

паратов и диагностических средств, по-прежнему актуально. Известно, что для этих целей с точки зрения эффективности достаточно привлекательными являются методы, в основе которых лежит биоспецифическая хроматография. Цель работы – синтезировать биоимитирующие хроматографические сорбенты на основе кремнеземных носителей и лигандов – активных триазиновых красителей, изучить их возможности сорбции и десорбции VII плазменного фактора свертывания крови.

Материалы и методы. Использовали кремнеземный носитель Диасорб аминопропиловый, активные триазиновые красители. Связывание красителей к матрице проводили по методике "с включением соли". Исходным сырьем для исследований были фракции II + III и III плазмы крови по Кону. Белковый состав фракций плазмы, а также чистоту получен-

ных белковых препаратов исследовали электрофоретически в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия (система Леммли). Активность фактора VII определяли коагулологическим методом по времени образования тромбина, а также с использованием хромогенных пептидных субстратов.

Результаты и обсуждение. Синтезировано 16 хроматографических сорбентов, изучены их свойства относительно сорбции и десорбции фактора свертывания крови VII. По своим свойствам сорбенты разделены на 5 разных групп.

Заключение. На основе макропористых кремнеземных матриц и красителей-лигандов созданы биоимитирующие хроматографические сорбенты, которые могут быть применимы в процессе получения очищенных белковых препаратов, в частности, фактора свертывания VII.

Морфо-функциональное состояние миокарда у детей после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

И.В. Маркова¹, Л.С. Зубаровская¹, А.В.Козленок², А.А. Гудкова², Б.В. Афанасьев¹

¹Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ГБОУ ВПО Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; ²ФЦ сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

Введение. Структурно-функциональное состояние миокарда и изменения внутрисердечной гемодинамики могут определять выживаемость и качество жизни больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), определяя актуальность мониторинга этих показателей.

Материалы и методы. В исследование включены 20 пациентов в возрасте от 2 до 19 лет с различными злокачественными заболеваниями системы крови (острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) – 7, острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) – 4, хроническим миелолейкозом (ХМЛ) – 4, миелодиспластическим синдромом (МДС) – 1), а также апластической анемией, тяжелой степени – у 2, анемией Фанкони – у 1 больных, в лечении которых применяли алло-ТГСК. У 8 больных использовали миелоаблативный режим кондиционирования, у 12 – немелоаблативный режим. Длительность наблюдения после алло-ТГСК варьировала от 9 мес до 3,5 лет. Инструментальное исследование сердечно-сосудистой системы включало эхо-кардиографию (ЭхоКГ) (М-модальный, двумерный и доплеровский режимы). Систолическое давление в легочной артерии рассчитывали исходя из величины градиента давления трикуспидальной регургитации.

Результаты и обсуждение. У 7 (33%) из 20 больных обнаружены пограничные значения систолического давления в легочной артерии (СДЛА). Значения СДЛА варьировали от 30 до 34 мм рт.ст. У 1 больного в возрасте 19 лет, наряду с пограничными цифрами легочной гипертензии (ЛГ), выявлена небольшая дилатация правого желудочка (ПЖ), у 1 – пограничные значения ЛГ сочетались с умеренной дилатацией левого предсердия (ЛП) и нарушением диастолической функции ПЖ. Диастолическая дисфункция ПЖ вне структурных изменений миокарда и нарушений внутрисердечной гемодинамики обнаружена еще у 3 (19%) больных (6, 11 и 8 лет), причем в последнем случае имела диастолическая дисфункция обоих желудочков. Клинические проявления хронической сердечной недостаточности с сохранной фракцией выброса отсутствовали.

Заключение. Обнаружена высокая частота выявления диастолической дисфункции ПЖ и/или пограничная легочная гипертензия у детей перенесших алло-ТГСК. Необходимо мониторингирование этих показателей для оценки их вклада в последующем в формирование сердечной недостаточности у этой группы больных.

Молекулярно-генетическое исследование клональности В- и Т-лимфоцитов в диагностике неходжкинских лимфом

А.Э. Мационис, П.Э. Повилайтите, А.В. Петров

ГБУ Ростовской области Патологоанатомическое бюро, отделение экспериментальной патоморфологии и электронной микроскопии

Введение. На сегодняшний день при морфологическом исследовании материала пациентов с подозрением на лимфолифферативное заболевание, в большинстве случаев, для точной диагностики достаточно совокупности клинических, морфологических данных, результатов проточной цитометрии и иммуногистохимии. Однако у 5–10% больных постановка диагноза затруднена. И даже опытным морфологам необходима дополнительная информация. В этом случае применение молекулярно-генетических методов может оказаться полезным в комплексном анализе конкретного случая. Ценность определения "клональности" В- и Т-лимфоцитов для диагностики основано на том, что опухолевые лимфоидные клетки имеют общего предшественника, а значит, несут идентичный набор генетических перестроек. Практически все лимфоидные неоплазии В- или Т-линии несут клонально перестроенные гены иммуноглобулинов и/или Т-клеточных рецепторов соответственно. Доклад посвящен рассмотрению диагностической значимости, достоинствам и недостаткам метода мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) для исследования клональности В- и Т-лимфоцитов.

