

**ЛУЧКИН АНТОН ВЛАДИМИРОВИЧ**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛИНЫ  
ТЕЛОМЕРНЫХ РАЙОНОВ ДНК У БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ  
АНЕМИЕЙ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ**

3.1.28. - гематология и переливание крови

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении  
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук

**Михайлова Елена Алексеевна**  
**Гальцева Ирина Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Сметанина Наталия Сергеевна** - доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора – директор Управления по научно-аналитической работе с регионами Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

**Мартынкевич Ирина Степановна** – доктор биологических наук, руководитель научно-исследовательского Центра клеточной и молекулярной патологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства, г. Санкт-Петербург

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Защита состоится «20» сентября 2023 года в 14:30 часов на заседании диссертационного совета 21.1.023.01 (Д 208.135.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России и на сайте [www.blood.ru](http://www.blood.ru).

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 года

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

**Сысоева Елена Павловна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Апластическая анемия (АА) - заболевание системы крови, характеризующееся костномозговой недостаточностью, связанной с нарушением иммунных механизмов регуляции кроветворения, количественным дефицитом и функциональными дефектами стволовых кроветворных клеток, ведущих к развитию аплазии костного мозга (Е.А. Михайлова и др., 2020). В Европе заболеваемость составляет около двух случаев на миллион в год, в то время как в Азии заболевание выявляется в три раза чаще (К. Brzeźniakiewicz-Janus et al., 2020). Выделяют конституциональные и приобретенные формы АА. Конституциональная АА (анемия Фанкони, врожденный дискератоз (ВД), синдром Швахмана-Даймонда, анемия Даймонда-Блекфена и другие) редко выявляется у взрослых больных, не более чем в 10% случаев.

В 80-85% случаев диагностируется идиопатическая АА, основным механизмом развития которой является аутоагрессия олигоклональных цитотоксических Т-лимфоцитов против клеток-предшественников кроветворения с неконтролируемой продукцией цитокинов (интерферона- $\gamma$ , фактора некроза опухоли- $\alpha$  и др.) и медиаторов пролиферации Т-клеток, апоптоза (интерлейкина-2 и других) (Е.А. Михайлова и др., 2020). Эти механизмы инициируют нарушение регуляции клеточного цикла, снижение колониеобразующей способности, подавление пролиферации и индукцию апоптоза гемопоэтических клеток. Пусковой фактор активации иммунной системы неизвестен (А.В. Абрамова и др., 2020). В настоящее время изучается роль внутренних дефектов гемопоэтических стволовых клеток в патогенезе АА. Среди них: хромосомные aberrации, одиночные или множественные соматические мутации с развитием клонального кроветворения, потеря гетерозиготности короткого плеча 6 хромосомы, влияние стромального микроокружения, а также укорочение длины теломер (ДТ).

Теломеры являются концевыми участками хромосом, состоящими из гексаповторов «TTAGGG», не несущих наследственной информации, ключевая задача которых - сохранение целостности генетического материала в процессе митоза за счет способности присоединения новых нуклеотидных последовательностей взамен утерянных и формирования защитных молекулярных центров. Фермент теломераза и вспомогательные белковые комплексы (Шелтериновый, CST, RTEL1 и другие) обеспечивают поддержание адекватной ДТ. ДТ у больных АА может влиять на эффективность лечения (А. Kulagin et al., 2014; А. Narita et al., 2015; Н. Park et al., 2017; Р. Scheinberg et al., 2010). Также ее определение используется для проведения дифференциальной диагностики между приобретенной и некоторыми формами конституциональных аплазий костного мозга (S. Savage and B. Alter, 2009).

Существует два основных подхода к лечению АА, включающих проведение иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Комбинированная ИСТ является предпочтительной для большинства больных, позволяя достичь 60-90% длительную выживаемость при АА. Однако, остается группа рефрактерных больных к стандартной ИСТ (около 20-30%), что определяет необходимость дальнейшего изучения патофизиологических механизмов развития рефрактерности болезни и разработки новых методов терапии (A. Rovó et al., 2012; P. Scheinberg, 2021).

За последнее десятилетие в нескольких крупных исследованиях выделен ряд факторов, позволяющих прогнозировать ответ на ИСТ: интервал «установление диагноза – начало терапии», абсолютное количество нейтрофильных форм лейкоцитов, ретикулоцитов, наличие клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ), хромосомных aberrаций и некоторые другие. В то же время, накопленных данных недостаточно для достоверного прогнозирования результатов лечения, что требует выделения новых «маркеров» рефрактерности к терапии (A. Kulagin et al., 2014; H. Sakaguchi et al., 2014).

Таким маркером может служить ДТ, которая определяет вероятность ответа на ИСТ, развития рецидива и клональной трансформации, а также коррелирует с общей выживаемостью больных (H. Sakaguchi et al., 2014; P. Scheinberg et al., 2010). Дополнительные исследования по изучению ДТ в динамике на фоне терапии необходимы для более глубокого понимания патогенеза АА и повышения эффективности лечения.

**Цель исследования.** Изучение изменений длины теломерных районов ДНК у больных апластической анемией на разных этапах течения болезни.

#### **Задачи исследования**

1. Определить относительную и абсолютную длину теломер в мононуклеарах, моноцитах, лимфоцитах периферической крови, костного мозга у больных апластической анемией до начала лечения и у доноров с помощью метода flow-FISH.
2. Сравнить относительную и абсолютную длину теломер у больных апластической анемией и врожденным дискератозом.
3. Изучить длину теломер мононуклеаров периферической крови у больных апластической анемией в зависимости от тяжести и длительности заболевания.
4. Оценить эффективность иммуносупрессивной терапии, вероятность достижения ответа и частоту клональных осложнений в зависимости от исходной длины теломер.

5. Исследовать относительную длину теломер у больных апластической анемией в процессе лечения в общей группе и в зависимости от исходных значений.
6. Оценить длину теломер у больных апластической анемией, ранее не ответивших на иммуносупрессивную терапию.

### **Научная новизна исследования**

1. Разработан алгоритм пересчета относительной длины теломер (ОДТ) в абсолютную длину теломер (АДТ) при помощи сопоставления двух методов: flow-FISH (сочетание проточной цитометрии с флуоресцентной гибридизацией *in situ*) и ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени.
2. Впервые у больных АА выполнено сравнение ДТ в разных диагностических материалах (периферическая кровь, костный мозг), разных клеточных популяциях (мононуклеары, лимфоциты, моноциты) с использованием методики flow-FISH.
3. В диссертационной работе впервые показано отсутствие изменения ДТ у больных АА за период наблюдения в процессе лечения. Также не были обнаружены изменения данного параметра в динамике в группах больных с исходно более короткими и более длинными теломерами.

### **Практическая значимость работы**

В проведенном исследовании внедрена методика определения абсолютной ДТ для взрослых больных АА при помощи сопоставления flow-FISH и ПЦР в реальном времени. Была сформирована группа здоровых доноров различного возраста с целью получения референсных значений ОДТ и АДТ. Доказано, что предпочтительным материалом для определения ДТ у больных с костномозговой недостаточностью являются мононуклеары периферической крови. Методика определения ДТ позволяет проводить точную дифференциальную диагностику между приобретенной АА и ВД у взрослых больных.

Практическая значимость проведенного исследования заключается в определении дополнительных факторов прогноза ответа на ИСТ у больных АА, в частности относительной и абсолютной ДТ, что позволяет выбрать оптимальную тактику лечения.

### **Методология и методы исследования**

Основу для методологии составили отечественные и зарубежные работы по изучению патогенеза АА. Применяли цитометрические, цитогенетические методы исследования. Особое внимание уделялось воспроизведению методики по определению ОДТ методом flow-FISH, в том числе изучению группы здоровых доноров для получения референсных значений, а также

разработке метода пересчета ОДТ в АДТ при помощи сопоставления результатов проточной цитометрии и ПЦР в реальном времени.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Относительная и абсолютная длина теломер, определенная методом flow-FISH, сопоставима у доноров и у больных апластической анемией до начала лечения. Оптимальным материалом для исследования длины теломер у больных с костномозговой недостаточностью являются мононуклеары периферической крови ввиду отсутствия различий с клетками костного мозга и отдельно выделенными популяциями лимфоцитов и моноцитов.
2. Длина теломер, наряду с другими факторами прогноза (тяжесть заболевания, выявленные хромосомные aberrации и другие), может рассматриваться как предиктор достижения ремиссии апластической анемии. Исходно более низкое значение длины теломер в дебюте заболевания является фактором неблагоприятного прогноза ответа на иммуносупрессивную терапию.
3. Достоверные изменения длины теломер у больных апластической анемией за время наблюдения отсутствовали, при этом у больных, рефрактерных к ранее проводимой иммуносупрессивной терапии, были обнаружены более короткие теломеры, что может быть связано с длительным периодом дефектного кроветворения в условиях аплазии костного мозга. Уменьшение длины теломер при повторных исследованиях может сопровождать появление новых хромосомных aberrаций.

### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность полученных результатов основана на изучении достаточного объема научной литературы и примененной методологии исследования, многоступенчатого статистического анализа данных.

Апробация работы состоялась 15 мая 2023 года на заседании проблемной комиссии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» (протокол №4).

Анализ промежуточных результатов представлен в виде устного доклада «Длина теломер у больных апластической анемией как маркер эффективности иммуносупрессивной терапии и возможного развития клональных осложнений» на «VI конгрессе гематологов России и III конгрессе трансфузиологов России», прошедшем в Москве 21-23.04.2022. Эти данные были опубликованы в материалах «VI Конгресса гематологов России и III Конгресса трансфузиологов России» в журнале «Гематология и трансфузиология», 2022;67(2):34-35. Также результаты будут

опубликованы в журнале «Онкогематология» («Длина теломер различных клеток крови и костного мозга больных апластической анемией», 2023 год, 3-й выпуск, принята в печать).

Результаты методологической части работы были опубликованы в виде статьи «Сопоставление методов полимеразной цепной реакции и проточной цитометрии для измерения длины теломер лейкоцитов человека» («Клиническая лабораторная диагностика». 2021; 66(3)) (И.В. Гальцева и др., 2021) и патента на изобретение № 2763935 «Способ определения абсолютной длины теломер лейкоцитов с помощью метода проточной цитометрии».

По теме диссертации опубликовано 7 работ в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 15 тезисных сообщений, в том числе 7 – в англоязычных сборниках конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 110 страницах машинописного текста и включает разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Практические рекомендации», «Заключение» и «Список литературы». Работа иллюстрирована 22 рисунками, содержит 18 таблиц. Список литературы включает 98 литературных источников: 10 отечественных и 88 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Характеристика больных

С октября 2019 года по июль 2022 года в исследование было включено 45 больных с впервые установленным диагнозом идиопатической АА. Больные проходили обследование в подразделениях ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации. Критерии установления диагноза АА соответствовали национальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению апластической анемии (2019 год) (Е.А. Михайлова и др., 2020). У всех больных, включенных в исследование, ранее не проводилась комбинированная ИСТ с использованием АТГ. Были выделены три группы больных в зависимости от степени тяжести: нетяжелая апластическая анемия (НАА) (n=23), тяжелая апластическая анемия (ТАА) (n=13) и сверхтяжелая апластическая анемия (СТАА) (n=9). При цитогенетическом исследовании, проведенном до начала ИСТ, у 5 больных были обнаружены хромосомные aberrации, такие как трисомия 8 и делеция длинного плеча 13 хромосомы. В одном случае также ретроспективно была выявлена моносомия 7 по данным FISH-исследования. Во всех случаях не было выявлено признаков миелодисплазии по данным исследования миелограммы и трепанобиоптата костного мозга.

В качестве контрольной группы было отобрано 32 донора крови и здоровых добровольца. У 10 здоровых добровольцев также проводилось динамическое исследование ДТ. Помимо анализа ДТ клеток периферической крови, в качестве группы контроля также была оценена ДТ клеток, выделенных из костномозговой взвеси 10 здоровых доноров, которым не проводилась предшествующая стимуляция гранулоцитопоэза ростовыми факторами. Забор костномозговой взвеси проводился во время процедуры эксфузии костного мозга. Группы сравнения составили больные рефрактерной апластической анемией (РАА) (n=9), которым было проведено как минимум 2 курса АТГ и больные с установленным диагнозом ВД во взрослом возрасте (n=5) до назначения патогенетического лечения. Характеристика групп больных и доноров отображена в Таблице 1.



Таблица 1 - Клинико-лабораторная характеристика больных и доноров в различных группах исследования.

| Параметр                                | Больные АА<br>(n=45) | Группы сравнения        |                        | Контрольные группы        |                                       |
|---|----------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
|   |                      | Больные<br>РАА<br>(n=9) | Больные<br>ВД<br>(n=5) | Доноры<br>крови<br>(n=32) | Доноры<br>костного<br>мозга<br>(n=10) |
| Пол (м/ж)                               | 24 / 21              | 5 / 4                   | 3 / 2                  | 16 / 16                   | 4 / 6                                 |
| Возраст, лет                            | 29 (17-64)           | 34 (19-44)              | 26 (24-51)             | 32 (19-62)                | 23 (15-40)                            |
| Длительность<br>болезни, мес            | 3 (1-22)             | 24 (16-48)              | 26 (9-90)              | -                         | -                                     |
| НАА/ТАА/СТАА                            | 23/13/9              | 3/2/4                   | 4/1/0                  | -                         | -                                     |
| Выявлен / не выявлен<br>ПНГ-клон        | 35/10                | 5/4                     | 0/5                    | -                         | -                                     |
| <i>Показатели периферической крови</i>  |                      |                         |                        |                           |                                       |
| Гемоглобин, г/л                         | 72<br>(52-100)       | 67<br>(65-95)           | 76<br>(65-118)         | Норма:<br>130-160         | Норма:<br>130-160                     |
| Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$      | 0,65<br>(0,03-2,56)  | 0,5<br>(0,15-1,37)      | 0,89 (0,3-<br>1,53)    | Норма:<br>2-5,5           | Норма:<br>2-5,5                       |
| Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$      | 15<br>(3-37)         | 9<br>(7-29)             | 33<br>(7-71)           | Норма:<br>180-360         | Норма:<br>180-360                     |
| Ретикулоциты,<br>$\times 10^9/\text{л}$ | 27,9<br>(4,3-95,9)   | 20,7<br>(8,8-84,6)      | 49,2<br>(10-59,5)      | Норма:<br>20-100          | Норма:<br>20-100                      |
| Ферритин, нг/мл                         | 779<br>(8-2052)      | 2775<br>(715-6763)      | 896<br>(42-1414)       | Норма:<br>24-336          | Норма:<br>24-336                      |

Больные получали лечение по стандартному протоколу ИСТ, включающему применение лошадиного АТГ (20 и 40 мг/кг/сут в течение 5 и 4 дней соответственно) и циклоспорина (ЦС) (5-10 мг/кг в сутки с 14 дня после АТГ в течение 2 лет с подбором индивидуальной дозировки в зависимости от концентрации препарата в сыворотке крови) (Е.А. Михайлова и др., 2020). Доза АТГ 20 мг/кг/сут была применена у 34 (76%) больных, у 9 (20%) - 40 мг/кг/сут. Двое больных (4%) были сняты со стандартного протокола ИСТ ввиду тяжелых нежелательных реакций на АТГ. У 8 больных (18%) с первого дня курса был добавлен элтромбопаг в дозе 150 мг/сут в непрерывном режиме. Ответом на ИСТ считалось достижение гематологического улучшения (ГУ) с трансфузионной независимостью, частичной ремиссии (ЧР) и полной ремиссий (ПР) (Е.А. Михайлова и др., 2020). В случае отсутствия ответа к 3-6 месяцу проводился второй курс комбинированной ИСТ (АТГ+ЦС) (n=9) с или без включения в схему терапии элтромбопага.

## Дизайн исследования

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

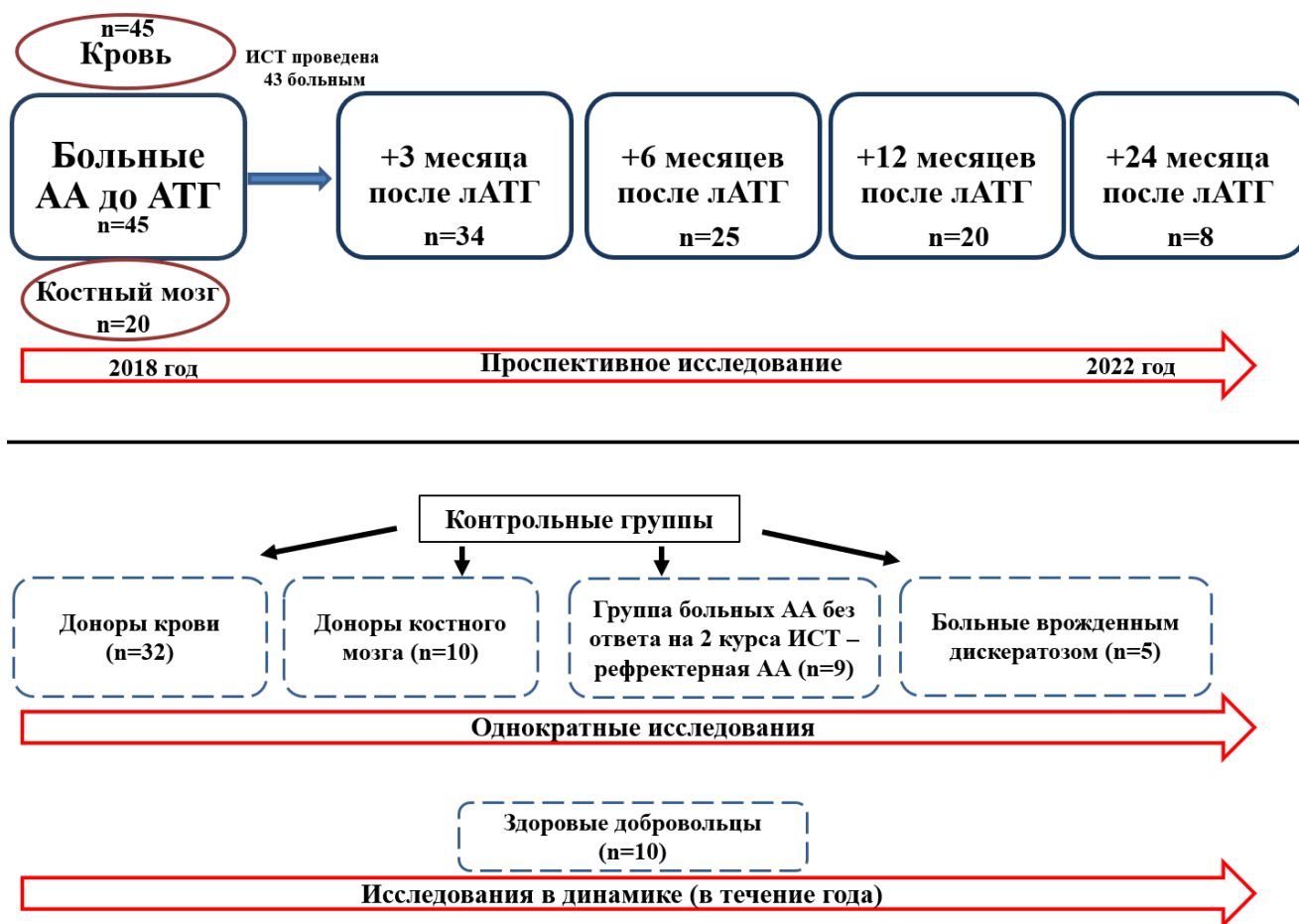


Рисунок 1 – дизайн работы с указанием числа больных и временного регламента

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Определение относительной длины теломер методом flow-FISH

Забор биологического материала осуществлялся двумя способами. Периферическая кровь больных и доноров (6 мл) набиралась в две пробирки с антикоагулянтом (гепарин). Костномозговая взвесь (2 мл) набиралась при выполнении аспирационной биопсии (стерильная пункция / пункция из подвздошной кости) в две пробирки с антикоагулянтом (гепарин). После доставки в лабораторию выполнялось выделение и замораживание мононуклеарной фракции.

Определение ОДТ осуществляли при помощи метода flow-FISH. Для этого использовался набор Telomere PNA Kit/FITC (Dako, Дания). В качестве контроля использовалась клеточная линия «1301» (Т-клеточный лимфобластный лейкоз) (АТСС, Великобритания) с известной и неизменяющейся длиной теломер. Цитометрический анализ проводился с использованием проточного цитометра CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Схема опыта по определению длины теломер представлена на Рисунке 2.

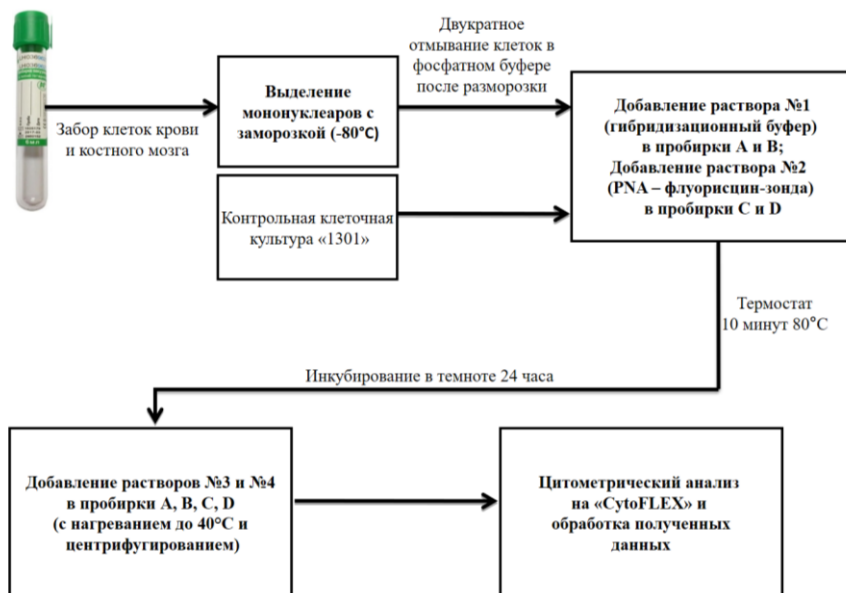


Рисунок 2 - Схема опыта по определению ОДТ методом flow-FISH

### Определение абсолютной длины теломер методом flow-FISH

В рамках диссертационной работы была разработана и запатентована методика сопоставления ПЦР в реальном времени и flow-FISH с целью достоверного определения АДТ.

Принцип исследования заключался в сопоставлении данных по определению ДТ у 21 донора одновременно методами ПЦР, позволяющим вычислить АДТ, выраженную в тысячах пар нуклеотидов (тыс. п.н.), и flow-FISH, определяющим среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ).

Анализ мононуклеаров методом проточной цитометрии и ПЦР выполняли согласно методикам, описанным ранее (И.В. Гальцева и др., 2021). Изначально измеряли СИФ из проб, инкубированных с и без добавления гибридизационного зонда. Полученную разницу СИФ переводили в молекулярный эквивалент флуоресценции (МЭФ), с помощью предварительно построенных калибровочных кривых (использовался набор «FluoroSpheres 6-Peak, Sensitivity Particles»). Подробное описание перехода от СИФ к МЭФ представлено в исследованиях, опубликованных ранее (N. Rufer et al., 1998; И.А. Дёмина и др., 2018). Переход от СИФ к МЭФ необходимо было осуществлять по причине того, что СИФ может существенно изменяться под действием факторов окружающей среды – влажности, температуры, особенностей работы цитометра и т.д., в то время как МЭФ – более стабильная величина. Далее получали уравнение регрессии между выявленной АДТ, полученной с помощью ПЦР, и МЭФ:  $ADT = 0,0043 * MЭФ$ , которое затем возможно было использовать для перевода значений МЭФ в АДТ для клеток всех исследуемых образцов.

### Статистический анализ данных

Для статистической обработки данных применяли программное обеспечение “SAS 9.4” (Sas institute inc., Cary, NC, США). Для анализа результатов использовали классические методы описательной статистики, частотный и регрессионный анализы.

Распределение основных целевых переменных (ДТ) не отличалось существенно от нормального, поэтому параметры их распределений представлялись в виде средних и стандартных отклонений, а для анализа использовались линейные методы.

Для анализа динамики ДТ использовались многопараметрические регрессионные модели на повторных наблюдениях (процедура MIXED SAS). Для анализа ассоциации конечных точек с исследуемыми параметрами ДТ и риск-факторами применялись методы событийного анализа, реализованные в процедурах SAS – LIFETEST, PHREG. Для отбора значимых связей использовались сценарии пошаговой селекции факторов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Определение относительной и абсолютной длины теломер мононуклеаров крови и костного мозга у больных апластической анемией до начала лечения**

ДТ в мононуклеарах периферической крови определялась у всех больных АА (n=45) до начала ИСТ. Средняя ОДТ составила 6,97 (5,9-16,4), а АДТ – 11,6 (7,3-20,1) тыс. п.н. У 20 больных до проведения ИСТ были также исследованы мононуклеары костного мозга. Средняя ОДТ составила 6,82 (5,3-10,9). АДТ составила 11,0 тыс.п.н. (6,7-20,9). При сравнении ОДТ и АДТ мононуклеаров крови с мононуклеарами костного мозга не получено достоверных отличий в ДТ клеток различных биологических материалов. Поэтому на последующих этапах материалом для исследования была выбрана периферическая кровь, ввиду простоты и безопасности манипуляций для ее получения.

### **Сравнение длины теломер больных апластической анемией и доноров**

Для определения референсных значений и дальнейшего сравнения исследована относительная и абсолютная ДТ мононуклеаров периферической крови доноров (n=32), которые были представлены взрослыми испытуемыми различных возрастных групп. Среднее значение ОДТ в этой выборке составило 7,39 (диапазон 4,67-10,14), а АДТ – 11,03 тыс. п.н (5,05-16,45). Помимо этого, была исследована ДТ у 10 доноров костного мозга: среднее значение ОДТ составило 7,1 (6,4-8), а АДТ - 10,1 тыс.п.н. (8,2-13,7). Как и в других крупных исследованиях (P. Lansdorp, 2022; M. Shammas, 2011), была подтверждена значимая обратная корреляция между ДТ и возрастом здорового контроля.

Было проведено сравнение относительной и абсолютной ДТ в группах больных АА и доноров крови. ОДТ мононуклеаров периферической крови между группами больных АА до начала лечения (среднее 7,22; диапазон 4,9-16,4) и донорами крови (среднее 7,39; диапазон 4,67-10,14) достоверно не различалась ( $p = 0,64$ ). Также не обнаружено достоверно значимых различий в АДТ мононуклеаров периферической крови между группами больных АА в дебюте болезни (среднее 11,03 тыс.п.н.; диапазон 3,5-20,1) и донорами крови (среднее 10,7 тыс. п.н.; диапазон 5,05-16,45) ( $p = 0,65$ ) (Рисунок 3). При исследовании мононуклеаров костного мозга средняя ОДТ в группе больных АА составила 6,82 (5,3-10,9), а в группе доноров 7,1 (6,4-8) ( $p = 0,97$ ). Средняя АДТ составила 11,7 (6,7-20,9) и 10,1 (8,2-13,7) тыс. п.н. соответственно ( $p = 0,2$ ).

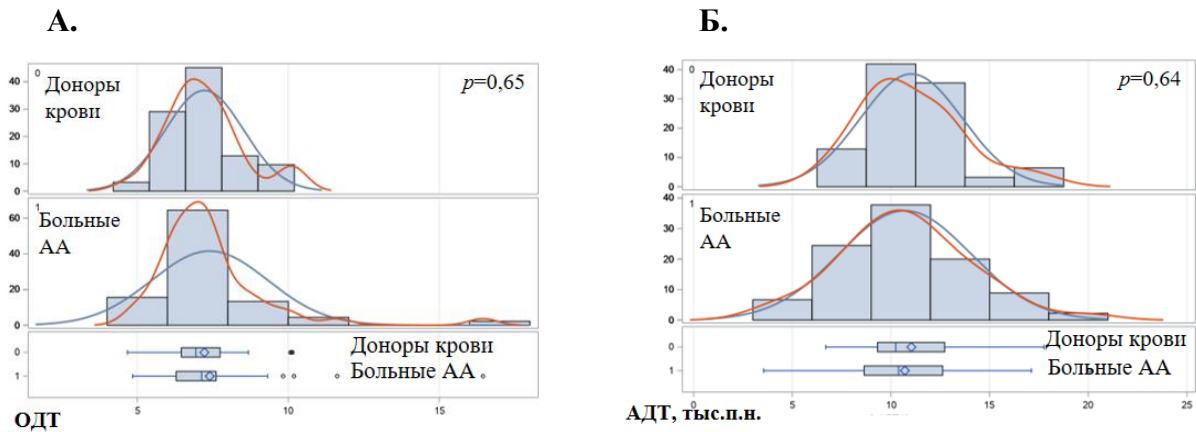


Рисунок 3 - Распределение и сравнение относительной (А) и абсолютной (Б) ДТ мононуклеаров периферической крови в группах здоровых доноров (0) и больных АА до начала лечения (1)

### Сравнение относительной и абсолютной длины теломер в мононуклеарах, лимфоцитах, моноцитах периферической крови и костного мозга

Была исследована ДТ в различных клеточных популяциях периферической крови и костного мозга у доноров. ОДТ и АДТ моноцитов, лимфоцитов и мононуклеаров коррелировала в этой группе как в периферической крови, так и в костном мозге. Следующим этапом была выполнена оценка ДТ в различных клетках периферической крови и костного мозга у больных АА до начала лечения. Была выявлена сильная корреляция между ОДТ и АДТ моноцитов, лимфоцитов, мононуклеаров периферической крови и костного мозга.

Таким образом, у больных АА и у доноров не получено существенных различий между характеристиками ДТ мононуклеаров, моноцитов и лимфоцитов. Исследование мононуклеаров периферической крови является целесообразным у больных АА.

### Сравнение относительной и абсолютной длины теломер в группах больных апластической анемией и врожденным дискератозом

Была определена относительная и абсолютная ДТ в группе больных ВД (n=5). Средняя ОДТ составила 3,57 (3,0-3,97), а АДТ 4,47 тыс.п.н. (3,7-5,26), что значительно меньше, чем у больных АА до начала лечения и у доноров ( $p = 0,006 / 0,005$ ). Ни у одного больного АА относительная длина теломер не соответствовала диапазону колебаний значений у больных ВД.

### **Относительная и абсолютная длина теломер мононуклеаров крови у больных апластической анемией в зависимости от тяжести и длительности заболевания**

Следующим шагом было выполнено сравнение ОДТ и АДТ в группах больных с различной тяжестью заболевания. В группе больных с НАА средняя ОДТ составила 7,38 (4,9-11,6), что достоверно не отличалось от больных с ТАА (7,23 (5,1-10,2)) и СТАА (7,67 (5,3-16,5)) ( $p = 0,87$ ). Также не получено достоверных различий между АДТ в группах НАА и ТАА/СТАА. Так, среднее значение в группе больных с нетяжелой формой составило 10,81 тыс. п.н., а в группах с тяжелой и сверхтяжелой формами 11,04 и 9,95 тыс. п.н. соответственно ( $p = 0,75$ ).

Было выявлено, что среднее время от появления первых симптомов болезни до начала лечения при НАА и ТАА/СТАА различное (7 и 4 месяца соответственно). Показано, что при длительности заболевания более 6 месяцев до начала ИСТ среднее значение ДТ были значимо меньше (среднее 6,72; диапазон 4,8-9,3), чем при более коротком сроке наблюдения (среднее 7,97; диапазон 5,7-16,4) ( $p = 0,032$ ). Таким образом, ДТ сопоставима при разной степени тяжести АА (НАА/ТАА), но обнаружено, что уменьшение ОДТ может быть связано с длительностью заболевания более 6 месяцев до начала лечения.

### **Оценка вероятности ответа, развития рецидива и клональных осложнений в зависимости от исходной относительной длины теломер**

С целью оценки влияния ДТ на вероятность достижения ответа на лечение и развитие неблагоприятных событий (рецидив, клональная эволюция) были выделены группы больных с различными исходными показателями ОДТ. Было показано, что «ультракороткие теломеры» (ОДТ в интервале, соответствующем первому перцентилю распределения в группе здорового контроля) не определялись ни у одного больного АА. В тоже время у всех больных с ВД были выявлены «ультракороткие теломеры» на момент диагностики. Снижение ОДТ до значений, соответствующих 10-му перцентилю здорового контроля, было выявлено у трех больных АА. Отмечено, что у двух из трех этих больных не получен ответ на лечение, а у третьего – достигнуто ГУ, но не ремиссия заболевания.

В дальнейшем выполнено разделение больных АА на две группы в зависимости от исходной ОДТ: с короткими теломерами (ДТ соответствует I-II квартилям здорового контроля,  $n=20$ ) и длинными теломерами (ДТ соответствует III-IV квартилям здорового контроля,  $n=23$ ). При анализе кумулятивной частоты ответов на ИСТ выявлена тенденция к увеличению частоты общего ответа на ИСТ в группе больных АА с исходно более длинными теломерами.

Относительная и абсолютная ДТ, определенные до начала лечения, достоверно влияли на частоту достижения ремиссии ( $p < 0,05$ ). Подробные данные по частоте ответов на лечение в зависимости от исходной ДТ приведены в Таблице 2.

Таблица 2 – Частота достижения ответа на ИСТ в зависимости от исходной ОДТ.

| Группа больных                    | Число больных | ГУ, % | ЧР, % | ПР, % |
|-----------------------------------|---------------|-------|-------|-------|
| Все больные АА                    | 43            | 65 %  | 49 %  | 23 %  |
| Больные АА с короткими теломерами | 20            | 53 %  | 37 %  | 5 %   |
| Больные АА с длинными теломерами  | 23            | 80 %  | 62 %  | 41%   |
| Достоверность, «р»                |               | 0,059 | 0,028 | 0,003 |

За период наблюдения зафиксировано 3 рецидива АА. У одного больного исходно определялись короткие теломеры, а у двух других – длинные. Влияние ДТ на частоту развития рецидивов необходимо оценить в более долгосрочных наблюдениях.

В общей группе больных АА ( $n=43$ ) частота развития клональных осложнений (появление новых цитогенетических aberrаций, трансформация в МДС, развитие ПНГ) составила 24% ( $n=10$ ). Так, ПНГ развилась у 5 из 43 больных. Еще у 5 больных отмечено появление новых цитогенетических aberrаций в процессе лечения (3 случая – моносомия 7, по 1 случаю – трисомия 8 и тетраплоидия). В одном из этих случаев была констатирована трансформация в МДС, а в четырех других не было выявлено признаков миелодисплазии. У больных с более короткими и более длинными теломерами в дебюте заболевания частота развития ПНГ была сопоставима (3 из 20 больных – 15% и 2 из 23 больных - 9% соответственно;  $p = 0,52$ ). В группе больных АА с короткими теломерами в 4 случаях (20%) выявлены новые цитогенетические поломки, в то время как в группе больных с длинными теломерами зафиксирована только одна (5%), однако, ввиду малой выборки, достоверных различий не получено ( $p = 0,11$ ). На Рисунке 4 отображена частота развития клональных осложнений у больных, участвовавших в проспективном исследовании.



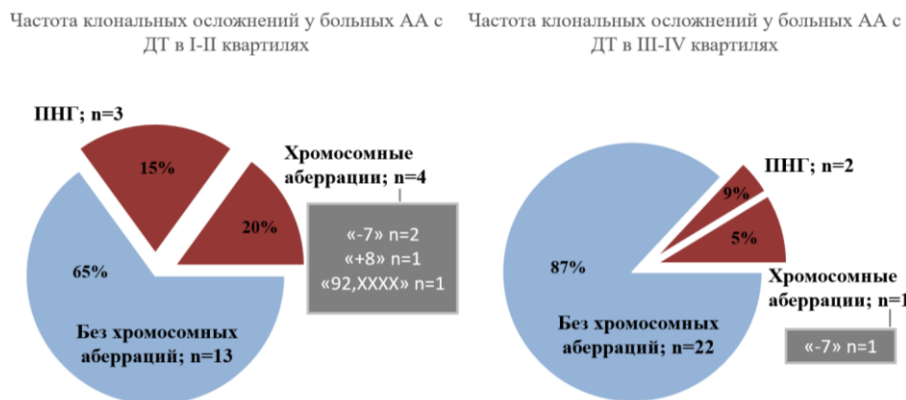


Рисунок 4 – Частота развития клональных осложнений у больных АА в зависимости от исходной ОДТ

Таким образом, не получено достоверных различий в частоте развития клональных осложнений в зависимости от исходной ДТ. Выявлена тенденция к увеличению частоты появления новых хромосомных aberrаций у больных с более короткими теломерами.

### Оценка эффективности иммуносупрессивной терапии и вероятности ответа в зависимости от клиничко-лабораторных показателей

По данным многофакторного и однофакторного анализа отобранных факторов риска было показано, что длительность заболевания менее 8 месяцев, нетяжелая форма АА (нейтрофилы более  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоциты более  $1,2 \times 10^9/\text{л}$ , инициальный гемоглобин более 75 г/л) достоверно влияли на частоту достижения ГУ ( $p < 0,05$ ). Относительная и абсолютная ДТ также влияла на достижение ГУ, однако, достоверных различий получено не было ( $p > 0,05$ ) (Рисунок 5). Остальные факторы достоверно не влияли на достижение данных конечных точек.

