

но 46410 случаев ВИЧ-инфекции; показатель пораженности ВИЧ-инфекцией 2011 г. составил 1167,5 на 100 000 населения. В 2011 г. было зарегистрировано 3790 новых случаев ВИЧ-инфекции в области (119,5 на 100 000 населения).

**Результаты и обсуждение.** Одним из многих гематологических проявлений проявлений ВИЧ-инфекции, наряду с анемией и лейкопенией являются тромбоцитопении. Они были зарегистрированы у 24,09% больных. Подробно мы исследовали группу пациентов, с тромбоцитопенией тяжелой степени (тромбоцитов менее  $50 \times 10^9/\text{л}$ ). Данный уровень тромбоцитов регистрировали у 84 пациента (50 мужчин и 34 женщин) в возрасте от 22 до 52 лет ( $30,6 \pm 6,1$  года). Диагноз ВИЧ-инфекция III стадия – у 36 больных; ВИЧ-инфекция IVA стадия – у 31; ВИЧ-инфекция IVB стадия – у 17. У 68% больных тромбоциты повысились в среднем до  $111 \times 10^9/\text{л}$  на фоне ВААРТ. У 32% не удалось добиться повышения количества тромбоцитов применением только ВААРТ, назначали кортикостероиды, что повысило содержание тромбоцитов

у 68% пациентов. Однако, ремиссия свыше 6 мес отмечена только у 13%. Очевидной помехой для использования кортикостероидов у ВИЧ-инфицированных является их способность вызывать дополнительную иммуносупрессию, что усугубляет иммунодефицит и вызывает присоединение оппортунистических инфекций. Так у 3 пациентов, при приеме кортикостероидов присоединился туберкулез. У 4 больных с резистентной к консервативной терапии тяжелой ВИЧ-ассоциированной тромбоцитопенической пурпурой была произведена спленэктомия. Они имели ранний полный ответ на спленэктомию, с повышением числа тромбоцитов более чем  $100 \times 10^9/\text{л}$ . За период наблюдения после спленэктомии, который составил 26,5 мес, все, кроме 1 больного, достигли полной ремиссии.

**Заключение.** Спленэктомия, может являться эффективным средством для лечения больных с клиническими проявлениями ВИЧ-ассоциированной тромбоцитопенией, резистентных к медикаментозной терапии.

### Определение активности концентратов протромбинового комплекса

Т.В. Даныш, М.И. Вороняк

ГУ Институт патологии крови и трансфузионной медицины НАМН, Львов, Украина

Современные методы биотехнологии позволяют получать из плазмы крови значительное количество биологически активных веществ, которые используются с лечебной или диагностической целью. Концентрат протромбинового комплекса, получаемый при фракционировании плазмы, состоит из факторов свертывания крови II, VII, IX и X. Данные белки являются сериновыми протеиназами трипсинового типа. Для медицинских целей чаще всего при заместительной терапии в изолированном виде применяется фактор IX, значительно реже фактор VII. Использование фактора X для лечебных целей невелико, так как его дефицит относится к чрезвычайно редкой патологии. Поэтому выделение его в препаративных количествах необходимо, прежде всего, для научных целей. Фактор II (протромбин), кроме использования в лабораторной диагностике, а также в качестве компонента фибринового клея в хирургии, достаточно широко применяется в комплексе с другими плазменными факторами свертывания при болезнях печени, массивных кровопотерях и другой патологии системы гемостаза наследственной и приобретенной этиологии. Данный комплекс мы получаем путем дополнительной обработки субфракций II + III или III плазмы крови по Кону и используем для последующего выделения из него отдельных из вышеперечисленных факторов. В основе предложенных методов выделения и очистки факторов лежит применение биоспецифической хроматографии на кремнеземных сорбентах с большим размером пор. Используя различные лиганды на основе триазиновых и винилсульфоновых красителей, синтезирован ряд новых аффинных сорбентов. Используя различия в связывании и элю-

ции факторов свертывания, удалось создать схемы препаративного раздельного их выделения. В целях контроля этапов процесса выделения и очистки измеряли активность данных факторов на всех стадиях и в исходном сырье (протромбиновом комплексе), для чего использовали коагулологические методы, а также пептидные хромогенные субстраты. Принцип работы коагулологических методов заключается в исследовании активированного частичного тромбопластинного времени разведенной безтромбоцитной плазмы и разведенной стандартной референтной плазмы, получаемой от здоровых людей, при компенсации возможного снижения всех факторов свертывания, кроме измеряемого, субстратной плазмой с известным выраженным дефицитом данного фактора (менее 1%). Содержание дефицитного фактора в процентах в исследуемой плазме определяли по стандартной кривой разведения. Определение активности факторов в исследуемых образцах проводили также с использованием хромогенных пептидных субстратов. В основе их применения лежит явление гидролиза ферментом специфического субстрата, при котором расщепляется п-нитроанилидная связь. Хромофор п-нитроанилин переходит в раствор и окрашивает его в желтый цвет, благодаря чему его количество можно измерить спектрофотометрическим методом. Активность фермента в определенных пределах пропорциональна количеству выделенного п-нитроанилина. Для устранения влияния примесных факторов при определении активности исследуемого фактора использовали различные специфические ингибиторы протеиназ: бензамидины, п-толуолсульфонилхлорид и др.

### Влияние 3,5-замещенных изоксазолов и их производных на агрегацию тромбоцитов человека

Демина О. В.<sup>1</sup>, Лаптев А. В.<sup>1</sup>, Лукин А. Ю.<sup>2</sup>, Беликов Н. Е.<sup>2</sup>, Швец В. И.<sup>2</sup>, Варфоломеев С. Д.<sup>1</sup>, Ходонов А. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; <sup>2</sup>Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва

Нами была синтезирована библиотека 3,5-замещенных изоксазолов и их 4,5-дигидропроизводных как возможных антиагрегационных средств. Данные соединения содержали 2-, 3- и 4-пиридилный фрагмент в позиции С3 изоксазольного кольца [О.В. Демина и др., 2002]. Были проведены исследования ряда этих соединений на антиагрегационную активность *in vitro* с использованием в качестве индукторов агрегации тромбоцитов человека арахидоновой кислоты, АДФ, адреналина, фактора активации тромбоцита (PAF-16) и U46619 на плазме крови человека, обогащенной тромбоцитами и в суспензии отмытых тромбоцитов. Было показано, что данные соединения проявляют антиагрегационную активность при действии любого из перечисленных индукторов

агрегации на образец тромбоцитов человека. Были выявлены кинетические закономерности процесса агрегации тромбоцитов под влиянием синтезированных веществ, для ряда соединений определены значения  $IC_{50}$ . Показано, что данный класс соединений является перспективным для дальнейшей разработки новых антиагрегационных средств [О.В. Демина и др., 2011].

Данная работа была поддержана грантом РФФИ № 09-04-01003 и государственным контрактом 16.740.11.0177 в рамках Федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы".