

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 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.¹, Лаптев А. В.¹, Лукин А. Ю.², Беликов Н. Е.², Швец В. И.², Варфоломеев С. Д.¹, Ходонов А. А.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; ²Московский 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 (РАФ-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".

Сравнительные характеристики суспензий отмытых тромбоцитов человека, полученных разными способами

О. В. Демина¹, Н. Е. Беликов², Я. Н. Котова³, М. А. Пантелеев³, В. И. Швец², С. Д. Варфоломеев¹, А. А. Ходонов^{1,2}

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; ²Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова; ³ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Для исследований действия синтетических антиагрегационных средств на процесс агрегации тромбоцитов в суспензиях отмытых тромбоцитов человека на агрегометре "Биола" нами были получены образцы суспензий отмытых тромбоцитов из образцов крови здоровых доноров с применением апиразы и простагландина E₁ и использованием геля – хроматографии или метода двойного осаждения. Изучение способности к агрегации образцов суспензий отмытых тромбоцитов, получаемых этими двумя способами, позволило выявить следующие особенности: уменьшение величины степени агрегации по сравнению с образцом плазмы крови при одной и той же концентрации тромбоцитов; уменьшение времени экспери-

мента; влияние перемешивания в кювете агрегометра и порядка добавления фибриногена и индуктора агрегации. Проверка агрегационной способности суспензий отмытых тромбоцитов в нескольких буферных растворах позволила выбрать оптимальные условия и наиболее подходящий буферный раствор для тестирования синтетических веществ на агрегометре "Биола" под действием трех индукторов агрегации.

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".

Селезеночная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, протекающая с аутоиммунной гемолитической анемией

У.Л. Джулакян, А.У. Магомедова, С.К. Кравченко, С.Р. Карагюлян, Н.В. Цветаева, И.Б. Капланская, А.М. Ковригина

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. Селезеночная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны (СЛКМЗ), характеризующаяся спленомегалией, поражением костного мозга, иммунофенотипически соответствующая В-лимфоцитам маргинальной зоны вторичного фолликула, имеет разнообразные клинические проявления, иммунологические и цитогенетические особенности. Нередко протекает с аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА). Целью исследования явилось определение частоты, особенностей течения и подходов к лечению СЛКМЗ, протекающей с АИГА.

Материалы и методы. С января 2000 г. по февраль 2012 г. в Гематологическом научном центре наблюдались 122 больных СЛКМЗ – женщины в возрасте от 46 до 78 лет (средний возраст 63,7 года), из них у 8 (6,6%) больных заболевание протекало с АИГА. Диагноз СЛКМЗ был установлен на основании клинических данных, иммунофенотипического исследования лимфоидных клеток периферической крови и иммуногистохимического исследования трепанобиоптата костного мозга. У всех заболевание дебютировало спленомегалией и клинической картиной гемолитической анемии: внезапная желтуха, повышение уровня общего билирубина за счет свободной фракции, анемия, ретикулоцитоз, положительная прямая проба Кумбса. В гемограмме отмечено снижение гемоглобина от 36 до 94 г/л, что сопровождалось незначительным повышением количества ретикулоцитов (25–63%). Повышение уровня ЛДГ отмечено у всех, что мог-

ло свидетельствовать как об активности опухоли, так и об интенсивности гемолиза. Во всех наблюдениях прямая проба Кумбса была в небольшом титре. У большинства больных была обнаружена парапротеинемия. Спленэктомия в качестве первой линии терапии была выполнена всем больным.

Результаты и обсуждение. У всех больных после спленэктомии отмечено клинико-гематологическое улучшение, что проявлялось отсутствием признаков гемолиза (нормализовалось количество эритроцитов и содержание гемоглобина, отсутствие ретикулоцитоза, нормализация концентрации ЛДГ, отрицательная прямая проба Кумбса, исчезновение секреции парапротеина). Длительность ответа от 38 до 90 мес (медиана 58 мес). У 2 больных после спленэктомии (через 41 и 43 мес соответственно) отмечены признаки прогрессии опухоли и рецидива гемолиза, что послужило поводом для назначения ритуксимаба в виде монотерапии в дозе 375 мг/м² (4 введения 1 раз в неделю). Получена полная ремиссия с исчезновением признаков гемолиза, поражения костного мозга. Длительность ремиссии составила 24 и 32 мес соответственно.

Заключение. СЛКМЗ нередко может протекать с АИГА (6,6% случаев). Такое течение СЛКМЗ характеризуется невысоким повышением количества ретикулоцитов, что возможно связано со специфическим поражением костного мозга, хорошим ответом на спленэктомию. В случае прогрессии и/или возобновлении гемолиза эффективно применение ритуксимаба.

Поражение почек у больных с В-клеточным хроническим лимфолейкозом

У.Л. Джулакян, И.Б. Капланская, А.М. Ковригина, Л.С. Бирюкова

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. При лимфомах поражение почек может быть обусловлено несколькими механизмами: обструкция, инфильтрация и/или реже разрыв разных частей мочевыделительной системы. Все это может привести к ухудшению функции почек и развитию почечной недостаточности. Также поражение почек может возникать при химиотерапии. Лейкемическая инфильтрация почек выявляется более чем в 60–80% случаев при аутопсии больных с В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ), однако не всегда инфильтрация почечной паренхимы сопровождается развитием почечной недостаточности. Целью нашего исследования явилось изучение частоты поражения почек у больных В-ХЛЛ на ретроспективном материале, охарактеризовать морфологические особенности поражения почек у больных В-ХЛЛ, осложненной острой почечной недостаточностью.

Материалы и методы. Мы анализировали истории болезни, гистологические препараты и аутопсийный материал 30 больных В-ХЛЛ (24 мужчин и 6 женщин) в возрасте от

43 до 71 лет (средний возраст 61 год). Старше 60 лет было 13 больных. Длительность заболевания составило от 3 до 64 мес. Все больные наблюдались и проходили лечение в Гематологическом научном центре (ГНЦ), получали разные программы химиотерапии и аутопсированы в патологоанатомическом отделении ГНЦ с 2000 по 2010 г. Причиной смерти послужили инфекционные осложнения после проведенной химиотерапии.

Результаты и обсуждение. Острая почечная недостаточность (ОПН) развилась у 18 (60%) больных. У этих же больных были сопутствующие заболевания, которые могли быть "фоновыми" при развитии ОПН. Так, гипертоническая болезнь была у 3 больных, сахарный диабет – у 2, гиперурикемия – у 4, секреция парапротеина – у 5, гиперлейкоцитоз (45–219 × 10⁹/л) в периферической крови – у 11 больных. У больных с ОПН при гистологическом исследовании почек помимо лимфоидной инфильтрации паренхимы был обнаружен острый канальцевый некроз. При гистологическом исследовании почек лимфоидная инфильтрация обнаружена в