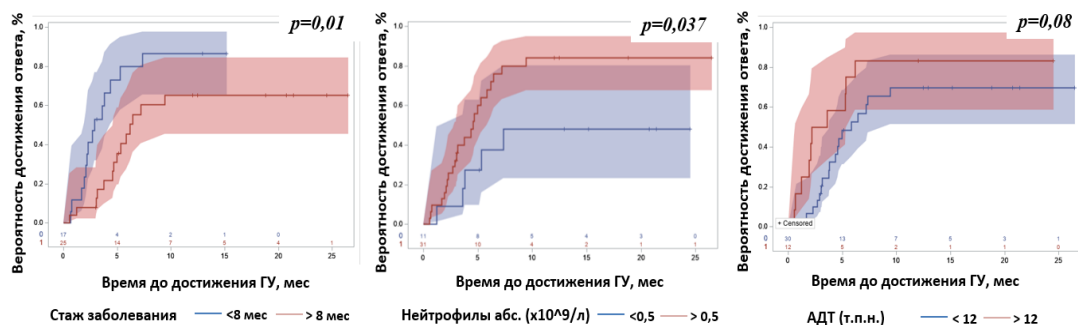


Рисунок 5 – Вероятность достижения ГУ у больных АА в зависимости от длительности заболевания, исходного количества нейтрофилов и АДТ

На достижение ремиссии апластической анемии (частичной и полной), достоверно влияло исходное количество CD34+ клеток в костном мозге более 0,3% и ОДТ более 6,94, а также АДТ, превышающая 12 тыс.п.н. (Рисунок 6).

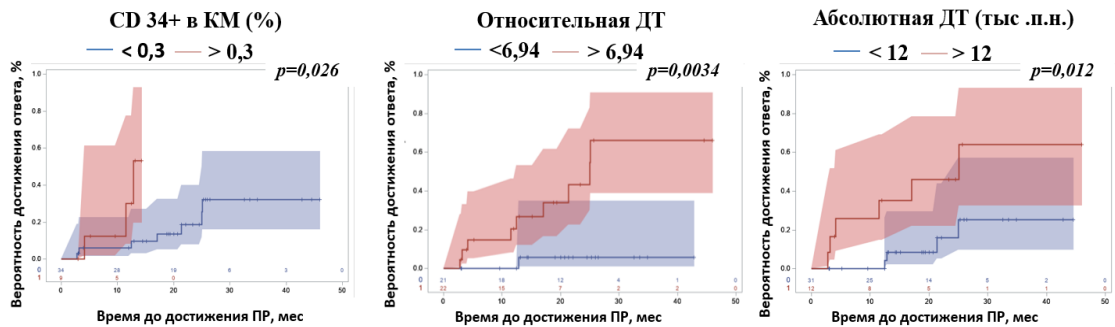


Рисунок 6 – Вероятность достижения полной ремиссии АА в зависимости от исходного количества CD34+ клеток в костном мозге и АДТ

При проведении дальнейшего однофакторного анализа не получено достоверных данных, указывающих на влияние исходной ОДТ и АДТ на частоту развития клональных осложнений и неблагоприятных событий, хотя имелась тенденция к увеличению вероятности развития поздних (на сроке более 40 месяцев наблюдения) неблагоприятных событий в группе больных с АДТ менее 12 тыс.п.н.

Таким образом, были определены факторы, влияющие на достижение общего ответа и ремиссии у больных АА, такие как тяжесть и длительность болезни, количество CD34+ клеток в костном мозге до лечения, а также инициальные значения относительной и абсолютной ДТ.

#### Анализ динамики длины теломер у больных апластической анемией в процессе терапии

У 43 больных АА и 10 здоровых добровольцев было проведено изучение ДТ в динамике. Для исследования динамики изучаемых признаков были использованы регрессионные модели на повторных наблюдениях. Не было выявлено достоверных различий в изменении ОДТ мононуклеаров крови больных АА в течение 24 месяцев ( $p = 0,77$ ), хотя имелась тенденция к укорочению теломер к +12 и +24 месяцам терапии. Не было обнаружено достоверных различий ( $p = 0,59$ ) и в изменении АДТ мононуклеаров крови на разных сроках исследования.

У здоровых добровольцев также не отмечено достоверно значимых ( $p = 0,58$ ) изменений ОДТ мононуклеаров крови в течение года. Не было выявлено достоверно значимых изменений

( $p = 0,76$ ) и АДТ. Динамика изменения ОДТ и АДТ у больных АА и доноров отображена на Рисунке 7.

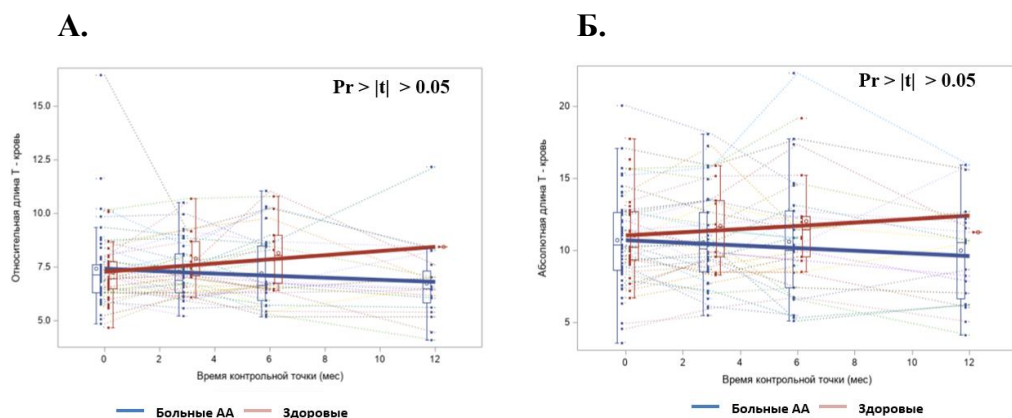


Рисунок 7 – Изменения относительной (А) и абсолютной (Б) ДТ мононуклеаров крови больных АА в процессе лечения и здоровых добровольцев в процессе динамического наблюдения

При исследовании относительной и абсолютной ДТ в мононуклеарах костного мозга в динамике у больных АА достоверных изменений не получено (Рисунок 8).

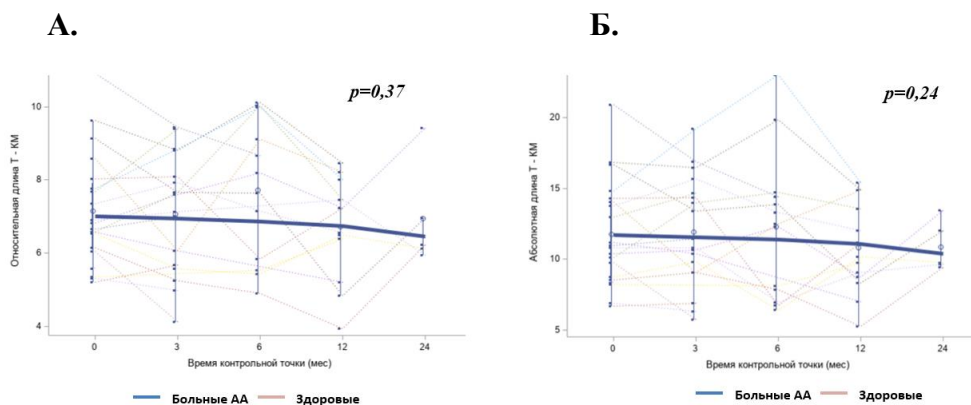


Рисунок 8 – Изменения относительной (А) и абсолютной (Б) ДТ мононуклеаров костного мозга больных АА в процессе лечения

Следующим этапом исследования была выполнена оценка ОДТ в динамике в группах больных АА с исходно меньшей и большей ОДТ. Было показано, что в обеих группах в процессе терапии не происходит достоверно значимых изменений ДТ и она остается стабильной на протяжении 12 месяцев.

При анализе изменений ДТ в динамике был выявлен феномен укорочения теломер по мере появления новых патологических клонов, то есть развития клональной эволюции. У всех

больных, кроме одного, выявлено снижение показателя ОДТ на 10-35% от исходного. При этом, у этого больного уже до начала лечения был выявлен клон с трисомией 8, а по мере проведения ИСТ и достижения ГУ - второй клон с моносомией 7.

Отдельного внимания заслуживает больной №3. По мере выявления клона с моносомией 7 (СЦИ, FISH) и достижения ГУ, отмечалось снижение ОДТ с 6,29 до 5,02. При наблюдении за больным в течение последующего года была отмечена стойкая элиминация клона с моносомией 7 (нормальный кариотип по данным СЦИ, отсутствие аномалий хромосомы 7 по данным FISH-исследования), сохранялся ответ на лечение. При этом было отмечено восстановление ОДТ до нормальных значений (7,68). Изменения ДТ на фоне терапии у больных АА изображены на рисунке 9.

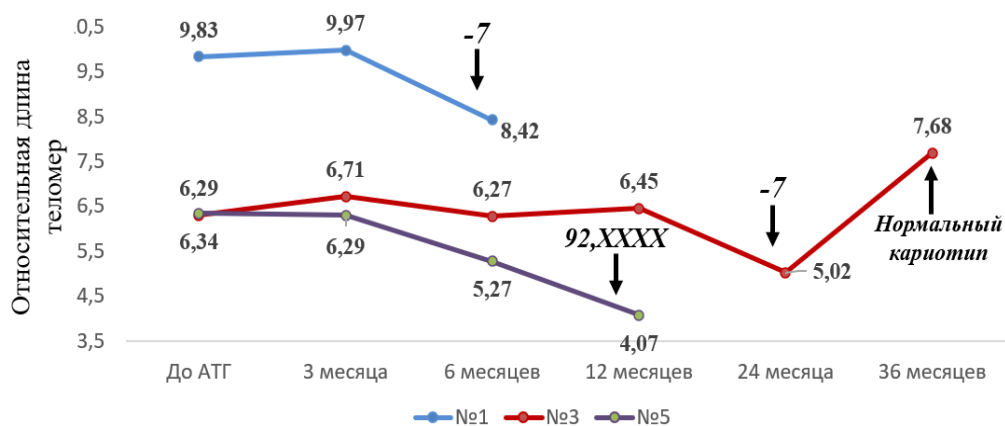


Рисунок 21 – Значения изменения ОДТ мононуклеаров крови у больных №1, 3, 6 в процессе лечения и при появлении новых патологических клонов

Таким образом, не выявлено статистически достоверных различий изменений ДТ мононуклеаров крови и костного мозга у больных АА в динамике (медиана наблюдения 22 месяца (3-46)). По мере выявления новых хромосомных aberrаций отмечалось дополнительное уменьшение ДТ. У одного больного зафиксировано восстановление ДТ после спонтанной элиминации патологического клона с моносомией 7 и достижения ремиссии.

### **Сравнение относительной и абсолютной длины теломер между группами больных апластической анемией в дебюте заболевания и больных с длительным анамнезом рефрактерности к лечению**

Была изучена ДТ у больных АА, рефрактерных к ИСТ. Средняя величина ОДТ в этой группе составила 5,8 (4,5-6,9), что достоверно меньше, чем в группе больных АА до лечения

( $p = 0,004$ ). Среднее значение АДТ у больных РАА составило 6,55 тыс. п.н. (4,08-9,44), что также было значимо меньше по сравнению с группой АА до начала лечения ( $p = 0,038$ ). ОДТ у больных АА на 12 месяце ИСТ, которые достигли ГУ или ремиссию заболевания (16 из 20 больных; средняя ОДТ 7,82; диапазон 6,2-16,5) была достоверно больше по сравнению с больными РАА ( $p = 0,01$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Относительная и абсолютная длина теломер у больных апластической анемией и у доноров, определенная методом flow-FISH, была сопоставима в мононуклеарах, лимфоцитах, моноцитах периферической крови и костного мозга.
2. Установлено, что у больных приобретенной апластической анемией длина теломер значимо больше по сравнению с больными врожденным дискератозом ( $p=0,006$ ), что может быть использовано для проведения дифференциальной диагностики, наряду с фенотипическими особенностями и молекулярными методами исследования.
3. Отмечено, что относительная и абсолютная длина теломер достоверно не различалась при разных формах апластической анемии (нетяжелая и тяжелая), но зависела от длительности заболевания до начала иммуносупрессивной терапии: при сроке более 6 месяцев среднее значение ОДТ составило 6,72 (4,8-7,5), а при менее 6 месяцев – 7,97 (5,7-16,4) ( $p=0,032$ ).
4. Определение исходно более коротких теломер (соответствующих I-II квартилям здорового контроля) у больных апластической анемией может служить дополнительным фактором неблагоприятного прогноза ответа на иммуносупрессивную терапию.
5. При изучении длины теломер мононуклеаров крови и костного мозга у больных апластической анемией в течение двух лет терапии не обнаружено статистически достоверных изменений по сравнению с исходными данными.
6. Относительная длина теломер у больных апластической анемией до начала лечения (среднее 7,2; диапазон 4,9-16,4), а также у больных, достигнувших гематологическое улучшение (среднее 7,82; диапазон 6,2-16,5), была значимо больше по сравнению с этим показателем у больных, не ответивших ранее на иммуносупрессивную терапию (среднее 5,8; диапазон 4,5-6,9).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение относительной и абсолютной ДТ рекомендовано на этапах дифференциальной диагностики между приобретенной АА и ВД у взрослых больных в совокупности с фенотипическими особенностями и молекулярными методиками. Методика flow-FISH воспроизводима, обладает высокой специфичностью и может быть использована в клинической практике, а исследование возможно выполнить в короткие сроки. Исследование ДТ у взрослых больных с костномозговой недостаточностью целесообразно проводить в мононуклеарах периферической крови.
2. Проведение исследования по измерению ДТ у больных АА до начала ИСТ рекомендовано с целью обнаружения возможного исходного укорочения теломер, что, в совокупности с другими традиционными факторами риска (возраст, тяжесть заболевания, наличие ПНГ-клона, некоторых хромосомных aberrаций), позволяет прогнозировать ответ на лечение и выбрать наиболее подходящую тактику терапии (ИСТ, алло-ТГСК).

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изменение дифференцировочного потенциала стромальных предшественников в костном мозге больных апластической анемией в дебюте заболевания // И.Н. Шипунова, А.И. Дорофеева, Н.А. Петинати, Н.М. Капранов, Ю.О. Давыдова, **А.В. Лучкин**, З.Т. Фидарова, Е.А. Михайлова // Гематология и трансфузиология. - 2020. - Т. 65. - №1. - С. 244.
2. Иммуносупрессивная терапия больных апластической анемией: успехи и неудачи (одноцентровое исследование 2007-2016 гг.) / Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, **А.В. Лучкин**, В.В. Троицкая, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, Г.А. Клясова, А.М. Ковригина, С.М. Куликов, Ю.А. Чабаева, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко, Т.Н. Обухова // Терапевтический архив. - 2020. - Т. 92. - № 7. - С. 4-9.
3. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки костного мозга больных апластической анемией сохраняют способность к поддержанию кроветворных предшественников, несмотря на выраженные изменения экспрессии генов / А.И. Дорофеева, И.Н. Шипунова, Н.И. Дризе, **А.В. Лучкин**, А.В. Абрамова, З.Т. Фидарова, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, Е.А. Михайлова, Е.Н. Паровичникова // Клеточные технологии в биологии и медицине. - 2021. - № 4. С. 233-237.
4. Наличие клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии и другие факторы, влияющие на эффективность иммуносупрессивной терапии у больных идиопатической апластической

- анемией // З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, **А.В. Лучкин** // Гематология и трансфузиология. - 2019. - Т. 64. - № 3. - С. 342-352.
5. Оптимальная доза лошадиного антиглобулина для лечения взрослых больных приобретенной апластической анемией: результаты проспективного одноцентрового рандомизированного исследования // З.Т. Фидарова, Е.А. Михайлова, А.В. Абрамова, **А.В. Лучкин**, В.В. Троицкая, И.В. Гальцева, Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, В.Н. Двирнык, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. - 2020. - Т. 65. - №1. - С. 51.
  6. Опыт использования элтромбопага в первой линии лечения больных апластической анемией в сочетании с иммуносупрессивной терапией на базе ФГБУ “НМИЦ гематологии” МЗ РФ и ГКБ им. С.П. Боткина / Е.А. Михайлова, **А.В. Лучкин**, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, В.В. Троицкая, В.Н. Двирнык, А.А. Агаширинова, О.Ю. Виноградова, Ю.В. Ларина, В.В. Птушкин, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. - 2020. - Т. 65. - №1. - С. 39-40.
  7. Особенности субпопуляционного состава Т-клеток у пациентов с апластической анемией на разных этапах течения заболевания / А.В. Абрамова, Н.М. Капранов, З.Т. Фидарова, **А.В. Лучкин**, Ю.О. Давыдова, И.В. Гальцева, Е.А. Михайлова, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. - 2020. - Т. 65. - №1. - С. 56.
  8. Применение элтромбопага в программах лечения больных апластической анемией / Е.А. Михайлова, **А.В. Лучкин**, А.В. Абрамова, З.Т. Фидарова, В.В. Троицкая, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, А.М. Ковригина, Г.А. Алимова, Т.Н. Обухова, Т.В. Абрамова, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. – 2022. Т. 67. - №1. – С. 29-40.
  9. Семейный случай врожденного дискератоза. Клиническое наблюдение / **А. В. Лучкин**, Е. А. Михайлова, З. Т. Фидарова, В.В. Троицкая, И.В. Гальцева, А.М. Ковригина, С.А. Глинкина, В.Н. Двирнык, Е.В. Райкина, А.В. Павлова, И.А. Демина, Е.Н. Паровичникова // Терапевтический архив. – 2021. – Т. 93. – № 7. – С. 818-825.
  10. Сопоставление методов полимеразной цепной реакции и проточной цитометрии для измерения длины теломер лейкоцитов человека / И.В. Гальцева, М.Л. Филипенко, Ю.О. Давыдова, **А.В. Лучкин**, Ю.А. Кондратьева, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова, Н.И. Дризе, В.И. Борисов, Л.П. Менделеева, Е.А. Михайлова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т. 66. – № 3. – С. 154-159.
  11. Способ определения абсолютной длины теломер лейкоцитов с помощью метода проточной цитометрии. Патент на изобретение № 2763935 / И.В. Гальцева, Ю.О. Давыдова, Н.М.

- Капранов, **А.В. Лучкин**, Л.П. Менделеева, В.Г. Савченко, М.Л. Филипенко // Федеральная служба по интеллектуальной собственности. - 2021
12. Эффективность включения элтромбопага в программы лечения больных апластической анемией, рефрактерных к предшествующей иммуносупрессивной терапии / **А.В. Лучкин**, Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, В.В. Троицкая, И.В. Шитарева, Е.В. Воронова, О.В. Скаморина, Е.Н. Паровичникова, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. - 2020. - Т. 65.- №1. - С. 34-35.
  13. Immunosuppressive Therapy of Patients With Aplastic Anemia: Single Center Experience // Z. Fidarova, E. Mikhaylova, A. Abramova, **A. Luchkin**, V. Troitskaya, H. Julhakyanyan, I. Galtseva, Y. Davydova, N. Kapranov, E. Parovichnikova, V. Savchenko // Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia. - 2019. - Т. 19. - № Suppl.1. - С. 342-343.
  14. Oligoclonal Expansion and T-cells Subpopulations in Patients With Aplastic Anemia at Different Stages of the Disease / A. Abramova, E. Mikhaylova, Z. Fidarova, J. Davydova, N. Kapranov, T. Lobanova, **A. Luchkin**, A. Krasilnikova, R. Tivikov, V. Troitskaya, I. Galtseva, E. Parovichnikova, V. Savchenko // Blood. - 2018. - Т. 132. - № S1. - С. 3864.
  15. Oligoclonality of T-Cell Receptor and the Main Subpopulation Composition in Patients With Aplastic Anemia at Different Stages of the Disease / A. Abramova, E. Mikhaylova, I. Galtseva, N. Kapranov, Z. Fidarova, Y. Davydova, **A. Luchkin**, V. Troitskaya, E. Parovichnikova // HemaSphere. - 2019. - Т. 3. - № 1. - С. 503-504.
  16. Optimal Dose Horse Antithymocyte Globulin for the Treatment of Adult Patients with Aplastic Anemia: A Prospective Randomized Comparative Study / Z. Fidarova, E. Mikhaylova, H. Julhakyanyan, V. Troitskaya, A. Abramova, **A. Luchkin**, E. Parovichnikova, V. Savchenko // Blood. - 2017. - Т. 130. - № S1. - С. 4957-4957.
  17. Proliferation capacity of stromal precursors from the bone marrow of untreated aplastic anemia patients / I. Shipounova, N. Petinati, A. Dorofeeva, N. Drize, **A. Luchkin**, Z. Fidarova, E. Mikhailova, V. Savchenko // HemaSphere. – 2019. – Т. 3. – № S1. – С. 845.
  18. Stromal Precursors in the Bone Marrow of Untreated Patients with Severe and Non-Severe Aplastic Anemia Differ in the Proliferative Potential / I. N. Shipounova, A. I. Dorofeeva, N. M. Kapranov, **A.V. Luchkin**, Z.T. Fidarova, E.A Mikhailova, V.G. Savchenko // Blood. – 2020. – Т. 136. – № S.1. – С. 10-10.
  19. The Effectiveness of Eltrombopag at the Different Stages of Aplastic Anemia and Probability of Clonal Expansion / **A. Luchkin**, E. Mikhaylova, Z. Fidarova, A. Abramova, V. Troitskaya, T. Lobanova, A. Krasilnikova, I. Galtseva, J. Davydova, N. Kapranov, T. Obukhova, L. Grebenyuk, M. Vagida, E. Parovichnikova, V. Savchenko // Blood. - 2018. - Т. 132. - № S1. - С. 5108.



20. The Experience Using of Eltrombopag in the Treatment of Refractory to Immunosuppressive Therapy Patients With Aplastic Anemia / A. Abramova, **A. Luchkin**, Z. Fidarova, A. Agashirina, E. Mikhaylova, V. Troitskaya, E. Parovichnikova // HemaSphere. - 2020. - Т. 4. - №1. - С. 906-907.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АА – апластическая анемия

АДТ – абсолютная длина теломер

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

АТГ – антитимоцитарный глобулин

ВД – врожденный дискератоз

ГУ – гематологическое улучшение

ДТ – длина теломер

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

МДС – миелодиспластический синдром

НАА – нетяжелая апластическая анемия

ОДТ – относительная длина теломер

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия

ПР – полная ремиссия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РАА – рефрактерная апластическая анемия

СТАА - сверхтяжелая апластическая анемия

ТАА – тяжелая апластическая анемия

Тыс. п.н. – тысяч пар нуклеотидов

ЦС – циклоспорин

ЧР – частичная ремиссия

FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ*