

DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-57-64



Длина теломер различных клеток крови и костного мозга больных апластической анемией

А.В. Лучкин, Е.А. Михайлова, И.В. Гальцева, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова, С.М. Куликов, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Антон Владимирович Лучкин a_luchkin@rambler.ru

Введение. Апластическая анемия – заболевание, протекающее с костномозговой недостаточностью, связанное с иммунными механизмами подавления нормальной пролиферации стволовых кроветворных клеток и развитием аплазии костного мозга. Помимо аутоиммунной агрессии, играющей ведущую роль в развитии заболевания, активно изучаются внутренние дефекты стволовых клеток, приводящие к аномальному кроветворению. Важную роль в патогенезе апластической анемии играет нестабильность длины теломер (ДТ). Определение исходной ДТ позволяет проводить четкую дифференциальную диагностику между приобретенной апластической анемией и врожденным дискератозом, а также выделить группу больных с более короткими теломерами в целях прогнозирования ответа на лечение.

Цель исследования – изучение длины теломерных районов ДНК различных клеток крови и костного мозга больных апластической анемией до начала лечения.

Материалы и методы. Исследована группа больных приобретенной апластической анемией до проведения иммуносупрессивной терапии ($n = 45$). Контрольную группу составили доноры крови ($n = 32$) и костного мозга ($n = 10$) разных возрастов. В группу сравнения вошли взрослые больные врожденным дискератозом ($n = 5$). Относительную и абсолютную ДТ определяли в мононуклеарах, моноцитах, лимфоцитах крови и костного мозга методом flow-FISH (сочетание проточной цитометрии и флуоресцентной гибридизации *in situ*).

Результаты. Относительная и абсолютная ДТ была сопоставима в различных клетках крови и костного мозга у больных апластической анемией до начала лечения. ДТ как в мононуклеарах крови, так и в клетках костного мозга достоверно не различалась между группами больных апластической анемией и доноров. Теломеры у больных врожденным дискератозом определялись как «ультракороткие» и были значимо короче по сравнению с таковыми у больных апластической анемией.

Заключение. Определение ДТ у больных приобретенной апластической анемией является современным методом исследования, необходимым для проведения дифференциальной диагностики с врожденным дискератозом – заболеванием из группы конституциональных аплазий костного мозга. У взрослых больных апластической анемией предпочтение отдается определению ДТ в мононуклеарах крови с помощью метода flow-FISH. Исследование ДТ необходимо для дальнейшего изучения факторов прогноза ответа на лечение и определения вероятности развития неблагоприятных событий, включающих рецидив и клональную эволюцию.

Ключевые слова: апластическая анемия, врожденный дискератоз, длина теломер, костномозговая недостаточность, иммуносупрессивная терапия

Для цитирования: Лучкин А.В., Михайлова Е.А., Гальцева И.В. и др. Длина теломер различных клеток крови и костного мозга больных апластической анемией. Онкогематология 2023;18(3):57–64. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-57-64

Telomere length of various blood and bone marrow cells in patients with aplastic anemia

A. V. Luchkin, E. A. Mikhailova, I. V. Galtseva, Z. T. Fidarova, A. V. Abramova, Yu. O. Davydova, N. M. Kapranov, K. A. Nikiforova, S. M. Kulikov, E. N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiye Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Anton Vladimirovich Luchkin a_luchkin@rambler.ru

Background. Aplastic anemia proceeds with bone marrow failure and is associated with immunological suppression of normal blood stem cells' proliferation, which lead to bone marrow aplasia. Autoimmune aggression and internal defects of blood stem cell that cause abnormal hematopoiesis are being actively studied. An important role in the pathogenesis

of the aplastic anemia is played by instability of telomere length (TL). Determination of the initial TL makes it possible to clearly differentiate between the aplastic anemia and dyskeratosis congenita. Also, it helps to identify the group of patients with short telomeres for prediction of therapy response.

Aim. To investigation the TL of various blood and bone marrow cells in patients with aplastic anemia before treatment. **Materials and methods.** The group of patients with aplastic anemia was investigated ($n = 45$). Blood donors ($n = 32$) and bone marrow donors ($n = 10$) of different ages were included in the reference group. Adult patients with dyskeratosis congenita ($n = 5$) were included in the comparison group. Relative and absolute TL was identified in peripheral blood and bone marrow mononuclear cells, monocytes, lymphocytes by flow-FISH technique (combination of flow cytometry and fluorescence *in situ* hybridization).

Results. Relative and absolute TL was comparable in different blood and bone marrow cells in patients with aplastic anemia before treatment. TL in peripheral blood and bone marrow mononuclear cells wasn't significantly differed in groups of patients with aplastic anemia and healthy donors. Telomeres in patients with dyskeratosis congenita were identified as "ultrashort" and were significantly shorter than in patients with aplastic anemia.

Conclusion. Determination of TL in patients with aplastic anemia is modern examination method, which is a necessary step of differential diagnosis between aplastic anemia and dyskeratosis congenita, which is the disease from group of constitutional bone marrow aplasia. It is preferred to identify the TL in adult patients with aplastic anemia by the flow-FISH. It is necessary to investigate the TL to predict treatment response and to identify risks of developing adverse experiences, which include relapse and clonal evolution.

Keywords: aplastic anemia, dyskeratosis congenita, telomere length, bone marrow failure, immunosuppressive therapy

For citation: Luchkin A.V., Mikhailova E.A., Galtseva I.V. et al. Telomere length of various blood and bone marrow cells in patients with aplastic anemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(3):57–64. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-57-64

Введение

Апластическая анемия (АА) — заболевание системы крови, которое характеризуется костномозговой недостаточностью, обусловленной нарушением иммунных механизмов регуляции кроветворения, количественным дефицитом и функциональными дефектами стволовых кроветворных клеток, ведущих к развитию аплазии костного мозга. На приобретенную АА приходится 80–85 % случаев, на конституциональные АА, такие как анемия Фанкони, врожденный дискератоз (ВД), синдром Швахмана–Даймонда, анемия Даймонда–Блекфена и др., — 15–20 % [1].

Основой патогенеза идиопатической АА является олигоклональная аутоагрессия Т-лимфоцитов против собственных гемопоэтических стволовых клеток с дисрегуляцией клеточного цикла, подавлением пролиферации и активацией апоптоза. Помимо иммунных механизмов активно изучается роль внутренних дефектов клеток-предшественников гемопоэза в развитии заболевания, таких как соматические и герминальные мутации, появление хромосомных aberrаций и патологических клонов, потеря гетерозиготности в области локализации генов, кодирующих главный комплекс гистосовместимости (бр CN-LOH) и др. [2–5].

Отдельного внимания заслуживают исследования по изучению длины теломер (ДТ), укорочение которых можно обнаружить у 5–25 % больных АА [6–8]. При этом в общей группе больных ДТ обычно соответствует здоровому контролю, в отличие от ВД — конституциональной АА, в патогенезе которой ведущую роль играют соматические мутации в генах теломеразного комплекса, ответственного за восстановление утраченных в ходе клеточного деления терминальных гексаповторов TTAGGG теломерных районов ДНК. Максималь-

ная активность теломеразы отмечается в стволовых клетках и Т-лимфоцитах, что и определяет развитие костномозговой недостаточности при теломеропатиях [9]. Обычно ДТ при ВД относится к первому процентилю соответствующего возраста (ДТ меньше, чем у 99 % здоровых лиц), в то время как при приобретенной АА такое укорочение ДТ встречается не более чем у 6 % больных [8, 10, 11].

Укорочение теломер у больных АА ассоциировано с плохим ответом на иммуносупрессивную терапию, высокой частотой развития рецидивов и клональных осложнений, таких как трансформация в миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз [12–15]. Поэтому ДТ может рассматриваться как один из факторов прогноза ответа на лечение.

Некоторые методы определения относительной или абсолютной ДТ у больных АА имеют ограничения ввиду их трудоемкости, а также недостаточного количества клеток, особенно гранулоцитов, в период глубокой цитопении в дебюте заболевания, необходимых для выполнения исследования. Flow-FISH (сочетание проточной цитометрии и флуоресцентной гибридизации *in situ*) позволяет достичь чувствительности 100 %, специфичности 93 % и использовать для исследования гранулоциты, лимфоциты, мононуклеары, моноциты [16].

Убедительные данные, указывающие на различие ДТ в разных клеточных популяциях у больных АА, отсутствуют [11]. В международных исследованиях анализировались как мононуклеары, так и гранулоциты с лимфоцитами для определения ДТ [12–15]. В работе J.A. Sakoff и соавт. показано, что у больных с лимфопротеративными и другими онкологическими заболеваниями без вовлечения в опухолевый процесс

костного мозга ДТ в мононуклеарах периферической крови соответствовала ДТ в мононуклеарах костного мозга и не отличалась от ДТ в селектированных CD34⁺-клетках [17]. Об исследованиях сравнения ДТ в разных биологических материалах больных с костномозговой недостаточностью нам неизвестно.

Цель исследования — изучение длины теломерных районов ДНК в различных популяциях клеток крови и костного мозга больных АА до начала лечения с помощью метода flow-FISH.

Материалы и методы

В исследование были включены 45 взрослых больных идиопатической АА, которым ранее не проводилась комбинированная иммуносупрессивная терапия. Диагностику осуществляли согласно национальным клиническим рекомендациям [1]. Контрольную группу составили 32 здоровых донора крови и 10 доноров

костного мозга разных возрастов без тяжелой сопутствующей патологии. В группу сравнения вошли 5 больных ВД, диагноз которым был установлен во взрослом возрасте, без проводимой ранее патогенетической терапии. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту (табл. 1).

Сначала была определена ДТ у 32 здоровых доноров с помощью методов flow-FISH и одновременно полимеразной цепной реакции в реальном времени. Измерение относительной ДТ проводили методом flow-FISH в лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга НМИЦ гематологии (Москва; заведующая лабораторией — к.м.н. И.В. Гальцева). Оценку абсолютной ДТ методом полимеразной цепной реакции в реальном времени осуществляли в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН (Новосибирск; заведующий

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика больных апластической анемией и лиц контрольных групп и группы сравнения

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients with aplastic anemia and other examined control groups of people, which were included in the study

Характеристика Characteristic	Больные апластической анемией (n = 45) Patients with aplastic anemia (n = 45)	Больные врожденным дискератозом (n = 5) Patients with dyskeratosis congenita (n = 5)	Доноры крови (n = 32) Blood donors (n = 32)	Доноры костного мозга (n = 10) Bone marrow donors (n = 10)
Пол, n: Gender, n:				
мужской male	24	3	16	4
женский female	21	2	16	6
Медиана возраста (диапазон), лет Median age (range), years	29 (17–64)	26 (24–51)	32 (19–62)	23 (15–40)
Медиана длительности заболевания (диапазон), мес Median duration of the disease (range), months	3 (1–22)	26 (9–90)	—	—
Тяжесть апластической анемии, n (%): Severity of aplastic anemia, n (%):				
нетяжелая non-severe	23 (51)	4 (80)	—	—
тяжелая severe	13 (29)	1 (20)	—	—
сверхтяжелая very severe	9 (20)	—	—	—
Клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии, n (%): Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone, n (%):				
выявлен was detected	35 (78)	—	—	—
не выявлен was not detected	10 (22)	5 (100)	—	—
Гемоглобин, медиана (диапазон), г/л Hemoglobin, median (range), g/L	72 (52–100)	76 (65–118)	(130–160)	(130–160)
Нейтрофилы, медиана (диапазон), × 10 ⁹ /л Neutrophils, median (range), × 10 ⁹ /L	0,65 (0,03–2,56)	0,89 (0,3–1,53)	(2–5,5)	(2–5,5)
Тромбоциты, медиана (диапазон), × 10 ⁹ /л Platelets, median (range), × 10 ⁹ /L	15 (3–37)	33 (7–71)	(180–360)	(180–360)

лабораторией — д.б.н. М.Л. Филипенко). Полученные данные были сопоставлены для перевода относительных единиц флуоресценции в абсолютные значения (тысяч пар нуклеотидов (тыс. п.н.)), т.е. определена абсолютная ДТ. Методы пробоподготовки и выполнения анализа описаны нами ранее [18].

В последующем относительную и абсолютную ДТ исследовали методом flow-FISH в мононуклеарах, лимфоцитах, моноцитах периферической крови и костного мозга больных АА и доноров. У больных ВД анализировали только мононуклеары периферической крови.

Распределение показателя ДТ существенно не отличалось от нормального, поэтому данные представлены в виде средних значений и стандартных отклонений, а для анализа использовались линейные методы. Для оценки достоверности различий средних ДТ между группами применяли t-критерий Стьюдента.

Результаты

На первом этапе исследования была определена относительная и абсолютная ДТ в мононуклеарах крови у 45 больных АА до начала лечения. Средняя относительная ДТ составила 6,97 (5,9–16,4), средняя абсолютная — 11,6 (7,3–20,1) тыс. п.н. Также у 20 больных

была определена ДТ в мононуклеарах костного мозга: средняя относительная ДТ составила 6,82 (5,3–10,9), средняя абсолютная — 11,0 (6,7–20,9) тыс. п.н. При сравнении ДТ в мононуклеарах крови и костного мозга достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 2).

Далее была определена ДТ в мононуклеарах крови здоровых доноров ($n = 32$): средняя относительная ДТ составила 7,39 (4,67–10,14), средняя абсолютная — 11,03 (5,05–16,45) тыс. п.н. Также определены значения ДТ в мононуклеарах костного мозга доноров ($n = 10$): средняя относительная ДТ — 7,1 (6,4–8), средняя абсолютная — 10,1 (8,2–13,7) тыс. п.н. Показано, что ДТ обратно коррелировала с возрастом ($R^2 = 0,47$) (рис. 1). Не получено статистически значимых различий в ДТ между группами здоровых доноров и больных АА (рис. 2).

На следующем этапе была изучена ДТ в различных клеточных популяциях, а именно в мононуклеарах, моноцитах и лимфоцитах периферической крови доноров и больных АА. С учетом трудностей выделения популяций моноцитов и лимфоцитов после добавления гибридизационного зонда и дефицита клеток в исследуемых образцах исследование было выполнено не у всех больных/доноров. Статистически значимых различий в ДТ в этих клеточных популяциях не получено ($p > 0,05$). Выявлены сопоставимые ДТ в мононуклеарах,

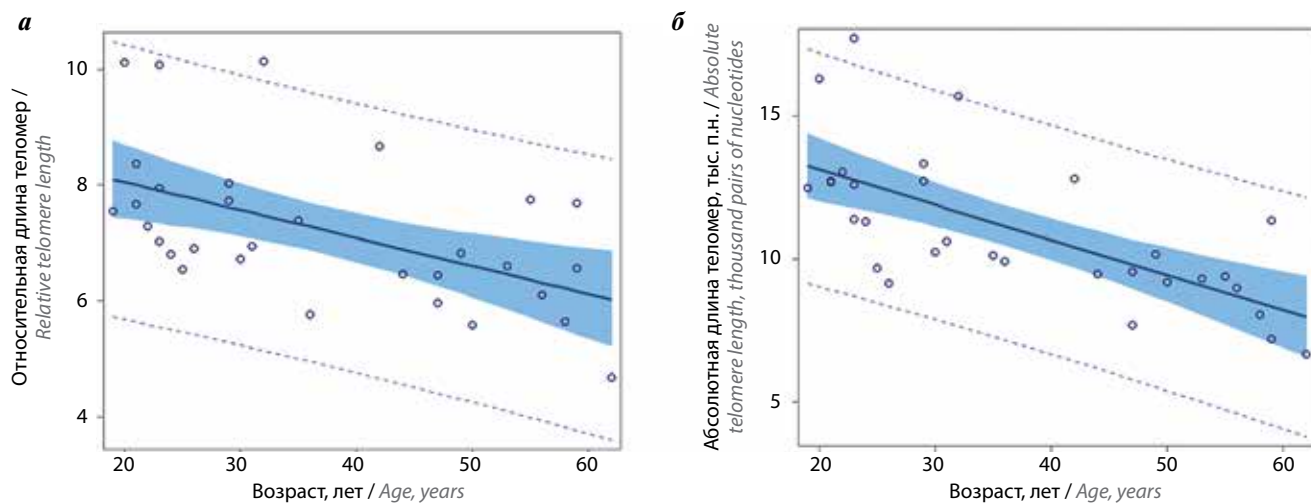


Рис. 1. Распределение относительной (а) и абсолютной (б) длины теломер в мононуклеарах периферической крови доноров в зависимости от возраста
Fig. 1. The distribution of the relative (a) and absolute (b) telomere length in peripheral blood mononuclear cells according to an age of blood donors

Таблица 2. Относительная и абсолютная длина теломер в мононуклеарах крови и костного мозга больных апластической анемией

Table 2. Relative and absolute telomere length in peripheral blood and bone marrow mononuclear cells in patients with aplastic anemia

Показатель Parameter	Мононуклеары крови Blood mononuclear cells	Мононуклеары костного мозга Bone marrow mononuclear cells	<i>p</i>
Относительная длина теломер, среднее значение (диапазон) Relative telomere length, relative middle unite (range)	6,97 (5,9–16,4)	6,82 (5,3–10,9)	0,2
Абсолютная длина теломер, среднее значение (диапазон), тыс. п.н. Absolute telomere length, median value (range), thousand pairs of nucleotides	11,6 (7,3–20,1)	11,0 (6,7–20,9)	0,23

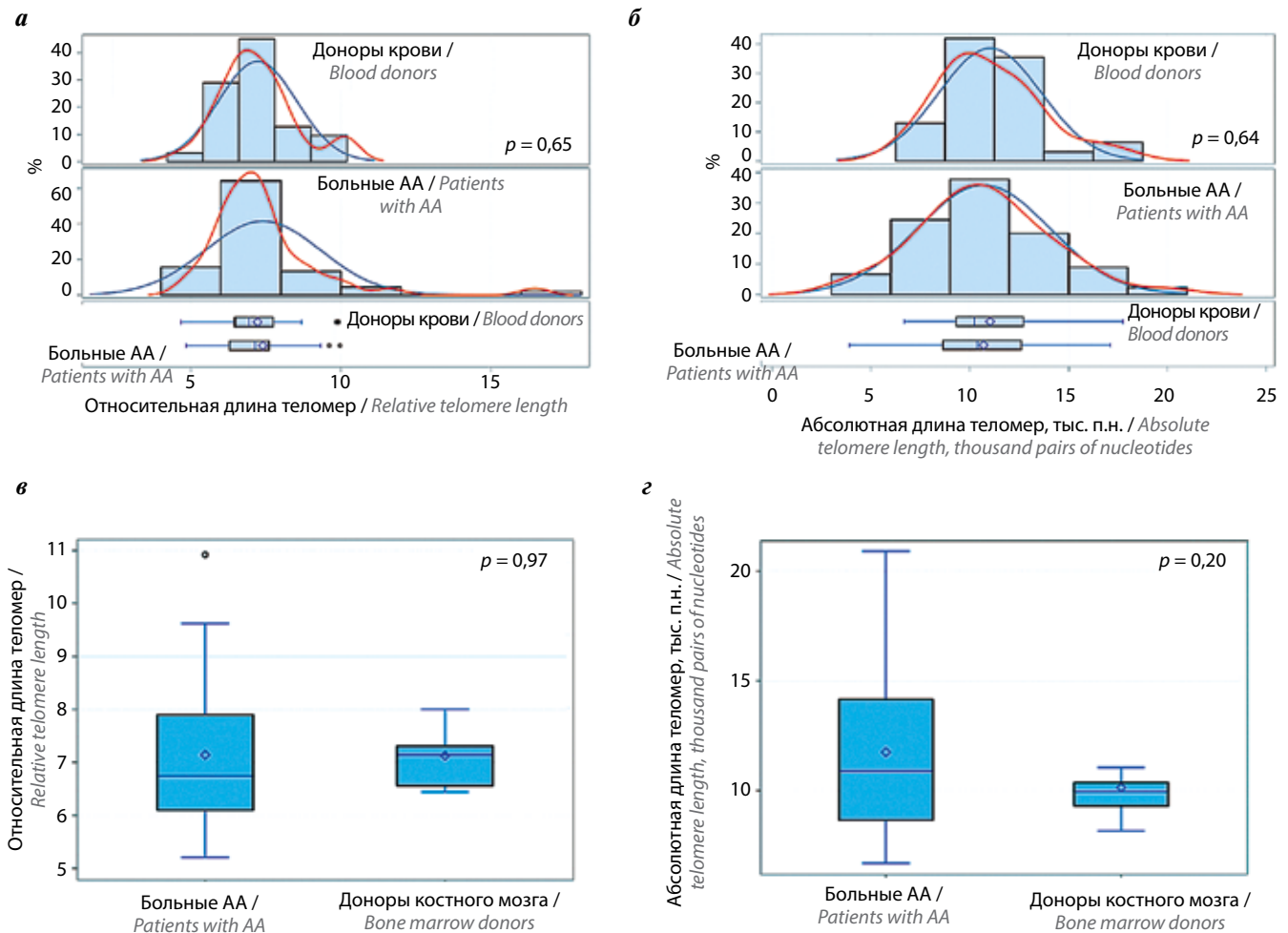


Рис. 2. Сравнение относительной и абсолютной длины теломер в мононуклеарах крови (а, б) и костного мозга (в, г) больных апластической анемией (АА) и доноров

Fig. 2. Comparison of the relative and absolute telomere length in mononuclear cells from peripheral blood (а, б) and from bone marrow (в, г) derived from patients with aplastic anemia (АА) and donors

моноцитах и лимфоцитах костного мозга ($p > 0,05$) (табл. 3).

Далее была определена относительная и абсолютная ДТ в мононуклеарах периферической крови у 5 взрослых больных ВД: средняя относительная ДТ составила 3,57 (3,0–3,97), средняя абсолютная ДТ — 4,47 (3,7–5,26) тыс. п.н. Выявлено, что у больных ВД теломеры были достоверно короче по сравнению с больными АА *de novo* (рис. 3). Более того, у всех больных ВД теломеры определялись как «ультракороткие» (относительная ДТ <1-го перцентиля здорового контроля), в то время как у больных АА такого укорочения не зафиксировано.

Обсуждение

Наша работа была посвящена оценке ДТ клеток крови и костного мозга больных АА до начала лечения, а также сравнению с ДТ у доноров и больных ВД.

Одним из важных выводов, к которым мы пришли, является то, что определение относительной и абсолютной ДТ в клетках периферической крови может

быть предпочтительным у взрослых больных АА и заменяет аспирацию костного мозга, так как статистически значимых различий ДТ в мононуклеарах крови и костного мозга не выявлено ($p > 0,05$).

В опубликованных исследованиях уже отмечалось, что ДТ в общей группе больных АА может быть сопоставима с ДТ у здоровых доноров [6, 8]. В нашей работе мы показали, что нет статистически значимых различий ДТ в мононуклеарах периферической крови и костного мозга больных АА и здоровых доноров. Поскольку ДТ изучалась в ряде исследований как фактор прогноза ответа на иммуносупрессивную терапию у больных АА, то основной перспективой дальнейших исследований остается изучение группы больных с более короткими теломерами.

Нет убедительных данных, указывающих на различие в ДТ между разными популяциями клеток крови у больных АА. Более того, в работе Н. Roelofs и соавт., изучавших изменения ДТ разных клеток в условиях пролиферативного стресса после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, были

Таблица 3. Относительная и абсолютная длина теломер в мононуклеарах, моноцитах и лимфоцитах периферической крови и костного мозга доноров и больных апластической анемией

Table 3. Relative and absolute telomere length in peripheral blood and bone marrow mononuclear cells, monocytes, lymphocytes in patients with aplastic anemia

Группа, исследуемый материал Group, test material	Клеточная популяция Cell population	Относительная длина теломер, среднее значение (диапазон) Relative telomere length, relative middle unite (range)	Абсолютная длина теломер, среднее значение (диапазон), тыс. п.н. Absolute telomere length, median value (range), thousand pairs of nucleotides
Доноры, кровь (n = 27) Donors, blood (n = 27)	Мононуклеары Mononuclear cells	7,2 (4,7–10,1)	11,18 (6,7–16,3)
	Моноциты Monocytes	7,92 (5,5–10,9)	12,4 (8,3–18,5)
	Лимфоциты Lymphocytes	6,91 (4,6–10,1)	9,92 (6,4–16,8)
Доноры, костный мозг (n = 8) Donors, bone marrow (n = 8)	Мононуклеары Mononuclear cells	7,15 (6,4–8,0)	9,94 (8,2–13,7)
	Моноциты Monocytes	7,87 (4,4–8,6)	11,6 (8,8–13,8)
	Лимфоциты Lymphocytes	6,86 (6,2–8,0)	9,38 (7,7–10,0)
Больные апластической анемией, кровь (n = 18) Patients with aplastic anemia, blood (n = 18)	Мононуклеары Mononuclear cells	7,16 (5,9–9,8)	10,4 (3,6–20,1)
	Моноциты Monocytes	6,89 (4,9–9,3)	10,3 (3,3–20,1)
	Лимфоциты Lymphocytes	7,14 (5,7–9,9)	10,0 (3,6–18,7)
Больные апластической анемией, костный мозг (n = 11) Patients with aplastic anemia, bone marrow (n = 11)	Мононуклеары Mononuclear cells	7,14 (5,2–10,9)	11,7 (6,7–20,9)
	Моноциты Monocytes	7,29 (4,9–10,3)	11,83 (7,4–19,6)
	Лимфоциты Lymphocytes	7,86 (5,1–10,9)	11,4 (6,6–20,8)

Примечание. При сравнении длины теломер $p > 0,05$.
Note. $p > 0,05$ when telomere length was compared.

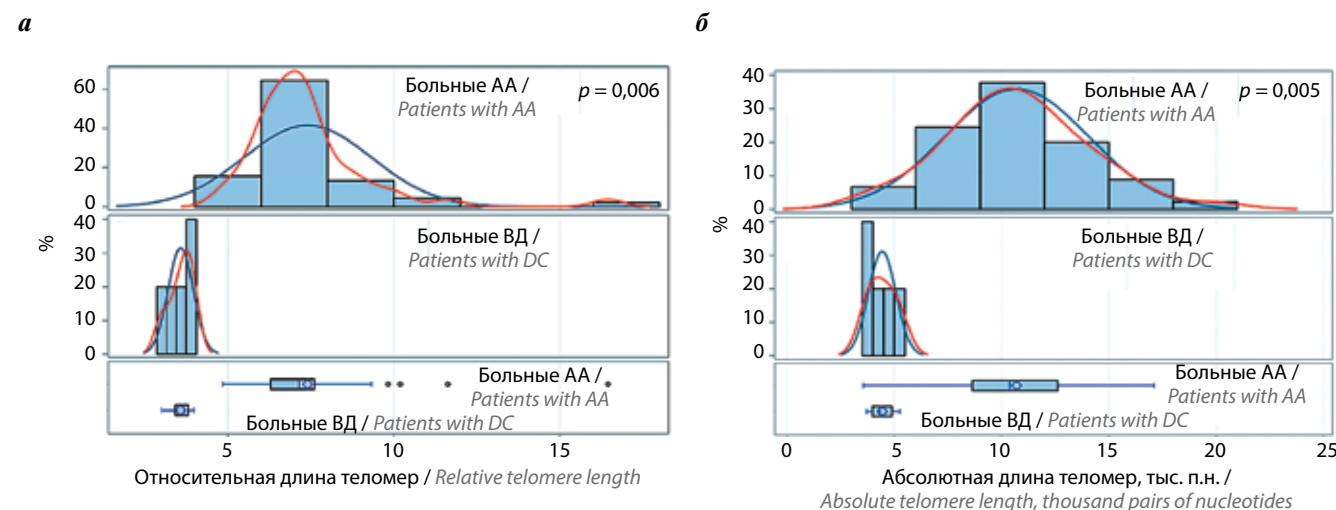


Рис. 3. Сравнение относительной (а) и абсолютной (б) длины теломер в мононуклеарах периферической крови больных апластической анемией (АА) и врожденным дискератозом (ВД)

Fig. 3. Comparison of the relative (a) and absolute (b) telomere length in peripheral blood mononuclear cells derived from patients with aplastic anemia (AA) and dyskeratosis congenita (DC)

продемонстрированы схожие темпы восстановления ДТ гранулоцитов, моноцитов и В-лимфоцитов в течение года по отношению к CD34⁺-клеткам донорского лейкоконцентрата [19]. Это косвенно указывает на то,

что эти клетки периферической крови в равной степени могут отражать пролиферативную активность гемопоэтических стволовых клеток. В то же время у больных АА резко увеличено процентное содержание

Т-клеток, что диктует необходимость сопоставлять данные о ДТ лимфоцитов с другими клеточными популяциями. В нашей работе не получено статистически значимых различий между относительной и абсолютной ДТ в мононуклеарах, моноцитах и лимфоцитах как у больных АА, так и у доноров ($p > 0,05$). Гранулоциты в нашем исследовании не изучались ввиду их глубокого дефицита у больных АА. Поэтому мы рекомендуем использовать мононуклеары периферической крови для определения ДТ у взрослых больных с костномозговой недостаточностью.

В нашем исследовании средняя относительная ДТ в группе больных ВД составила 3,57 (3,0–3,97), что было значимо меньше, чем у больных АА (6,97 (5,9–16,4)). Определение ДТ является быстрым и точным методом

дифференциальной диагностики между приобретенной АА и ВД, что может быть использовано в клинической практике.

Заключение

Определение ДТ у больных приобретенной АА является современным методом дифференциальной диагностики с ВД — заболеванием из группы конституциональных аплазий костного мозга. У взрослых больных периферической АА целесообразно определять ДТ в мононуклеарах крови с помощью метода flow-FISH. Исследование ДТ у больных АА необходимо для дальнейшего изучения факторов прогноза ответа на лечение и определения вероятности развития неблагоприятных событий, включающих рецидив и клональную эволюцию.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Троицкая В.В. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению апластической анемии (редакция 2019 г.). Гематология и трансфузиология 2020;65(2):208–26. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-2-208-226
2. Mihailova E.A., Fidarova Z.T., Troitskaya V.V. et al. Clinical recommendations for the diagnosis and treatment of aplastic anemia (2019 edition). Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology 2020;65(2):208–26. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-2-208-226
3. Shah Y.B., Priore S.F., Li Y.T. et al. The predictive value of PNH clones, 6p CN-LOH, and clonal TCR gene rearrangement for aplastic anemia diagnosis. Blood 2021;5(16):3216–26. DOI: 10.1182/BLOODADVANCES.2021004201
4. Scheinberg P. Acquired severe aplastic anaemia: how medical therapy evolved in the 20th and 21st centuries. Br J Haematol 2021;194(6):954–69. DOI: 10.1111/bjh.17403
5. Абрамова А.В., Михайлова Е.А., Гальцева И.В. и др. Олигоклональность и субпопуляционная структура Т-клеток костного мозга у больных апластической анемией. Гематология и трансфузиология 2020;65(4):417–30. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-417-430
6. Abramova A.V., Galtseva I.V., Mikhailova E.A. et al. Oligoclonality and subpopulation structure of bone marrow T-cells in patients with aplastic anaemia. Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology 2020;65(4):417–30. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-417-430
7. Фидарова З.Т., Абрамова А.В., Лучкин А.В. Наличие клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии и другие факторы, влияющие на эффективность иммуносупрессивной терапии у больных идиопатической апластической анемией. Гематология и трансфузиология 2019;64(3):342–52. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-3-342-352
8. Fidarova Z.T., Abramova A.V., Luchkin A.V. Clone of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and other predictors of the response to immunosuppressive therapy in patients with idiopathic aplastic anaemia. Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology 2019;64(3):342–52. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-3-342-352
9. Calado R.T., Cooper J.N., Padilla-Nash H.M. et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia. Leukemia 2012;26(4):700–7. DOI: 10.1038/leu.2011.272
10. Scheinberg P. Prognostic value of telomere attrition in patients with aplastic anemia. Int J Hematol 2013;97(5):553–7. DOI: 10.1007/S12185-013-1332-X/METRICS
11. Miwata S., Narita A., Okuno Y. et al. Clinical diagnostic value of telomere length measurement in inherited bone marrow failure syndromes. Haematologica 2021;106(9):2511. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2021.278334
12. Gramatges M.M., Bertuch A.A. Short telomeres: from dyskeratosis congenita to sporadic aplastic anemia and malignancy. Transl Res 2013;162(6):353–63. DOI: 10.1016/j.trsl.2013.05.003
13. Savage S.A., Alter B.P. Dyskeratosis congenita. Hematol Oncol Clin North Am 2009;23(2):215. DOI: 10.1016/J.HOC.2009.01.003
14. Brummendorf T.H., Maciejewski J.P., Mak J. et al. Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. Blood 2001;97(4):895–900. DOI: 10.1182/BLOOD.V97.4.895
15. Kulagin A., Borisov V., Pronkina N. et al. Long-term outcomes of accelerated telomere shortening in acquired aplastic anemia. Blood 2014;124(21):4396. DOI: 10.1182/BLOOD.V124.21.4396.4396
16. Park H.S., Park S.N., Im K. et al. Telomere length and somatic mutations in correlation with response to immunosuppressive treatment in aplastic anaemia. Br J Haematol 2017;178(4):603–15. DOI: 10.1111/bjh.14691
17. Scheinberg P., Cooper J.N., Sloan E.M. et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. JAMA 2010;304(12):1358–64. DOI: 10.1001/jama.2010.1376
18. Narita A., Muramatsu H., Sekiya Y. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. Haematologica 2015;100(12):1546–52. DOI: 10.3324/haematol.2015.132530
19. Gutierrez-Rodriguez F., Santana-Lemos B.A., Scheucher P.S. et al. Direct comparison of flow-FISH and qPCR as diagnostic tests for telomere length measurement in humans. PLoS One 2014;9(11):e113747. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0113747
20. Sakoff J.A., de Waal E., Esther M.B. et al. Telomere length in haematopoietic stem cells can be determined from that of mononuclear blood cells or whole. Blood 2009;43(10):2017–20. DOI: 10.1080/1042819021000015970
21. Гальцева И.В., Филипенко М.Л., Давыдова Ю.О. и др. Сопоставление методов полимеразной цепной реакции и проточной цитометрии для измерения длины теломер лейкоцитов человека. Клиническая лабораторная диагностика 2021;66(3):154–9. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-3-154-159
22. Galtseva I.V., Filipenko M.L., Davydova Yu.O. et al. Comparison of polymerase chain reaction and flow cytometry for measuring telomere length of human leukocytes. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics 2021;66(3):154–9. (In Russ.).
23. Roelofs H., de Pauw E., Zwinderman A.H. et al. Homeostasis of telomere length rather than telomere shortening after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. Blood 2003;101(1):358–62. DOI: 10.1182/BLOOD-2002-06-1832

Благодарность. Авторы выражают благодарность Н.И. Дризе, Н.А. Петинати (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва) за проведенную работу по культивированию клеток; М.Л. Филипенко (ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН», Новосибирск) за помощь в разработке метода по определению абсолютной длины теломер; А.М. Попову, И.А. Деминой и сотрудникам лаборатории клеточной иммунологии и иммуногенеза (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва), В.И. Борисову (ООО «Новартис Фарма») за помощь в освоении метода по определению длины теломер методом проточной цитометрии.

Acknowledgment. The authors are grateful to N.I. Drize, N.A. Petinati (National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia, Moscow) for cell cultivation; M.L. Filipenko (Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk) for assistance in developing a method for determining the absolute telomeres length; A.M. Popov, I.A. Demina and staff of the Laboratory of Cellular Immunology and Immunogenesis (Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Moscow), V.I. Borisov (Novartis Pharma LLC) for help in mastering the method for determining the telomeres length by flow cytometry.

Вклад авторов

А.В. Лучкин: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи, получение данных для анализа;
Е.А. Михайлова, И.В. Гальцева, З.Т. Фидарова, А.В. Абрамова, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи;
Ю.О. Давыдова, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова: получение данных для анализа;
С.М. Куликов: статистическая обработка данных.

Authors' contributions

A.V. Luchkin: study design development, data analysis, article writing, obtaining data;
E.A. Mikhailova, I.V. Galtseva, Z.T. Fidarova, A.V. Abramova, E.N. Parovichnikova: study design development, data analysis, article writing;
Yu.O. Davydova, N.M. Kapranov, K.A. Nikiforova: obtaining data;
S.M. Kulikov: statistical analysis.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Лучкин / A.V. Luchkin: <https://orcid.org/0000-0002-4400-4711>
Е.А. Михайлова / E.A. Mikhailova: <https://orcid.org/0000-0002-2449-2682>
И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>
З.Т. Фидарова / Z.T. Fidarova: <https://orcid.org/0000-0003-0934-6094>
А.В. Абрамова / A.V. Abramova: <https://orcid.org/0000-0002-8113-6115>
Ю.О. Давыдова / Yu.O. Davydova: <https://orcid.org/0000-0001-5932-0285>
Н.М. Капранов / N.M. Kapranov: <https://orcid.org/0000-0002-6512-910X>
К.А. Никифорова / K.A. Nikiforova: <https://orcid.org/0000-0002-4119-7175>
С.М. Куликов / S.M. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>
Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Medical Research Centre for Oncology, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.