Материалы и методы. Обычно в качестве материала для анализа выступают образцы лимфоидной ткани в парафиновых блоках. Реже на исследование доставляется нативный, нефиксированный операционный материал. Ткани заклю-

ченные в парафин – является проблемным диагностическим материалом, поскольку ДНК в этом случае подвергается значительной деградации, межмолекулярным ковалентным сшивкам и др., и не всегда полноценно пригодна для анализа. Поэтому после выделения ДНК, для исключения ложноположительных результатов, каждый образец подвергают анализу на качество. Только ДНК приемлемого качества может быть использована для постановки мультиплексных ПЦР к полной и/или неполной перестройке генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (генов γ - и/или β -цепей Т-клеточного рецептора, в зависимости от того, какая В- или Т-клеточная лимфома заподозрена патологом в исследуемом образце ткани). Для исследования используем тест-системы IdentiClone IGH Gene Clonality Assay, IdentiClone TCRB Gene Clonality Assay или IdentiClone TCRG Gene Clonality Assay ("In Vivo Scribe Technologies", США) согласно инструкции производителя. Детекцию результатов проводим методом капиллярного электрофореза на приборе 3100-Avant Genetic Analyzer ("Applied Biosystems", США).

Результаты и обсуждение. Если на электрофореграмме в ожидаемой области длин наблюдается один или два выраженных пика, то такие результаты свидетельствуют о наличии в анализируемом материале клональной В- или Т-клеточной популяции. Если же пики образуют куполообразную форму

по типу Гауссовского распределения, то это означает, что лимфоидные клетки в образце имеют поликлональную генетическую природу, что характерно для реактивных процессов.

Заключение. Молекулярно-генетическое исследование клональной перестройки генов тяжелых цепей иммуноглобу-

линов (генов γ - и/или β -цепей Т-клеточного рецептора) может дать патологу дополнительную информацию в решении вопроса является ли данная лимфоидная ткань злокачественной опухолью или представляет собой доброкачественный процесс.

Роботизированная микроскопия и информационные технологии увеличивают точность, чувствительность и доступность методик анализа морфологии клеток крови

В.С. Медовый

ЗАО Медицинские компьютерные системы (МЕКОС), Москва

Современные роботизированные комплексы микроскопии (РКМ) выполняют автоматический просмотр мазка крови с адаптацией к качеству биоматериала, условиям пробоподготовки, распределению материала в препарате, влиянию патологии на морфологию клеток, качеству съемки в микроскопе, обеспечивая выполнение всех рекомендаций ручной методики анализа. Применение РКМ радикально улучшает условия труда и увеличивает производительность. Выходная информация РКМ, представленная в форме сортированных галерей изображений клеток выборки, может рассматриваться как представительная концентрированная цифровая модель натурального препарата (ЦМП). ЦМП пригодна для удаленных визуальных телемедицинских консультаций, в том числе через Интернет. Благодаря увеличению выборки появилась возможность впервые в массовом порядке обнаруживать и визуально идентифицировать патологические признаки и объекты при их низкой концентрации. РКМ способны изготавливать также более полные ЦМП – виртуальные слайды (ВС). Из-за значительного объема ВС используются главным образом для исследовательских целей, контроля качества и обучения. РКМ МЕКОС-Ц2 использует средства экспорта ЦМП по линиям связи в сервисный центр МЕКОС в качестве постоянно действующей компоненты эксплуатации и модернизации МЕКОС-Ц2, обеспечивающей контроль

автоматических функций РКМ и создающей кооперацию разработчиков и потребителей для испытаний новых версий МЕКОС-Ц2. Постоянно пополняемый за счет многих лабораторий, архив ЦМП МЕКОС используется в качестве модели внешней среды для оптимизации аналитических функций МЕКОС-Ц2. Накопленная выборка ЦМП обеспечивает объем и представительность испытаний при различных патологиях, методиках пробоподготовки, особенностях контингента больных, недостижимую при обычных натуральных испытаниях. Указанная технология создания коллективного архива "референсных ЦМП", предлагаемая научно-методическим центром МЕКОС, может применяться потребителями для исследовательских медицинских целей. Информационной поддержкой методик РКМ-ЦМП является интернет ресурс МЕКОС-Virt для передачи, хранения, удаленного доступа, поддержки телемедицинских консультаций ЦМП.

Роботизированные функции РКМ позволяют внедрить углубленные методики и эффективно использовать время врача лаборатории, сетевые функции РКМ-ЦМП позволяют рационально использовать интеллектуальные ресурсы больницы, Интернет функции РКМ-ЦМП-МЕКОС-Virt открывают возможности поднять качество анализов за счет эффективного использования высококвалифицированного персонала в масштабах региона и страны в целом.

Многоцентровая болезнь Кастанелана и РОEMS-синдром: результаты клиничко-морфологического обследования и вариантов лечения

А.М. Михайлов¹, С.С. Бессмельцев², Т.И. Агеева³, В.В. Байков⁴, А.Ю. Зарицкий⁵, Н.В. Ильин⁶, Н.М. Калинина⁷, Ю.А. Криволапов⁸, К.М. Пожарисский⁶, Т.И. Поспелова⁹

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, ²Российский НИИ гематологии и трансфузиологии,

³Государственный медицинский Университет, Новосибирск, ⁴Государственный медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова,

⁵Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, ⁶Федеральный центр радиологии и хирургических технологий,

⁷Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. Н.М. Никитина, ⁸Ленинградское областное патологоанатомическое бюро, Санкт-Петербург, ⁹НИИ травматологии и ортопедии, Новосибирск

Введение. Болезнь Кастанелана (БК) представляет собой редкое лимфолифопролиферативное доброкачественное заболевание с непредсказуемым течением и риском трансформации в лимфому. Несмотря на хорошо описанную гистологическую характеристику опухоли, диагностика и лечение БК остается трудной задачей.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 11 больных мультицентричной формой болезни Кастанелана (МБК). Период наблюдения за больными от 1 года до 4 лет. Диагноз был установлен на основании гистологического и иммуногистохимического исследований ткани лимфатических узлов. Мультицентричность доказана методом спиральной компьютерной томографии. У 4 пациентов верифицирован плазмноклеточный вариант МБК, у 7 – гиалиново-васкулярный. У 6 больных в процессе болезни развился РОEMS-синдром (полинейропатия, органомегалия, эндокринопатия, М-протеин, изменения кожи). У пациентов с РОEMS-синдромом, наряду с классическими проявлениями, выявлялись массивные полостные отеки, рефрактерные к эвакуациям, а у 3 человек они сочетались с периферической демиелинизирующей полинейропатией, зарегистрированной электро-нейромиографией. У 3 человек в сыворотке крови, а у 1 больного еще и в ликворе выявлен высокий уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6). Трое пациентов были инфицированы герпесвирусом человека 8-го типа (HHV 8-го типа) (ДНК вируса выявлена в сыворотке крови и в ткани лимфатических узлов иммуногистохимическим мето-

дом). У всех больных с РОEMS-синдромом в крови и суточной моче были увеличены λ -цепи иммуноглобулинов. При гистохимическом исследовании в ткани лимфатических узлов при РОEMS-синдроме определялось обильное развитие капиллярной сети (по экспрессии CD31) и тотальная секреция сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) всеми структурами лимфатического узла.

Результаты и обсуждение. Для лечения больных использовали различные методы. В настоящее время живы 8 больных. У 6 больных была получена ремиссия. При этом у 2 больных с плазмноклеточным вариантом МБК и РОEMS-синдромом была применена высокодозовая химиотерапия с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (длительность ремиссии на момент обсчета результатов 1 год). Ремиссия была получена также у пациента с плазмноклеточным вариантом МБК после использования анти-интерлейкина-6 в течение 1 года. Больной продолжает получать этот препарат. Результаты применения анти-интерлейкина-6 еще у 1 больного пока оценить не представляется возможным. 1 больной МБК и РОEMS-синдромом получил 6 циклов СНОР-21 с достижением ремиссии. С целью поддерживающей терапии ему был назначен интерферон- α . Отмечена санация крови от ДНК HHV 8-го типа и нормализация уровня ИЛ-6. Ремиссия сохраняется в течение 2 лет. 1 больной пролечен ритуксимабом (4 введения) и 1 больной МБК без РОEMS – рофероном. Достигнута ремиссия. Срок наблюдения 6 и 12 мес соответственно. У 1 больной МБК