

*Р.Я. Шакирова, А.К. Марданова, В.В. Сангизова, Э.А. Имельбаева, А.Ж. Гильманов. Значимость современных молекулярно-генетических методов исследования в диагностике хромосомных аномалий у плода и у детей.* Республиканский перинатальный центр Минздрава РБ, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

В настоящее время разработаны новые способы диагностики хромосомных болезней плода методами, основанными на получении рекомбинантных молекул ДНК и использовании их в виде ДНК-проб (зондов) для диагностики наследственных дефектов. Представителем этих методов, позволяющих выявлять аномалии хромосом, не обнаруживаемые цитогенетическими исследованиями, является мультиплексный молекулярно-цитогенетический анализ анеуплоидий и микроделеционных синдромов, сравнимый с флюоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) в жидком формате и предназначенный для выявления наиболее частых анеуплоидий (хромосомы 13, 18, 21, X, Y) и микроделеционных синдромов.

В молекулярно-цитогенетической лаборатории Республиканского перинатального центра РБ было обследовано 250 женщин во II триместре беременности и 21 ребенок в возрасте от 3 мес до 5 лет с использованием мультиплексного молекулярно-цитогенетического анализа анеуплоидий и микроделеционных синдромов по технологии VACs-on-Beads™ с применением на-

боров реагентов «Prenatal BoBs» фирмы «Perkin Elmer» (Финляндия). Материалом для анализа у беременных были образцы геномной ДНК, экстрагированные из клеток ворсин хориона (185 образцов) и амниотической жидкости (65 образцов), у детей – из венозной крови (21 образец). Геномную ДНК метили ферментативным включением биотинилированных нуклеотидов, гибридизовали пробы со смесью флюоресцентных микро-сфер с иммобилизованными VAC-зондами. После гибридизации интенсивность флюоресцентных сигналов определяли с помощью мультиплексного проточного анализатора Luminex200™ (США).

В результате проведенного анализа в 32 случаях (12,8%) были выявлены хромосомные аномалии, в том числе синдром Дауна (трисомия 21) – в 21 случае (8,4%), синдром Эдвардса (трисомия 18) – в 6 (2,4%), синдром Шерешевского-Тернера – в 2 (0,8%), моносомия по X-хромосоме (мозаичный вариант) – в 1 (0,4%), синдром Вольфа-Хиршхорна (4p.16.3) – в 1 (0,4%), синдром Прадера-Вилли (15q11-q12) – в 1 случае (0,4%).

Таким образом, VACs-on-Beads™ является надежной технологией для выявления хромосомных аномалий и микроделеционных генетических синдромов у плода и у детей. Ее применение особенно ценно тогда, когда невозможно выявить микроделеции с помощью классического кариотипирования.

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ГЕМАТОЛОГИИ

*С.Г. Владимирова<sup>1</sup>, Л.Н. Тарасова<sup>1</sup>, О.Ю. Скольская<sup>1</sup>, В.В. Черепанова<sup>2</sup>, И.А. Докишина<sup>1</sup>.* **Лабораторные маркеры инфекционных осложнений у больных острым лимфобластным лейкозом в состоянии миелотоксического агранулоцитоза.** <sup>1</sup>ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России; <sup>2</sup>ГБУЗНО Городская больница № 3, Нижний Новгород

Цель работы – выявление биохимических показателей, которые могут быть ранними маркерами инфекции у больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) в состоянии нейтропении. Обследовали 28 больных ОЛЛ (м/ж – 14/14) в возрасте от 16 до 70 лет (медиана 41) в динамике терапии. У всех пациентов на том или ином этапе лечения развивались инфекционные осложнения разной степени тяжести. Исследовали уровни белков острой фазы (БОФ): церулоплазмина (ЦП) методом Равина, фибриногена по Клауссу и С-реактивного белка (СРБ) методом иммунотурбидиметрии при развитии инфекционных осложнений и без них. Критерием отбора результатов в данное исследование было наличие у больных состояния агранулоцитоза, развившегося на фоне цитостатической терапии. Определений у лиц без инфекции – 48, на фоне инфекции – 51; группа сравнения – показатели здоровых людей ( $n = 50$ ).

Медиана концентрации ЦП у больных без инфекционных осложнений была 279 мг/л (разброс 167–408 мг/л), при инфекции – 333 мг/л (135–506 мг/л),  $p < 0,05$ ; в группе здоровых уровень ЦП находился в пределах 223–337 мг/л. Аналогично изменялись и уровни фибриногена: 2,6 г/л (0,6–6,7 г/л) при отсутствии инфекции и 4,4 г/л (0,8–8,3 г/л) при ее наличии ( $p < 0,05$ ); у здоровых фибриноген был в пределах 2,21–3,7 г/л. Содержание ЦП и фибриногена у больных без инфекционных осложнений статистически не отличалось от нормальных показателей, значимое повышение наблюдалось в ответ на присоединение инфекции. Однако диапазоны значений ЦП и фибриногена выходили за рамки нормальных концентраций как в сторону снижения, так и повышения. Это подтверждает, что лейкозный процесс и препараты химиотерапии неоднозначно влияют на синтез и/или потребление этих белков. Полученные результаты не позволяют рассматривать данные показатели в качестве надежных маркеров инфекционных осложнений у больных ОЛЛ при нейтропении.

Содержание СРБ у пациентов без инфекционных осложнений изменялось в пределах 0–15 мг/л (медиана 2 мг/л), что было выше нормы (0–2,5 мг/л);  $p < 0,05$ . Это свидетельствует о том, что на его выработку влияет основное заболевание и/или про-

водимая химиотерапия. Однако присоединение инфекции дает гораздо более выраженный прирост концентрации СРБ – 0–368 мг/л (медиана 42 мг/л,  $p < 0,05$ ). Только 6 результатов (12%) в последней выборке были ниже верхнего уровня группы без инфекции. Таким образом, из всех оцененных нами БОФ лишь уровень СРБ может служить достоверным маркером развития инфекции у больных ОЛЛ в состоянии миелотоксического агранулоцитоза.

*С.Г. Владимирова<sup>1</sup>, Л.Н. Тарасова<sup>1</sup>, О.Ю. Скольская<sup>1</sup>, И.А. Докишина<sup>1</sup>, В.В. Черепанова<sup>2</sup>.* **С-реактивный белок – достоверный маркер инфекции у больных острым лимфобластным лейкозом при агранулоцитозе (оценка клинической информативности).** <sup>1</sup>ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России; <sup>2</sup>ГБУЗНО Городская больница № 33, Нижний Новгород

Цель работы – установление уровня С-реактивного белка (СРБ), который может служить критерием развития инфекции у больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и оценка его клинической информативности (чувствительности и специфичности). Обследовали 28 больных ОЛЛ (м/ж – 14/14) в возрасте от 16 до 70 лет (медиана 41) в динамике химиотерапии при агранулоцитозе. Больным Rh-негативным ОЛЛ лечение проводили в соответствии с протоколами «ОЛЛ-2005» и «ОЛЛ-2009» (11 и 8 человек соответственно). Лиц с Rh-позитивным ОЛЛ лечили согласно протоколу «Rh+ ОЛЛ взрослых с использованием гливека на всех этапах терапии» (4 человека); пациенты моложе 21 года получали лечение по программе «ALL-MB 2008» (5 человек). У всех пациентов на том или ином этапе лечения были инфекционные осложнения разной степени тяжести: язвенные стоматиты, мукозиты, острые респираторные заболевания, энтеропатия, лихорадка без видимого очага инфекции, острая пневмония, сепсис. При этом у большинства больных наблюдали микст-инфекцию. Пациентов с полиорганной недостаточностью и септическим шоком в исследование не включили.

СРБ определяли методом иммунотурбидиметрии с использованием набора «Tina-quant C-Reactive Protein (CRP3)» и биохимического анализатора «Hitachi 902» (Roche). Диагностическую чувствительность и специфичность оценивали в соответствии с ГОСТ Р 53022 (2008), частью 3 «Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов».

Уровень СРБ в группе больных без инфекции ( $n = 48$ ) был в пределах 0–15 мг/л, медиана равнялась 2 мг/л, 95% референтный интервал (95%РИ) – 0–12 мг/л. У пациентов с инфекцией ( $n = 51$ ) концентрация СРБ была 0–368 мг/л, медиана – 42 мг/л, 95% РИ

0–313 мг/л. Анализ операционных характеристик показал, что диагностическим критерием разделения для лиц без инфекционных осложнений и с таковыми может служить уровень СРБ 11 мг/л. При этом диагностическая чувствительность критерия составила 88%, диагностическая специфичность – 96%, а диагностическая эффективность – 92%.

Таким образом, у больных ОЛЛ в период нейтропении уровень СРБ до 11 мг/л свидетельствует об отсутствии инфекции, а более 11 мг/л – является критерием начального этапа ее развития. Руководствуясь полученными результатами, мы считаем, что для ранней и более точной диагностики инфекционных осложнений у больных ОЛЛ при агранулоцитозе мониторинг концентрации СРБ должен быть обязательным.

*А.С. Горбенко, И.А. Ольховский, В.И. Москов, Е.В. Васильев.* **Цитометрический тест накопления даунорубина как инструмент анализа вклада Pgp-транспортера в развитие множественной лекарственной устойчивости при лейкозах.** Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; КНЦ СО РАН; КГБУЗ Красноярская краевая клиническая больница

Ранее мы показали возможность использования проточной цитометрии для исследования процесса накопления цитостатиков в лейкоцитах и бластных клетках. Целью настоящей работы явилась сравнительная оценка использования в качестве индикаторов функции транспортных систем эффлюкса препаратов даунорубина (ДР) и родамина-123 (РА) у здоровых и пациентов с острым лейкозом. Для оценки механизмов накопления препаратов в среду инкубации лейкоцитов добавляли в качестве ингибитора Pgp верапамил (3 мкг/мл) и ингибитор продукции АТФ азид натрия (5 мМ). Уровень накопления ДР и РА измеряли на цитофлюориметре BD FACSCanto II. Аналитический разброс оцениваемых нами параметров при 10-кратных повторных измерениях составил 7,7%. Показано, что ДР и РА существенно отличаются по вкладу АТФ зависимых транспортеров и конкретно Pgp-белка в механизм их эффлюкса из клеток. Вклад Pgp-зависимого механизма в динамику накопления ксенобиотиков выявил существенные индивидуальные отличия как между пробами здоровых людей, так и у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. У пациента с резистентной терминальной стадией ОЛЛ исходный уровень накопления ДР был существенно ниже значений его накопления у чувствительных к химиотерапии пациентов, при этом ингибитор транспортера Pgp увеличивал накопление ДР бластными клетками в 2,3 раза, азид натрия — в 3 раза, соответственно в 2,1 и 2,7 раза увеличивалось остаточная величина цитостатика после его удаления из среды инкубации. Это говорит о выраженной эффлюксе цитостатиков, характерном для множественной лекарственной устойчивости. При этом максимальное накопление РА не отличалось от его уровня у чувствительных пациентов и, напротив, снижалось после добавления верапамила и азиды, очевидно, за счет влияния ингибиторов на функции митохондрий. Полученные данные свидетельствуют, что РА неправомерно использовать для оценки динамики накопления цитостатиков, являющихся субстратом белка Pgp. Следует также учитывать индивидуальные особенности транспортной системы клеток конкретного пациента при разработке подходов к использованию средств, блокирующих развитие устойчивости пациентов к цитостатической терапии.

*Д.Г. Кислицина<sup>1</sup>, Е.В. Наумова<sup>1</sup>, Е.А. Никитин<sup>2</sup>, М.Е. Почтарь<sup>1</sup>, В.В. Долгов<sup>1</sup>, С.А. Луговская<sup>1</sup>.* **Значение статуса молекулярной ремиссии в прогнозе выживаемости при В-клеточном хроническом лимфолейкозе.** <sup>1</sup>ГОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ, Москва; <sup>2</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава РФ, Москва

Современный терапевтический подход в лечении В-клеточного хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) имеет целью получение максимально глубокого ответа в каждом конкретном случае. Исследования минимальной резидуальной болезни (МРБ) выявили сохранение остаточного опухолевого клона даже среди пациентов, достигших полной клинико-гематологической ремиссии.

Цель работы – определение значимости эрадикации МРБ при В-ХЛЛ для прогноза беспрогрессивной выживаемости.

Материалом исследования служили образцы периферической крови 139 больного В-ХЛЛ (88 мужчин и 51 женщина в

возрасте от 43 до 82 лет) после лечения с помощью ритуксимаб-содержащих режимов: FCR, FCR-lite, LR. Оценка МРБ проводилась методом многоцветной проточной цитофлюориметрии на приборах FACSCanto II («Becton & Dickinson») (BD), США) и Cytoomics FC500 («Beckman Coulter») (BC), США) с использованием реагентов производства BD, BC и «Dako» (Дания). Модифицированные протоколы 5- и 6-цветного анализа созданы на основе стандартизованного подхода Rawstron et al., 2007 г.

МРБ-негативный статус (молекулярная ремиссия) получен у 87 (63%) пациентов. У 52 (37%) больных остаточный опухолевый клон выявлялся, составляя от 0,01 до 2,68% клеток от общего числа лейкоцитов (Me = 0,08%). Беспрогрессивная выживаемость варьировала от 21 дня до 1624 дней (Me = 797 дней) и была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше у МРБ-негативных пациентов по сравнению с МРБ-позитивными среди всех исследованных случаев ( $n = 139$ ,  $p = 0,0001$ ), а также в группах больных, выделенных в соответствии с проводимым режимом терапии: FCR ( $n = 86$ ,  $p = 0,0001$ ), FCR-lite ( $n = 29$ ,  $p = 0,016$ ), LR ( $n = 24$ ,  $p = 0,043$ ).

Эрадикация остаточного клона при В-ХЛЛ ассоциируется с лучшими показателями беспрогрессивной выживаемости вне зависимости от способа достижения молекулярной ремиссии.

*О.В. Лебединская, А.П. Годвалов, Н.Б. Мерзлова, И.А. Баранова, А.В. Проскураков.* **Изменение биохимических показателей периферической крови детей с острым лимфобластным лейкозом.** ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера

Цель исследования – изучение биохимических показателей крови детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) в процессе химиотерапии по протоколу АП-МВ-2005. Показано, что у детей с ОЛЛ наблюдается снижение концентрации общего билирубина ( $6,95 \pm 0,79$  мкмоль/л), что вызвано, по-видимому, анемией негемолитического характера. Известно, что билирубин обладает антиоксидантными свойствами, а также является (вместе с биливердином) эндогенным тканевым протектором [Hammerman S. et al., 1998], в связи с чем можно предположить, что у детей с ОЛЛ снижается антиоксидантная защита. В процессе лечения концентрация общего билирубина повышается до  $15,55 \pm 3,49$  мкмоль/л на 15 день лечения. Выявлено статистически значимое увеличение концентрации лактатдегидрогеназы при терапии практически до нормальных значений. Ряд авторов указывают, что уровень этого фермента коррелирует со злокачественностью процесса [Акопян И.Г. и соавт., 2002], риском прогрессии, худшим прогнозом и снижением выживаемости [Горелов А.И. и соавт., 2007]. Степень уменьшения концентрации сывороточного альбумина является чувствительным и удобным маркером выраженности микроциркуляторных нарушений [Родоман Г.В. и соавт., 2004]. В проведенных нами исследованиях отмечено снижение данного показателя до минимального уровня как до, так и после лечения. В периферической крови больных детей значительно повышена концентрация С-реактивного белка ( $48,00 \pm 21,80$  мг/л), которая снижается в процессе химиотерапии ( $2,47 \pm 1,11$  мг/л). Таким образом, проведенные исследования указывают на изменение биохимических показателей периферической крови, отражающих эффективность действия цитостатических препаратов, применяемых в лечении по протоколу АП-МВ-2005. Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037\_урал а и Администрацией Пермского края.

*Е.Б. Медведева<sup>1</sup>, В.С. Берестовская<sup>2</sup>, Н.Ю. Черныш<sup>2</sup>, Е.А. Лукова<sup>3</sup>.* **Можно ли забыть об аномалии Пельгера?** <sup>1</sup>БУЗ ВО Череповецкая детская городская поликлиника № 2, <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, <sup>3</sup>БУЗ ВО Медсанчасть «Северсталь»

При аномалии Пельгера (АП) нейтрофилы имеют короткое палочковидное или бисегментированное ядро с грубой сеткой хроматина. С диагностической точки зрения очень важно, что при АП лейкоциты являются функционально полноценными клетками и могут встречаться у абсолютно здоровых людей. Результаты оценки лейкоцитарной формулы у таких пациентов, без отметки морфолога о наличии АП, лечащий врач будет расценивать как «сдвиг влево» и трактовать изменения как реактивные. В случае с АП данная трактовка окажется ошибочной.

Целью исследования явилось сопоставление результатов клинического анализа крови 4 детей с АП при одномоментном исследова-

нии периферической венозной крови на анализаторах: МЕК 6410 (3 DIFF: дифференцировка лейкоцитов на три популяции) и ХТ-2000i (5 DIFF: с полной дифференцировкой лейкоцитарной формулы).

Во всех результатах, полученных на ХТ-2000i, не отмечено появления «флагов», свидетельствующих о воспалительных изменениях. Дифференцировка лейкоцитов в ХТ-2000i опирается на степень зрелости ядра, а результат градации сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов не определяется формой и сегментацией ядер лейкоцитов. При визуальном подсчете лейкоцитарной формулы при АП после анализатора 3 DIFF избежать ложного палочкоядерного сдвига и необоснованного лечения можно только при высокой квалификации морфолога.

Следовательно, рано забывать об АП в стране с высоким количеством лабораторий, не обладающих анализаторами, способными оценивать степень зрелости ядра. Широкое распространение анализаторов с полной дифференцировкой лейкоцитарной формулы – важный шаг в стандартизации клинического анализа крови, особенно на уровне первичного звена.

*Н.Б. Мерзлова, О.В. Лебединская, А.П. Годовалов, И.А. Баранова, А.В. Проскураков.* **Влияние цитостатической терапии на состав периферической крови детей при остром лимфобластном лейкозе.** ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера

Цель исследования – изучение динамики показателей периферической крови детей при остром лимфобластном лейкозе в процессе химиотерапии. Изучены гематологические параметры в различные сроки лечения больных по протоколу АП-МВ-2005. Установлено, что до лечения у детей наблюдаются эритропения, тромбоцитопения, умеренный лейкоцитоз со сдвигом влево и снижением числа сегментоядерных нейтрофилов. Миелоциты в периферической крови обнаружены в количестве  $180 \pm 90$  в 1 мкл, а бластные клетки –  $3157 \pm 1292$  в 1 мкл. Показано, что уровень эритропении в процессе лечения существенно не меняется. Выявлено, что через три дня после начала первого курса терапии происходит снижение числа лейкоцитов, достигающего минимального уровня на 10 день лечения. В дальнейшем отмечается подъем количества этих клеток. В крови повышается содержание нейтрофилов за счет увеличения числа их зрелых форм. Исходный уровень бластных клеток в периферической крови до лечения составлял 25%, на 3 день – 7%, на 8 день – 1%, затем у всех пациентов достигается уровень 0%, сохраняющийся в дальнейшем до конца терапии. У всех обследованных пациентов после первого курса полихимиотерапии наблюдается состояние гематологической ремиссии. Таким образом, уровень показателей белой крови резко снижается в начале лечения и сохраняется низким (2–3 степень гематотоксичности по классификации WHO). После 15 дня лечения показатели повышаются до 0–1 степени гематотоксичности, при этом в периферической крови не наблюдается появления бластных клеток. Следовательно, угнетение костномозгового кроветворения при лечении по протоколу АП-МВ-2005 не является избыточным и позволяет достичь ремиссии острого лимфобластного лейкоза. Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037p\_урал а и Администрацией Пермского края.

*Р.В. Морозова, Е.А. Димова, Н.В. Ластовкина.* **Частота встречаемости и вопросы морфологической диагностики патологических процессов в лимфоузлах у детей.** ГБУЗ Детская краевая клиническая больница, Краснодар

В диагностике патологических процессов лимфатических узлов у детей используется комплексный подход.

В ДККБ Краснодара за 2012 г. находилось на лечении 56 больных с заболеванием лимфоузлов. Всем больным проводилась открытая биопсия лимфатического узла с последующим цитологическим и гистологическим исследованием с применением иммуногистохимии.

Из 56 больных с лимфаденопатиями лимфома Ходжкина встречалась в 9 случаях (16,1%), Т- и В-клеточные лимфомы были в 12 (21,4%), из них лимфома Беркитта – в 3 (25%), лимфобластная лимфома – в 6 (50%), медиастинальная В-лимфобластная лимфома – в 2 (16,7%), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома – в 1 (8,3%). Неопухолевая патология – 35 случаев (62,5%). Распределение морфологических вариантов лимфогранулематоза выглядело следующим образом: у 6 больных – вариант с нодулярным склерозом, у 2 больных –

смешанноклеточный вариант и в 1 наблюдении – вариант с преобладанием лимфоидной ткани.

Возраст больных от 2 до 17 лет. Лимфомы чаще встречались у мальчиков. Локализация: лимфоузлы шеи – 8, средостение – 6, лимфоузлы брюшной полости – 2, прочие – 5. При лимфогранулематозе имело место преимущественное поражение шейных лимфоузлов.

Во всех случаях с удаленных лимфатических узлов предварительно делались мазки-отпечатки с окраской по методу Паппенгейма, с дальнейшей цитологической их оценкой и последующей заливкой материала в парафин с последующим подтверждением гистологическим и иммуногистохимическим методами (комплексный цитолого-гистологический метод).

Современная диагностика опухолевой и неопухолевой патологии основана на морфологических критериях, требующих комбинации цитологического, гистологического и иммуногистохимического методов исследований. Комплексный подход является незаменимым, позволяет быстро поставить диагноз и в ранние сроки начать специфическую терапию.

*Ю.Ю. Орлова, Э.А. Имельбаева, А.Ж. Гильманов.* **Значимость определения гематологических показателей у аллергических больных.** ГБУЗ Городская клиническая больница № 21, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

Распространенность аллергических заболеваний высока во всем мире, что обусловлено многими факторами, в том числе загрязненностью окружающей среды, изменениями образа жизни, характера питания и др. В Республике Башкортостан она составляет от 10 до 30% населения. Основным методом диагностики аллергии является клиническое обследование с постановкой кожных проб, однако последние могут давать побочные эффекты и осложнения и их постановка невозможна, в частности, при аллергических дерматозах. Лабораторные исследования в диагностике и мониторинге аллергии играют вспомогательную роль и, как правило, ограничиваются определением общего IgE и специфических иммуноглобулинов класса E в сыворотке, а также эозинофилии в крови. В последние годы появилась возможность определения широкого спектра клинико-лабораторных показателей, в частности гематологических, однако значимость многих из них при аллергических заболеваниях неясна. В связи с этим мы посчитали интересным провести анализ гематологических показателей у больных с аллергическими заболеваниями.

В исследование было включено 50 больных, госпитализированных в аллергологическое отделение ГКБ № 21 Уфы с диагнозами бронхиальной астмы, крапивницы и аллергического дерматита. В обследуемой группе преобладали лица трудоспособного возраста (от 20 до 59 лет, 82%; наибольшая доля – 30–39 лет, 24%), женщины (54,9%); стаж заболевания составлял от 5 до 15 лет. Лабораторные показатели определяли в группах мужчин и женщин с аллергопатологией, результаты сравнивали с данными практических здоровых мужчин и женщин. Исследовалась капиллярная кровь, взятая в первый день пребывания в стационаре утром натощак. Уровень гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, средний объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) определяли на анализаторе «Астра» (Россия), СОЭ и фракции лейкоцитов – традиционными методами; полученные данные подвергали статистической обработке.

Как показали проведенные исследования, общими закономерностями изменений гематологических показателей у аллергических больных в большинстве случаев были умеренная эозинофилия и снижение MCH. У мужчин, больных бронхиальной астмой, изменения в крови были более выраженными, чем у женщин, и характеризовались абсолютной и относительной эозинофилией, палочкоядерным и сегментоядерным нейтрофилезом, моноцитозом. У больных крапивницей на фоне тех же сдвигов дополнительно отмечалось повышение СОЭ. При аллергическом дерматите у мужчин наблюдались сегментоядерный нейтрофилез, абсолютная и относительная лимфоцитопения, моноцитоз; у женщин с тем же диагнозом гематологические сдвиги были более выраженными и заключались в снижении MCH и MCV, эозинофилии и более высокой СОЭ. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности системы гемопоза в аллергические процессы и изменении параметров клеток периферической крови под влиянием воспалительных медиаторов.

*И.В. Пашикина, С.Н. Суплютов. О соотношении отдельных показателей метаболизма железа у детей при различных железодефицитных состояниях.* ГБОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия

Клинико-лабораторная диагностика железодефицитных состояний (ЖДС) включает исследование большого количества гематологических и биохимических показателей, отражающих различные аспекты метаболизма железа. В этой связи несомненный интерес представляет оценка информативности отдельных показателей обмена железа при ЖДС разной степени выраженности. В связи с чем целью настоящей работы явилась оценка взаимоотношений наиболее часто используемых показателей метаболизма железа при латентном дефиците железа (ЛДЖ) и железодефицитной анемии (ЖДА).

У практически здоровых детей ( $n = 150$ ), а также детей с ЛДЖ ( $n = 190$ ) и ЖДА ( $n = 50$ ) в возрасте от 1 года до 16 лет проводилось исследование показателей общего анализа крови, уровня растворимых рецепторов трансферрина (РРТ), сывороточного железа (СЖ) и ферритина (СФ). Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica, версия 6.0 («StatSoft», 2001).

В ходе проведенного исследования выявлены определенные закономерности. Установлена достоверная, но слабая взаимосвязь концентрации СЖ с уровнем гемоглобина у здоровых детей ( $r = 0,20, p < 0,05$ ), которая несколько увеличена при ЛДЖ ( $r = 0,32, p < 0,05$ ) и при анемии ( $r = 0,37, p = 0,19$ ). Корреляция уровней СЖ и СФ при ЛДЖ выражена слабо ( $r = 0,22, p = 0,28$ ), однако эта взаимосвязь возрастает при анемии ( $r = 0,41, p = 0,08$ ). У детей с железодефицитной анемией истощение резервных запасов железа и уменьшение его содержания в сыворотке крови существенно отражаются на экспрессии трансферриновых рецепторов цитомембран клеток, использующих железо. В исследовании определена умеренная обратная корреляция уровня СЖ и рецепторов трансферрина при ЛДЖ ( $r = -0,34, p < 0,05$ ), которая значительно усиливается при анемии ( $r = -0,53, p < 0,05$ ). Корреляция уровней РРТ и гемоглобина выявлена при развитии скрытого железодефицита ( $r = -0,35, p < 0,05$ ) и особенно при ЖДА ( $r = -0,52, p < 0,05$ ).

Концентрации рецепторов трансферрина и СФ у здоровых детей достаточно вариабельны в пределах референтных значений и взаимосвязь между ними статистически незначима. У детей с ЛДЖ концентрация РРТ отражает степень компенсации железодефицита преимущественно на клеточном уровне и поэтому не всегда коррелирует с ферритином, характеризующим депонированное железо. При этом статистически значимая обратная взаимосвязь между этими показателями ( $r = -0,30, p < 0,05$ ) выявлена только при ЖДА.

Таким образом, ввиду многофакторности механизмов регуляции метаболизма железа в организме при диагностике ЖДС разной степени выраженности целесообразно учитывать выявленные особенности взаимоотношений между отдельными его показателями.

*Е.В. Ройтман<sup>1</sup>, И.М. Колесникова<sup>1</sup>, Ю.В. Румянцева<sup>1</sup>, Л.И. Жарикова<sup>1</sup>, М.В. Нуреев<sup>1</sup>, А.В. Дубанов<sup>2</sup>, С.А. Румянцев<sup>1</sup>, М.Ю. Андрианова<sup>1,3</sup>, Л.И. Еришова<sup>1,4</sup>.* **Реологические свойства крови у детей с острым лимфобластным лейкозом в стадии ремиссии.** <sup>1</sup>ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава РФ; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана; <sup>3</sup>ФГБУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского РАМН, Москва; <sup>4</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

Острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ) – заболевания системы кроветворения, которые являются самыми распространенными злокачественными заболеваниями в детском и юношеском возрасте.

Цель исследования – изучение реологических свойств крови у детей с ОЛЛ в стадии ремиссии. Обследовано 25 пациентов (от 1 года до 18 лет). В работе использованы вискозиметрия цельной крови и плазмы, оценка агрегационной и деформационной способности эритроцитов и ряда показателей гомеостаза.

Выявлено, что при нормальных значениях вязкости плазмы вязкость цельной крови при различных скоростях сдвига была умерен-

но увеличенной. Отмечена гиперагрегация эритроцитов при сохранении их нормальной деформируемости. Корреляционный анализ выявил достоверную зависимость величины вязкости плазмы от величины дефицита буферных оснований крови и концентрации ионов  $K^+$ . Концентрация мочевины оказывала существенное влияние на величины вязкости крови в диапазоне скоростей сдвига 5–100  $c^{-1}$ . При больших скоростях сдвига свое непосредственное влияние демонстрировали концентрации мочевины и ионов  $K^+$ .

Таким образом, гемореологическая картина у детей с ОЛЛ в стадии ремиссии в значительной степени складывается под влиянием концентрационной и выделительной функций почек, а также содержания ионов  $K^+$  в плазме крови. Гиперагрегация эритроцитов может оказаться одним из факторов, способных «запустить» процесс тромбообразования.

*О.Б. Трофимова<sup>1</sup>, Д.А. Куведов<sup>1</sup>, А.Ю. Зарицкий<sup>2</sup>.* **Стандартизация измерений мРНК BCR-ABL при хроническом миелолейкозе в России и гармонизация получаемых значений с международной шкалой.** <sup>1</sup>ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, <sup>2</sup>ФГУ ФЦСКЭ им. Алмазова

Современная медицина предлагает эффективные средства для лечения хронического миелолейкоза (ХМЛ), при этом, для определения дозировки препаратов и оценки их эффективности требуется мониторинг количества мРНК химерного гена BCR-ABL, экспрессирующегося при данном заболевании. В Европе разработаны протоколы лечения в зависимости от количества мРНК BCR-ABL. Для стандартизации исследований по всей России был разработан единый набор реагентов для ПЦР в режиме реального времени и 2 протокола проведения исследований – протокол работы с цельной кровью и протокол обработки крови с консервантом, которые должны соблюдаться во всех лабораториях. Для обеспечения универсальности проведения всех этапов исследования сотрудники лабораторий были обучены работе с клиническими образцами, реагентами и анализу результатов в рамках научно-практического тренинга. Для сопоставления получаемых данных с данными международной шкалы была выбрана российская референс-лаборатория. Путем обмена образцами и результатами с международным референс-центром был получен конверсионный фактор 1.63 для референс-лаборатории. Фактор приводит полученные результаты к международной шкале. Дальнейшая работа по вычислению конверсионного фактора в каждой из 13 лабораторий России заключалась в обмене образцами между данной лабораторией и единым российским центром стандартизации и вычисления индивидуальных коэффициентов. Полученные коэффициенты пересчета варьировали от 0,77 до 2,05 для протокола с консервантом и от 0,48 до 1,19 для протокола обработки цельной крови. Благодаря проведенной работе на сегодняшний день мониторинг за больными ХМЛ проводится по единому стандарту по всей России и соответствует международным стандартам.

*К.В. Фаткуллин, Г.Х. Утарбаева, Р.М. Салыхова, А.Ж. Гильманов.* **О стабильности показателей карбокси- и метгемоглобина в пробах крови.** ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа

Отравления угарным газом и метгемоглинообразователями часто встречаются в практике работы реанимационных и токсикологических отделений ЛПУ. Кроме острых, возможны хронические отравления, в основном связанные с действием вредных факторов профессионального характера (на производстве); необходимость определения их действия по уровню карбокси- и метгемоглобина в крови при профилактических осмотрах нашла отражение в приказе МЗ СР РФ № 302н от 12.04.2011 г. При определении дериватов гемоглобина в пробах людей, проходящих обязательный медицинский осмотр в рамках этого приказа, возникает ряд вопросов, в основном связанных с методологией анализа (выбор способа определения, необходимого оборудования, определение референсных пределов показателей и др.). Стандартизация преаналитического этапа и методов определения дериватов гемоглобина на сегодняшний день не проведена, и разброс результатов, по данным литературы, достаточно велик.

Одним из важных аспектов на пути стандартизации методов является определение стабильности аналитов в пробе и оптимальных условий ее взятия. Целью настоящего исследования был подбор антикоагулянта, наиболее удобного при взятии проб

крови (в отношении влияния на определяемые параметры), и определение временной стабильности производных гемоглобина в зависимости от условий взятия и хранения материала. Исследованию подвергались пробы крови пациентов токсикореанимационного отделения ГКБ № 21 Уфы как с низким («нормальным»), так и с высоким содержанием СО-Нб (до 42%). У каждого пациента были взяты по 9 проб венозной крови с различными антикоагулянтами и без них и 1 проба капиллярной крови без антикоагулянта; использовались вакуумные пробирки с гепарином и ЭДТА, а также системы для капиллярной крови. Пробы хранились при 2–8°C от 30 мин до 12 нед, содержание мет- и карбоксигемоглобина определялось фотометрическим методом по множественным спектральным точкам на анализаторе ПОЛИГЕМ (ЗАО НПФ «Техномедика», Москва).

В результате проведенных исследований не было выявлено существенных различий между содержанием дериватов гемоглобина в венозной и капиллярной крови. Также не было обнаружено влияния антикоагулянтов на уровень определяемых аналитов при исследовании в течение 30 мин – 72 ч после взятия крови. Некоторой неожиданностью стало обнаружение в крови курящего здорового мужчины содержания СО-Нб существенно выше референсных пределов из большинства литературных источников (до 20%). Уровень СО-Нб в пробе крови весьма стабилен при ее хранении до 3 мес и не зависит от типа антикоагулянта. Вместе с тем при повторном взятии крови у пациента в отделении острых отравлений отмечалось существенное снижение уровня СО-Нб по сравнению с этапом поступления в приемное отделение (от 3 до 7%), что, вероятно, объясняется диссоциацией СО-Нб вследствие влияния кислорода и  $\text{HbO}_2$ . Уровень метгемоглобина в первые 3 сут стабилен, но в дальнейшем несколько изменяется; начиная с 3 недели хранения, отмечается увеличение его содержания в крови с ЭДТА (вплоть до 15–26 раз на 12 нед); в гепаринизированной крови это явление значительно менее выражено (рост до 2–5,5 раз). Таким образом, дериваты гемоглобина отличаются стабильностью в течение как минимум 3 суток с момента взятия (при хранении крови в закрытой первичной пробирке).

*О.И. Фёдорова, О.А. Гусякова, С.П. Кривова, Т.Ю. Степанова, А.И. Габрильчак, И.Л. Давыдкин. Диагностическое значение морфометрии моноцитов периферической крови.* ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ

Цель исследования – изучение реакции моноцитов периферической крови у лиц разного возраста и пола при внебольничной бактериальной пневмонии.

Обследованы 116 больных внебольничной бактериальной пневмонией (80 мужчин и 36 женщин), которые были разделены на три возрастные группы: 18–44 лет (больные молодого возраста), 45–59 лет (больные среднего возраста) и 60–74 года (больные пожилого возраста), контрольную группу составили 16 практически здоровых мужчин и 14 женщин (18–44 лет). Проведены общий анализ крови и компьютерная морфометрия моноцитов периферической крови в стандартно приготовленных мазках периферической крови, окрашенных по Лейшману. Взятие крови у больных выполнено в день поступления в стационар.

Анализ полученных результатов показал, что уровень лей-

коцитов периферической крови у больных пневмонией трех возрастных групп значительно выше, чем у здоровых. Число моноцитов, как относительное, так и абсолютное, было увеличено, что объясняется увеличением продукции моноцитов для обеспечения возросших потребностей организма в фагоцитирующих клетках. Половых различий в реакции моноцитов при воспалении легких не обнаружено. У больных всех возрастных групп при пневмонии размеры моноцитов уменьшались за счет ядер. Учитывая, что при созревании от монобласта до макрофага клетка претерпевает ряд функциональных и морфологических изменений, меняется размер клеток, можно предположить, что по мере увеличения возраста моноцита, циркулирующего в крови, он увеличивается в размерах. Особенности морфометрических показателей моноцитов можно объяснить тем, что при воспалении в крови появляются более молодые моноциты, которые имеют меньшие размеры, что связано с активацией моноцитопоза. Отсутствие увеличения цитоплазматическо-ядерного отношения у пожилых больных пневмонией указывает на меньшую степень активации моноцитов в данной группе больных.

*О.В. Хороших, Т.С. Белохвостикова, Т.С. Капорская, И.В. Киселев, А.Н. Ребриков, Н.В. Киселева. Прогностическое значение CD200 при острых миелоидных лейкозах.* ГБУЗ Иркутская областная клиническая больница, кафедра клинической лабораторной диагностики ГБОУ ИГМАПО

Поиск прогностически надежных поверхностных и внутриклеточных маркеров бластных клеток при острых миелоидных лейкозах (ОМЛ) является актуальным до настоящего времени. Целью нашего исследования было изучение экспрессии антигена CD200 на бластных клетках.

Исследование экспрессии поверхностных маркеров костного мозга проводили на 2-лазерном проточном цитофлюориметре FACSCalibur, реагентами производства «Becton Dickinson». Для детекции CD200 использовали PE-меченый конъюгат. Под нашим наблюдением находились 26 больных острыми миелоидными лейкозами. В зависимости от экспрессии CD200 все больные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошли больные с экспрессией маркера CD200 более чем на 50% бластных клеток костного мозга (18 больных), во 2-ю с низкой экспрессией маркера (8 больных). Оценивали количество летальных исходов, первичную резистентность к химиотерапии - т.н. «неблагоприятный прогноз». Хорошим результатом (прогнозом) считали выход в ремиссию после первого курса индукционной химиотерапии. В 1-й группе смертность составила 27,8%, во второй группе летальных исходов не было. В первой группе выявлено 27,8% с «хорошим» исходом, во второй – 50% больных. В группе больных с негативным прогнозом наблюдалось снижение числа бластов с экспрессией CD34<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-клеток и достоверным увеличением числа миелобластов, коэкспрессирующих CD200<sup>+</sup>/CD33<sup>+</sup> (62,82 ± 16,52 по сравнению с 20,50 ± 10,61% позитивных клеток во второй группе). Выявлено, что экспрессия CD200<sup>+</sup> на миелобластах является маркером неблагоприятного прогноза течения ОМЛ. Безусловно, экспрессия CD200<sup>+</sup> на миелобластах не может быть единственным предиктором плохого прогноза. Тем не менее нами выявлена ассоциация экспрессии супрессорного рецептора CD200<sup>+</sup> с краткосрочным негативным прогнозом.

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В НЕФРОЛОГИИ

*М.М. Мнускина. Оценка диагностической информативности исследования уровня аннексин-5 в качестве биомаркера ранних сосудистых нарушений при хронической болезни почек.* ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Минздрава РФ

Хроническая болезнь почек (ХБП) сопровождается ускорением апоптоза, одним из маркеров которого рассматривается аннексин-5 (Ан-5).

Процессы деструкции мембран клеток, находящихся в состоянии апоптоза, в частности экспрессия на поверхности клетки фосфолипидов внутреннего слоя цитоплазматической мембраны, запускают каскад реакций воспаления и коагуляции.

Циркулирующий Ан-5 блокирует «дефектные» участки цитоплазматической мембраны, и тем самым ингибирует прокоагулянтную и провоспалительную активность клеток, в том числе и эндотелия. Следовательно, повышение концентрации Ан-5 в крови рассматривается как маркер активации апоптоза и нарушений микроциркуляции.

Обследовали 46 больных ХБП без клинической симптоматики атеросклероза с измененной липидограммой, из них 18 мужчин и 28 женщин в возрасте 49,6 ± 2,8 лет (35–60 лет). Среди обследованных: хронический гломерулонефрит у 69%, хронический пиелонефрит у 8%, диабетическая нефропатия у 5%, прочие 18%. Концентрация циркулирующего Ан-5 определялась иммунофер-