y., Yakata Y., Murata K., Nagai K., Jinna M., Matsuo T., Kuriyama K., Tomonaga M. (2000) Recovery of hematopoietic progenitor cells in patients with severe aplastic anemia who obtained good clinical response with a combination therapy of immunosuppressive agents and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Int J Hematol.*, vol. 72, no 1, pp. 37–43.

Поступила/Received: 03.08.2017
Контакты/Contacts: yaninai@mail.ru

ISSN 1521-281.015.8] 614.454-006-053.2-047.36

Сарасин В.И., Кондаурова С.Л., Панасюк
Республиканский научно-практический центр
иммунологии, Минск, Беларусь

Chaharovich V., Panasiuk Y., Kandaurova S., A
Center for pediatric oncology, hematology

Чувствительность штаммов микроорганизмов к препаратам в детской стационаре и микробиологический мониторинг в системе контроля

Susceptibility of nosocomial pathogens isolated from pediatric oncohaematology patients to antimicrobial drugs of the first line. Microbiological monitoring as a part of infection control

Резюме

В статье приведены результаты анализа чувствительности штаммов микроорганизмов к основным клинически значимым препаратам наиболее «проблемных» микроорганизмов у пациентов, тенденции микробиологического мониторинга является одним из инструментов, позволяющих своевременно разрабатывать тактику антимикробной терапии, динамически контролировать инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. **Ключевые слова:** дети, инфекционный мониторинг, онкогематология, антимикробная терапия.

Abstract

The article covers the data on the susceptibility of the most significant microorganisms isolated from patients to antimicrobial drugs of the first line. Microbiological monitoring is one of the tools considered. On-line microbiological monitoring system. It provides the opportunity to develop the tactics of antimicrobial therapy, dynamically tailor them to the needs of patients, and dynamically tailor them to the needs of patients with associated infections.

Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа