

Исследование влияния аспирина на параметры пространственного роста фибринового сгустка в тесте тромбодинамики

Столяр М.А., Ольховский И.А.

Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; ФГБУН Красноярский научный центр СО РАН; Сибирский федеральный университет, Красноярск

Введение. Деагрегационное действие аспирина широко используют для профилактики тромбозов. Известно, что механизм его действия не исчерпывается ингибированием циклооксигеназы и препарат может парадоксально увеличивать скорость генерации тромбина.

Цель работы. Изучить влияние аспирина при инкубации с пробами цельной крови на параметры роста сгустка в высокочувствительном к гиперкоагуляционным сдвигам тесте тромбодинамики.

Материалы и методы. Рост фибринового сгустка оценивали с помощью "Регистратора Тромбодинамики-Т2" по сигналу светорассеяния в тонком неперемешиваемом слое рекальцифицированной, свободной от тромбоцитов плазме в

7 пробах крови после предварительной инкубации 15 мин с аспирином 0,1 мМ.

Результаты. Во всех исследованных образцах добавление аспирина приводило к однонаправленному увеличению в 1,2–1,7 раза начальной и стационарной скорости роста сгустка и его размеранезависимо от наличия заболевания.

Заключение. При использовании теста тромбодинамики обнаружено прокоагуляционное действие аспирина *in vitro*. Механизмы данного эффекта, вероятно, связаны с ацетилированием белков плазмы крови, регулирующих активность тромбина, и могут вносить вклад в развитие аспиринорезистентности у отдельных пациентов. Выявленный феномен требует дальнейшего изучения.

Исследование влияния аспирина на агрегацию тромбоцитов у больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями

Столяр М.А., Васильев Е.В., Москов В.И., Виноградова Е.Ю., Бахтина В.И., Ольховский И.А.

Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; КГБУЗ Краевая клиническая больница; ФГБУН Красноярский научный центр СО РАН, Красноярск

Введение. Тромбозы и кровотечения часто сопровождают течение хронических миелопролиферативных заболеваний (ХМПЗ) и определяют актуальность персонализированного учета функции тромбоцитов в процессе терапии дезагрегантами.

Цель работы. Изучение влияния аспирина на агрегационную активность тромбоцитов у больных ХМПЗ в зависимости от пола и мутации *JAK2*.

Материалы и методы. Использовался метод импеданса в цельной крови при индукции 5 мкМ АДФ и тест инкубации пробы с 0,1 мМ аспирином на агрегометре "Хронолог-700".

Обследованы 68 здоровых добровольцев, 78 пациентов без мутации и 44 пациента с мутацией *JAK2*.

Результаты. У лиц с мутацией *JAK2* прием низких доз аспирина не оказывал влияния на повышенную АДФ-агрегацию. У женщин параметры агрегации в 1,5–2 раза больше, чем у мужчин ($p < 0,05$). При этом у пациентов с мутацией аспирина в тесте *in vitro* нивелирует гендерные отличия.

Заключение. Мутация в гене *JAK2* сопряжена с ЦОГ-1-независимой активацией тромбоцитов и подавлением полового детерминизма функций тромбоцитов. Оценка агрегации тромбоцитов целесообразна при назначении дезагрегантов больных ХМПЗ.

Частота встречаемости ПНГ-клона у гематологических больных Иркутской области

Сускина М.А.¹, Пронькина Н.В.², Киселев И.В.¹, Петрова Л.М.¹, Ребриков А.Н.¹, Романова Е.В.¹, Лужнова Н.Н.¹, Грекина М.И.¹, Капорская Т.С.¹

¹ГБУЗ Иркутская ордена "Знак Почета" областная клиническая больница, Иркутск; ²Клиника иммунопатологии ФГБУ НИИ СО РАМН, лаборатория клинической иммунопатологии, Новосибирск

Введение. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является результатом незлокачественной клональной экспансии одной или нескольких гематопоэтических клеток, несущих соматическую мутацию гена *PIG-A*. У всех потомков этих клеток наблюдается дефицит гликозил фосфатидилинозитол-сцепленных белков (GPI-APs). Дефицит GPI-сцепленных регуляторных белков CD55 и CD59 обуславливает внутрисосудистый гемолиз, являющийся главным клиническим признаком заболевания. ПНГ часто сочетается с другими нарушениями функции костного мозга, чаще всего с апластической анемией (АА), миелодиспластическим синдромом (МДС) или другой миелопатией (например, с миелофиброзом). Различают 3 варианта ПНГ: 1) классический; 2) ПНГ в комбинации со специфическими заболеваниями костного мозга (например, ПНГ/апластическая анемия или ПНГ/ МДС-рефрактерная анемия – РА); 3) субклинический вариант ПНГ в комбинации со специфическими заболеваниями костного мозга (например, ПНГ/апластическая анемия). Выявление субклинического варианта ПНГ имеет большое клиническое значение, поскольку в последних исследованиях было показано, что у пациентов с малой популяцией ПНГ-клеток в комбинации с апластической анемией или МДС-рефрактерной анемией высока вероятность ответа на иммуносупрессивную терапию.

Цель работы. Определение частоты встречаемости ПНГ-клона у больных с костномозговой недостаточностью.

Материалы и методы. Всего было обследовано 65 пациентов: 30 больных АА (16 мужчин и 14 женщин), в возрасте от 14 до 74 лет, медиана возраста 35,5 года, 12 больных МДС-РА (6 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 53 до 70 лет, средний возраст 60,7 года, 23 больных с неясной этиологией цитопений, тромбозов (10 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 22 до 73 лет, средний возраст 42,5 года, которые находились на обследовании и лечении в ГБУЗ ИОКБ (с марта 2012 г. по ноябрь 2013 г.).

Результаты. Исследовали периферическую кровь, взятую с антикоагулянтом K_2 -ЭДТА, на проточном цитофлюориметре FACS Calibur с использованием антител *CD45PerCP*, *CD24PE*, *CD15APC*, *CD14 PE*, *CD64APC*, линейно специфичных *CD235aFITC*, GPI-связывающих антител *FLAER Alexa-Fluor488*, *CD59PE*. Из общего числа обследованных у 3 больных выявлен классический вариант ПНГ, основным проявлением болезни у этих больных был внутрисосудистый гемолиз, тромбозов не было. Размер ПНГ-клона среди эритроцитов от 14,4 до 95,6%, гранулоцитов от 6,09 до 97,5%. ПНГ в комбинации со специфическими заболеваниями костного мозга – ПНГ/АА или ПНГ/МДС-РА выявлена у 23 больных, из них 17 больных

АА (9 мужчин и 8 женщин), средний возраст 24,3 года, 6 больных МДС-РА (3 мужчин и 3 женщин), средний возраст 62 года. Величина клона у больных ПНГ/АА среди эритроцитов от 0,03 до 35,5%, гранулоцитов от 0,12 до 75,1%, у больных МДС-РА величина клона среди эритроцитов 13,1%, гранулоцитов 6,1%. Субклинический вариант ПНГ в комбинации со специфическими заболеваниями костного мозга (ПНГ/АА) был выявлен у 3 больных (2 мужчин и 1 женщины), средний возраст 44,6 года, величина клона среди эритроцитов от 0,01 до 0,29%, гранулоцитов от 0,15 до 0,59%; у 11 больных МДС-РА (6 мужчин и 6 женщин), средний возраст 44,6 года был выявлен минорный ПНГ-клон, среди эритроцитов от 0,01 до 0,05%, гранулоцитов от 0,01 до 0,41%.

Заключение. В соответствии с данными литературы выявлена высокая частота встречаемости ПНГ-клона у больных

с костно-мозговой недостаточностью (АА, МДС, ИМФ) – от 50 до 85%. У большинства больных наличие ПНГ-клона не ассоциировалось с признаками внутрисосудистого гемолиза (повышение ЛДГ, свободного билирубина). При динамическом исследовании уровня ПНГ-клона отмечен его рост у 8 больных АА, 1 больной МДС, обследованных на момент ремиссии без признаков клинически значимого ПНГ-синдрома. Из 15 обследованных больных с неясными цитопениями при дальнейшем обследовании у 8 выявлен МФ, а у 6 больных с неясными тромбозами в сочетании с анемией ПНГ-клон не выявлен ни у одного пациента. Полученные результаты подтверждают необходимость тестирования всех больных с костно-мозговой недостаточностью (АА, МДС, ИМФ) с целью определения значения этого показателя для оценки течения заболевания, ответа на терапию и ее коррекции при необходимости.

Анемия у пациентов с внепеченочной портальной гипертензией

Сысоева Е.П.¹, Деженкова А.В.¹, Егорова М.О.¹, Киценко Е.А.², Лукина Е.А.¹

¹ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва; ²ФГБУ Российский научный центр хирургии РАМН, Москва

Введение. Рецидивирующие кровотечения из варикозно-расширенных вен (ВРВ) пищевода и желудка являются частым осложнением портальной гипертензии, в том числе развившейся вследствие тромбозов в системе воротной вены (ВПГ). Анемия у этих больных расценивается как постгеморрагическая железодефицитная анемия (ЖДА) и служит основанием для лечения препаратами железа.

Цель работы. Изучение показателей обмена железа у больных ВПГ.

Материалы и методы. Обследованы 83 больных ВПГ с давностью тромбоза портальной системы не менее 12 мес (Me 72 мес), 36 мужчин и 47 женщины, медиана возраста 42 года. Рецидивы кровотечений из ВРВ регистрировались у 61% больных. У 57% больных выявлена гипо- или нормохромная анемия (Me Hb 97 г/л). Исследовали сывороточные

показатели обмена железа: концентрацию ферритина, железа, трансферрина, концентрацию ОЖСС. У части больных исследовали экскрецию железа с мочой.

Результаты. Лабораторная картина ЖДА – снижение сывороточных показателей железа (Me 7,8 мкмоль/л), ферритина (Me 31 мкг/л), НТЖ (Me 11,8 мкмоль/л) – выявлена у 65% больных ВПГ с анемией. Однако проведение десфералового теста показало, что у 31% больных с анемией лабораторные признаки дефицита железа сочетались с повышенной экскрецией железа с мочой, что свидетельствует о повышении тканевых запасов железа и нехарактерно для истинной ЖДА.

Заключение. Истинная ЖДА выявлена только у 34% больных ВПГ. У остальных 66% анемия ассоциируется с повышением запасов железа, что характерно для анемии хронических заболеваний.

Мультиплексная ПЦР как новый метод определения генов устойчивости к карбапенемам

Тихомиров Д.С.¹, Катрыш С.А.¹, Савочкина Ю.А.², Гаранжа Т.А.¹, Туполева Т.А.¹, Филатов Ф.П.¹, Галстян Г.М.¹

¹ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва; ²ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Введение. Одной из причин устойчивости микроорганизмов к антибиотическим препаратам является наличие ферментов, разрушающих карбапенемы. Гены, кодирующие эти ферменты, входят в состав мобильных генетических элементов патогенов, что способствует их быстрому распространению в госпитальной среде. Основным бактериологическим методом выявления устойчивости к карбапенемам является метод двойных дисков с ЭДТА. Его применение связано с большими временными и трудовыми затратами. Альтернативным методом для определения устойчивости является мультиплексная ПЦР.

Цель работы. Определить наличие генов устойчивости к карбапенемам у микроорганизмов, выявленных в больном отделении реанимации и интенсивной терапии.

Материалы и методы. Исследованы образцы клинического материала от 41 больного отделения реанимации. Кровь, мазки из зева и ануса, смывы из дыхательного тракта пациентов отправлялись на бактериологическое исследование. При наличии роста патогенов получали культуру, которую в последующем исследовали на наличие генов приобретенных карбапенемаз методом ПЦР.

Результаты. Исследовано 52 образца культур *Acinetobacter b.* от 18 больных, 69 образцов культур *Pseudomonas a.* от 23 больных. Методом ПЦР определяли гены карбапенемаз – *VIM*, *IMP*, *NDM*, *OXA-23*, *OXA-48*, *OXA-51* и *KPC* с помощью тест-систем, разработанных в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Ни в одном образце не выявлены гены *IMP*, *NDM*, *OXA-48* и *KPC*. Во всех культурах *Acinetobacter b.* были обнаружены гены *OXA-40* и *OXA-51*. В двух образцах культур, полученных из зева, был обнаружен ген резистентности *OXA-23*. У 1 больного был выявлен ген устойчивости к имипенему *VIM*. У 14 из 23 пациентов (половины) в образцах культур *Pseudomonas a.* был обнаружен ген *VIM*. В подавляющем большинстве случаев выявление генов резистентности методом ПЦР в культурах коррелировало с низкой эффективностью проводимой антибиотической терапии. Полученные данные указывают на возможность применения метода ПЦР для выявления первичной резистентности микроорганизмов к карбапенемам.

Заключение. Предложенный амплификационный метод определения генов устойчивости требует меньше трудозатрат и времени, что предпочтительно в условиях необходимости быстрого принятия решения о коррекции терапии.