

ских показателей лимфоцитов (уменьшение площади лимфоцитов, их ядра, цитоплазмы, отсутствие увеличения ЦЯО) может свидетельствовать о снижении метаболизма в лимфоцитах при развитии воспаления легких у женщин в молодом и среднем возрасте, а вследствие этого – и о снижении уров-

ня активации лимфоцитов у них. У пожилых больных пневмонией размеры лимфоцитов не изменяются относительно контрольной группы, что свидетельствует о нарушении иммунного ответа на воспаление, и что следует учитывать при лечении больных с данной патологией.

### Анализ факторов риска развития анемии у больных гемофилией с позиций доказательной медицины

И.Л. Давыдкин, Ю.А. Косякова

ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

**Введение.** При гемофилии клиническая картина и исход заболевания в известной мере зависят от тяжести постгеморрагической анемии. Для совершенствования программ реабилитации необходимо у каждого пациента выяснять индивидуальные факторы риска осложнений. Цель исследования – выяснение генетически детерминированных и модифицируемых факторов риска развития анемии у больных гемофилией.

**Материалы и методы.** Проанализированы 187 историй болезни больных гемофилией, госпитализированных по поводу кровотечений из желудочно-кишечного тракта, десневых, луночных, почечных, ран мягких тканей, гематом, гемартрозов, из них 44% – тяжелой формой гемофилии, 35% – средней степени тяжести, 21% – легкой. В контрольную группу вошли 75 клинически здоровых мужчин. Исследования выполнены на гематологическом анализаторе Sysmex KX-21, биохимических анализаторах Hitachi-902 ("Roche"). По требованиям доказательной медицины рассчитывали относительные риски (RR) и 95% доверительный интервал (95% CI) с помощью компьютерной программы D. J.R. Huchon. Фактором риска считали тот, для которого RR и 95% CI были больше 1.

**Результаты и обсуждение.** Железодефицитная анемия диагностирована у 38% госпитализированных больных гемофилией. Анемия чаще развивалась при уровне дефицитного фактора свертывания крови менее 1%. Риск развития анемии при тяжелой форме гемофилии составил RR = 1,61 (95% CI 1,09–2,36). Частота и тяжесть анемического синдрома были ассоциированы с АВ0-групповой принадлежностью крови. Среди больных с анемией 0(I) группа крови встречалась у

31%. У них диагностированы желудочные кровотечения, массивные межмышечные гематомы, гемартрозы нередко в сочетании с гематомами. Относительный риск развития тяжелой анемии при данной группе крови высокий – RR = 4,42 (95% CI 1,59–12,23).

У больных с анемией группа крови А(II) была у 41%, у них чаще диагностированы гемартрозы. Относительный риск развития анемии у пациентов с данной группой крови – RR = 1,53 (95% CI 1,1–2,12). У них обнаружены низкий уровень ретикулоцитов, холестерина, малое количество тромбоцитов малого объема. На таком фоне признаки тяжелой анемии сохранялись дольше, чем у пациентов с другими группами крови. Среди пациентов с анемией группа крови В(III) встречалась у 28%, у них наиболее часто диагностированы гематомы и гемартрозы. Относительный риск развития легкой анемии при данной группе крови – RR = 1,24 (95% CI 1,01–1,55). У больных гемофилией с группой крови АВ(IV) в наших исследованиях анемия не выявлена.

**Заключение.** Больные с тяжелой формой гемофилии, имеющие 0(I) или А(II) группу крови, имеют реальный риск развития постгеморрагической анемии, в связи с чем при развитии кровотечения они должны получать более интенсивную гемостатическую терапию. Рассчитаны относительные риски развития анемии при различных уровнях сывороточного железа. Установлено, что фактором риска развития анемии можно считать уменьшение содержания железа в крови менее 7,0 мкмоль/л. Снижение содержания железа крови менее 5,0 мкмоль/л следует рассматривать как фактор риска тяжелой анемии.

### Антитела к p53 как фактор прогноза течения хронического лимфолейкоза

И.Л. Давыдкин, Е.С. Рогова, Р.К. Хайретдинов, О.Е. Данилова, Е.В. Царева, Е.В. Анисимова

ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) является наиболее распространенным видом лейкоза среди всех гемобластозов. Заболевание крайне гетерогенно по своему течению, характеризуется различными темпами прогрессирования, а также различной выживаемостью больных. Для определения прогноза течения заболевания в настоящее время предложены различные критерии, но ни один из них не является абсолютным. Недостаточно надежны и неоднозначны такие традиционные факторы прогноза как стадия заболевания на момент установления диагноза, время удвоения количества лимфоцитов, характер поражения костного мозга, содержание  $\beta_2$ -микроглобулинов ( $\beta_2$ -М), иммунофенотипические особенности опухолевых клеток. На практике адаптированную к риску терапию ХЛЛ можно применять, используя генетические или статические факторы прогноза. Классические или динамические маркеры прогноза, такие как тип инфильтрации костного мозга, уровень лейкоцитов, уровень растворимого CD23 и другие, коррелируют с массой опухоли и меняются со временем. Напротив независимые факторы прогноза, та-

кие как мутационный статус генов варибельного региона иммуноглобулинов, не меняются со временем и уже в дебюте позволяют предсказать неблагоприятное течение ХЛЛ. Особенно важно то, что мутационный статус позволяет выделять подгруппы больных с разным прогнозом в пределах ранних стадий. Вместе с тем, исследование мутационного статуса генов варибельного региона иммуноглобулинов является технологически сложным, долговременным, дорогостоящим и недоступным практическому здравоохранению. Структурные аномалии 17p приводят к потере или мутации гена p53. Определение уровня антител к p53 может явиться удачной лабораторной заменой определения мутационного статуса. На данном этапе проведено 30 исследований определения уровня антител к p53 и делеции 17p у больных ХЛЛ. У 8 больных обнаружена делеция 17p, из них 4 сочетались с наличием антител к p53. Первично резистентными к терапии RFC были 3 больных. У 1 больного развился ранний рецидив на RFC. Определение уровня антител к p53 и его корреляция с делецией 17p требует дальнейшего изучения.

### Спленэктомия при ВИЧ-ассоциированной тромбоцитопенической пурпуре

И.Л. Давыдкин, Р.К. Хайретдинов, Е.В. Вехова, О.Е. Данилова, С.П. Кривова, Ю.О. Берман, Е.С. Рогова

ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России; ГБУЗ Самарский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями

**Введение.** Самарская область, несмотря на наметившуюся в последние годы тенденцию снижения прироста выявления новых случаев ВИЧ-инфекции, по абсолютному ко-

личеству ВИЧ-позитивных жителей, продолжает входить в группу неблагоприятных регионов России.

**Материалы и методы.** На 01.01.2012 зарегистрирова-

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 повышение 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 тромбопластинового 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-пиридинильный 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".