

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XII № 2 2016

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

заслуженный деятель науки Российской Федерации
профессор

К. М. Абдулкадыров

Заместитель главного редактора

профессор

С. С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2016

Редакционная коллегия:

К. М. Абдулкадыров (главный редактор); *С. С. Бессмельцев* (заместитель главного редактора);
А. Н. Богданов; *Л. Н. Бубнова*; *Т. В. Глазанова* (ответственный секретарь);
С. А. Гусева; *А. Ю. Зарицкий*; *Н. М. Калинина*; *Л. П. Папаян*; *В. Г. Радченко*;
В. И. Ругаль; *О. А. Рукавицын*; *В. Н. Чеботкевич*.

Редакционный совет:

Б. В. Афанасьев (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);
М. Л. Гершанович (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);
Ю. М. Захаров (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);
В. И. Мазуров (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);
А. Г. Румянцев (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.

Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*
Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 10.06.2016 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 121.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Агентство «ВиТ-принт»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

18+

СОДЕРЖАНИЕ

ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ»

Санкт-Петербург, 23–24 июня 2016 г.5

Алфавитный указатель 72

**ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ»**

(Санкт-Петербург, 23–24 июня 2016 г.)

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Председатель оргкомитета:

Уйба В. В., руководитель ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор.

Заместители председателя оргкомитета:

Хавкина Е. Ю., заместитель руководителя ФМБА России, кандидат медицинских наук;
Эйхлер О. В., заместитель начальника Управления — начальник отдела организации деятельности службы крови Управления здравоохранения ФМБА России;
Чечеткин А. В., директор ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;
Бессмельцев С. С., заместитель директора ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России по научной работе, доктор медицинских наук, профессор;

Члены оргкомитета:

Абдулкадыров К. М., руководитель клинического отделения химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, засл. деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор;
Бубнова Л. Н., руководитель лаборатории иммуногематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, засл. деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор;
Данильченко В. В., руководитель научно-организационного отдела ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;
Капустин С. И., руководитель лаборатории биохимии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор биологических наук;
Давыдов С. В., член оргкомитета государственной программы добровольного безвозвездного донорства службы крови России;
Минеева Н. В., руководитель лаборатории изосерологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор биологических наук, профессор;
Папаян Л. П., руководитель лаборатории свертывания крови ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;
Ругаль В. И., руководитель лаборатории по изучению лейкозов ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;
Ханевич М. Д., руководитель отдела клинической трансфузиологии и хирургии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, засл. деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор;
Чеботкевич В. Н., руководитель лаборатории бактериологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор;
Солдатенков В. Е., руководитель клинического отделения хирургической гематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, кандидат медицинских наук.

*Алянский А. Л., Макаренко О. А., Иванова Н. Е., Головачёва А. А., Кузьмич Е. В.,
Кучер М. А., Бабенко Е. В., Эстрина М. А., Витрищак А. А., Паина О. В.,
Петрова А. Л., Зубаровская Л. С., Афанасьев Б. В.*

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»,
НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург*

ОПЫТ ПОДБОРА ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ В ЗАРУБЕЖНЫХ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РЕГИСТРАХ ДОНОРОВ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) — эффективный метод лечения различных гематологических, онкологических и наследственных заболеваний. Наиболее оптимальным донором гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при проведении алло-ТГСК является HLA-идентичный сиблинг. Вместе с тем, в связи с общей тенденцией к снижению рождаемости в ряде индустриально-развитых стран (в том числе в РФ), совместимый родственник донор находится лишь для небольшой доли пациентов, нуждающихся в проведении ТГСК. Прогресс в области неродственной алло-ТГСК во многом обусловлен развитием национальных регистров доноров костного мозга и постоянным расширением международной базы данных регистров доноров ГСК, содержащей в настоящее время информацию о HLA фенотипах более 27 млн. потенциальных доноров. Необходимость развития национальных регистров доноров костного мозга обусловлена тем, что распределение HLA-генотипов имеет расовые и национальные особенности, а это значит, что эффективность поиска HLA-совместимого донора ГСК взаимосвязана с соответствием национально-этнического состава потенциальных доноров и реципиентов. Клиника НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова является одним из наиболее активных трансплантационных центров в РФ. Однако до недавнего времени практически все выполненные неродственные алло-ТГСК проводились исключительно с использованием ГСК (трансплантатов), полученных от доноров из зарубежных регистров. С 2010 года в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой начал создаваться собственный регистр доноров ГСК, база данных которого к настоящему времени содержит сведения о 9000 HLA-фенотипах потенциальных доноров ГСК.

Цель исследования. Анализ результатов подбора донора ГСК для неродственной алло-ТГСК в отечественных и зарубежных регистрах доноров костного мозга.

Материалы и методы. В период с 2011 по 2015 гг. в клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова было выполнено 536 неродственных алло-ТГСК: 47 (2011), 106 (2012), 129 (2013), 121 (2014), 133 (2015).

Результаты. Подавляющее большинство трансплантаций 79,85% (428) выполнено от доноров, совместимых с реципиентом по 10 HLA-аллелям, в 20,15% случаев донор и реципиент были совместимы по 9 HLA-аллелям и менее. Для большинства выполненных аллогенных трансплантаций ГСК были получены от зарубежных доноров, так в 2011 году все ГСК были получены от зарубежных доноров, в 2012 и 2013 годах было выполнено по 2 (1,9% и 1,6%) алло-ТГСК от доноров из Российских регистров, в том числе по одной трансплантации — от доноров из регистра НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой (собственный регистр). В 2014 году число алло-ТГСК от доноров из Российских регистров возросло до 5 (4,1%): 3 трансплантации от доноров из собственного регистра и 2 от доноров из других Российских регистров. В 2015 году выполнено наибольшее количество алло-ТГСК от доноров из Российских регистров — 19 (14,3%), в том числе 12 алло-ТГСК от доноров собственного регистра и 7 — от доноров из других Российских регистров. Все доноры из Российских регистров были совместимы с реципиентами по 10 HLA-аллелям.

Выводы. Рост числа выполненных алло-ТГСК от Российских доноров наблюдался на фоне значительного расширения собственного регистра HLA-типированных неродственных доноров и внедрения в практическую деятельность транс-

плантационного центра информационно-поискового ресурса BMDS (bone marrow donor search), разработанного в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой

Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова.

Афанасьев Б. В.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург

ВЫБОР АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ДОНОРОВ ПРИ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является одним из наиболее эффективных методов терапии многих злокачественных, гематологических и наследственных заболеваний у детей и взрослых. Аллогенная ТГСК, выполненная у пациентов со злокачественными заболеваниями, создаёт условия для проведения иммуноадаптивной терапии — реакция «трансплантат против опухоли». Источником ГСК для аллогенной ТГСК является костный мозг, периферическая кровь, пуповинная кровь. Совместимый по генам HLA-системы родственник донор (как правило, сиблинг) в качестве источника трансплантата рассматривается как первый этап поиска, однако ввиду наличия общей тенденции к снижению рождаемости, как в мире, так и в РФ, вероятность нахождения родственного донора ГСК возможна только для 10–30% пациентов. В случае отсутствия родственного донора выполняется поиск донора в международной базе данных (регистре), включающей информацию о более чем 27 млн. потенциальных неродственных доноров. Важнейшим фактором, способствовавшим успеху аллогенной ТГСК от неродственного донора, явилась разработка и внедрение в практику методов HLA-типирования высокого уровня разрешения. Результаты аллогенной ТГСК от неродственных доноров, подобранных в соответствии с совместимостью по 10/10 аллелей, практически сопоставимы с результатами трансплантации от со-

вместимых по генам HLA-системы родственных доноров. Снижение степени HLA совместимости донора и реципиента сопряжено с повышением риска развития тяжелых иммунологических осложнений — острой и хронической «реакции трансплантат против хозяина», неприживления и, следовательно, повышенным риском смерти после аллогенной ТГСК. В настоящее время разрабатывается и близок к широкому применению метод аллогенной ТГСК от гаплоидентичного донора, что существенно расширит возможности применения данного метода лечения. Внедрение аллогенной ТГСК от гаплоидентичного донора уменьшит потенциальную зависимость от совместимого родственного и неродственного доноров, поскольку в этом случае ГСК могут быть получены от совместимых по одному гаплотипу членов семьи пациента. В дополнение к этому, при наследственных заболеваниях, родственником донором ГСК может быть здоровый, совместимый по генам HLA-системы сиблинг, рождённый вследствие экстракорпорального оплодотворения после проведения предимплантационной диагностики генов, определяющих фенотип наследственного заболевания и выбранный на основании совместимости по генам HLA-системы.

Таким образом, в настоящее время при наличии показаний аллогенная ТГСК может быть выполнена, за редким исключением, практически всем нуждающимся пациентам.

**Барабанищикова М. В., Морозова Е. В., Власова Ю. Ю., Байков В. В.,
Бархатов И. М., Мамаев Н. Н., Зубаровская Л. С., Афанасьев Б. В.**

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»,
НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург*

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ JAK В КАЧЕСТВЕ ПРЕД- И ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОФИБРОЗОМ

Первичный миелофиброз (ПМФ) — хроническое Ph-негативное миелопролиферативное заболевание, характеризующееся, как правило, непрерывно прогрессирующим течением. Среди методов терапии аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является единственным вариантом, направленным на излечение при ПМФ, а также при миелофиброзе (МФ), развивающемся в исходе истинной полицитемии (ИП-МФ) и эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ-МФ). Однако результаты трансплантации значительно хуже у пациентов, имеющих прогрессирующую стадию заболевания. В связи с этим чрезвычайно актуальна разработка протоколов подготовки пациентов с МФ к алло-ТГСК. Среди возможных методов рассматривается применение ингибиторов Янус киназ (JAK), одним из которых является руксолитиниб.

Цель работы: оценить применение руксолитиниба в пред- и посттрансплантационном периоде для повышения эффективности аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы: В исследование включено 15 пациентов, из них 13 с диагнозом ПМФ, 1 — ЭТ-МФ, 1 — ИП-МФ. Медиана длительности заболевания составила 3,7 года (0,7–9,6). Трое пациентов относились к группе промежуточного-2 риска по шкале DIPSSplus, 7 пациентов к группе высокого риска, 3 пациента — к группе промежуточного-1 риска, 2 пациента были в фазе трансформации в острый миелобластный лейкоз (ОМЛ). Все больные получали руксолитиниб в дозе от 15 до 40 мг с медианой длительности терапии 3,5 месяца (1–24), из них у 4 пациентов была выполнена алло-ТГСК, двое больных получали руксолитиниб в ранние сроки после

алло-ТГСК с Д+5 в дозе 10 мг/сут в комбинации с циклофосфамидом в дозе 50 мг/кг Д+3, Д+4 в качестве профилактики “реакции трансплантат против хозяина”.

Результаты. Ответ на терапию руксолитинибом в группе из 11 пациентов без алло-ТГСК составил 64% (7), из них у 57% (4) пациентов было достигнуто исчезновение конституциональных симптомов, у 43% (3) отмечалось уменьшение размеров селезенки. У 1 пациента в дальнейшем произошла трансформация в ОМЛ. У 4 (36%) пациентов из 11 отмечалась дальнейшая прогрессия заболевания, из них 2 пациентам терапия руксолитинибом была начата в фазе трансформации в ОМЛ и проводилась в комбинации с полихимиотерапией. На фоне терапии руксолитинибом отмечалась гематологическая токсичность — анемия 3 степени и тромбоцитопения 4 степени (СТС АЕ4.0).

В группе пациентов (n=4), которым была выполнена алло-ТГСК, у 2 пациентов была достигнута стабилизация заболевания, у 1 больного — уменьшение размеров селезенки, у другого больного — исчезновение конституциональных симптомов перед аллоТГСК. На фоне терапии в посттрансплантационном периоде не отмечалось существенной токсичности, связанной с приемом препарата. Пациенты после алло-ТГСК живы и находятся в клинко-гематологической, цитогенетической, молекулярно-генетической ремиссии заболевания.

Выводы. Терапия ингибиторами JAK позволяет модифицировать статус заболевания больных ПМФ перед алло-ТГСК. Более крупные исследования требуются для определения роли ингибиторов JAK в качестве предтрансплантационной терапии.

Баховадинов Б. Б.², Ашуралиев Н. К.¹, Кучер М. А.², Вахидов А. В.¹

¹ Республиканский научный трансплантологический центр, ГКБ СМП г. Душанбе, Таджикистан

² Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р. М. Горбачевой ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»

ДИАГНОСТИКА И КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ЯЗВЕННЫМИ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫМИ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ

При острой желудочно-кишечной кровопотере могут возникать нарушения системы гемостаза, в рамках формирования синдрома ДВС, что изначально проявляется признаками гиперкоагуляции, которая может быть купирована при её своевременной коррекции. При пролонгированных кровотечениях длительная активация системы свертывания крови способна привести к истощению гемостатических факторов и возникновению коагулопатии потребления, массивной кровопотери, развитию критических состояний. В связи с этим эффективность гемостатической терапии острых массивных кровотечений зависит от своевременной патогенетической коррекции нарушений в системе гемостаза, на фоне которых развилась данная коагулопатия.

Цель работы. Изучить зависимость развития коагулопатий у больных с язвенными гастроудоденальными кровотечениями (ЯГДК) от объема кровопотери.

Материалы и методы. Проанализированы показатели системы гемостаза у 160 больных с ЯГДК в возрасте от 20 до 86 лет. В зависимости от объема кровопотери больные были разделены на 3 группы: 1-я группа (n=50) с объемом кровопотери $1,04 \pm 0,14$ л; 2-я группа — с объемом кровопотери $1,70 \pm 0,17$ л (n=50); 3-я — с объемом кровопотери $2,68 \pm 0,27$ л (n=60). Контрольная группа состояла из 20 практически здоровых лиц. Определяли количество Нб, Нт, число эритроцитов, тромбоцитов, время кровотечения по Дьюке (ВКД), ВРП по Бергергофу-Рокка, АЧТВ, ПИ по Квику, ТВ по Сирмаи, антитромбин III, толерантность плазмы к гепарину (ТПГ), ретракцию кровяного сгустка (РКС), ФА по Кузнику и Котовщиковой, концентрацию фибриногена по Рутбергу, ФМК по Черкашину.

Результаты. Анализ показателей в 1 группе больных с умеренным объемом кровопотери показал снижение гематологических показателей и числа тромбоцитов по сравнению с показателями контрольной группы на 14,7% ($p > 0,5$). Показатели коагуляционного гемостаза характеризовались умеренным повышением гемостатиче-

ской активности, а показатели антикоагулянтной и фибринолитической системы достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Исследования системы гемостаза у больных 2-й группы показали снижение показателей красной крови в 1,5 раза, РКС на 22,52%, антитромбина в 1,35 раза, количество тромбоцитов в 1,52, удлинение ВКД в 1,5, ВРП — 1,6, АЧТВ — 1,3 и ТПГ в 1,4, ВСК в 1,7, уменьшение ПИ в 1,3, увеличение ПДФ в 4 раза ($p < 0,05$), повышение ФА плазмы на 21,6% и уменьшение концентрации фибриногена на 15,15%, снижение антитромбина на 28% ($p > 0,05$). У пациентов 3-ей группы по сравнению со 2-й группой отмечено выраженное снижение показателей сосудисто-тромбоцитарного звена, истощение коагуляционного звена и повышение антикоагулянтной и фибринолитической системы гемостаза на фоне резкого повышения посткоагуляционного звена, снижение показателя антитромбина в 1,54 раза ($p < 0,05$). У всех пациентов, перенесших острое массивное кровотечение, отмечались в анализах крови разнонаправленные изменения показателей, характерные для острого ДВС-синдрома. Пациенты 1-й группы не нуждались в применении средств, корригирующих систему гемостаза. Восполнение дефицита ОЦК произведено в основном кристаллоидными гемокорректорами в соотношении 1:3 к объему кровопотери. Коррекция нарушений системы гемостаза у больных второй группы сводилась к восполнению ОЦК, купированию ДВС-синдрома СЗП (10–15 мл/кг) в сочетании с кристаллоидными растворами (30–45 мл/кг) в соотношении 1:3. У больных третьей группы применяли кристаллоидные растворы в соотношении 1:3 в дозах 20–25 и 60–75 мл/кг соответственно в сочетании с большими дозами антифибринолитиков, 400 мл 1,5% реамберина. Данная терапия оказалась эффективной у подавляющего большинства больных. Благодаря внедрению динамического контроля системы гемостаза, коррекции ее нарушений по новой программе ИТТ, удалось снизить летальность от массивных ЯГДК с 7,5% до 2,5%. Среди 55

пациентов из 2 и 3 группы, пролеченных выездными специализированными реанимационно-трансфузиологическими бригадами, благодаря своевременной диагностике нарушений системы гемостаза и ее коррекции, летальных случаев не было. **Выводы.** При ЯГДК наблюдается различная степень выраженности нарушений системы гемостаза в зависимости от объема крово-

потери. Своевременная диагностика нарушений системы гемостаза и её коррекция большими дозами СЗП в сочетании с солевыми растворами, антифибринолитиками, в том числе путем привлечения специализированной трансфузиологической бригады, является эффективной мерой по остановке кровотечения и снижению летальности.

Баховадинов Б. Б., Зайдуллоев Б. Б., Табаров Х., Ашурова Г. С.

*НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р. М. Горбачевой ГБОУ ВПО
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»,
г. Санкт-Петербург
Городской родильный дом № 3, г. Душанбе, Республика Таджикистан*

ПОКАЗАТЕЛИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В ДО — И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ПРИ АУТОДОНОРСТВЕ ПЛАЗМЫ

Проблемы, связанные с кровопотерей в акушерстве, актуальны всегда, так как кровопотеря постоянно сопровождает роды и операции. Нередко она приводит к развитию гипокоагуляционной фазы острого ДВС-синдрома, для коррекции которого применяют большие дозы свежезамороженной плазмы (СЗП). Это обуславливает необходимость разработки современных кровосберегающих технологий, в том числе и трансфузиологических, в связи с наличием риска передачи инфекций пациентам трансфузионным путем при переливании аллогенных компонентов донорской крови, в том числе СЗП. Разработка методик аутоплазмадонорства у беременных высокого риска по акушерским кровотечениям в родах и оперативном родоразрешении является актуальной в условиях наличия высокого риска передачи гемотрансмиссивных инфекций в Республике Таджикистан.

Цель. Изучить показатели центральной гемодинамики (ЦГД) у беременных женщин в до- и послеоперационном периоде при аутодонорстве плазмы и оценить влияние эксфузии плазмы на параметры ЦГД.

Материал и методы исследования. Обследовано 180 беременных женщин. Возраст беременных от 19 до 46 лет, (средний 32 года). Беременных разделили на две группы. В I группу вошли 90 женщин, у которых при плановой подготовке к кесареву сечению была произведена заготовка аутоплазмы. Во вторую группу вошли 90 женщин, у которых восполнение интраоперационной кровопотери осуществлялось с использованием коллоидных, кристаллоидных ге-

мокорректоров и донорских эритроносодержащих сред, СЗП (группа сравнения). Клинико-лабораторное обследование и изучение параметров ЦГД осуществляли до проведения сбора аутоплазмы, на следующие сутки и через 2, 4 и 6 дней послеоперационного периода. Сбор аутоплазмы осуществляли аппаратом Гемофеникс и PCS-2 в дозе 600 ± 40 у 70 и 900 ± 40 мл у 20 пациенток. Восполнение эксфузированного объема осуществляли кристаллоидными гемокорректорами. При тенденции к гипопротеемии и гипоальбуминемии у части пациенток, особенно с гестозами, после эксфузии им переливали 100–200 мл 10–20% раствора альбумина. Состояние ЦГД было изучено по показателям ударного объема (УО), минутного объема кровообращения (МОК), общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС), конечного систолического объема (КСО), конечного диастолического объема (КДО), фракции изгнания (ФИ), среднего артериального давления (САД), систолического давления (СД), диастолического давления (ДД), числа сердечных сокращений (ЧСС). Эксфузированные объемы свежезамороженной аутоплазмы после размораживания и подогрева до 37°C переливали пациенткам во время оперативного родоразрешения.

Результаты. На вторые сутки после кесарева сечения у основной группы пациенток наблюдалось заметное снижение значений УО и ОПСС, но снижение у контрольной группы было более выраженным. В последующие сутки величина СВ продолжала снижаться и к 6 суткам ее отличие от исходного значения становилось ста-

статистически достоверным (на 10,7% $R < 0,05$), в контрольной группе 13,9%. Напротив, величина ОПСС, после максимального снижения на 4-е сутки, к шестому дню проявляла тенденцию к повышению, в контрольной группе такого снижения не отмечено. Одновременно с уменьшением сердечного выброса наблюдалось и снижение МОК, величина которого на 6 сутки была на 9% ниже предоперационного значения. Важно отметить, что, несмотря на столь очевидное уменьшение величин СВ и МОК, ФИ не только не снижалась, а, напротив, имела тенденцию к увеличению, в контрольной группе отмечено умеренное ее снижение. При аутодонорском плазмаферезе у наших беременных не было отмечено достоверного снижения показателей гемоглобина, количества эритроцитов, гематокрита, уровня общего белка по сравнению с исход-

ными значениями. В контрольной группе, несмотря на более высокие показатели в первые дни послеоперационного периода, в более поздние сроки отмечено снижение показателей по сравнению с показателями основной группы.

Выводы. Дооперационное резервирование аутоплазмы в дозе 600 ± 40 и 900 ± 40 мл и их трансфузия родильницам во время оперативного родоразрешения не оказывают влияния на параметры ЦГД у женщин с нормальными исходными значениями. В то же время, заготовка аутоплазмы, особенно в дозе 900 ± 40 мл, имеет несомненный терапевтический эффект у беременных с гипертензией, проявляющийся в нормализации артериального давления и переводе менее выгодного гипокинетического типа кровообращения в эу- и гиперкинетический.

Белова Н. И., Воробьева Н. А.

ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет», г. Архангельск

МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА В ПОПУЛЯЦИИ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

На сегодняшний день важнейшая роль в развитии атеротромбоза принадлежит процессам активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Особую ценность для своевременной профилактики и лечения имеют маркеры (предикторы) риска атеротромбоза в общей популяции, в особенности у исходно здоровых лиц и у лиц с хроническими формами атеросклероза. В настоящее время активно изучается прогностическая значимость ряда маркеров активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, таких как Р-селектин, растворимый лиганд sCD40L. Необходимо отметить, что уровень данных маркеров может быть неодинаков в различных выборках, иметь этнические различия и генетически обусловлен, в связи с чем необходима верификация референсных значений для каждой изолированной популяции.

Цель работы. Анализ содержания маркеров активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в сыворотке крови как предикторов развития сердечно-сосудистой патологии у коренных жителей Ненецкого автономного округа (НАО) — ненцев.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась популяция ненцев — коренного населения НАО, ведущих оседлый или полу-

кочевой образ жизни ($n=68$). Средний возраст изучаемой выборки составил 43 [30; 51] года. Критериями включения в основную группу (ненцы) являлись: этническая принадлежность до 4-й степени родства к коренному населению (ненцы) НАО; постоянное проживание на территории НАО; наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом СГМУ (протокол № 6 от 8.06.2011 г.). Лабораторные исследования проведены на базе центральной научной исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО Северного государственного медицинского университета г. Архангельска. Определение уровней маркеров эндовазкулярного воспаления в сыворотке крови выполняли с использованием реагентов Human Cardiovascular BMS811/2FF фирмы eBioscience (США) на проточном цитометре Cytomics FC500 фирмы «Beckman Coulter» (США). Для исследования выполнено определение таких кардиомаркеров, как Р-селектин (референсные значения 36–262 нг/мл), sCD40L (референсные значения до 1,5 нг/мл).

Результаты исследования. Растворимый лиганд sCD40L, экспрессируемый в активированных тромбоцитах, клетках сосудов, явля-

ется связующим звеном между воспалением, атеросклерозом и тромбозом. Уровень sCD40L в крови данной выборки ненцев ($n=68$) составил $Me=7,77 [5,1; 13,2]$ нг/мл. Повышенная экспрессия Р-селектина отмечается в атеросклеротических бляшках. Концентрация Р-селектина в выборке коренного этноса оказалась равной $M=329,64 \pm 96,32$ нг/мл, что выше референсных значений (36–262 нг/мл). Проанализирована зависимость концентрации sCD40L и Р-селектина от наличия того или иного полиморфизма гена ITGB3 как маркеров активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. Продукт гена ITGB3 участвует во взаимодействии между тромбоцитами, опосредованном растворимым фибриногеном, что, в свою очередь, приводит к быстрой агрегации тромбоцитов и физическом закрытии поврежденной поверхности эндотелия. Его полиморфизм 1565 T/C и 1565 C/C может привести к повышению агрегационной способности тромбоцитов за счет конформационного изменения сайта связывания с фибриногеном. Статистически достоверные различия выявлены

для растворимого лиганда sCD40L ($Z=2,187$, $p=0,029$). Для концентрации Р-селектина такой зависимости найдено не было ($Z=-0,191$, $p=0,848$).

Выводы. Выявлены особенности содержания маркеров воспаления сосудистой стенки в сыроворотке крови в выборке коренного этноса. По нашим данным превышение референсных показателей уровня данных маркеров свидетельствует о наличии дисфункции и активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в выборке коренного этноса. Полученная связь с концентрацией маркера sCD40L ($Z=2,187$, $p=0,029$) подтверждает роль полиморфизмов 1565 T/C и 1565 C/C гена ITGB3 как фактора риска повышенной активности тромбоцитарного звена гемостаза. Таким образом, данные маркеры целесообразно использовать для более точной оценки состояния и детального изучения характерных особенностей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в популяции коренного этноса Арктического региона.

*Бубнова Л. Н., Павлова И. Е., Беркос А. С., Моисеева Л. М., Ерохина Л. В.,
Бакай В. В., Беляева Е. В., Глазанова Т. В., Розанова О. Е., Чубукина Ж. В.,
Рыжневина Ю. Е., Четкин А. В.*

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Для проведения трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) необходим источник этих клеток, которым, как правило, являются доноры-родственники больного или добровольные доноры с заранее определенными генетическими характеристиками (HLA-фенотипом), объединенные в донорский регистр. Безусловно, лучшим донором гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) является идентичный сиблинг, однако только для 10–20% больных, нуждающихся в проведении ТГСК, удастся подобрать гистосовместимого родственного донора, поэтому постоянное расширение и модернизация регистра добровольных доноров ГСК с установленным HLA-фенотипом является актуальной задачей. Предпочтительным контингентом для расширения регистра являются доноры крови или плазмы: эти люди психологически готовы к донорству, не имеют противопоказаний для дачи гемо-

поэтических клеток, и очень важно, что у учреждений службы крови с ними налажена надежная связь.

Цель исследования. Изучение особенностей распределения генов главного комплекса гистосовместимости у доноров гемопоэтических стволовых клеток Северо-западного региона России, включенных в состав регистра в 2014–2015 годах.

Материал и методы. Проведен анализ результатов иммуногенетического обследования 1573 потенциальных доноров ГСК, включенных в состав регистра в 2014–2015 годах. Среди них мужчин — 864 (54,9%), женщин — 709 (45,1%). Донорами ГСК являлись доноры крови г. Санкт-Петербурга (90%), обследование которых проводилось в рамках выполнения государственного задания, или потенциальные родственные доноры больных онкогематологическими заболе-

ваниями из числа жителей Санкт-Петербурга, проходивших лечение в гематологической клинике РосНИИГТ ФМБА России (10%). У всех потенциальных доноров получено информированное согласие на проведение иммуногенетического обследования и внесения личных данных в регистр. Все потенциальные доноры ГСК являлись жителями Северо-западного региона России. Иммуногенетическое обследование (HLA-типирование) проводилось в соответствии с международными стандартами Европейской федерации иммуногенетики (EFI) с использованием молекулярно-генетических методов типирования. Геномную ДНК выделяли из ядродержащих клеток периферической крови с использованием набора реагентов DNA BOX 500 (Protrans). Конечная концентрация выделенной ДНК составляла 25–35 нг/мкл. Нормативный диапазон соотношения оптических плотностей — 1,6–1,8. Определение групп аллелей HLA-генов локусов A, B, DRB1 осуществлялось с помощью полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфичными праймерами (PCR-SSP) производства “Protrans” (Германия) или с помощью полимеразной цепной реакции с олигонуклеотидными сиквенс-специфичными пробками (PCR-SSOP) производства BAG HEALTH CARE (Германия). Статистическую обработку результатов выполняли с помощью методов популяционной генетики с использованием программ: Microsatellite Tools for Excel.

Результаты. Установлено, что у потенциальных доноров ГСК Северо-западного региона России самыми частыми группами аллелей локуса

HLA-A являются A*02 (51,7%), A*03 (27,2%), A*01 (21,6%), A*24 (19,7%), менее распространены — A*11 (10,3%), A*25 (9,4%), A*26 (8,98%). Наиболее редкими группами аллелей были A*66 (1,2%), A*69 (0,2%), A*36 (0,07%). Группы аллелей A*34, A*43, A*74, A*80, в когорте обследованных доноров не выявлены. В локусе HLA-B чаще всего определялись следующие группы аллелей: B*07 (25,5%), B*35 (20,6%), B*44 (18,3%), B*18 (13,5%), несколько реже выявлялись B*08 (12,2%), B*15 (12,1%), B*13 (11,83%). Наиболее редкими группами аллелей были B*53, B*54, B*59, B*67, частота которых составила по 0,1%. Группы аллелей B*73, B*78, B*81, B*82, B*83 не выявлены. В локусе HLA-DRB1 выявлены все из возможных 13 групп аллелей; наиболее часто встречающимися были DRB1*15 (27,9%), DRB1*07 (25,3%), DRB1*13 (24,6%), DRB1*01 (23,3%), реже всего определялись DRB1*10 (1,76%) и DRB1*14 (3,11%). Полученные результаты иммуногенетического обследования свидетельствуют о выраженном генетическом разнообразии доноров ГСК в Северо-западном регионе России.

Выводы. Выявленные иммуногенетические особенности когорты доноров ГСК, состоящей более чем из полутора тысяч индивидуумов, позволяют прогнозировать вероятность нахождения донора для конкретного больного. Информация о возможности обнаружения полностью совместимого донора даст возможность гематологам обоснованно выбирать тактику лечения, или рассматривать вариант трансплантации от частично совместимого донора.

Бутина Е. В., Зайцева Г. А., Свинцова Н. В., Никулин Д. А.

*ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», г. Киров
КОГБУЗ «Кировский областной клинический перинатальный центр», г. Киров*

ДИАГНОСТИКА ИММУННЫХ ПРИЧИН ТРОМБОЦИТОПЕНИИ НОВОРОЖДЕННЫХ

Иммунная тромбоцитопения плода и новорожденного является следствием сенсибилизации матери к специфическим тромбоцитарным антигенам системы HPA (Human Platelet Antigens), унаследованным ребенком от отца. Во время беременности материнские IgG антитела адсорбируются на тромбоцитах плода, вызывая их разрушение в клетках ретикуло-эндотелиальной системы печени и селезенки ребенка. Характерной особенностью неонатальной аллоиммунной тромбоцитопении (НАИТ) является

изолированное снижение числа тромбоцитов у относительно здоровых детей, не имеющих клинических отягощающих факторов. Патогенез НАИТ сопоставим с патогенезом гемолитической болезни плода и новорожденного, однако клиника НАИТ может развиваться уже при первой несовместимой беременности. Среди европейцев в 75–80% случаев причиной НАИТ являются анти-HPA-1a аллоантитела, в 10–15% — анти-HPA-5b антитела, в 2–5% — анти-HPA-15b антитела. Наиболее опасными осложнениями

глубокой тромбоцитопении новорожденного являются внутричерепные кровоизлияния, возникающие во внутриутробном или раннем постнатальном периодах.

Цель. Оценка эффективности комплексной лабораторной диагностики иммунных причин тромбоцитопении новорожденных.

Материалы и методы. Частота встречаемости генов системы НРА исследована у 320 доноров крови и/или ее компонентов. Диагностика иммунных причин тромбоцитопении проведена у 40 пациентов Кировского областного клинического перинатального центра: 20 детей с числом тромбоцитов в периферической крови менее $150 \times 10^9/\text{л}$ (от 39 до $133 \times 10^9/\text{л}$, медиана — $70 \times 10^9/\text{л}$) и 20 матерей. При установлении диагноза НАИТ учитывались данные акушерского анамнеза, течения настоящей беременности, состояния здоровья женщины, клинической картины заболевания, динамики тромбоцитопении, результатов лабораторных исследований. Иммуногематологический и генетический анализ включал НРА-типирование матери и ребенка; исследование антитромбоцитарных аутоантител в крови женщины, определение аллоантител в сыворотке крови матери к тромбоцитам ребенка. Типирование генов системы НРА осуществляли методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием оборудования и реактивов отечественного производства (детектирующий амплификатор ДТ-96 (ДНК-технология); наборы реагентов ТромбоГенТест (Россия)). Исследование антитромбоцитарных алло- и аутоантител проводили методом проточной цитометрии с моноклональными антителами соответствующей специфичности.

Результаты. Выявлена следующая частота встречаемости генотипов НРА у доноров компонентов крови: НРА-1аа — 71,1%, —1аb — 26,0%, —1bb — 2,9%; НРА-5аа — 84,5%, —5аb — 14,9%, —5bb — 0,6%; НРА-15аа — 24,7%, —15аb — 48,9%, —15bb — 26,4%. Генетическая предрасположенность к развитию НАИТ среди обследованных пациентов установлена в 9 парах мать-ребенок: в трех случаях выявлена несовместимость по локусу НРА-1 (генотип ребенка НРА-1аb, генотип матери — НРА-1bb), в четырех случаях по локусу НРА-5 (генотип ребенка — НРА-5аb, матери — НРА-5аа), в двух случаях по локусу НРА-15 (генотип ребенка — НРА-15аb, матери — НРА-15аа). Однако только у четырех женщин были выявлены аллоантитела к тромбоцитам ребенка: у всех женщин с генотипом НРА-1bb и у одной — с генотипом НРА-5аа. Трансиммунный генез тромбоцитопении установлен у четырех детей. Проведенный анализ выявил у матерей данных новорожденных наличие аутоантител к тромбоцитам и снижение числа тромбоцитов в периферической крови (от 44 до $105 \times 10^9/\text{л}$). В остальных случаях лабораторные данные, свидетельствующие об иммунном характере тромбоцитопении, получены не были.

Выводы. Таким образом, иммунный генез тромбоцитопении определен у 8 из 20 обследованных детей. В 50% случаев причиной явились антитромбоцитарные аллоантитела, был установлен диагноз НАИТ. Также в 50% случаев снижение числа тромбоцитов у детей произошло в результате действия материнских аутоантител, был выставлен диагноз — трансиммунная тромбоцитопения.

Бушуева Н. А., Воробьева Н. А.

*ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Архангельск*

ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ФИБРИНОЛИЗА ПРИ ВЫСОКИХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Система фибринолиза активно участвует в ответной реакции организма на стресс, которым является высокая физическая нагрузка. Активация системы фибринолиза связана с повышением секреции окситоцина, увеличением активности плазмина, усилением действия активаторов плазминогена и угнетением антиплазминов. При не-

адекватности физической нагрузки адаптивным возможностям организма развивается состояние дистресса, которое характеризуется со стороны системы гемостаза дисбалансом в работе свертывающей и фибринолитической систем. Постепенно происходит нарастание гиперкоагуляции, снижение антикоагулянтной и фибринолитиче-

ской активности, вплоть до появления в кровотоке признаков тромбинемии и угрозы развития внутрисосудистого свёртывания.

Цель исследования. Оценка гемостазиологического статуса фибринолитической системы спортсменов, имеющих регулярную физическую нагрузку.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 98 спортсменов, имеющих спортивный разряд от 1-го и выше, проходившие углубленное медицинское обследование на базе Архангельского центра лечебной физкультуры и спортивной медицины, давшие письменное информированное согласие на участие. Материалом исследования являлась плазма крови. На базе Центральной научно-исследовательской лаборатории СГМУ проведена оценка следующих параметров системы фибринолиза: уровень тканевого активатора плазминогена (ТАП), уровень урокиназного активатора плазминогена (у-ПА), содержание комплекса плазмин — антиплазмин, а также уровень ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (РАИ-1). Для количественной оценки параметров был использован иммуноферментный анализ. Статистическая проверка проводилась по показателям асимметрии и эксцесса, а также более точно по тесту Колмогорова — Смирнова и Х²-критерию. В случае нормального распределения для сравнения признаков использовали t-критерий Стьюдента, если признаки не подчинялись нормальному закону распределения, то использовали непараметрический тест Краскела-Уоллиса.

Результаты. Уровень ТАП у спортсменов, наблюдающихся в Архангельском центре спортивной медицины, находился в интервале 0,61–0,88 нг/мл ($p=0,05$). Референсные значения при этом составили 2–8 нг/мл. Таким образом, этот показатель системы фибринолиза у обследованных спортсменов был ниже границы референсного интервала. Уровень у-ПА в обследованной

группе варьировал в пределах от 0,96 до 9,66 ($Me=1,78$) нг/мл. При этом у 50% спортсменов уровень у-ПА находился в границах 1,3–3,13 нг/мл. Референсный интервал составил 1,2–2,4 нг/мл. Это свидетельствует о наличии тенденции к повышению уровня данного показателя у обследованных спортсменов. Уровень плазмин-антиплазминового комплекса изменялся у исследуемой группы спортсменов от 10,21 до 260,79 нг/мл ($Me=88,45$). У 50% спортсменов количество комплекса плазмин-антиплазмин определялось в пределах 41,87–187,03 нг/мл. Референсные значения: 0–514 нг/мл. В силу чего можно судить об отсутствии патологических изменений со стороны уровня плазмин-антиплазминового комплекса. Уровень РАИ-1 варьировал в пределах от 3,1 до 133,4 ($Me=29,89$) нг/мл, при этом у 50% спортсменов он находился в границах 22,3–47,3 нг/мл. Референс составляет 7–43 нг/мл. При сравнении групп спортсменов, разделенных по видам спорта, статистически значимых различий в уровне ТАП, у-ПА, комплекса плазмин-антиплазмин обнаружено не было. Разделение спортсменов на группы в зависимости от уровня спортивного мастерства (спортивного разряда) не выявило статистически значимых различий в уровне исследованных показателей системы фибринолиза.

Выводы. Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии угнетения фибринолитической системы у спортсменов, проявляющегося в снижении уровня ТАП. Имеется тенденция к повышению уровня ингибитора активатора плазминогена. Уровни остальных исследованных показателей системы фибринолиза оставались в пределах референсных значений. Таким образом, у спортсменов наблюдалась депрессия системы фибринолиза, что в условиях стрессовых воздействий может приводить к гиперкоагуляции и опасности тромбозов.

Васина Е. В., Костюнина В. С., Петёвка Н. В.

РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий Минздрава Республики Беларусь, г. Минск

ЭКСПАНСИЯ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В СОВМЕСТНОЙ КУЛЬТУРЕ С МЕЗЕНХИМНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

Трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) проводят для восстановления кроветворения у пациентов после высокодозной

химиотерапии. Источником ГСК для трансплантации могут быть костный мозг (КМ), периферическая кровь после мобилизации стволовых кле-

ток, а также пуповинная кровь. Основным ограничителем клинического использования пуповинной, а в ряде случаев и периферической крови, является недостаток CD34-положительных (CD34⁺) клеток в заготовленном трансплантате. Проблему можно преодолеть с помощью размножения (экспансии) ГСК в условиях моделирования костномозговой ниши *ex vivo*.

Цель исследования. Для перспектив клинического применения разработать метод экспансии CD34⁺ клеток пуповинной и периферической крови в условиях сокультивирования с мезенхимными стромальными клетками костного мозга (МСК КМ) без использования реагентов ксеногенного происхождения.

Материалы и методы. Образцы КМ пациентов и здоровых доноров, а также лейкоцитарного концентрата периферической крови были предоставлены 9-й городской клинической больницей г. Минска, образцы пуповинной крови — РНПЦ «Мать и дитя». Все биологические образцы были получены после подписания информированного согласия донорами. Фракцию CD34⁺-клеток пуповинной и периферической крови получали методом положительной иммуномагнитной сепарации с помощью набора EasySep (“Stem Cell Technologies”, Канада), вместо бычьего сывороточного альбумина использовали человеческий сывороточный альбумин. Экспансию ГСК пуповинной крови проводили на подслое МСК КМ здоровых доноров, ГСК периферической крови сокультивировали с аутологичными МСК КМ пациентов. Клетки культивировали в бессывороточной среде StemSpan (“StemCell”, Канада) в течение 6 суток с добавлением цитокинов 100 нг/мл SCF, 100 нг/мл Flt3-ligand, и 25 нг/мл TPO. Иммунофенотип гемопоэтических клеток до и после сокультивирования оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD34 и CD45 (“Beckman Coulter”, Франция). Учет CD34⁺-клеток проводили в регионе CD45⁺-клеток. Дифференцировочный потенциал предшественников миелопоэза исследовали методом колониеобразующего теста в полужидкой среде MethoCult Classic H4434 (“StemCell”, Канада).

Результаты. Доля CD34⁺-клеток после сепарации в среднем составляла 73 ± 18% для пуповинной крови и 90 ± 8% для периферической крови. После 6-суточного сокультивирования в присут-

ствии ростовых факторов относительное содержание CD34⁺-клеток пуповинной и периферической крови уменьшилось до 45 ± 12% и 51 ± 12% соответственно. Общее количество ядросодержащих клеток (ЯСК) увеличивалось в 51 ± 21 раз и 15 ± 6 раз, что, приводило к увеличению числа клеток, несущих кластер дифференцировки CD34, в 30 ± 11 и 9 ± 4 раза для пуповинной и периферической крови. Функциональный колониобразующий тест выявил субпопуляции уни- и олигопотентных предшественников эритроидного, моноцитарного и гранулоцитарного ростков кроветворения как до, так и после сокультивирования ГСК и МСК КМ. Увеличение количества колониобразующих единиц (КОЕ) было соизмеримым с увеличением ЯСК и CD34⁺-клеток: 47 ± 20 раз для пуповинной крови и 8,5 ± 6 раз для периферической. Анализ соотношения КОЕ эритроцитов, гранулоцитов и макрофагов пуповинной крови не выявил статистически значимого смещения субпопуляционного состава эритроидного и суммарного гранулоцитарно-моноцитарного ростков кроветворения после экспансии. Однако наблюдалось более чем двукратное увеличение доли унипотентных макрофагальных колоний (p=0,005). Олигопотентные некоммутированные предшественники миелоидного ряда являются популяцией клеток, наиболее близкой к репопулирующим КМ ГСК. После экспансии их количество увеличивалось в 28 ± 13 раз для клеток пуповинной и в 4,8 ± 0,4 раза для периферической крови.

Выводы. Разработан метод краткосрочной экспансии ГСК в условиях совместной культуры с МСК КМ в отсутствие телячьей эмбриональной сыворотки, позволяющий достичь значительного прироста CD34⁺ кроветворных клеток и колониобразующих единиц как пуповинной, так и периферической крови. За этот период времени не происходит существенного смещения субпопуляционного состава гемопоэтических предшественников, несмотря на значительные различия в приросте клеточной массы пуповинной и периферической крови. Сходство исследованных характеристик гемопоэтических клеток пуповинной и периферической крови после экспансии указывает на определяющее влияние условий культивирования, тогда как их пролиферативный потенциал зависит от источника клеток.

Волкова О. Я.¹, Полякова А. П.¹, Мозгунова Г. В.², Гусейнова У. А.³, Хаваева М. Г.³

¹ ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

² ГБУЗ АО «Областной центр крови» г. Астрахань,

³ ГБУ РД «Республиканская станция переливания крови» г. Махачкала

ИЗУЧЕНИЕ СЛУЧАЯ ОТСУТСТВИЯ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ С, с, Е, е НА МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТА С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Определение антигенов эритроцитов D, С, с, Е, е системы Резус является одним из неотъемлемых критериев качественной иммуногематологической диагностики у реципиентов гемоконпонентов. Обычно эти антигены типировать моноклональными антителами соответствующей специфичности в различных серологических методах исследования. Резус-фенотип эритроцитов при совпадении результатов типирования, полученных различными способами, считают определенным.

Цель исследования. Описание случая

Материалы и методы. В ГБУЗ АО «Областной центр крови» г. Астрахани поступил образец крови больного М., 75 лет, с диагнозом ишемическая болезнь сердца, для определения АВО/РН/К-принадлежности, аллоантител к антигенам эритроцитов и индивидуального подбора эритроцитарной массы для возможной трансфузии во время операции аорто-коронарного шунтирования.

Результаты. При определении антигенов D, С, с, Е, е в реакции прямой агглютинации на плоскости, в гелевом тесте с моноклональными антителами соответствующей специфичности был обнаружен следующий результат: D+, С-, с-, Е-, е-. Ввиду отсутствия сенсибилизации к антигенам эритроцитов, для переливания больному был выбран образец эритроцитов D+, С+, с+, Е-, е+, совместимый в непрямом антиглобулиновом тесте. Больной является уроженцем

Республики Дагестан, поэтому образцы крови его прямых родственников были исследованы на РН-фенотип в ГБУ РД «Республиканская станция переливания крови» г. Махачкала. Серологическое определение РН-фенотипа было проведено у брата, двух сестер, сына и дочери больного. Было обнаружено, что брат и одна из сестер имели РН-фенотип D+, С-, с+, Е-, е+, другая сестра, а также сын и дочь пациента — D+, С+, с-, Е-, е+. Для уточнения РН-фенотипа пациента образец его крови был передан в лабораторию тканевого типирования ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ. Молекулярно-генетическое определение генов D и СЕ у больного было выполнено методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (ПЦР- SSP) коммерческими наборами РН-typе (фирма ВAG, Германия). При этом было установлено, что пациент имел как ген D, так и ген СЕ. Полученный результат генотипирования соответствовал серологическому фенотипу D+, С-, с+, Е+, е-. Но продукты гена СЕ (антигены с, Е) ни одним из серологических методов зафиксировать не удалось.

Выводы. Ген СЕ больного оказался «молчащим», то есть не кодирующим экспрессию соответствующих антигенов с и Е, что, по-видимому, явилось индивидуальной мутацией, так как у ближайших родственников пациента этот признак не обнаруживается.

Волошин С. В., Гарифуллин А. Д., Бессмельцев С. С., Мартынкевич И. С., Кувшинов А. Ю., Мартыненко Л. С., Клеина Е. В., Линников С. Ю., Абдулкадыров К. М.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ И ДРУГИХ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ СТАРШЕ 65 ЛЕТ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Наибольшую часть больных ММ составляют пациенты старшей возрастной группы (старше 65 лет), основной целью лечения которых явля-

ется увеличение продолжительности общей выживаемости (ОВ). Наличие сопутствующей патологии и других факторов ограничивает прове-

дение агрессивной противоопухолевой терапии и эрадикацию опухолевых клеток, что приводит к сокращению длительности ОВ.

Цель. Оценить влияние генетических аномалий (ГА) и других прогностических факторов на ОВ больных старше 65 лет с впервые выявленной множественной миеломой.

Материалы и методы. Обследовано 40 больных с впервые выявленной ММ старше 65 лет (медиана возраста 71 год, диапазон 65–86 лет; соотношение мужчины/женщины — 1:1,35). Цитогенетическое исследование костного мозга проводилось по стандартному GTG-методу. Метафазный FISH анализ использовался с ДНК пробами: LSI 13(*RBI*)13q14, *IGH/CCND1*, *IGH/FGFR3*, LSI *TP53* (17q13.1). Стратификация пациентов была проведена в группы риска в соответствии с модифицированной молекулярно-генетической классификацией mSMART 1.0 и mSMART 2.0. Пациенты с 2 и более хромосомными aberrациями были определены в группу высокого риска в обеих системах стратификации.

Результаты. Генетические аномалии были выявлены у 22,8% больных ММ старше 65 лет. Транслокация t(11;14) была выявлена у 26,0% пациентов, del(13q) — 20,8%, транслокация t(4;14) — 4,3%, del(17p) не была выявлена. В системе риск-стратификации mSMART 2.0 группу стандартного риска составили 82,5% (33/40)

пациентов, промежуточного — 10% (4/40), высокого — 7,2% (3/40). Медиана ОВ в группе стандартного риска по mSMART 2.0 составила 78 мес., промежуточного — 56 мес., высокого — 49 мес. Медиана ОВ при стандартном риске по mSMART 1.0 составила 78 мес., при высоком — 54 мес. Медиана ОВ пациентов, имеющих почечную недостаточность, составила 46 мес. против 78 мес. у пациентов без неё. При определении прогностической значимости системы ISS выявлено, что у больных с I стадией медиана ОВ не была достигнута, со II — составила 54 мес., с III — 50 мес. В случае прогрессирования/рецидива ММ больные получали лечение с применением бортезомиба (при отсутствии резистентности) (30/40) или леналидомида (10/40). Медиана ОВ была в 2 раза выше в группе пациентов, получающих в качестве противорецидивного лечения леналидомид-содержащие режимы по сравнению с бортезомиб-содержащими (110 и 57 мес. соответственно).

Выводы. Многие факторы, такие как, генетические аномалии, стадия ISS, почечная недостаточность, влияют на выживаемость больных ММ старше 65 лет. Однако, пациенты, получившие в качестве противорецидивной терапии леналидомид-содержащие программы, имели более высокие показатели ОВ.

**Волошин С. В., Кувшинов А. Ю., Мартынкевич И. С., Мартыненко Л. С.,
Гарифуллин А. Д., Клеина Е. В., Абдулкадыров К. М.**

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ВЛИЯНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ДОСТИЖЕНИЕ МОБ-НЕГАТИВНЫХ РЕМИССИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ РАЗЛИЧНЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ГРУПП

Известно, что наличие или отсутствие некоторых кластеров дифференцировки на опухолевых клетках хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) может влиять на течение заболевания. Также доказана прогностическая значимость определенных генетических аномалий и минимальной остаточной болезни (МОБ).

Цель. Определить взаимосвязь между иммунофенотипом опухолевых клеток и частотой достижения МОБ-негативных ремиссий в различных генетических прогностических группах пациентов с ХЛЛ.

Материалы и методы. В исследование были включены 35 пациентов с диагнозом ХЛЛ. Медиана возраста составила 61 год (44–82). Соотношение мужчины: женщины — 2,2:1. Диагноз хронического лимфолейкоза был установлен на основании стандартного комплексного обследования (клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, проточная цитометрия периферической крови и костного мозга, биопсия лимфатического узла и костного мозга с иммуногистохимическим исследованием, компьютерная томография). Цитогенетические

исследования были выполнены на образцах периферической крови с помощью стандартного GTG-метода. FISH анализ выполнялся с использованием ДНК-зондов: LSI 13(RB1)13q14, LSI ATM(11q22), CEP12, LSI TP53 (17p13.1) (Abbott). Иммунофенотип опухолевых клеток оценивался комбинацией антител: CD3/CD19, CD19/CD5, CD19/CD11c, CD19/CD20, CD19/CD22, CD19/CD23, CD19/CD25, CD19/CD38, CD19/CD43, CD19/CD81, CD19/HLA-DR и CD19/CD5/CD23.

Результаты. Стратификация пациентов основывалась на выявленных генетических аномалиях. Группа 1 (благоприятный прогноз) — пациенты с del(13q) (n=9); группа 2 (нейтральный прогноз) — пациенты с нормальным кариотипом (n=14) или трисомией 12 хромосомы (n=4); группа 3 (неблагоприятный прогноз) — с del(17p) (n=3), del(11q) (n=3) и комплексным кариотипом (n=2). Экспрессия CD20 была ниже, а CD38 выше в группе 3 ($51,0 \pm 16,31\%$ и $36,02 \pm 10,35\%$, соответственно), чем в группе 2 или группе 1

(CD20+ — $83,17 \pm 5,52\%$ и $84,41 \pm 4,7\%$; CD38 — $10,46 \pm 4,8\%$ и $12,44 \pm 4,1\%$, соответственно, $p < 0,05$). Уровень экспрессии CD20 и CD38 между группой 1 и группой 2 значимо не различался. Количество пациентов с уровнем экспрессии CD38 более 10% было выше в группе 3 (7/8), чем в группе 1 (4/8) ($p < 0,05$). В тоже время гиперэкспрессия CD38 чаще наблюдалась при отсутствии экспрессии CD23 на CD5+ опухолевых клетках (CD5+CD23-) ($p < 0,05$). Экспрессия HLA-DR была выше у пациентов, впоследствии достигших МОБ-негативной ремиссии (3/4), чем у пациентов с МОБ-позитивными ремиссиями (1/8) ($p < 0,05$).

Выводы. Для изучения влияния различных прогностических факторов на течение ХЛЛ требуется комплексный подход. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на определение характера взаимосвязи между иммунофенотипом опухолевых клеток, генетическими аномалиями и МОБ.

Волчков С. Е., Тюмина О. В., Ключников Д. Ю.

Некоммерческое партнерство «Регистр доноров кроветворных клеток и публичных банков пуповинной крови», г. Самара

АВТОМАТИЗАЦИЯ В РАБОТЕ РЕГИСТРОВ ДОНОРОВ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК/КОСТНОГО МОЗГА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Сегодня вопросы, связанные с поиском неродственных доноров для проведения аллогенной трансплантации кроветворных клеток (ТГСК) периферической крови или костного мозга для Российских пациентов, стоят крайне остро. Такая ситуация обусловлена в первую очередь очень маленьким количеством потенциальных доноров и единиц пуповинной крови в Российских регистрах и публичных банках пуповинной крови (<60 тыс.), и с другой стороны — недостаточно эффективной координацией работы всех регистров, банков пуповинной крови и трансплантационных центров. В связи с этим представляется актуальной и необходимой организация единого пространства для работы регистров и трансплантационных центров.

Цель. Обеспечить трансплантологам быстрый и удобный доступ к базам данных доноров кроветворных клеток и автоматизировать работу Регистров доноров с целью ускорения их работы.

Материалы и методы. В ходе реализации нашего проекта мы провели изучение работы международных регистров доноров

кроветворных клеток, таких как ZKRD (Das Zentrale Knochenmark spender-Register für die Bundesrepublik Deutschland). Изучили стандарты WMDA, NETCORD (International NetCord Foundation) и работу информационных систем EMDIS (European Marrow Donor Information System). Автоматизированная информационная система «Регистр доноров» (АИС «Регистр доноров») разработана на современной платформе NET Framework, интегрирована с WEB IIS сервисами, база данных формируется на PostgreSQL. Для защиты информации используются криптографические протоколы по стандарту ГОСТ 28147–89 межсерверные соединения TLS.

Результаты. Полученные данные были проанализированы и приведены в соответствие с национальными стандартами и законодательством РФ, в результате чего были разработаны «Стандарты регистра доноров кроветворных клеток и банков пуповинной крови», в которых регламентированы основные принципы работы с донорами, другими Регистрами, трансплантационными центрами, донорскими центрами и другими аффилированными учреждениями. При разработке стандартов

были сформированы унифицированные медицинские формы запросов на манипуляции с донорами. Разработана и внедрена АИС «Регистр доноров» обеспечивающая стандартизацию и унификацию работы в области донорства кроветворных клеток/костного мозга в соответствии с требованиями международных стандартов Всемирной ассоциации по донорству костного мозга (WMDA) и национального законодательства. Имплементация разработанных стандартов и внедрение АИС «Регистр доноров» позволила НП «Регистр доноров» впервые в России пройти международную аккредитацию WMDA (certificate № 2016–003) в 2016 году. Обеспечив автоматизацию и стандартизацию ведения и хранения информации, мы распространяем данную систему на отдельные Регистры РФ, объединяя информацию о донорах в едином информационном пространстве. В настоящий момент в информационной системе зарегистрировано 3250 доноров и более 6000 образцов пуповинной крови. Среди участников в качестве донорских центров и локальных регистров участвуют ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции», ГБУЗ «Оренбургская станция переливания крови», БФ «Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток». Идет работа по привлечению крупнейших регистров РФ. Системой пользуются специалисты гематологи ГБОУ ВПО «Клиники СамГМУ» (Самара), ГБУЗСО «ОДКБ № 1» (Екате-

ринбург), ФГБУ «РДКБ» и ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (Москва), ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» (Киров). В настоящий момент реализованы механизмы регистрации пациентов и доноров, отбор доноров по совместимости, формирование электронных запросов на дополнительную информацию о донорах, запросы на типирование и активацию. Это позволяет специалистам трансплатологических центров проводить запрос в одной системе, а получать ответы от всех Регистров. Заявки на активацию доноров и ход работы с донором также отображаются в системе, обеспечивая контроль над ее исполнением. Специалисты Регистров могут регистрировать доноров в системе, проводить автоматизированный «отсев» доноров по медицинским показаниям, а также видеть текущие заявки, исполняя их. Таким образом, автоматизация позволяет снять нагрузку на сотрудников Регистров, и повысить их исполнительную дисциплину.

Выводы. Разработанная автоматизированная система позволяет трансплантологам осуществлять поиск и получение дополнительной информации о донорах в режиме on-line, осуществлять запросы на типирование и активацию доноров по стандартным унифицированным формам. Автоматизация работы Регистров обеспечивает качественную работу с донорами, повышает скорость обработки заявок и снижает вероятность ошибок.

Гамыркина Д. Р., Воробьева Н. А.

ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет», г. Архангельск

ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НА УРОВЕНЬ АНТИТРОМБИНА III НА ФОНЕ ПРИЕМА КОМБИНИРОВАННЫХ ОРАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ

До 75–80% всей антикоагулянтной активности плазмы обеспечивается антитромбином III (АТ III). Он является главным ингибитором тромбина (фактор IIa) и факторов IXa, Xa, XIa, XIIa, калликреина, а также является основным плазменным кофактором гепарина (гепарин усиливает активность АТ III в 1000 раз). Снижение активности АТ III ведет к значительному увеличению риска венозного тромбоза. Низкая активность АТ III может наблюдаться: при врожденном дефиците, атеросклерозе, в последнем триместре беременности, после хирургических операций, при заболеваниях печени, тромбоэмболии, сепсисе, а также приеме комбинированных оральных контрацептивов (КОК). КОК — один

из наиболее эффективных и часто используемых методов предохранения от нежелательной беременности. Данные препараты используют более 100 миллионов женщин во всем мире ежегодно. Известно, что синтетические эстрогены после их первого прохождения через печень повышают синтез большинства прокоагулянтных факторов крови — I, II, VII, IX, X, XII, в то же время уровень АТ III снижается, а фибринолитическая активность крови повышается. Также в последнее время многие исследователи уделяют большое внимание наследственным факторам, предрасполагающим к возникновению нарушений в системе гемостаза и тромботическим осложнениям на фоне приема КОК. На сегодняшний день изу-

чено несколько десятков генетических полиморфизмов, наличие которых ассоциировано с развитием протромботических сдвигов в системе гемостаза.

Цель. Изучить влияние наследственных факторов на уровень АТ III в крови на фоне КОК.

Материалы и методы. Нами проведено поперечное клинико-лабораторное исследование, в котором приняли участие 100 женщин в возрасте 29,0 (23,3–35,0) лет. В зависимости от приема КОК женщины были разделены на две группы (n=50 в каждой группе). В обеих исследуемых группах использован метод анкетирования для анализа наследственной предрасположенности к состоянию тромбофилии (семейный анамнез). В ходе исследования была определена прогрессивная активность АТ III, референтный показатель 80–120%. Были проанализированы данные молекулярно-генетического исследования шести полиморфизмов, обуславливающих склонность к состоянию гиперкоагуляции: фактор I –455 G/A, фактор II 20210 G/A, фактор V 1691 G/A, PAI-1–675 4G/5G, ген тромбоцитарного рецептора GrIIIa 1565 T/C; ген метилентетрагидрофолат редуказы (MTHFR) 677 C/T. Для выявления влияния независимых факторов на показатели системы гемостаза был использован метод линейной регрессии (однофакторный и многофакторный анализ).

Результаты. Как однофакторный, так и многофакторный анализы показали статистически значимое влияние наличия отягощенных анамнеза и наследственности по тромботическим осложнениям ($p=0,022$ и $p=0,027$ соответственно)

на снижение активности АТ III. Непосредственно наследственный дефицит АТ III по сравнению с другими патологическими полиморфизмами встречается очень редко — частота в популяции 1: 2000–5000. Поэтому, на наш взгляд, здесь имеет место приобретенный дефицит АТ III, то есть происходит его избыточное потребление при активации системы гемостаза. Активация системы гемостаза, в свою очередь, может быть обусловлена наследственной склонностью к гиперкоагуляции. Также статистически значимое влияние на снижение активности АТ III оказывало наличие гетерозиготы (–455 G/A) гена фибриногена ($p=0,011$ для однофакторного и $p=0,011$ для многофакторных анализов). На наш взгляд, это можно объяснить тем, что гиперфибриногемия повышает уровень протромбина, тем самым увеличивая повышенное потребление АТ III. Статистически значимого влияния КОК на активность АТ III не обнаружено, результаты находятся в пределах референтных значений.

Выводы. Наследственность оказывает значительное влияние на активность АТ III. Значимого влияния КОК на активность АТ III не обнаружено. По нашему мнению, это связано с тем, что все участницы исследования использовали препараты с максимальной дозой этинилэстрадиола (ЭЭ) 30 мкг, что меньше дозы ЭЭ, рекомендуемой ВОЗ (35 мкг). Также практически всем женщинам, участвующим в исследовании, КОК были назначены врачом-гинекологом, что в большинстве случаев исключает возможные гемостазиологические противопоказания.

Гарифуллин А. Д., Мартынкевич И. С., Волошин С. В., Кувшинов А. Ю., Мартыненко Л. С., Клеина Е. В., Линников С. Ю., Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АНОМАЛИИ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Генетические аномалии (ГА) лежат в основе клональной трансформации плазматических клеток (ПлК). Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) и проточная цитометрия используются для выявления клональных ПлК. Взаимосвязь между ГА и иммунофенотипическими особенностями ПлК изучена недостаточно.

Цель. Определить частоту встречаемости ГА и фенотипические особенности ПлК у больных

с впервые выявленной множественной миеломой.

Материалы и методы. Обследовано 44 пациента с впервые выявленной множественной миеломой (ММ) (медиана возраста 58,3 лет, диапазон 38–80; соотношение мужчины/женщины — 1:1,66). Цитогенетическое исследование костного мозга проводилось по стандартному GTG-методу. Метафазный FISH анализ исполь-

зовался с ДНК пробами: LSI 13(RB1)13q14, IGH/CCND1, IGH/FGFR3, LSI TP53 (17q13.1). Пятицветная проточная цитометрия применялась с антителами к CD45, CD38, CD138, CD56, CD19, CD20, CD27, CD117.

Результаты. Транслокация t(11;14) была выявлена у 24,3% пациентов, делеция del(13q) — 22,1%, транслокация t(4;14) — 20,8%, гиподиплоидия — 6,1%, делеция del(17p) — 2,2%, гипердиплоидия — 2,2%. Фенотип характерный для клональных ПЛК (CD38+CD138+CD45–) был выявлен у 100% пациентов. Экспрессия CD56+ выявлена у 52,2% пациентов, CD19+ — у 47,9%, CD117+ — у 20,4%, CD27+ — у 6,8%, CD20+ — у 6,8%. Частота выявления ГА составила 36,2% при CD56+ фенотипе, 24,2% — CD20+, 23,1% — CD19–, 22,6% — CD27–,

24,2% — CD117–, 24,2% — CD20–, 23,1% — CD19+, 20,1% — CD117+, 18,3% — CD56–, 0% — CD27+ фенотипе. В группе стандартного и промежуточного риска (шкала mSMART 2.0) пациенты с ГА чаще имели CD19– фенотип ПЛК, чем CD19+. Неблагоприятные генетические аномалии были выявлены у пациентов с CD19– фенотипом. 3-летняя общая выживаемость пациентов в группе стандартного риска с CD19– фенотипом составила 91,4%, с CD19+ — 77,6%.

Выводы. Наличие CD19+ фенотипа клональных ПЛК предопределяет риск неблагоприятного прогноза течения впервые выявленной ММ. Комплексное определение фенотипических особенностей ПЛК и ГА у больных ММ улучшает стратификацию риска.

Гончарова Н. В.¹, Анацкая Л. Н.², Северин И. Н.¹

¹ Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск

² Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск

УРОВЕНЬ АНГИОГЕННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ЛАКУНАРНЫМИ ИНФАРКТАМИ МОЗГА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МИКРОАНГИОПАТИИ

Примерно 75% лакунарных инфарктов мозга (ЛИМ) обусловлены церебральной микроангиопатией (ЦМА). Сравнительные исследования прогноза церебральных макро- и микроангиопатий показали, что отдаленный прогноз хуже при церебральной микроангиопатии, за счет повторных ЛИМ, развития деменции и сосудистого паркинсонизма. Ведущим патогенетическим фактором развития ЛИМ и ЦМА является хроническая дисфункция эндотелия, связанная с нарушением гомеостатического баланса эндотелия в сторону деструкции. Поэтому одной из основных терапевтических стратегий при ЛИМ, обеспечивающих функциональное восстановление пациента, является индукция репарации эндотелия и церебрального ангиогенеза. В последние годы появились публикации о роли ангиогенных Т-лимфоцитов (Танг) CD3⁺CD31⁺CD184⁺ в регуляции репаративной функции эндотелиальных клеток-предшественниц (ЭКП) и их жизнеспособности. По некоторым данным выраженность молекул CD31 и CD184 на CD3⁺-клетках и количество Танг в периферической крови коррелируют с уровнем ЭКП. Высказано предпо-

ложение, что ангиогенные CD3⁺CD31⁺CD184⁺ Т-лимфоциты могут стимулировать функциональные возможности ЭКП, содействуя формированию новых кровеносных сосудов и эндотелиальной репарации.

Цель. Изучить возможность применения показателей уровней циркулирующих эндотелиальных клеток и ангиогенных Т-лимфоцитов в качестве прогностических факторов при ЦМА у пациентов с ЛИМ.

Материалы и методы. Объект исследования — ЭКП и Танг пациентов с ЛИМ при ЦМА (первые 48 ч ЛИМ) и на 7 сутки стандартной терапии с применением методов квантовой терапии (56 исследований). Возраст пациентов на момент исследования — 60,7±5,4 лет. Средний показатель количества сосудистых факторов риска составил 2,3±0,4. Группа контроля — 20 условно здоровых доноров крови. Фенотипический профиль субпопуляций циркулирующих эндотелиальных клеток выявлялся при помощи комбинации моноклональных антител (МКА, Beckman Coulter и Becton Dickinson, США) к CD31, CD309, CD34, CD95, vWF, CD133,

CD117, CD106, CD144, CD45, CD146, CD71, CD14, CD62P, CD73, CD147, CD116, FLT1, CD54, CD18, CD36; ангиогенных Т-клеток на основании экспрессии CD31/CD184/CD3 с использованием методов проточной иммуноцитометрии. Полученные данные обрабатывались с использованием пакетов статистических программ EXCEL, BIOSTAT и Statistica 6.0.

Результаты. Исследованы уровни эндотелиальных клеток на различных стадиях дифференцировки и Танг, содержащихся в мононуклеарной фракции периферической крови пациентов с ЛИМ при ЦМА. В первые 48 ч ЛИМ в периферической крови пациентов определялось до 5,5–10,5% 34^+ -ЭКП, обладающих метаболической и пролиферативной активностью, но с достаточно слабым потенциалом к межклеточному взаимодействию, а также повышенное содержание в кровотоке так называемых «слушанных» $CD31^+CD309^+CD144^+$ эндотелиоцитов ($p < 0,05$). Количество $CD34^+$ -клеток, способных принять блокирующий сигнал через FLT1, было увеличено ($p < 0,05$), при этом соотношение ингибитора ангиогенеза FLT1 к стимулятору ангиогенеза CD309 составляло 1,75 ($p < 0,05$). Исходно низкие уровни относительного содержания пула циркулирующих «зрелых» эндотелиальных клеток начинало расти к 7 суткам терапии ($p < 0,05$).

Доля Танг минорного пула $CD31^{hi}$ к 7 суткам терапии суммарно возрастала ($p < 0,01$), а исходно высокий уровень экспрессии молекулы CXCR4 сохранялся. Выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнем Танг и степенью экспрессии CD95 ($r = -0.69$, $p < 0,05$). Экспрессия CD106 была повышена ($p < 0,01$), что может быть связано с хронической эндотелиальной дисфункцией при ЦМА. Изучена связь пролиферативного и функционального потенциалов ЭКП: установлена корреляционная связь между экспрессией CD116 и экспрессией CD309 ($r = 0,84$, $p < 0,05$), а также между экспрессией CD73 и CD71 ($r = 0,86$, $p < 0,05$) и между CD73 и CD116 ($r = 0,55$, $p < 0,05$).

Выводы. Определение экспрессии молекул CD34, CD31, CD309, CD133, CD117, CD146, CD54, CD106 и CD144 в различных комбинациях может служить биомаркером эндотелиального баланса в периферическом кровотоке. Определение баланса циркулирующих ЭКП и зрелых ЭК может быть использовано при оценке репаративной функции эндотелия церебрального микроциркуляторного русла с целью оптимизации проводимого лечения. Определение Танг может служить дополнительным маркером лейкоцитарно-эндотелиального взаимодействия в острейшем периоде ЛИМ при ЦМА.

Грицаев С. В., Сидорова Ж. Ю., Кострома И. И., Тиранова С. А., Свитина С. П., Дрижун Ю. С., Чубукина Ж. В., Мартынкевич И. С., Капустин С. И., Бессмельцев С. С.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

ОЦЕНКА ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ *SOX7*, *p15^{INK4b}* И АНТАГОНИСТОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Цель. Изучение статуса aberrантного метилирования генов *SOX7*, *p15^{INK4b}* и антагонистов сигнального пути Wnt у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) для выявления частоты aberrантного метилирования с морфологическим вариантом и характером хромосомных aberrаций.

Материалы и методы. Были отобраны образцы геномной ДНК 57 больных ОМЛ. В исследование не включались больные с острым промиелоцитарным лейкозом. Возраст больных, из которых 20 мужчин и 37 женщин, был в диапазоне от 20 до 79 лет, с медианой 51 год. Распределение по вариантам было следующим: 2 боль-

ных M0 вариантом, 7 больных M1, 23 больных M2, 4 больных M4, 8 больных M5, 3 больных M6 вариантом и 10 больных ОМЛ с миелодисплазией. По результатам изучения кариотипа, известного у 56 больных, были выделены три группы: 31 (54,4%) больной с нормальным кариотипом, 8 (14,0%) с комплексным кариотипом и 17 (29,8%) с другими хромосомными aberrациями. Статус метилирования генов изучали посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции.

Результаты. Признаки aberrантного метилирования ≥ 1 генов выявлены у 52 из 57 больных (91,2%) ОМЛ. Наиболее частой находкой было

метилование генов *SFRP1* и *p15^{INK4b}* — у 39 (68,4%) и 36 (63,2%) больных соответственно. Следующими по частоте убывания были гены *SOX7*, *SFRP4* и *SFRP5* — у 27 (47,4%), 24 (42,1%) и 20 (35,1%) больных соответственно. Одновременное метилирование 3–5 генов было более частой находкой у больных ОМЛ с миелодисплазией (7 из 10 больных, 70%). При анализе числа метилированных генов в группах с разными вариантами кариотипа выявлено, что у больных с нормальным кариотипом и больных с одной или двумя независимыми хромосомными абберациями чаще обнаруживалось метилирование 2 (32,3% и 29,4% соответственно) и 3 (22,6% и 23,5% соответственно) генов одновременно. Напротив, метилирование 5 генов чаще выявлялось у больных с множественными хромосомными абберациями. Следствием этого является значимое различие между больными с на-

личием комплексного и нормального кариотипа, у которых выявлено одновременное метилирование 5 генов: 50,0% против 9,7% соответственно ($p = 0,022$).

Выводы. Абберантное метилирование генов *p15^{INK4b}*, *SOX7* и антагонистов сигнального пути Wnt обнаруживается у большинства больных ОМЛ, что позволяет рекомендовать гипометилирующие препараты для лечения больных, которым по разным причинам не может быть назначена интенсивная цитостатическая терапия. Обнаружение у большей части больных ОМЛ с миелодисплазией или комплексным кариотипом значительного числа генов с абберантным статусом метилирования может послужить основанием для инициации пилотного исследования по изучению комбинированного лечения 5-азациитидина с малыми дозами цитарабина.

Грицаев С. В., Сидорова Ж. Ю., Кострома И. И., Мартынкевич И. С., Тиранова С. А., Свитина С. П., Дрижун Ю. С., Капустин С. И., Бессмельцев С. С.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

АБЕРРАНТНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ПРОМОТЕРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ С НОРМАЛЬНЫМ КАРИОТИПОМ И ОТСУТСТВИЕМ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *FLT3* И *NPM1*.

Выбор интенсивности постремиссионной терапии больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) зависит, прежде всего, от молекулярно-генетических аббераций, отражающих биологический фенотип лейкозных клеток, в частности, чувствительность бластов к лекарственной терапии и риск развития рецидива. Наибольшие трудности возникают в случае нормального кариотипа и отсутствия мутаций с установленным прогностическим потенциалом.

Цель. Изучить ассоциацию абберантного метилирования островков CpG генов *SOX7*, *p15^{INK4b}* и антагонистов сигнального пути Wnt с общей и безрецидивной выживаемостью больных ОМЛ с нормальным кариотипом и без мутаций в генах *FLT3* и *NPM1*.

Материалы и методы. Изучены клиничко-лабораторные показатели 57 больных ОМЛ, которые в индукционном периоде получали курсы 7+3. Критерии исключения: острый промиелоцитарный лейкоз и лечение гипометилирующими препаратами до заготовки образцов перифе-

рической крови. Геномную ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли стандартным способом. До проведения исследования образцы ДНК хранили при температуре -20°C . Статус метилирования генов изучали посредством метил-специфической полимеразной цепной реакции.

Результаты. Нормальный кариотип имел место у 31 из 56 больных (54,4%) с известными результатами цитогенетического исследования. Для решения поставленной цели из данной группы были исключены 8 больных: двое по причине обнаружения мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* и трое из-за невозможности проведения стандартных индукционных курсов 7+3. Дополнительно больные были стратифицированы на 2 группы по числу генов (*SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4* и *SFRP5*) с абберантным статусом метилирования: 0–2 против 3–5. В первую группу вошли 13 больных и во вторую 10 больных. В группе с 0–2 метилированными генами полная ремиссия была достигнута у 9 (69,2%) больных, у 4 констатирован первично-резистентный ва-

риант. Рецидив ОМЛ развился у 5 больных. Медиана времени наблюдения составила 24 (7–64) месяца. В группе с 3–5 метилированными генами полная ремиссия была диагностирована у 8 (80,0%) больных, из которых у 4 в последующем развился рецидив. Период наблюдения варьировал от 2 до 96 месяцев, медиана 17 месяцев. Медиана общей выживаемости между больными не различалась: не достигнута в группе с 0–2 метилированными генами и 31 месяц в группе

с 3–5 метилированными генами. Также не различалась и медиана безрецидивной выживаемости: 26,7 и 33,5 месяца соответственно.

Выводы. Число генов с aberrантным статусом метилирования не может рассматриваться в качестве предиктора эффективности лечения больных ОМЛ с нормальным кариотипом и без мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* при назначении в индукционном периоде стандартной схемы терапии 7+3.

Загоскина Т. П.¹, Зотина Е. Н.², Шардаков В. И.², Криницына Е. Е.²

¹ ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Киров

² ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Клиническое течение хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) крайне гетерогенно. Как показывает практика, стратификация больных ХЛЛ не проста и нуждается в совершенствовании. Известно, что злокачественный рост во многом обусловлен взаимодействием опухоли с иммунокомпетентными клетками. Особенностью ХЛЛ является непосредственное вовлечение в опухолевый процесс клеток иммунной системы. Данные литературы и наши собственные наблюдения указывают на разнообразные нарушения иммунного ответа у больных ХЛЛ, в том числе и системы естественной резистентности организма — натуральных киллерных клеток (НК-клеток). До сих пор не изучалось прогностическое значение взаимодействия клона злокачественных В-лимфоцитов и НК-клеток, которое может отражать клиническое течение болезни.

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностического значения соотношения абсолютного числа НК-клеток к абсолютному числу клеток опухолевого клона у больных ХЛЛ.

Материалы и методы. В исследование включено 140 больных ХЛЛ в возрасте от 35 до 82 лет (медиана — 61 год), мужчин было 87 (62%), женщин — 53 (38%). У 83 (59%) пациентов заболевание было диагностировано впервые, из них у 54 (65%) больных констатирована стадия А, у 20 (24%) — стадия В и у 9 (11%) — стадия С по классификации J. Binet. Среди обследованных 29 (21%) пациентов находились в периоде ремиссии заболевания, 28 (20%) больных имели

рецидив ХЛЛ. Определение иммунофенотипа лимфоидных элементов проводили на проточном цитофлуориметре с использованием специфических моноклональных антител. Определяли величину соотношения абсолютного числа НК-клеток (CD3-CD16/56⁺) к абсолютному числу клона клеток ХЛЛ («НК-клетки/клетки ХЛЛ»). Клетки опухолевого клона выделяли по коэкспрессии антигенов CD19⁺, CD5⁺, CD23⁺, слабой экспрессии CD20 и CD79b, отсутствию CD10 и FMC7, а также рестрикции легких цепей иммуноглобулинов каппа или лямбда. Результаты представлены в виде средней арифметической и 95% доверительного интервала (ДИ).

Результаты. У больных ХЛЛ обнаружены достоверные изменения соотношения «НК-клетки/клетки ХЛЛ». У пациентов с впервые выявленным ХЛЛ соотношение «НК-клетки/клетки ХЛЛ» равнялось 0,06 (95% ДИ: 0,04–0,08). У больных с продвинутыми стадиями заболевания (В и С по классификации J. Binet) наблюдалось более выраженное снижение соотношения «НК-клетки/клетки ХЛЛ» по сравнению с пациентами со стадией А. У больных с продвинутыми стадиями соотношение «НК-клетки/клетки ХЛЛ» составило 0,03 (95% ДИ: 0,02–0,05), тогда как у пациентов с ранней стадией ХЛЛ оно равнялось 0,08 (95% ДИ: 0,05–0,10) ($p=0,036$). При изучении соотношения «НК-клетки/клетки ХЛЛ» в зависимости от этапа заболевания выявлено, что наиболее выраженное снижение данного показателя отмечалось у больных с реци-

дивом заболевания. Соотношение «NK-клетки/клетки ХЛЛ» в этой группе пациентов было в 3 раза ниже аналогичного значения в группе больных с впервые выявленным ХЛЛ и составило 0,02 (95% ДИ: 0,01–0,04) ($p=0,042$). Установлено, что соотношение «NK-клетки/клетки ХЛЛ» у пациентов со стадией А зависело от варианта течения заболевания. У больных с прогрессирующим течением ХЛЛ соотношение «NK-клетки/клетки ХЛЛ» было в 2 раза ниже, чем у пациентов с индолентным течением болезни и равнялось 0,05 (95% ДИ: 0,03–0,06) и 0,09 (95% ДИ: 0,07–0,11) соответственно ($p=0,014$). При проведении многофакторного регрессионного анали-

за установлено, что соотношение «NK-клетки/клетки ХЛЛ» $<0,07$ предсказывает короткую общую выживаемость больных ХЛЛ ($p=0,023$).

Выводы. У больных ХЛЛ с различным клиническим течением заболевания наблюдается достоверное изменение соотношения «NK-клетки/клетки ХЛЛ». Наиболее низкие показатели соотношения «NK-клетки/клетки ХЛЛ» свойственны пациентам с продвинутыми стадиями, прогрессирующим течением ХЛЛ и с рецидивом опухолевого процесса. Соотношение «NK-клетки/клетки ХЛЛ» может использоваться в качестве дополнительного фактора прогноза общей выживаемости больных ХЛЛ.

Злотникова М. В.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», г. Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ УРОВНЯ HLA-АНТИТЕЛ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Реципиенты почки могут иметь предсуществующие или вырабатывать *de novo* анти-HLA антитела. Присутствие данных антител в сыворотке пациента способно повышать риск развития острого или хронического отторжения и ухудшать выживаемость трансплантата. Определение HLA-антител у реципиентов рекомендуется при включении в «лист ожидания» почечного трансплантата и далее 1 раз в 3 месяца. Пациенты, сенсibilизированные к HLA, нуждаются в более тщательном подборе донорских органов, а также в особой тактике ведения в посттрансплантационном периоде.

Цель исследования. Изучить влияние предсуществующих антител на течение посттрансплантационного периода и выработку антител *de novo* у реципиентов почки с целью выделить группу пациентов, предрасположенных к развитию ранних или поздних дисфункций трансплантата.

Материалы и методы. Исследовано 415 образцов сыворотки крови реципиентов из «листа ожидания» и 38 образцов от пациентов после трансплантации почки на наличие HLA-антител. Группу составили 247 женщин и 168 мужчин, возраст реципиентов от 21 до 57 лет. Определение антител проводили с помощью комплектзависимого лимфоцитотоксического теста, степень сенсibilизации к HLA определяли в виде % по отношению к панели стандартных лимфоцитов. В посттрансплантационном пери-

оде антитела определяли через 2 недели и далее через месяц, а затем с периодичностью раз в три месяца при отсутствии данных об отторжении или чаще по показаниям на протяжении трёх лет. Контрольную группу составили 52 женщин-доноров сопоставимого возраста, у которых определяли анти-HLA. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ «Statistica 6.0». С учетом результатов проверки на нормальность распределения использовали непараметрические критерии Манн-Уитни и Спирмена (rs) для корреляционного анализа. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25; 75%).

Результаты и обсуждение. Предсуществующие антитела определялись в группе лиц из «листа ожидания» у 23,6% реципиентов; а степень сенсibilизации составила 31 [20;65]%, что было значительно выше по сравнению с контрольной группой — 9,7% при уровне анти-HLA 15 [5–26]% ($p=0,03$). Среди пациентов после трансплантации почки наличие анти-HLA определяли у 36,8%; уровень анти-HLA составил 42 [28;73]%, что превысило показатели в контрольной группе ($p=0,02$). В то же время, статистически значимых различий по уровню сенсibilизации к HLA среди группы реципиентов до и после трансплантации не выявлено. В зависимости от группы крови наличие HLA-антител у реципиентов почки из «листа ожидания» распре-

делилось следующим образом: I (0) — 19,7%; II (A) — 28,3%; B (III) — 18,2% и AB (IV) — 15,9%. Наибольший процент сенсibilизированных пациентов определялся среди лиц со второй группой крови, а степень сенсibilизации была одинаково высокой у лиц с I (0) и II (A) группой крови (43 [35–55]% и 47 [30–60]%) и превышала значения среди реципиентов с AB (IV) группой крови — 17 [5–30]% ($p=0,01$ и $p=0,02$ соответственно). Различий в группах пациентов с наличием и отсутствием предрасполагающих и антигенов de novo в посттрансплантационном периоде не обнаружено. Корреляционный анализ между

уровнем сенсibilизации к HLA и временем после трансплантации почки на протяжении трёх лет не выявил взаимосвязи между данными параметрами.

Выводы. При трансплантации почки группы риска составили лица с I (0) и II (A) группой крови, у которых была наиболее высокая степень сенсibilизации к HLA, что требует особого ведения данных пациентов в до- и посттрансплантационном периоде. Однако различий по уровню сенсibilизации к HLA среди группы реципиентов до и после трансплантации на протяжении трёх лет не выявлено.

**Зотина Е. Н., Докшина И. А., Лагунова О. Р., Максимов О. Д.,
Ярыгин Д. Н., Федоровская Н. С., Исаева Н. В.**

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», Киров*

ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИИ РИТУКСИМАБА, БЕНДАМУСТИНА И ЦИТОЗАРА В ЛЕЧЕНИИ ЛИМФОМЫ ИЗ КЛЕТОК МАНТИИ ВЫСОКОГО РИСКА

Лимфома из клеток мантии (ЛКМ) характеризуется агрессивным клиническим течением, плохим ответом на стандартную химиотерапию, короткой общей и безрецидивной выживаемостью больных. Особенности клинического течения и отсутствие эффекта при проведении стандартной терапии диктуют необходимость в разработке новых протоколов лечения ЛКМ. Интенсификация лекарственной терапии является основным путем улучшения терапевтических возможностей. Однако у пожилых пациентов ЛКМ проведение интенсивной терапии сопряжено с высоким риском фатальных осложнений. Лечебная тактика неблагоприятных форм течения ЛКМ до сих пор остается нерешенной проблемой. Определение оптимальных терапевтических режимов при лечении ЛКМ является актуальным.

Цель работы. Оценить эффективность химиотерапевтического режима, включающего ритуксимаб, бендамустин и цитозар, у больных ЛКМ высокого риска с позиции частоты объективных ответов и токсичности.

Материалы и методы. В исследование включено 10 больных (2 женщины и 8 мужчин) в возрасте от 54 до 74 лет, медиана возраста — 63 года. В 100% случаев имелась IV стадия заболевания по классификации Ann Arbor. Общий соматический статус больных по шкале ECOG варьировал от 1 до 3 баллов. У 9 (90%) больных наблюда-

лись B-симптомы. У 2 (20%) выявлен бластоидный морфологический вариант ЛКМ. В соответствии с международным прогностическим индексом МРPI все пациенты относились к группе высокого риска. У 2 (20%) пациентов заболевание было диагностировано впервые, у 5 (50%) больных выявлен рецидив ЛКМ, у 3 (30%) пациентов зарегистрирована рефрактерность к ранее проводимой химиотерапии. В качестве 1 линии терапии использовали программу СНОР-21, флударабинсодержащие режимы. Больные получили лечение по программе R-BAC: ритуксимаб 375 мг/м² внутривенно капельно в 1 день курса, бендамустин 70 мг/м² внутривенно капельно в 2–3 дни курса, цитозар 500 мг/м² внутривенно капельно в 2–4 дни курса. Терапия по схеме R-BAC проводилась каждые 28 дней до 4 курсов лечения. Ответ на терапию оценивали согласно критериям IWCLL.

Результаты. При применении программы R-BAC общий ответ получен у 7 (70%) пациентов, из них полная ремиссия достигнута у 3 (30%), частичная ремиссия — у 4 (40%). Отсутствие ответа на лечение наблюдалось у 3 (30%) больных. При этом прогрессирование заболевания констатировано у 1 (10%) пациента, рецидив ЛКМ развился у 2 (20%) больных. Медиана наблюдения за больными равнялась 18 месяцев. Медиана общей выживаемости пациентов не достигнута за период наблюдения. Медиана времени до про-

грессирования составила 14 месяцев. Миелосупрессия была основным токсическим осложнением терапии и наблюдалась в общей сложности у 90% больных. Гематологическая токсичность 3–4 степени была представлена тромбоцитопенией в 80% случаев, нейтропенией — в 50%, анемией — в 20%. Нейтропеническая лихорадка наблюдалась у 3 (30%) пациентов. Инфекции 3–4 степени зафиксированы у 2 (20%) больных.

Выводы. Применение комбинации ритуксимаба, бендамустина и цитозара является эффективной терапевтической опцией у больных ЛКМ высокого риска. Режим R-BAS обладает удовлетворительной переносимостью и приемлемой токсичностью, и может быть рекомендован в качестве 1 и/или 2 линий терапии у пожилых больных ЛКМ с прогностически неблагоприятными формами течения заболевания.

Зотина Е. Н.¹, Шардаков В. И.¹, Загоскина Т. П.², Йовдий А. В.¹

¹ ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

² ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Киров

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ В СТАДИИ А

Важную роль в патогенезе хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) играет межклеточное взаимодействие в лимфоидной ткани, в процессе которого определенное место отводится цитокинам. Многообразие изменений клинических и лабораторных показателей, обнаруживаемых при ХЛЛ, может определяться дисбалансом цитокинов. Однако характер и механизмы изменения цитокинового статуса при ХЛЛ остаются до конца не изученными. Отсутствуют систематизированные данные относительно нарушений цитокинового профиля у больных ХЛЛ на ранней стадии опухолевого процесса.

Цель исследования. Изучить роль цитокинового профиля у больных ХЛЛ в стадии А в прогнозе течения заболевания.

Материалы и методы. В исследование включено 85 больных с впервые выявленным ХЛЛ. Возраст пациентов варьировал от 35 до 78 лет (медиана — 61 год). У всех больных была установлена стадия А по классификации J. Binet. Определение концентрации цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН- γ) в сыворотке крови проводили твердофазным иммуноферментным методом с использованием наборов реагентов, выпускаемых ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург). Группу сравнения составили 50 практически здоровых жителей Кировской области — доноров крови и ее компонентов.

Результаты. При анализе уровней цитокинов в сыворотке крови у больных ХЛЛ в стадии А выявлено, что уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-2 был ниже референсных

значений в 3,7 раза и 2,9 раза, соответственно ($p < 0,001$). Содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4 превышало в 1,9 раза соответствующий показатель референсной группы ($p = 0,027$). Отмечено повышение в 2,8 раза уровня провоспалительного цитокина ФНО- α по сравнению с концентрацией того же цитокина у здоровых лиц ($p = 0,012$). Содержание провоспалительного цитокина ИЛ-6 в 2,5 раза превышало аналогичный показатель референсного интервала ($p = 0,019$). Уровень провоспалительного цитокина ИЛ-8 в сыворотке крови больных ХЛЛ оказался в 2,2 раза выше, чем в группе контроля ($p = 0,021$). Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови превышала в 2,4 раза таковую у здоровых лиц ($p = 0,021$). При проведении корреляционного анализа установлена положительная корреляционная связь между содержанием ИЛ-2 и ИЛ-1 β ($p = 0,027$), ИЛ-2 и ИФН- γ ($p = 0,028$). Концентрация ИФН- γ имела отрицательную корреляционную связь с концентрацией ИЛ-10 ($p = 0,017$). Уровень ИЛ-8 прямо коррелировал с содержанием ФНО- α в крови ($p < 0,001$). Обнаружено, что концентрации изучаемых цитокинов не зависели от половой принадлежности пациентов, но коррелировали с возрастом. Так, установлена прямая корреляция уровня ИЛ-4 ($p = 0,022$) и ФНО- α ($p = 0,016$) с возрастом, а сывороточная концентрация ИЛ-1 β отрицательно коррелировала с возрастом ($p = 0,013$). Выявлена зависимость концентрации цитокинов в сыворотке крови от варианта течения ХЛЛ. У больных с прогрессирующим течением ХЛЛ отмечалось достоверное повышение уровней ИЛ-6,

ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- α и снижение концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-2 по сравнению с теми же показателями пациентов с индолентным течением заболевания ($p < 0,05$). При проведении многофакторного регрессионного анализа установлено, что независимыми факторами, неблагоприятно влияющими на выживаемость, свободную от лечения, пациентов являются содержание ФНО- $\alpha > 8$ пг/мл, ИЛ-8 > 15 пг/мл в сыворотке крови.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что при развитии ХЛЛ происхо-

дит изменение баланса цитокинов в организме, характеризующееся преобладанием провоспалительного профиля. Уровень цитокинов в сыворотке крови зависит от варианта течения заболевания, что указывает на возможность использования их в качестве дополнительных факторов прогноза течения ХЛЛ на ранней стадии опухолевого процесса. Содержание ФНО- $\alpha > 8$ пг/мл, ИЛ-8 > 15 пг/мл в сыворотке крови свидетельствует о высоком риске прогрессирования ХЛЛ.

Ильдебенева С. А.¹, Хусанова Е. М.¹, Сухушин К. С.²

- ¹ Казенное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа — Югры «Станция переливания крови» филиал в городе Нижневартовске, г. Нижневартовск
² Бюджетное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа — Югры «Нижневартовская окружная больница № 2», г. Нижневартовск

ПРОФИЛАКТИКА ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Сенсибилизация к антигенам эритроцитов является одним из неблагоприятных факторов после трансфузий эритроцитсодержащих компонентов донорской крови, особенно у онкогематологических больных. Актуальными являются задачи по профилактике иммунологических посттрансфузионных осложнений, а также по изучению встречаемости антигенов эритроцитов различных систем, по профилактике и диагностике сенсибилизации к антигенам эритроцитов.

Цель: Рассчитать индекс сенсибилизации к антигенам эритроцитов и оценить частоту встречаемости фенотипов системы Резус у трансфузионно-зависимых онкогематологических больных для научного обоснования проведения индивидуальных подборов эритроцитсодержащих компонентов крови данной категории пациентов.

Материалы и методы: Было обследовано 100 образцов крови пациентов, имеющих онкогематологические заболевания. Применяли методы определения антигенов эритроцитов: гелевая технология, метод магнитизации эритроцитов. Скрининг антиэритроцитарных антител проводили с помощью гелевой технологии в непрямом антиглобулиновом тесте с применением соответ-

ствующих тест-эритроцитов. Индекс сенсибилизации рассчитывали по формуле: $n/N \times 100$.

Результаты: Среди обследованных пациентов у 13 человек были выявлены антиэритроцитарные антитела. Индекс сенсибилизации составил 13% (у доноров индекс сенсибилизации — 0,6%). При исследовании антигенов системы Резус было выявлено, что Rh(D) положительные пациенты имеют более высокую частоту встречаемости по сравнению с донорами г. Нижневартовска (89,0% и 81,3%, соответственно), а среди фенотипов системы Резус у пациентов чаще всего встречались фенотипы CcDee (30,7%) и CCDee (17,9%).

Выводы: Полученные данные высокого индекса сенсибилизации у онкогематологических пациентов, выявление разнообразия в частоте встречаемости антигенов эритроцитов крови системы Резус позволяют говорить о необходимости научно-обоснованного проведения индивидуального подбора эритроцитсодержащих компонентов крови данной категории пациентов с целью обеспечения иммунологической безопасности при проведении трансфузионной терапии и минимизации посттрансфузионных реакций и осложнений.

Исаева Н. В., Киселева А. Н.

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ НА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Для больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) уже на ранних этапах заболевания характерны иммуноопосредованные осложнения, в развитии которых центральная роль принадлежит наличию иммунных нарушений. Опухолевый процесс при ХЛЛ запускает различные механизмы неконтролируемой пролиферации иммунокомпетентных клеток, поэтому содержание Т- и НК-клеток в крови в большинстве случаев не дает исчерпывающей информации о состоянии иммунной системы больного. Возможным подходом к выявлению иммунных нарушений может стать оценка функциональной полноценности Т- и НК-клеток. Известно, что процессы межклеточной сигнализации осуществляются за счет мембранных дифференцировочных антигенов иммуноцитов, а отсутствие или пониженная представленность этих антигенов на клетке ведет к ослаблению интенсивности иммунного ответа на наличие чужеродного антигена.

Цель данного исследования состояла в сравнительном анализе уровня экспрессии основных сигнальных молекул Т-лимфоцитами, их субпопуляциями и НК-клетками у больных с впервые выявленным ХЛЛ.

Материалы и методы. Группу наблюдавшихся составили 108 пациентов с подтвержденным диагнозом ХЛЛ. В группу сравнения вошли 25 практически здоровых лиц (доноров), сопоставимых с группой больных по возрасту и полу. Исследование выполнено на основе лазерной проточной цитофлуориметрии. Проводили последовательное гейтирование клеточных популяций таким образом, чтобы оценить среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) для CD45 на всех лимфоцитах и прицельно на Т- и В-лимфоцитах, маркеры CD3 и CD4 на CD3-позитивных лимфоцитах, CD8 на CD3-позитивных и CD3-негативных лимфоцитах, CD16 и CD56 в пределах CD3-негативных лимфоцитов. СИФ выражали в условных единицах. Принимая за 100% интенсивность экспрессии маркера в группе контроля, рассчитывали его относительную степень экспрессии в наблюдаемой группе.

Результаты. СИФ молекулы CD45 в пределах всей Т-лимфоидной популяции у больных была

значительно более низкой — 6,2 [5,2; 6,5], чем в группе сравнения — 8,9 [7,1; 11,6], $p < 0,01$ (здесь и далее по тексту средние значения представлены в виде медианы и квартилей — Me (I кв.; III кв.)). Аналогичные результаты зарегистрированы для антигена CD3 (5,8 [4,7; 6,6] против 7,1 [6,7; 7,7], $p < 0,001$) и антигена CD4 (7,4 [5,2; 12,4] против 10,2 [6,5; 13,2], $p < 0,001$) на Т-лимфоцитах крови больных. У больных ХЛЛ интенсивность экспрессии молекулы CD8 в пределах CD3-позитивных лимфоидных элементов не отличалась от таковой в группе сравнения (27,8 [21,5; 36,5] против 30,7 [17,5; 43,5], $p = 0,9$). Относительная степень экспрессии маркеров CD45, CD3, CD4 и CD8 на Т-лимфоцитах больных ХЛЛ составила 69,9%, 81,7%, 72,5% и 90,6% соответственно. СИФ молекул CD8 и CD16 на CD3-негативных лимфоидных элементах больных ХЛЛ и лиц группы сравнения практически совпала (4,21 [3,1; 6,2] и 6,4 [4,1; 7,3], $p = 0,9$; 4,6 [3,2; 7,1] и 4,3 [3,5; 6,2], $p = 0,07$); СИФ маркера CD56 у больных оказалась более низкой — 1,9 [1,8; 1,9], чем в группе сравнения — 2,6 [2,2; 3,4] ($p < 0,05$). НК-клетки больных характеризовались следующей относительной степенью экспрессии маркеров CD8, CD16 и CD56 — 65,8%, 107,0%, и 73,1% соответственно.

Выводы. При ХЛЛ неполноценность Т-лимфоцитов по уровню экспрессии мембранных сигнальных молекул в наибольшей степени касается Т-хелперов, в отношении цитотоксических Т-лимфоцитов подобная тенденция не была установлена. НК-клетки с цитотоксическими свойствами у больных ХЛЛ характеризуются нормальной представленностью маркеров CD8 и CD16 на мембране, в то время как НК-клетки с цитокинетическими свойствами имеют значимо более низкую экспрессию молекулы CD56. Полученные результаты относительно рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток могут иметь значение для понимания механизмов формирования иммунной недостаточности при ХЛЛ. Представляет интерес дальнейшее изучение показателей полноценности рецепторов иммунокомпетентных клеток с точки зрения их связи с клиническими характеристиками больных.

*Каргин В. Д., Капустин С. И., Солдатенков В. Е., Шмелева В. М.,
Алексамян Л. Р., Рыбакова Л. П., Смирнова О. А., Папаян Л. П., Четчикин А. В.,
Бесмельцев С. С., Бураков В. В.*

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», г. Санкт-Петербург

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ГЕМОФИЛИИ

Рецидивирующие внутрисуставные кровоизлияния при гемофилии провоцируют развитие хронического синовита, индуцированного дериватами железа лизированных эритроцитов с активацией ряда биохимических и иммунных процессов. Выраженность и фенотипические проявления индуцированных метаболических нарушений различна, что требует изучения возможной связи их с генотипом пациента, сопутствующими заболеваниями и влияния на исход и проявления заболевания.

Цель. Изучить характер отдельных метаболических нарушений, их связь с генотипом и значимость для фенотипических проявлений у больных гемофилией.

Материалы и методы. Обследовано 26 больных с тяжелой формой гемофилии, получавших стационарное лечение в ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России». Использовались коагулологические, иммунологические, биохимические исследования уровня факторов VIII и IX, ряда показателей окислительно-антиокислительной системы. Контроль суставных поражений проводили с помощью рентгенологического обследования и УЗИ. С помощью иммуноферментного метода определяли уровень гомоцистеина в плазме крови, а также маркер гепатита С (IgG). Типирование полиморфизма С677Т гена метилентетрагидрофолат редуктазы (МТГФР) осуществляли методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. В результате исследования обнаружено, что у больных с тяжелой формой заболевания имеет место индукция оксидативных реакций, проявившаяся 2-х кратным увели-

чением содержания малонового диальдегида, снижением тиоловых антиоксидантов на 44% при двукратном повышении содержания церулоплазмينا, снижением на 20% активности каталазы по сравнению с нормой. Выявленный дисбаланс свидетельствует о напряжении антиокислительной системы. Проведенная терапия с применением лечебного плазмафереза, химического синовиортеза способствовала коррекции показателей оксидативного стресса на 40%, т. е. до показателей, близких к норме. У 42% больных гемофилией диагностирована гипергомоцистеинемия, генез которой, вероятно, связан с нарушением метаболизма фолатов вследствие поражения печени у носителей гепатита С, а также генетической предрасположенностью (полиморфизм С677Т гена МТГФР). Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) (гомоцистеин плазмы 13,4 ммоль/л и выше) выявлена у 8 (36,4%) пациентов. Это в 4 раза (8,8%) превышает ранее исследованный средний уровень встречаемости ГГЦ среди здорового населения Северо-западного региона России (OR=5,9, 95%CI: 2.2–15.5, p=0,0009).

Выводы. Метаболические нарушения у больных гемофилией носят комплексный характер. Имеет место дисбаланс окислительно-антиокислительной системы, являющийся возможной причиной цитокиновой агрессии с развитием хронического синовита. В инициацию оксидативного стресса определен вклад вносит ГГЦ различного генеза. Выявленные метаболические изменения следует учитывать при изучении патогенеза как гемофилической полиартропатии, так и сопутствующих гемофилии заболеваний (сосудистой патологии, хронических вирусных гепатитов).

Кардовский А. Г., Шардаков В. И.

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», г. Киров

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНОЙ АГРЕГАЦИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ

При глубоких отморожениях конечностей неизбежно происходит как анатомическое, так

и функциональное поражение эндотелия сосудов. В обычных условиях эндотелий активно

участвует в функционировании систем ауторегуляции микроциркуляции, оказывая координирующее влияние на состояние систем сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, фибринолиза, а также на иммунореактивность организма и резистентность к инфекциям. В последние годы выявлена взаимосвязь между гемостатическими и воспалительными реакциями при повреждении тканей, где ключевым звеном выступает взаимодействие лимфоцитов, тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Этот процесс можно смоделировать в лабораторных условиях, используя феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации (ЛТА) и подсчета числа лимфоцитарно-тромбоцитарных розеток (ЛТР). По данным литературы, ЛТА является физиологической реакцией, и в норме у здоровых людей выявляется в среднем $14 \pm 1\%$ коагрегатов. Способностью взаимодействовать с тромбоцитами преимущественно обладают Т-хелперы и натуральные киллеры. Несомненно, что активность ЛТА зависит от 2 факторов: функционального состояния кровяных пластинок, а также экспрессии рецепторов на указанных иммунокомпетентных клетках (ИКК). В этой связи при различных патологических процессах, сопровождающихся вторичным иммунодефицитом (ВИД) или развитием ДВС-синдрома, число ЛТР значительно изменяется как в сторону уменьшения, так и увеличения.

Цель. Исследование активности ЛТА у больных с местной холодовой травмой для определения функционального состояния систем гемостаза и иммунитета, а также оценки эффективности проводимого лечения.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 11 больных с отморожениями конечностей, поступивших в отделение термической травмы в дореактивном и в первые часы раннего реактивного периода. После наложения теплоизолирующих повязок на пораженные сегменты и получения информированного согласия больного в течение 5 суток в пораженные конечности внутриапериартериально (путем пункции плечевой или бедренной артерии) инфузировавали 1 раз в сутки смесь следующего состава: новокаин 0,25%–10,0, никотиновая кислота 1%–2,0, пентоксифиллин 2%–5,0, гепарин 5000 ед., с последующим введением углеводно-кристаллоидных растворов в среднем объеме до 1,5 л в сутки, никотиновой кислоты 1%–4,0, эуфиллина 2,4%–10,0, гепарина 20 000 ед. в сутки каждые 4 часа и 500

мл волювена. Адгезию кровяных пластинок оценивали по способности формировать коагрегаты с лимфоцитами по методике Ю. А. Витковского с подсчетом процента ЛТР на предметном стекле. За розетку принимали лимфоцит с адгезией 3 и более тромбоцитов. В тесте ЛТА оценивали спонтанную агрегацию, а также число ЛТР после отмывания ИКК раствором Хенкса, что позволяло судить о состоянии рецепторного аппарата ИКК. Количественное определение ЛТР проводили при поступлении больного в клинику, в динамике лечения и после его окончания.

Результаты. Проведенные исследования показали, что до начала терапии число ЛТР колебалось от 2% до 29%, в среднем равнясь $19,1 \pm 4,3\%$. Это несколько превышало показатели здоровых людей. Полученные результаты совпадают с опубликованными данными, согласно которым процент ЛТР при местных холодовых поражениях колебался от $18,2 \pm 1,3$ до $41,6 \pm 5,2\%$ и зависел от тяжести травмы. На фоне проводимого комплексного лечения число ЛТР в спонтанном тесте возрастало, достигая на заключительном этапе $26,9 \pm 5,0\%$ (с колебаниями от 18 до 36%). На наш взгляд, это связано с тем, что кровяные пластинки активно участвуют в репаративных процессах в пораженных холодом тканях, способствуя миграции иммунокомпетентных клеток (ИКК) через поврежденную стенку сосудов вглубь травмированного участка, поэтому усиление функциональной активности тромбоцитов (как и увеличение их числа) является прогностически благоприятным фактором. При оценке экспрессии рецепторов на ИКК в тесте ЛТА (отмытые лимфоциты, инкубированные с тромбовзвесью) установлено, что до начала лечения процент ЛТА колебался от 5 до 27, составляя в среднем $11,2 \pm 2,0\%$. После курса терапии этот показатель возрастал до $17,9 \pm 3,0\%$, что косвенно свидетельствовало об усилении функциональной активности ИКК при проведении адекватного комплексного лечения.

Выводы. Полученные результаты определения активности ЛТА у больных с местной холодовой травмой свидетельствуют о высокой информативности данного теста. При проведении лечения по разработанной схеме получен выраженный клинический эффект с положительной динамикой исследуемых показателей коагуляционного, тромбоцитарного гемостаза, вязкости крови и всех звеньев иммунитета.

Киселева А. Н.¹, Бутина Е. В.¹, Зайцева Г. А.¹, Белоус И. А.², Попонина Е. А.¹

¹ ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России», г. Киров

² КОГБУЗ «Юрьянская центральная районная больница»

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ТРОМБОФИЛИИ И ФОЛАТНОГО ОБМЕНА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

В соответствии с определением ВОЗ, привычное невынашивание беременности — это наличие у женщины в анамнезе подряд трех и более самопроизвольных прерываний беременности в сроке до 22 недель. Выделяют генетические, анатомические, эндокринные, инфекционные, иммунологические и тромбофилические факторы, приводящие к потере беременности. Возникновение тромбогенных осложнений во многом определено генетической предрасположенностью, ассоциированной с полиморфизмом генов протромбина (FII), фактора V (FV), ингибитора активатора плазминогена I (PAI-1), фибриногена (FGB), интегрина альфа-2 (ITGA2), тромбоцитарного рецептора фибриногена (ITGB3) и метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR). Считается, что выявление в генотипе женщины «аллелей риска» как в гомо-, так и в гетерозиготной форме, является неблагоприятным фактором, предрасполагающим к фетоплацентарной недостаточности, задержке развития плода, гестозу, внутриутробной гибели плода.

Цель. Установление частоты наличия генов тромбофилии и фолатного цикла у женщин с привычным невынашиванием беременности и у женщин без репродуктивных потерь.

Материалы и методы. Анализ полиморфизма генов тромбофилии (FII, FV, PAI-1, FGB, ITGA2, ITGB3) и фолатного обмена (MTHFR) проведен у 189 женщин: у 77 пациенток, имевших в анамнезе 3 и более самопроизвольных прерываний беременности (исследуемая группа), и у 112 женщин без нарушений фертильности, с двумя и более неосложненными срочными родами (группа

сравнения). На основании собранного акушерско-гинекологического анамнеза были исключены инфекционные или эндокринные факторы, приводящие к потере плода. Исследование выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием оборудования и реактивов ООО «НПО ДНК-Технология» (амплификатор детектирующий ДТ-96; комплекты реагентов: КардиоГенетика Тромбофилия, Генетика Метаболизма Фолатов), Россия. Статистическую обработку данных проводили с расчетом критерия χ^2 и значения p .

Результаты. Ниже представлена частота встречаемости «аллелей риска» в гомо- и гетерозиготном состоянии в исследуемой группе и группе сравнения, соответственно. Гомозиготное носительство: PAI-1—33,8% и 29,0% ($p=0,64$); FGB—6,5% и 6,3% ($p=0,813$); ITGA2—6,5% и 9,8% ($p=0,588$); ITGB3—1,3% и 3,6% ($p=0,62$); MTHFR677—21,0% и 8,5% ($p=0,204$); MTHFR1298—8,3% и 5,6% ($p=0,988$).

Гетерозиготное носительство: FII—2,6% и 2,7% ($p=0,669$); FV—3,9% и 4,5% ($p=0,859$); PAI-1—54,5% и 53,0% ($p=0,917$); FGB—35,1% и 41,0% ($p=0,496$); ITGA2—42,9% и 47,0% ($p=0,648$); ITGB3—28,6% и 18,0% ($p=0,118$); MTHFR677—54,2% и 39,4% ($p=0,307$); MTHFR1298—41,7% и 36,6% ($p=0,844$).

Выводы. Таким образом, в проведенном исследовании достоверных различий в распределении полиморфизмов, предрасполагающих к развитию тромбофилии, у женщин с привычным невынашиванием беременности и у женщин без репродуктивных нарушений не получено.

Ключников Д. Ю.¹, Языкова М. Ю.¹, Тюмина О. В.², Волчков С. Е.², Трусова Л. М.²

¹ ФГАОУВО «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С. П. Королёва (Национальный исследовательский университет)», г. Самара

² ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции», г. Самара

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ПО ПОЛУЧЕНИЮ МЕГАКАРИОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА *EX VIVO*

В последние годы теме клеточных технологий, технологий с использованием стволовых клеток, уделяется все большее внимание во всем мире. Активно развиваются методы тканевой и клеточной инженерии, 3D-биопринтинга, которые с каждым днем становятся все ближе к выходу в рутинную клиническую практику. Большой интерес вызывают исследования направленной дифференцировки незрелых гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для получения мегакариоцитов и тромбоцитов человека в культуре. Подобные разработки открывают невероятные перспективы для использования полученных *ex vivo* мегакариоцитов и тромбоцитов в первую очередь, в работе службы крови. Такие технологии уже в ближайшем будущем смогут стать возможной альтернативой получению тромбоцитов от взрослых доноров, при всем этом смогут быть решены вопросы инфекционной безопасности, привлечения и пропаганды донорства, а самое важное, что полученные в процессе непрерывного биотехнологического производства мегакариоциты и тромбоциты будут доступны в необходимом количестве по запросу. С другой стороны, полученные *ex vivo*, коммитированные мегакариоцитарные предшественники (МП) и мегакариоциты могут быть использованы при лечении онкогематологических заболеваний (лейкозов и др.) в совместной трансплантации с ГСК пуповинной крови для быстрого восстановления тромбоцитопоза и сокращения периода тяжелой тромбоцитопении у пациентов, перенесших трансплантацию, и есть данные, свидетельствующие о результативности такого подхода на мышинных моделях. Также полученные *ex vivo* тромбоциты могут быть использованы в области активно развивающейся регенеративной медицины как натуральный источник факторов роста, а сами системы по культивированию и дифференцировке ГСК могут быть использованы для скрининга новых лекарственных препаратов, стимулирующих тромбоцитопоз. Несмотря на возможности таких технологий, работы в этом направлении в РФ начали проводиться совсем недавно, и тема недостаточно освещена в отечественных научных изданиях.

Цель. Целью работы был обзор развития технологий по получению мегакариоцитов и тромбоцитов из стволовых клеток в условиях *ex vivo* в мире.

Материалы и методы. Для составления обзора был проведен анализ зарубежных и отечественных источников, выявлены основные направления и подходы к развитию технологии, трудности и пути их решения на современном этапе.

Результаты. На сегодняшний день получены важные результаты, показывающие возможность получения мегакариоцитов и функциональных тромбоцитов *ex vivo* из ГСК пуповинной и мобилизованной периферической крови, эмбриональных и индуцированных стволовых клеток человека. Для индукции дифференцировки используются цитокиновые коктейли на основе ТПО с добавлением SCF, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-11, LT3, SDF-1 и др. Современные протоколы по культивированию включают в себя несколько этапов с различными условиями культивирования, на первом из которых происходит экспансия ГСК, далее дифференцировка в мегакариоциты, их созревание, и на последнем этапе образование протромбоцитов и тромбоцитов. Для увеличения эффективности последних этапов разработаны проточные биореакторы, которые позволяют увеличить эффективность образования протромбоцитов и тромбоцитов под действием силы потока жидкости, имитирующей циркуляцию в синусоидах костного мозга. Существуют также технологии по очистке полученных *ex vivo* мегакариоцитов и тромбоцитов с помощью центрифугирования сквозь мембрану. Большими трудностями на пути развития подобных технологий остаются небольшая эффективность дифференцировки ГСК в мегакариоциты и крайне низкое количество образующихся в культуре тромбоцитов (порядка 10) по сравнению с количеством, образующимся *in vivo* (2000–5000). Технология все более приближается к клиническому применению и уже запущены клинические испытания МП на людях.

Выводы. Мегакариоциты, их коммитированные предшественники, а также тромбоциты могут быть получены в условиях *ex vivo* и в будущем могут быть использованы в разных областях современной медицины, но для этого предстоит

решить еще большое количество вопросов, связанных как с самой технологией, так и вопросов правового характера, регулирующих возможности применения подобных технологий в клинической практике.

Кобилянская В. А., Шилова Е. Р., Морозова Т. В., Бессмельцев С. С.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

МАРКЕРЫ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

Апластическая анемия (АА) — тяжелое заболевание системы крови, характеризующееся панцитопенией в периферической крови и гипоклеточным (вплоть до полной аплазии) костным мозгом с замещением деятельной кроветворной ткани жировой тканью. Первое описание заболевания, сделанное П. Эрлихом (P. Ehrlich), относится к 1888 г. Этиология заболевания в 70–80% случаев неизвестна, (идиопатические формы), а в остальных возникновение АА связывают с различными химическими, физическими факторами, инфекциями (постгепатитные АА, формы, ассоциированные с цитомегаловирусной, парвовирусной инфекцией и др.). Наиболее частыми являются приобретенные формы АА, но до 15–20% случаев заболевания могут составлять конституциональные/врожденные варианты (анемия Фанкони, анемия, ассоциированная с дискератозом), сопровождающиеся различными цитогенетическими аномалиями. Выделяется также вариант АА, ассоциированный с пароксизмальной ночной гемоглобинурией: АА/ПНГ. Согласно современным представлениям, основанным на многочисленных культуральных, электронно-микроскопических, иммунологических методах исследования, основным патогенетическим механизмом развития аплазии кроветворения при АА является иммуноопосредованное повреждение кроветворной стволовой клетки. Одновременно не исключаются функциональный дефект стволовых кроветворных клеток и патология кроветворного микроокружения. В результате этого в организме развивается панцитопения, одним из основных проявлений которой является геморрагический синдром. Заболевание встречается в большинстве регионов Европы и Америки с частотой 2–3 случая в год на 1 млн. населения. Частота выявления АА в 2–3 раза выше в Восточной Азии. Отмечается два

пика заболеваемости: в возрасте от 10 до 25 лет и у лиц старше 60 лет без существенных различий по полу. Клинические проявления болезни изучены достаточно хорошо, и в последние годы появились программы лечения, позволяющие получить положительные результаты и длительные ремиссии, вплоть до полного выздоровления. Выраженный геморрагический синдром у больных АА связывают с тромбоцитопенией, снижением активности факторов V и VII, фибриногена, отсутствием ретракции кровяного сгустка. Данные показатели приходили к нормальным значениям после адекватной терапии. Вместе с тем, у пациентов, находящихся в периоде частичной или полной ремиссии, наблюдались некоторые особенности при исследовании системы гемостаза, которые не так широко описаны в научной литературе, как геморрагические проявления.

Цель работы. Оценить показатели системы гемостаза у пациентов с АА при тяжелой и нетяжелой формах заболевания в периоде полной и частичной ремиссии.

Материалы и методы. В процессе настоящей работы была исследована венозная кровь 25 пациентов (12 женщин и 13 мужчин), средний возраст $42 \pm 0,5$ года с установленным диагнозом апластической анемии, протекающей в тяжелой (ТАА) и нетяжелой (НАА) форме, и находящихся в стадии частичной или полной ремиссии. Для оценки системы гемостаза использовались следующие показатели: активированное парциальное тромбопластиновое время, (АПТВ), протромбиновый тест по Квику (ПТ), тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена (Фг), а также более углубленные: активность фактора VIII и протеина С. Нормальные показатели системы гемостаза были определены при обследовании 40 практически здоровых доноров ана-

логичного возраста. Оценку полученных результатов и комплексный системный анализ данных проводили с использованием специализированных пакетов прикладных программ для медико-биологических исследований

Результаты. Анализ результатов, полученных при исследовании системы гемостаза всей группы, выявил нормальные показатели скрининговых тестов. На этом фоне отмечалось значимое повышение маркера гиперкоагуляционного состояния — активности фактора VIII ($189,8\% \pm 96,5\%$ против $119,0\% \pm 30,5\%$, $p < 0,001$). При этом активность протеина С во всей группе была достоверно снижена: $68\% \pm 23\%$, против $85\% \pm 30,2$ ($p < 0,001$), колебания составили от 74% до 62%. При дальнейшем исследовании группа была разделена

на 2 подгруппы, в зависимости от тяжести заболевания: тяжелая и нетяжелая АА (15 и 10 человек соответственно). Как выяснилось, показатели активности фактора VIII при различной тяжести АА не имели существенных различий ($188,0\% \pm 93,5\%$ и $192,2\% \pm 95,5\%$ соответственно, $p > 0,05$). Достоверные различия в этих группах обнаружались при сравнении активности протеина С (при тяжелой форме она составила 68% против 109% с нетяжелой, $p < 0,001$).

Выводы. У больных АА выявлено повышение активности фактора VIII и снижение уровня протеина С, что может свидетельствовать о гиперкоагуляции в системе гемостаза. Являются ли данные изменения проявлением компенсаторной функции организма, предстоит выявить в дальнейшем.

Коротаев Е. В., Степанов А. А., Косарев А. Н., Пономарев С. А.

*Автономное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа — Югры
«Югорский научно-исследовательский институт клеточных технологий с банком стволовых клеток», г. Ханты-Мансийск*

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ КРОВЕТВОРЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) позволяет сократить сроки восстановления кроветворения и снизить риск развития инфекционных осложнений после высокодозной химиотерапии. Различными авторами рекомендуется трансплантировать от 2 до 8 млн. ГСК/кг массы тела. Однако часто не указывается количество колониеобразующих единиц трансплантированных ГСК (КОЕ-ГСК), а также — как влияет данный показатель на сроки восстановления кроветворения. Подобный анализ позволит обоснованно рекомендовать трансплантацию оптимального количества и качества ГСК и гарантировать восстановление кроветворения в наиболее короткие сроки.

Цель: Установить критерии количества и качества ГСК с точки зрения их способности восстанавливать кроветворение.

Материалы и методы. Проанализированы результаты 50 аутотрансплантаций ГСК пациентам с множественной миеломой. Количество ГСК в размороженном трансплантате оценивали на проточном цитометре FC500, а КОЕ-ГСК — путем культивирования 14 суток на среде Methocult H4435. Для оценки восстановления нейтрофилов ($> 500/\text{мкл}$) выполнялся общий

анализ крови. Достоверность зависимости сроков восстановления нейтрофилов от количества трансплантированных ГСК и КОЕ-ГСК оценивалась с помощью коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты. Выявлена зависимость продолжительности периода восстановления нейтрофилов от количества ГСК ($r = -0,45$; $p < 0,001$) и от количества КОЕ-ГСК ($r = -0,51$; $p < 0,005$). Установлено, что восстановление нейтрофилов в пределах 13 суток уменьшает риск инфекционных осложнений. Для обеспечения восстановления нейтрофилов в данные сроки необходимо трансплантировать минимум 4 млн. ГСК/кг массы тела пациента и/или при колониеобразующей активности 0,2 млн. КОЕ-ГСК/кг. Все пациенты были выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии на 18–29 день после трансплантации. При планировании трансплантации необходимо оценивать как количество заготовленных ГСК, так и КОЕ-ГСК. Если не удастся заготовить 4 млн. ГСК/кг, то необходимо обратить внимание на уровень КОЕ-ГСК. Если данный показатель $> 0,2$ млн. КОЕ-ГСК/кг, то полученный трансплантат можно считать достаточным для восстановления кроветворения не позднее

13 суток. Однако, если уровень $<0,2$ млн. КОЕ-ГСК/кг, то необходимо повторить мобилизацию и лейкоцитаферез. В противном случае трансплантация не гарантирует восстановление кроветворения нейтрофилов в пределах 13 суток, что сопряжено с высоким риском осложнений. Данные критерии количества и качества трансплантата можно рекомендовать для его заготов-

ки только с учетом риска снижения указанных параметров на этапах криоконсервации.

Вывод: Трансплантация ГСК в количестве 4 млн. ГСК/кг и при колониеобразующей активности данных клеток 0,2 млн. КОЕ-ГСК/кг позволяет восстановить кроветворение нейтрофилов не позднее 13 суток, что уменьшает риски инфекционных осложнений.

**Костюнина В. С., Войтехович А. С., Васина Е. В.,
Фурман О. Г., Северин И. Н., Петевка Н. В.**

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, г. Минск, Республика Беларусь

УСЛОВИЯ ЭРИТРОИДНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ *IN VITRO*

В последнее десятилетие в мире активно разрабатываются подходы к эффективной эритроидной дифференцировке *in vitro*. Показано, что гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) периферической крови, костного мозга, фетальной печени и пуповинной крови можно дифференцировать *in vitro* до стадии утраты клеточного ядра (ретикулоциты, эритроциты). В 2011 году в работе М. Giarratana описано первое переливание пациенту полученных *in vitro* из гемопоэтических предшественников периферической крови, аутологичных эритроцитов и показана их циркуляция в кровотоке в течение 26 дней. Пуповинная кровь является наиболее перспективным источником получения зрелых эритроцитов не только благодаря пролиферативному потенциалу ГСК, но и из-за меньшего риска передачи инфекций при трансфузии, а также благодаря доступности и безопасности получения исходного биоматериала, который в нашей республике, в основном, подвергается утилизации.

Цель. Сравнить эффективность эритроидной дифференцировки ГСК пуповинной крови человека в условиях суспензионной культуры (по методу М. Giarratana) и дополнительного сокультивирования со стромальными клетками *in vitro*.

Материалы и методы. Образцы пуповинной крови, пуповины и плаценты были предоставлены ГУ РНПЦ «Мать и дитя» Минздрава Республики Беларусь после информирования рожениц и получения их письменного согласия. Образцы костного мозга здоровых доноров получали из центра трансплантации органов и тканей на базе УЗ «9-я ГКБ» г. Минска. Фракцию CD34-положительных (CD34+) кроветворных клеток получали с помощью набора EasySep для поло-

жительной иммуномагнитной сепарации согласно протоколу производителя. Первый этап дифференцировки проводили в течение 7 суток в суспензионной культуре в присутствии ростовых факторов SCF, IL-3, Epo. На втором этапе дифференцировки часть клеток переносили на подложку мезенхимных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ) и параллельно культивировали еще в течение 4 суток в присутствии SCF и Epo. На 11 сутки неприкрепленную к строме (суспензионную) часть гемопоэтических клеток переносили в новый флакон и продолжали дифференцировать клетки параллельно в трёх вариантах культивирования в присутствии Epo в течение еще 6 суток. Оценка фенотипа гемопоэтических клеток пуповинной крови производилась методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре FACScan. Проводили цитологический анализ дифференцируемых клеток.

Результаты. Чистота фракции CD34+ клеток пуповинной крови после сепарации в среднем составляла $73 \pm 18\%$. Культивирование CD34+ клеток в течение первых 7 суток в отсутствие стромального окружения коммитирует их в направлении эритроидной дифференцировки. Клетки практически полностью теряют поверхностные маркеры CD34 и CD45, $77 \pm 5\%$ клеток несут маркеры эритроидных предшественников CD36 и CD235a. Прирост ядросодержащих клеток на первом этапе дифференцировки составлял до 200 раз. На 17-е сутки дифференцировки доля безъядерных клеток, которые могут быть представлены как ретикулоцитами, так и эритроцитами, в варианте без использования стромальной подложки была наибольшей и составляла 43% от всех клеток. В других двух вариан-

тах количество безъядерных клеток варьировало от 22 до 29%. Доля оксифильных нормобластов (стадия созревания, предшествующая ретикулоцитам) в варианте без подложки составила 56%, в суспензионной и адгезивной культурах — 72 и 68%, соответственно. Несмотря на то, что дифференцировка CD34+ клеток в условиях бесstromального культивирования прошла за тот же период более полно, кратность увеличения клеточной массы в этом случае была в среднем в 5,3 раза ниже в сравнении с вариантами дополнительного сокультивирования с МСК. В результате кратность увеличения общего количества ретикулоцитов в двух последних вариантах культивирования была выше более чем в 3 раза. О накоплении клетками гемоглобина свидетель-

ствовал осадок красного цвета, полученный при седиментации клеток. Содержание гемоглобина в среднем составляло 20 пг/клетку (по литературным данным зрелый эритроцит содержит 27–30 пг/клетку).

Выводы. Разработан метод трёхстадийной эритроидной дифференцировки стволовых клеток пуповинной крови *in vitro* до стадии оксифильного нормобласта/эритроцита с кратностью прироста — 19070 ± 3740 раз. Проведение этапа сокультивирования эритроидных предшественников с МСК КМ на 7–17 сутки эритроидифференцировки приводит к дополнительному увеличению прироста предшественников эритроидного ряда.

Костяев А. А., Утемов С. В.

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

НОВЫЙ СПОСОБ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Трансплантации криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) остаются в 2016 году одним из эффективных методов коррекции костномозговой недостаточности различной этиологии. Между тем, накопленный за более чем 30-летний опыт многочисленных ТКГСК выявил круг проблем, решение которых требует углублённой научной разработки. Распространённая в настоящее время технология азотного консервирования ГСК несовершенна. Она отличается дороговизной, сложностью подготовительных этапов, требует использования дефицитного жидкого азота, токсичного этилового спирта, содержит элементы опасности инфицирования и повреждения консервированных клеток, несет риск посттрансфузионных осложнений. Поэтому поиск новых медицинских технологий, сочетающих в себе высокую эффективность с наименьшими затратами, является важнейшей проблемой современного здравоохранения в условиях ограниченности экономических ресурсов.

Альтернативой консервации биообъектов в жидком азоте или его парах при температуре -150°C – -196°C с постоянной скоростью охлаждения являются методы быстрого двухступенчатого замораживания. Важно, что новые технологии безопасны, эффективны, менее затратны, просты

в осуществлении, надёжны и доступнее жидкоазотных. Для их воспроизведения могут быть использованы сравнительно простые, дешёвые и надёжные криостаты и нетоксичные, стерильные хладагенты.

Цель. Разработать новый высокотехнологичный, нетоксичный, эффективный и доступный для практической медицины способ криоконсервирования ГСК.

Материалы и методы. В основу работы положены исследования свойств нового теплоносителя — сухих обеззараженных термогранул Lab Armor (взамен этилового спирта) в качестве хладагента консервируемых ядросодержащих клеток донорской крови (ЯКДК). Первоначально концентраты ЯКДК с ГСК получали методом сепарации на аппарате Amicus в объеме от 38,0 до 81,0 ($56,3 \pm 7,3$) мл, закрытым способом переводили в стандартную эластичную полимерную упаковку и смешивали с 10% раствором криоконсерванта диметилсульфоксида (ДМСО) при $+4 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Далее производили сборку устройства для холодовой адаптации полученной клеточной взвеси. При этом «Термоконтейнер ТМ-20» для временного хранения и транспортирования термонеустойчивых медицинских и других препаратов выкладывали изнутри в виде прямоугольной ячейки хладоэлементами МХД-2 с раствором

антифриза, которые охлаждали до $+4 \pm 1^\circ\text{C}$ или $-28 \pm 2^\circ\text{C}$. В образовавшуюся ячейку насыпали указанные термогранулы, которыми покрывали упаковку с биообъектом слоем толщиной от 3 до 5 см. Замораживание взвеси ядросодержащих клеток с ГСК производили в режиме быстрой двухступенчатой программы. На первом этапе клеточную взвесь в пакете погружали в слой теплоносителя с заданной температурой $-28 \pm 2^\circ\text{C}$ и выдерживали при ней в течение 25 мин. На втором этапе биообъект быстро переносили в хранилище с температурой консервации $-80 \div -196^\circ\text{C}$ и перед использованием отогревали при $+38-42^\circ\text{C}$ до температуры $2-4^\circ\text{C}$.

Результаты. Проведенные исследования показали, что после отогревания клеточной взвеси все пробы консервированных ядросодержащих клеток были стерильны, количество морфологически сохранных составляло $87,3 \pm 11,2\%$, из которых устойчивостью к витальному красителю обладали $83,1 \pm 10,3\%$ клеток. Используемые при этом технические средства обеспечивают более высокий уровень криоконсервации ГСК и гарантированно высокую сохранность криоконсервированных ядросодержащих клеток донорской крови.

Выводы. Термогранулы Lab Armor могут с успехом использоваться в качестве хладагента-гипотерма ГСК.

Креницына Е. Е., Игнатьев С. В., Ермачкова М. Ю., Поццов А. Л., Минаева Н. В.

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ У ПАЦИЕНТОВ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКИ

Важное значение в развитии инфекции имеет видовой состав микрофлоры. В каждом стационаре в зависимости от спектра применяемых антибиотиков, проведения противоэпидемических мероприятий, особенностей микрофлоры данной местности и других факторов формируется свой видовой состав микроорганизмов. В течение времени он может меняться, появляются новые патогенные штаммы, снижается их чувствительность к антимикробным препаратам. Поэтому так необходим периодически проводимый, тщательный анализ структуры микробиологического профиля в каждом отдельно взятом лечебно-профилактическом учреждении, что важно для разработки более рациональных подходов к антимикробной терапии и профилактике инфекционных осложнений.

Цель исследования — оценить спектр микроорганизмов, вызывающих инфекционные осложнения у пациентов, наблюдавшихся в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Для микробиологического подтверждения инфекции применяли бактериологический анализ материалов, полученных из крови, мокроты, мочи, кала, зева, носа и с поверхности кожи. Взятие материала со слизистых зева, носа, влажных мест осуществляли стерильными ватными тампонами. Посевы проводили на агар, содержащий 5% кровь барана, среду Эндо, маннитоловый агар и среду Сабуро. В исследование был включен

4931 пациент за 2014 и 2015 г. При микробиологически доказанной инфекции преобладала грамположительная микрофлора в 69,7% эпизодах, грамотрицательная микрофлора обнаружена в 16,9%, грибы — 13,4%. Анализ видового состава грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов показал, что наибольший удельный вес среди выделенных изолятов имеет *Staphylococcus epidermidis* — 28,5%, реже высевались: *Streptococcus viridans* — 14,3%, *Escherichia coli* — 6%, *Pseudomonas aeruginosa* — 4,8%, *Staphylococcus aureus* — 4,6%, *Enterococcus faecalis* — 2,3%; в 26,2% случаев были обнаружены другие возбудители, из них *Proteus rettgeri* (0,13%), *Staphylococcus bovis* (0,08%) ранее не встречались. Считаем необходимым отметить рост частоты встречаемости и значимость *Pseudomonas aeruginosa*, в развитии серьезных инфекционных осложнений, вплоть до летальных исходов. Развитие полирезистентности ко всему спектру антибактериальных средств, применяемых в клинике, штаммов этого микроорганизма мы наблюдали в 24,4% случаев. Грибковые микроорганизмы были представлены *Candida albicans*, *kefyr* — 13,4%.

Выводы. В структуре возбудителей инфекционных осложнений в гематологической клинике преобладает грамположительная флора, при этом частота выявления золотистого стафилококка, занимающего лидирующие позиции

в других лечебно-профилактических учреждениях, довольно низкая. Среди грамотрицательных микроорганизмов преобладает *E. coli* и *Ps. aeruginosa*. Установлено, что практически в 25% случаев синегнойная палочка приобретает поливалентную резистентность к антибиотикам, а это, в свою очередь, предопределяет тяжесть течения инфекционных процессов. Кроме того, обращает на себя внимание появление ранее не высевавшихся новых микроорганизмов, таких как *Proteus rettgeri*, *Staphylococcus bovis*. В этой связи крайне важным становится актив-

ное проведение диагностических и лечебных мероприятий, направленных на поиск очага инфекции, идентификацию патогена и рациональное использование антибактериальных средств. Изучение частоты и характера инфекционных осложнений у пациентов с гематологическими и онкогематологическими заболеваниями, анализ микрофлоры, вызывающей эти осложнения, а также контроль за проводимой антимикробной терапией позволит снизить риск их возникновения и повысит эффективность проводимого лечения.

**Кувшинов А. Ю., Волошин С. В., Мартынкевич И. С., Мартыненко Л. С.,
Гарифуллин А. Д., Клеина Е. В., Абдулкадыров К. М.**

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИБРУТИНИБ-СОДЕРЖАЩИХ ПРОГРАММ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ И РЕФРАКТЕРНЫХ ФОРМ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Различные клинические исследования показали, что отсутствие минимальной остаточной болезни (МОБ) является независимым благоприятным прогностическим фактором течения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ). Появление современных лекарственных препаратов, таких как пуриновые аналоги, моноклональные антитела и ингибиторы В-клеточного сигнального пути, позволили повысить эффективность лечения и увеличить количество пациентов, достигших МОБ-негативных ремиссий.

Цель. Оценить общую частоту ответа и МОБ при использовании ибрутиниб-содержащих программ терапии в лечении пациентов с рецидивирующими/рефрактерными формами ХЛЛ.

Материалы и методы. В исследование были включены 22 пациента, стратифицированные на основании выявленных с помощью стандартного цитогенетического и FISH исследований генетических аномалий (ГА). В зависимости от программы лечения пациенты были распределены на группы: ритуксимаб-содержащие программы химиотерапии во 2-й и последующих линиях (группа 1) $n = 18$ (RB – 13, FCR — 4, R-CHOP — 1) и ибрутиниб-содержащие программы терапии (группа 2) $n = 9$ (Ибрутиниб ± Ритуксимаб). Медиана возраста составила в группе 1–62 года (49–83), группа 2–65 лет (51–82).

Ибрутиниб принимался ежедневно в дозе 420 мг. Оценка эффективности терапии проводилась в соответствии с международными рекомендациями NCI–IWCLL (Hallek M. и др., 2008). Минимальная остаточная болезнь оценивалась методом проточной цитометрии костного мозга у пациентов с полной или частичной ремиссией: группа 1 — у 10 пациентов, группа 2 — у 4.

Результаты. Пациенты с неблагоприятными ГА были выявлены в каждой группе: группа 1–2 (сочетание $del(11q)$ с $del(13q)$), группа 2–1 ($del(17p)$). Частота общего ответа (ЧОО) в группе 1 составила 83,3% (полная ремиссия (ПР) — 1, частичная (ЧР) — 13 (из них 2 с неблагоприятным прогнозом (НП)), стабилизация заболевания (СЗ) — 1, прогрессирование заболевания — 2). Группа 2: ЧОО 88,9% (ПР – 3, ЧР — 5 (НП – 1); СЗ — 1. МОБ-негативная ремиссия достигнута у 20% в группе 1–20% (2/10, ПР — 1, ЧР — 1) и у 25% в группе 2 (1/4, ПР).

Выводы. Оценка эффективности терапии и МОБ при применении ибрутиниб-содержащих программ терапии в лечении рецидивирующих/рефрактерных форм ХЛЛ требуют дальнейших исследований. Характер взаимосвязи между различными прогностическими факторами течения ХЛЛ (ГА, иммунофенотип опухоли, МОБ-статус) в настоящее время не определен.

Кучер М. А., Баховадинов Б. Б., Афанасьев Б. В.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»,
НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕВЕНТИВНОГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ, ОБОГАЩЕННОГО ГЛУТАМИНОМ И ОМЕГА-3 ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ, ПРИ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

Позитивное влияние оптимального нутритивного статуса и рутинной нутритивной терапии при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) остается спорным. Тем не менее не вызывает сомнений тот факт, что адекватное обеспечение эссенциальными нутриентами является важной составляющей сопроводительной терапии при ТГСК: улучшает толерантность к цитостатической терапии, уменьшает частоту и тяжесть различных осложнений в посттрансплантационном периоде. В этом исследовании мы оценили влияние стандартных и модифицированных режимов нутритивной терапии на частоту и степень тяжести различных осложнений после ТГСК, общую выживаемость.

Материалы и методы. В ходе работы проанализированы данные 400 случаев аллогенных ТГСК у взрослых и подростков. 129 (32,2%) пациентов получили лечение методом аллогенной родственной ТГСК, 223 (55,8%) аллогенной неродственной ТГСК и 48 (12%) гаплоидентичной ТГСК. 149 (37,2%) больных были с острым миелоидным лейкозом, 177 (44,2%) с острым лимфобластным лейкозом, 22 — с апластической анемией (5,6%), с хроническим миелоидным лейкозом — 16 (4%), с миелодиспластическим синдромом — 25 (6,2%), лимфомой Ходжкина и неходжкинской лимфомой — 11 (2,8%). Средний возраст составил 25,2 (14–54) лет. Вид трансплантации, статус заболевания, режим кондиционирования и профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) были сопоставимы во всех группах наблюдения. В контрольную группу (n=150) были включены пациенты с симптомами желудочно-кишечной токсичности и сниженным рационом естественного питания: менее 70% от необходимого суточного обеспечения энергией в течение трех и более дней. Эти пациенты получили стандартный режим нутритивной поддержки, состоявший

из низко-микробной диеты и парентерального питания (30–35 ккал/кг/день). Пациенты второй группы (n=150) получили превентивное стандартное парентеральное питание, начиная с Д+1 после ТГСК. В третью группу (n=100) вошли реципиенты ГСК с модифицированной схемой нутритивной поддержки, включавшей парентеральное питание с дополнительным введением глутамин (0,43–0,54г/кг/день в/в) и омега-3 жирных кислот (1,5г/кг/день в/в), начиная Д+1 после ТГСК. Во всех группах наблюдения мы оценивали нутритивный статус, используя антропометрические показатели (рост, вес, индекс массы тела, окружность плеча, толщина кожно-жировой складки над трицепсом, окружность мышц плеча) и лабораторные данные (общий белок, альбумин, макроэлементы, медь, цинк).

Результаты. В группе пациентов, получавших модифицированную нутритивную терапию, выявлено снижение частоты мукозита (84% против 94%) ($p < 0,05$) и его тяжелых форм III–IV степени (21% против 40%) ($p < 0,05$), снижение острой РТПХ III–IV степени (9,1% против 20,3%) по сравнению с группой пациентов, получавших стандартные схемы нутритивной поддержки. Также отмечалось менее значительное снижение антропометрических и лабораторных показателей ($p < 0,05$). При анализе времени приживления трансплантата и 1-летней общей выживаемости не было выявлено статистически достоверных различий между всеми группами сравнения ($p = 0,2$).

Выводы. У пациентов, получавших модифицированные схемы нутритивной терапии, обогащенных глутамином и омега-3 жирными кислотами, отмечалось снижение частоты и степени тяжести осложнений цитостатической терапии и ТГСК в раннем посттрансплантационном периоде по сравнению с пациентами со стандартными схемами нутритивной поддержки.

Лебедева Л. Л., Чумак А. А., Пухликова Т. В., Зинкин В. Ю., Майорова О. А.

ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ HLA-ГАПЛОТИПОВ У ДЕТЕЙ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является наиболее эффективным и широко применяемым методом лечения при многих онкогематологических заболеваниях детского возраста. Решающим фактором, определяющим успех алло-ТГСК, является степень совместимости по генам системы HLA и, как показали последние исследования, зависит от совпадения HLA-гаплотипов донора и реципиента, поскольку при этом, как правило, совпадают и другие гены, входящие в состав HLA-комплекса. Поэтому лучшими донорами ГСК являются HLA-идентичные здоровые сиблинги, которые имеются примерно в 30% случаев всех семей с больным ребенком. Вероятность нахождения неродственного донора зависит как от частоты встречаемости генов HLA системы в популяции здоровых индивидумов и распространенности в ней HLA-гаплотипов, так и от особенностей распределения HLA-генов и их HLA-гаплотипов у детей с различными онкогематологическими заболеваниями.

Целью настоящего исследования явилось изучение распределения HLA-A*/B*/DRB1* гаплотипов и выявление частоты их встречаемости у пациентов с острым лимфобластным лейкозом (В-ОЛЛ), острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), хроническим миелобластным лейкозом (ХМЛ), и приобретенной апластической анемией (ПАА) по сравнению с контрольной группой здоровых детей восточно-европейских славянских популяций.

Материалы и методы. Было проведено HLA-генотипирование больных детей, находившихся на лечении в различных ЛПУ г. Москвы в период с 2004 по 2015 гг., а также их родителей и сиблингов. Всего было обследовано 76 больных В-ОЛЛ детей в возрасте 0,5–17 лет (средний возраст $8,3 \pm 4,6$), 57 детей с ОМЛ в возрасте 0,5–17 лет (средний возраст $8,9 \pm 5,2$), 47 детей с ХМЛ в возрасте 3,5–18 лет (средний возраст $11,5 \pm 4,8$), 43 ребенка с ПАА в возрасте 2–17 лет (средний возраст $10,7 \pm 4,1$). Типирование HLA генов I и II классов было выполнено методами SSO и PCR-SSP. Контрольной группой служила рандомизированная выборка из 502 типированных образцов пу-

винной крови (ПК) условно здоровых новорожденных доноров Московского банка стволовых клеток. Для подсчета HLA-гаплотипов одновременно с ПК были протипированы образцы ДНК их матерей. Анализ частоты встречаемости HLA-гаплотипов проводили методом прямого подсчета. Сравнение частот встречаемости HLA-A*/B*/DRB1* гаплотипов у больных и в контрольной группе проводилось с использованием χ^2 -теста.

Результаты. Проведенные исследования не обнаружили значительных и достоверных различий в распределении наиболее часто встречаемых в восточно-европейских славянских популяциях HLA-A*/B*/DRB1* гаплотипов ($0.013158 \leq f \leq 0.046053$) среди здоровых и больных детей. Но нами было выявлено значительное увеличение частот встречаемости редких гаплотипов ($f \leq 0.002249$) у детей с В-ОЛЛ по сравнению с контрольной группой: A*02/B*38/DRB*15 ($f=0.0132$ vs $f=0.00286$), A*03/B*44/DRB*07 ($f=0.0132$ vs $f=0.00225$), A*25/B*18/DRB*03 ($f=0.0132$ vs $f=0.00132$), A*11/B*35/DRB*11 ($f=0.0132$ vs $f=0.00146$). Однако только у двух гаплотипов частота встречаемости достоверно отличалась от таковой в контрольной группе: A*33/B*58/DRB*15 ($f=0.0256$ vs $f=0.00131$; $p=0.0039$) и A*32/B*15/DRB*04 ($f=0.0132$ vs $f=0.000832$; $p=0.026$). У детей с ОМЛ был выявлен гаплотип A*02/B*27/DRB*01, который встречался в 6 раз чаще, чем в контрольной группе ($f=0.0175$ vs $f=0.0029$; $p=0.0031$), а также обнаружен гаплотип A*26/B*38/DRB*11, не выявленный нами в здоровой популяции восточно-европейских славян. В группе детей с ХМЛ нами не было выявлено никаких различий по частоте встречаемости трехлокусных гаплотипов. Однако, анализируя 2х-локусные гаплотипы A*/B* и B*/DRB1*, мы обнаружили значительное увеличение частоты встречаемости гаплотипа A*02/B*57 у больных ХМЛ по сравнению со здоровыми детьми ($f=0.0416$ vs $f=0.0090$; $p=0.041$). У пациентов с ПАА нами было выявлено 5-кратное увеличение частоты встречаемости гаплотипа A*24/B*07/DRB1*15 по сравнению с контрольной группой ($f=0.034$ vs $f=0.0069$; $p=0.009$).

Выводы. Сравнительный анализ частот встречаемости HLA-A*/B*/DRB1* гаплотипов у детей с онкогематологическими заболеваниями и у здоровых детей не выявил существенной разницы в их распределении. Поэтому Московский банк стволовых клеток может служить альтернативным источником при поиске доноров для нуждающихся в ТГСК восточно-европейских

славян. Полученные нами данные о некоторых особенностях распределения частот встречаемости HLA-гаплотипов у детей с онкогематологическими заболеваниями требуют дальнейшего подтверждения на более широкой выборке и, возможно, будут полезны для понимания природы возникновения этих патологий.

Лесниченко И. Ф., Кострома И. И., Грицаев С. В., Четкин А. В.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ММП-2 И ММП-9 В ПЛАЗМЕ АСПИРАТОВ КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ И МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Цель. Определить клиническую значимость уровня ММП-2 и ММП-9 в костном мозге больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и миелодиспластическим синдромом (МДС).

Материалы и методы. Исследован уровень ММП-2 и ММП-9 в плазме аспириатов костного мозга (ПАКМ) 87 больных: 39 больных ОМЛ и 48 МДС. Больных ОМЛ распределяли в 2 группы: с уровнем бластов в костном мозге <5% (ОМЛ-ПР) и ≥5% (ОМЛ-вне ПР). Больных МДС распределяли в группы низкого риска (МДС-НР) с бластами <5% и высокого риска (МДС-ВР) с бластами от 5 до 19%. Содержание ММП-2 и ММП-9 определяли с помощью иммуноферментной тест-систем “Human MMP-9 immunoassay” (R&D System, USA) и “Human MMP-2 immunoassay” (R&D System, USA).

Результаты. Установлена ассоциация объема лейкозного клона с уровнем ММП-9 и отсутствие такой связи с уровнем ММП-2. Увеличение количества бластных клеток в КМ сопряжено со снижением концентрации ММП-9. При этом наиболее низкий уровень ММП-9 ($73,18 \pm 51,43$ нг/мл) выявлен у больных ОМЛ-вне ПР. У больных МДС-ВР концентрация ММП-9 была значимо выше: $120,1 \pm 38,7$ нг/мл; $p = 0,0001$. Наибольшие значения концентрации ММП-9 были зафиксированы у больных ОМЛ-ПР и больных МДС-НР, т. е. с количеством бластных кле-

ток в КМ менее 5%. Средний уровень ММП-9 у больных ОМЛ-ПР и МДС-НР значимо не различался: $426,8 \pm 74,85$ нг/мл и $274,9 \pm 78,93$ нг/мл, соответственно; $p = 0,086$. В отличие от ММП-9 уровень концентрации ММП-2 в ПАКМ не ассоциирован с объемом лейкозного клона. При сравнительном анализе не обнаружено значимых различий в уровне ММП-2 между больными МДС низкого и высокого риска: $224,70 \pm 10,65$ нг/мл и $233,70 \pm 18,33$ нг/мл соответственно; $p = 0,68$. Среднее значение концентрации ММП-2 у больных МДС не имело значимых различий с уровнем у больных ОМЛ-вне ПР: $234,30 \pm 8,32$ нг/мл и $225,30 \pm 12,58$ нг/мл соответственно; $p = 0,397$. Мониторинг содержания ММП-9 и ММП-2 в ПАКМ двух больных МДС показал, что достижение ПР сопровождается повышением уровня ММП-2 в 1,5–6 раз по сравнению с исходным, а содержания ММП-9 в 6–17 раз. Напротив, при развитии рецидива уровень ММП-2 и ММП-9 снижался.

Выводы. Источником разных ММП могут быть разные типы клеток: опухолевого клона (продуцент МПП-9) и гемопоэтического микроокружения (продуценты МПП-2). Кроме того, полученные данные позволяют рассматривать уровни МПП-2 и –9 в ПАКМ как перспективные критерии оценки эффективности терапии.

Назарова Е. Л., Демьянова В. Т., Шардаков В. И.,
Докшина И. А., Зотина Е. Н., Наговицина А. С.

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

МОДИФИКАЦИЯ ГЕНОВ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ЦИТОКИНОВ ПРИ В-КЛЕТОЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Многообразие клинических и гистопатологических изменений, наблюдаемых при различных видах В-клеточных злокачественных лимфопролиферативных заболеваний (В-ЗЛПЗ), может быть обусловлено генетическими нарушениями. В последние годы накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что аллельный полиморфизм генов врожденного иммунного ответа вносит существенный вклад в экспрессию конечных продуктов самих белков, влияя тем самым и на процессы пролиферации и апоптоза опухолевых клеток.

Целью исследования являлся анализ полиморфизма генов толл-подобных рецепторов (toll-like receptors — TLRs) и цитокинов у пациентов с В-ЗЛПЗ: хроническим лимфолейкозом/лимфомой из малых лимфоцитов (ХЛЛ/ЛМЛ) и множественной миеломой (ММ), а также у здоровых лиц, не имевших данных заболеваний.

Материалы и методы. Методом полимерно-цепной реакции с аллель-специфичными праймерами и электрофоретической детекцией результатов в агарозном геле проведено исследование 18 полиморфных участков 5 генов *TLRs* (*TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR9*) и 7 генов цитокинов (интерлейкинов (*IL*)-*1β*, —2, —4, —6, —10, —17A, фактора некроза опухоли (*TNF*)) у 150 больных В-ЗЛПЗ (80 — ХЛЛ/ЛМЛ и 70 — ММ) и 47 здоровых лиц, не имевших В-ЗЛПЗ (группа сравнения). Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Для расчета результатов использовали пакет программ Statistica V.12 и MS Office Excel 2003. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. В обобщенной группе больных В-ЗЛПЗ, включавшей 150 пациентов, установлено, что генами-кандидатами в развитии дан-

ного типа опухолей могут являться гены *TLR2* (Arg753Gln), *IL10* (G-1082A) и *IL1β* (T-511C). Так, присутствие аллеля «дикого» типа G гена *TLR2* почти в 2,5 раза увеличивает риск возникновения В-ЗЛПЗ (OR=2,39; 95%CI: 1,16–4,93; $\chi^2=5,87$; $p=0,02$); наличие в гомозиготном состоянии мутантного аллеля A гена *IL10* увеличивает риск развития В-ЗЛПЗ в 5 раз (OR=5,08; 95%CI: 1,16–22,20; $\chi^2=5,63$; $p=0,02$), а присутствие гетерозиготного гаплотипа CT гена *IL1β* в позиции –511 почти в 2,5 раза снижает риск возникновения этих заболеваний (OR=2,31; 95%CI: 0,88–6,09; $\chi^2=8,25$; $p=0,02$) по сравнению с данными группы сравнения. Учитывая известную гетерогенность рассматриваемых заболеваний, при анализе полученных генетических результатов в зависимости от клинической формы В-ЗЛПЗ, найдено, что мутантный аллель A гена *TLR2* (Arg753Gln) встречался в 5 раз чаще при ХЛЛ/ЛМЛ, чем в случаях ММ (OR=5,00; 95%CI: 1,41–17,78; $\chi^2=7,39$; $p=0,007$), а гаплотип гена *IL2* (T-330G), несущий аллель «дикого» типа T в гомозиготном состоянии, встречался почти в 2,5 раза чаще при ХЛЛ/ЛМЛ, чем в случаях ММ (OR=2,34; 95%CI: 1,21–4,54; $\chi^2=6,46$; $p=0,01$). Исследование иного полиморфизма генов *TLRs* и цитокинов не выявило различий между группами больных В-ХЛПЗ и здоровыми лицами, не имевшими данных заболеваний.

Выводы. При изучении генетической предрасположенности к развитию В-ЗЛПЗ, в целом, и отдельных их клинических вариантов, в частности, можно рекомендовать использовать оценку мутационного статуса генов *TLR2* (Arg-753Gln) и *IL2* (T-330G) в качестве маркеров, отражающих характер течения заболевания, а генов *TLR2* (Arg753Gln), *IL10* (G-1082A) и *IL1β* (T-511C) — в качестве генетических маркеров риска развития В-ЗЛПЗ в популяции.

Овсеян В. А., Шубенкина А. А.

ФГБУН «Кировский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

ВОЗМОЖНАЯ АССОЦИАЦИЯ КОНСТИТУТИВНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ГЕНОВ *CASP8*, *NFKB1* И *TNFA* С НАЛИЧИЕМ ДЕЛЕЦИИ *c.7544_7545delCT* В ГЕНЕ *NOTCH1* ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Молекулярный патогенез хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), наиболее распространенного лейкоза среди взрослых, до сих пор остается в значительной мере неизвестным. В качестве возможного патогенетического фактора развития данного заболевания в последнее время все большее внимание привлекают конститутивные и приобретенные особенности генов, вовлеченных в регуляцию апоптоза, в частности, таких как: — ген *NOTCH1*, кодирующий трансмембранный белок I класса, принадлежащий к семейству рецепторов NOTCH и действующий как лиганд-активируемый фактор транскрипции и регуляции дифференцировки, пролиферации и апоптоза клеток;

— ген каспазы 8 (*CASP8*) — важного регулятора апоптоза Т-лимфоцитов, пролиферации Т-, В- и НК-клеток, активации NF-κB;

— ген *NFKB1*, кодирующего субъединицу p50 (наряду с белком p105) белкового комплекса NF-κB — транскрипционного фактора, играющего важную роль в развитии и прогрессировании опухолей благодаря вовлечению в подавление апоптоза и иммунного ответа, а также в усиление ангиогенеза опухоли и пролиферации;

— ген цитокина TNF-α — ключевого медиатора иммунных и воспалительных реакций, способного индуцировать различные эффекты (апоптоз, некроз, ангиогенез, пролиферацию и дифференцировку лимфоидных клеток) в зависимости от клеточного контекста.

При этом особый интерес представляет изучение взаимосвязи функционально значимых конститутивных особенностей генов *CASP8*, *NFKB1*, *TNFA* и наиболее часто встречающейся мутации *NOTCH1*, представляющей собой делецию 2 нуклеотидов (*c.7541_7542delCT*) в PEST-домене.

Целью настоящей работы явилось изучение возможной ассоциации полиморфных маркеров *-652ins > del*, *-94ins > del* и *-308G > A* соответ-

ственно генов *CASP8*, *NFKB1* и *TNFA* с наличием 2-нуклеотидной делеции *c.7544_7545delCT* в гене *NOTCH1* при ХЛЛ в момент постановки диагноза.

Материалы и методы. Исследование полиморфизмов *-308G > A*, *-94ins > del* и *-652ins > del* соответственно генов *TNFA*, *NFKB1* и *CASP8* было проведено у 230 больных ХЛЛ с помощью стандартной или аллель-специфичной ПЦР с последующей детекцией ампликонов методом электрофореза. Для анализа гена *NOTCH1* на наличие делеции *c.7544_7545delCT*, составляющей 80% всех мутаций в гене *NOTCH1*, была использована аллель-специфичная ПЦР.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что генотипы, содержащие аллель *NFKB1-94del*, встречались у больных с делецией *c.7544_7545delCT* в гене *NOTCH1* реже по сравнению с пациентами с интактным геном в лейкозных клетках (соответственно 52,6% и 67,6%, $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$) на момент постановки диагноза. При этом делеция встречалась чаще у больных с поздними стадиями (3+4 согласно классификации К. Rai), чем с ранними (0+1+2): соответственно 40,0% и 23,1%, ($p = 0,047$). Из анализа отношений шансов следует, что *NFKB1-94del*-генотипы понижают риск появления опухолевых клеток с двухнуклеотидной делецией в гене *NOTCH1* ($OR = 0,53$, $95\%CI = 0,29-0,98$) к моменту постановки диагноза.

Выводы. Полученные результаты указывают на то, что существует возможная взаимосвязь между полиморфизмом *-94ins > del* гена *NFKB1*, обусловленной четырехнуклеотидной делецией, и появлением двухнуклеотидной делеции *c.7544_7545delCT* в гене *NOTCH1*: носительство, по крайней мере, одного аллеля *-94del* препятствует появлению лейкозных клеток с указанной мутацией у больных ХЛЛ к моменту постановки диагноза.

Овсеян В. А., Шубенкина А. А., Зотина Е. Н.

ФГБУ «Кировский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА
ГЕНОВ *CASP8*, *NFKB1* И *TNFA* ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ**

В патогенезе хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) важную роль играют нарушения процесса апоптоза. Согласно лабораторным данным о кинетике патологических лимфоцитов, примерно 99% лимфоцитов при данном заболевании находятся в фазе G0. В качестве возможного патогенетического фактора развития ХЛЛ в последнее время все большее внимание привлекает функционально значимый полиморфизм генов регуляции апоптотических путей. К числу таких генов следует отнести, прежде всего:

— ген каспазы 8 (*CASP8*) — важного регулятора апоптоза Т-лимфоцитов, пролиферации Т-, В- и NK-клеток, активации NF-κB; — ген *NFKB1*, кодирующий субъединицу p50 (наряду с белком p105) белкового комплекса NF-κB — транскрипционного фактора, играющего важную роль в развитии и прогрессировании опухоли благодаря вовлечению в подавление апоптоза и иммунного ответа, а также в усиление ангиогенеза опухоли и пролиферации; — ген цитокина TNF-α — ключевого медиатора иммунных и воспалительных реакций, способного индуцировать различные эффекты (апоптоз, некроз, ангиогенез, пролиферацию и дифференцировку лимфоидных клеток) в зависимости от клеточного контекста.

Цель работы. Изучение возможной связи полиморфных маркеров $-652ins > del$, $-94ins > del$ и $-308G > A$ соответственно генов *CASP8*, *NFKB1* и *TNFA* с развитием ХЛЛ и манифестацией заболевания на поздних стадиях в момент постановки диагноза.

Материалы и методы. Исследование полиморфизмов $-652ins > del$, $-94ins > del$ и $-308G > A$ соответственно генов *CASP8*, *NFKB1* и *TNFA* было проведено у 234 больных ХЛЛ и 316 здоровых неродственных добровольцев Вятского региона России с помощью стандартной или аллель-специфичной ПЦР с последующей детекцией ампликонов методом электрофореза. Стадирование болезни у пациентов было выполнено согласно стратификационной системе J. Vinet

Результаты. В результате проведенных исследований были установлены ассоциации аллеля $-308A$, генотипа $-308AA$ и $-308A$ -генотипов ($-308AA/-308AG$) с повышенным риском развития ХЛЛ (соответственно, OR=1,64, 95% CI=1,14–2,37, $p=0,007$; OR=4,48, 95% CI=1,20–16,80, $p=0,02$ и OR=1,57, 95% CI=1,05–2,36, $p=0,03$). Кроме того, обнаружено, что аллель $-94del$ и генотип $-94del/del$ гена *NFKB1* понижают риск манифестации заболевания на поздних стадиях (соответственно, OR=0,66, 95% CI=0,46–0,97, $p=0,03$ и OR=0,43, 95% CI=0,20–0,92, $p=0,03$) в период постановки диагноза.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что однонуклеотидная замена $-308G > A$ в промоторной области гена *TNFA* является возможным генетическим фактором риска развития ХЛЛ, в то время как 4-нуклеотидная делеция $-94ins > del$ в промоторной области гена *NFKB1*, по-видимому, играет протективную роль в манифестации заболевания на поздних стадиях в момент постановки диагноза.

Павлова А. А., Бубнова Л. Н., Бессмельцев С. С., Павлова И. Е.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4, ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 И ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ-α У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

В патогенезе множественной миеломы (ММ) задействован широкий спектр полиморфных генов цитокинов, которые играют значительную роль в процессе развития опухолевого клона.

Известно, что фактор некроза опухоли-α (TNF-α) вызывает пролиферацию миеломных клеток, а совместно с интерлейкином-6 (IL-6) является остеокласт-активирующим фактором. Интер-

лейкин-4 (IL-4), напротив, блокирует рост и развитие опухолевого клона за счет ингибирования активности IL-6.

Целью данной работы явилось определение одиночных нуклеотидных вариантов (SNP) в регуляторных областях генов цитокинов TNF- α -238 G/A, IL-6 nt565 G/A и IL-4-590 T/C, которые могут в значительной мере определять продукцию цитокинов, что в свою очередь может повлиять на развитие заболевания.

Материалы и методы. Обследовано 50 пациентов с множественной миеломой; средний возраст $69,6 \pm 8,6$ лет. Диагноз симптоматической ММ был верифицирован на основании критериев Международной рабочей группы по изучению миеломы. У подавляющего большинства больных (75%) наблюдалась миелома G. Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа — 26 больных с III стадией по классификации Durie-Salmon; 2-я группа — 24 пациента со II стадией по классификации Durie-Salmon. Контрольную группу составили 50 здоровых волонтеров, средний возраст $51,2 \pm 6,9$ лет. Все обследованные лица являлись жителями Санкт-Петербурга. Генотип ДНК выделяли из периферической крови. Определение SNP генов TNF- α , IL-6, IL-4 проводили с помощью PCR-SSP. Сравнение частот генотипов оценивали методом χ^2 , при $p \leq 0,05$ различия считали достоверными.

Результаты. На основании результатов анализа SNP генов цитокинов, генотип TNF- α -238 AA был обнаружен только в группе больных (0,02), но не был обнаружен в контрольной группе. Частота генотипа IL-4-590 TC у пациентов была ниже, чем в группе здоровых лиц (0,37 против 0,53; $p \geq 0,05$). Частота встречаемости гомо- и ге-

терозигот гена IL-6 nt565 G/A отличалась у пациентов и здоровых лиц: гомозиготы достоверно чаще выявлялись у пациентов (0,13 к 0,49 для GG и 0,08 к 0,14 для AA; $p \leq 0,05$), а гетерозигота GA была более распространена у здоровых людей в сравнении с пациентами (0,80 к 0,37 соответственно; $p \leq 0,05$). Частота TNF- α -238 GA была несколько выше у пациентов с III стадией болезни (1-я группа), чем у больных со II стадией заболевания (2-я группа): 0,11 против 0,04 соответственно, $p \geq 0,05$. Генотип TNF- α -238 AA был обнаружен только в 1-й группе пациентов. В группе здоровых жителей Санкт-Петербурга генотип IL-6 nt565 GA встречался чаще (0,80), чем в двух группах пациентов: 0,26 для больных с III стадией ММ и 0,42 — для пациентов с II стадией ММ ($p \leq 0,05$). Частота встречаемости генотипа IL-6 nt565 GG была достоверно выше в 1-й группе пациентов по сравнению со 2-й и контрольной группами (0,53 против 0,46 и 0,13 соответственно, $p \leq 0,05$). В 1-й группе пациентов частота встречаемости IL-4-590 TC была сходной со здоровыми лицами (0,53) и отличалась от 2-й группы больных (0,25; $p \leq 0,05$). Тогда как генотип IL-4-590 TT вообще не был обнаружен у пациентов с III стадией болезни по классификации Durie-Salmon, но был представлен во 2-й группе больных со II стадией заболевания (0,17; $p \leq 0,05$).

Выводы. Полученные результаты позволяют расценивать генотипы IL-6 nt565 GG и IL-6 nt565 AA как маркеры, предрасполагающие к развитию ММ, тогда как генотипы IL-6 nt565 GA, IL-4-590TC, вероятно, можно рассматривать как протектор развития заболевания, кроме того, генотип IL-6 nt565 GG ассоциирован с более тяжелым течением ММ.

Петрова Е. В., Мартынкевич И. С., Полушкина Л. Б., Мартыненко Л. С., Иванова М. П., Цыбакова Н. Ю., Клеина Е. В., Шабанова Е. С., Четкин А. В., Абдулкадыров К. М.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ С ПОЛИМОРФИЗМОМ RS11554137 В ГЕНЕ IDH1

Однонуклеотидный полиморфизм представляет собой наиболее распространенную форму генетического разнообразия видов. При синонимичной замене нуклеотида не происходит изменение кодируемой аминокислоты. Однако исследования показали, что однонуклеотидные замены в смысловых участках гена в большинстве

случаев влияют на экспрессию, изменяют такие характеристики белка, как третичную структуру, стабильность связывания с субстратом и промежуточными метаболитами, посттрансляционную модификацию. Мутации в 132 кодоне гена IDH1 являются достаточно частым событием при острых миелоидных лейкозах (ОМЛ). Также

примерно у 10% больных ОМЛ детектируют полиморфизм rs11554137 в 4-м экзоне гена *IDH1*, при котором происходит замена GGC на GGT в 105 кодоне. Данные о влиянии полиморфизма на прогноз течения заболевания у пациентов с ОМЛ противоречивы.

Цель. Исследовать частоту встречаемости и прогностический потенциал полиморфизма rs11554137 в гене *IDH1*, а также его сочетание с клинико-гематологическими особенностями и вариантом кариотипа у больных ОМЛ.

Материалы и методы. В исследование включено 112 пациентов с ОМЛ. Возраст больных составил от 18 до 86 лет (медиана 55 лет). Среди них — 51 (45,5%) мужчина и 61 (54,5%) женщина. У 103 больных (92,0%) верифицирован *de novo* ОМЛ и у 9 (8,0%) — вторичный ОМЛ из предшествующих миелодиспластического синдрома (МДС) или лимфомы. Цитогенетический анализ выполняли на G-дифференциально окрашенных хромосомах. В каждом исследовании было проанализировано не менее 20 метафазных пластин. По результатам цитогенетического исследования больные были разделены на 4 группы: с нормальным кариотипом — 52 (46,4%) пациента, с благоприятным кариотипом — 9 (8,0%) больных, с неблагоприятным кариотипом — 16 (14,3%) пациентов, с прочими хромосомными аномалиями — 35 (31,3%) больных. Скрининг aberrаций в гене *IDH1* проводили методом ПЦР в реальном времени с дальнейшим анализом кривых плавления.

Результаты. Полиморфизм в гене *IDH1* (rs11554137) был обнаружен у 7,1% (8 из 112) пациентов с ОМЛ. Распределение больных ОМЛ в зависимости от морфологического варианта показало, что полиморфизм rs11554137 в гене *IDH1* чаще встречался у больных с М4 вариантом ОМЛ (у 5 из 20, $p = 0,005$). Все пациенты с полиморфизмом rs11554137 были с *de novo* ОМЛ. Медиана возраста больных с полиморфизмом rs11554137 составила 58 лет и была статистически значимо выше в сравнении с медианой возраста пациентов без полиморфизма в гене

IDH1 (55 лет) ($p=0,005$). При сравнении таких показателей, как количество лейкоцитов и тромбоцитов в ПК, бластов в КМ в дебюте заболевания у больных с полиморфизмом в гене *IDH1* и без, значимых отличий не выявили. Чаще полиморфизм rs11554137 в гене *IDH1* встречался у пациентов с нормальным кариотипом — у 5 из 8 больных ($p=0,334$), у 3-х пациентов с полиморфизмом найден неблагоприятный кариотип ($p=0,052$). Ни у одного больного с благоприятным кариотипом не был обнаружен полиморфизм rs11554137. Все пациенты с полиморфизмом rs11554137 в гене *IDH1* также обследованы на наличие мутаций в генах *FLT3*, *NPM1*, *NRAS*, *CKIT* и *DNMT3A*. Только у 2-х больных полиморфизм в гене *IDH1* встречался одиночно. У остальных пациентов (у 6 из 8) полиморфизм rs11554137 сочетался с мутациями в генах: *DNMT3A+*, *FLT3-TKD+*, *NPM1+*, *FLT3-ITD+*/*DNMT3A+*, *FLT3-ITD+/FLT3-TKD+/DNMT3A+* и у 2-х больных полиморфизм rs11554137 детектирован сочетанно с *FLT3-ITD*. Вместе с этим исследована прогностическая значимость полиморфизма rs11554137 в гене *IDH1*. Сравнительный анализ медианы общей и безрецидивной выживаемости пациентов с полиморфизмом и без него показал значимые отличия: 5,8 месяцев и 12,8 месяцев ($p=0,046$) и 4,2 месяца и 9,5 месяцев ($p=0,004$).

Выводы. Полиморфизм rs11554137 в гене *IDH1* является достаточно частым событием у больных ОМЛ. Ассоциируется как правило с М4 вариантом заболевания и более высокой медианой возраста пациентов в сравнении с больными без полиморфизма. Значительный прогностический потенциал полиморфизма rs11554137 в гене *IDH1* позволяет рассматривать его как неблагоприятный маркер, коррелирующий с высоким риском рецидива заболевания и низкой выживаемостью. Синонимичные полиморфизмы представляют собой отдельную категорию молекулярных aberrаций, которые следует учитывать при диагностике и прогнозировании течения ОМЛ.

Полушкина Л. Б., Мартынкевич И. С., Шуваев В. А., Фоминых М. С., Шихбабаева Д. И.,
Петрова Е. В., Мартыненко Л. С., Иванова М. П., Цыбакова Н. Ю., Шабанова Е. С.,
Жернякова А. А., Саврилова А. М., Абдулкадыров К. М.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
ФМБА России», г. Санкт-Петербург

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПРОГНОЗ ПРИ ПЕРВИЧНОМ МИЕЛОФИБРОЗЕ

В основе патогенеза первичного миелофиброза (ПМФ) лежит трансформация гемопоэтической стволовой клетки, приводящая к клональной миелопролиферации. Генетические нарушения в опухолевых клетках включают мутации генов *JAK2*, *MPL*, *CALR*, определяемые как клональные маркеры, хромосомные aberrации, эпигенетические изменения. Вариабельность клинического течения ПМФ у пациентов с разными клональными маркерами и эпигенетическим статусом требует пристального изучения для возможной стратификации групп риска.

Цель. Оценить выживаемость пациентов в группах с различными клональными маркерами, цитогенетическими aberrациями и эпигенетическим статусом.

Материалы и методы. В исследование включены 89 пациентов с диагнозом ПМФ, медиана возраста составила 59 лет (19–82 лет). У всех пациентов проводили определение *JAK2V617F*-статуса, при отрицательном результате осуществляли поиск мутаций в 515 кодоне гена *MPL* и мутаций 9 экзона гена *CALR*. У 73 пациентов выполнен анализ генов *ASXL1* и *EZH2* методом кривых плавления с последующим секвенированием, у 39 больных — цитогенетическое исследование.

Результаты. Клональные маркеры выявлены у 64 больных: *JAK2+* 46,1% (41/89), *CALR+* 21,3% (19/89), *MPL+* 4,5% (4/89) случаев. Тройными негативными (ТН) по клональным маркерам были 28,1% (25/89) пациентов. Медиана выживаемости ТН пациентов была наименьшей и составила 4 года ($p=0,047$), *JAK2+* 11,9 лет. У *CALR+* и *MPL+* пациентов при сроке наблюдения 10 и 4 года, соответственно, медиана выживаемости достигнута не была. По результатам цитогенетического исследования выделены 2 группы пациентов. В первую группу вошли 20 пациентов с нормальным кариотипом и 5 пациентов — с одиночными aberrациями $del(13)(q22)$,

$del(20)(q12)$, $add(6)(p25)$, $del(6)(q15)$. Ко второй группе были отнесены 13 пациентов с комплексными нарушениями кариотипа и aberrациями $+8$, $-7/7q-$, $i(17q)$, $inv(3)$, $-5/5q-$, $12p-$. Медиана выживаемости пациентов 1-й группы составила 7,4 года, 2-й — 4,5 года. Стоит отдельно отметить, что частота неблагоприятного кариотипа отличалась в группах пациентов с различными клональными маркерами: *CALR+* 0% (0/8), *JAK2+* 35% (6/17), ТН 54% (7/13) ($p=0,053$). Обнаружено 18 мутаций в гене *ASXL1* у 16 пациентов (21,9%): 14 пациентов имели по 1 мутации, 2 пациента — по 2. Достоверно чаще мутации встречались у пациентов *CALR+* и ТН в сравнении с *JAK2+* (6/16 (37,5%) и 8/24 (33,3%) против 2/29 (6,9%), $p=0,037$ и $p=0,044$, соответственно). У 2 ТН, *ASXL1+* пациентов выявлены мутации гена *EZH2*. В обоих случаях отмечено неблагоприятное течение заболевания с высоким риском прогрессии ПМФ. Первый случай: пациент С.В.Б., 61 год, кариотип 48, XY,+8,+21[2]/47, XY,+8[11]/46, XY[7]. Отмечена бластная трансформация ПМФ вскоре после постановки диагноза, через 8 месяцев от начала наблюдения пациент умер. Второй случай: пациент Е.Г.М., 75 лет, НК. На момент постановки диагноза наблюдали выраженную тромбоцитопению. Пациент умер от геморрагического инсульта через 5 месяцев от даты диагноза.

Выводы. Характер клонального маркера, наличие цитогенетических aberrаций и эпигенетических изменений могут быть взаимосвязаны с различным прогнозом течения ПМФ. Отсутствие клональных маркеров и/или наличие неблагоприятного кариотипа ассоциировано со снижением общей выживаемости. Эпигенетические мутации встречаются у значительной доли пациентов с ПМФ. Влияние эпигенетического статуса на прогноз больных требует дальнейшего изучения.

**Потапов М. П.¹, Колесникова Т. С.², Ходосовская Е. В.², Хватова Л. А.², Троянов А. А.²,
Цыркунова Ж. Ф.², Арабей А. А.², Космачева С. М.¹, Данилкович Н. Н.¹, Шахмуть Е. А.¹,
Левандовская О. В.³, Кривенко С. И.³**

¹ Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», г. Минск, Беларусь

² Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,

³ Учреждение здравоохранения «9-я городская клиническая больница» г. Минска, Беларусь

РОЛЬ РАСТВОРИМЫХ ФАКТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ В ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК КОЖИ *IN VITRO* И РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖНОЙ РАНЫ У КРЫС *IN VIVO*.

Растворимые факторы тромбоцитов (РФТ) привлекают все возрастающее внимание с целью медицинского применения. В первую очередь, рассматривается возможность использования препаратов, получаемых из тромбоцитов крови человека, для заживления кожных ран. В зависимости от технологии приготовления препараты РФТ получают как лизат тромбоцитов (ЛТ), релизат тромбоцитов (РТ) или плазму, обогащенную РФТ, (ПОРФТ). Различия в технологиях получения дают основания для различий в содержании ростовых факторов и цитокинов, а также биологической активности полученных препаратов.

Цель работы. Провести сравнительную характеристику действия ЛТ, РТ и ПОРФТ на пролиферацию клеток кожи *in vitro* и заживление кожных ран у экспериментальных животных (крыс).

Материалы и методы. Препарат ПОРФТ pripravивали из концентрата тромбоцитов, полученного от здоровых доноров крови отделения переливания крови УЗ «9 ГКБ» г. Минска путем стандартизации тромбоцитов до концентрации около 1×10^9 /мл, замораживания при температуре -20°C и последующего оттаивания. Препараты ЛТ и РТ pripravивали из концентрата тромбоцитов, полученного от здоровых доноров крови РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий путем стандартизации тромбоцитов до концентрации около 5×10^9 /мл в бессывороточной среде и последующего замораживания при -40°C и оттаивания (ЛТ), или активации тромбином (1 ед/мл) в течение 40 минут при комнатной температуре, центрифугирования и отбора супернатанта в качестве РТ. Фибробласты кожи получали от здоровых лиц косметологической клиники г. Минска. В качестве кератиноцитов использовали клетки линии HaCaT. Все препараты РФТ добавляли в конечной 5% концентрации. Через 3 суток оценивали количество выросших клеток. В экспериментах на живот-

ных использовали крыс линии Wistar после получения одобрения этического комитета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». У животных в области спины наносили рану кожи диаметром 15 мм, закрывали ее исследуемыми препаратами с их фиксацией до гелеобразного состояния тромбином (для ПОРФТ) или фибриновым гелем (для ЛТ и РТ). Оценивали динамику заживления раны в течение 28 дней. Полученные данные обрабатывали с помощью пакета программ Statistica 10,0.

Результаты. В тесте пролиферации *in vitro* фибробластов кожи человека показано, что препараты ПОРФТ в наибольшей степени проявляли рост-стимулирующее действие, менее активны были препараты ЛТ и РТ. Фибробласты кожи крыс наиболее активно пролиферировали в присутствии ЛТ. Пролиферация кератиноцитов линии HaCaT в большей степени наблюдалась в присутствии ЛТ, в наименьшей — в присутствии ПОРФТ. В экспериментах на животных ПОРФТ и ЛТ проявляли наибольшее ранозаживляющее действие, РТ был менее активен. Надо отметить, что в большинстве случаев мы не наблюдали бактериального обсеменения области раны. Это мы связываем с прямым бактерицидным действием образцов ЛТ, РТ и ПОРФТ, выявленным в экспериментах *in vitro* в отношении *E.coli*, *S.aureus*, *P. aeruginosa*.

Выводы. Проведенные сравнительные исследования показали высокую биологическую активность лизата тромбоцитов, релизата тромбоцитов и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов человека в отношении пролиферации фибробластов кожи человека *in vitro* и заживления ран кожи *in vivo*. В большинстве экспериментов *in vitro* ПОРФТ оказался более активен в отношении пролиферации фибробластов кожи человека и заживления кожи крыс *in vivo*.

Протопопова Е. Б., Мочкин Н. Е., Шестаков Е. А., Мельниченко В. Я., Жибурт Е. Б.

ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н. И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

КОЛИЧЕСТВО CD34+ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

Скорость восстановления гемопоэза после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) связана с количеством реинфузируемых стволовых (CD34+) клеток. Для успешного приживления трансплантата достаточно $0,75 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток.

Цель. Оценить влияние количества CD34+ при реинфузии на восстановление гемопоэза у различных пациентов с ауто-ТГСК.

Материалы и методы. Изучили 169 случаев ауто-ТГСК у пациентов с аутоиммунными ($n=87$) и онкогематологическими ($n=82$) заболеваниями. Кровотечений не зарегистрировано, летальных исходов — 2. Оценили связь количества аутологичных CD34+ клеток для реинфузии и восстановление гемопоэза после ауто-ТГСК. Мобилизацию стволовых клеток проводили с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора. У 106 пациентов мобилизовали >2 , а у 63 — $<2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+.

Результаты. В группе аутоиммунных заболеваний у реципиентов более $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ гемоглобин восстанавливается выше 80 г/л на 4 дня раньше, чем у реципиентов меньшего числа клеток. Среди онкогематологических пациентов различий в периодах анемии между реципиентами разного количества стволовых клеток не выявлено. Пациенты с аутоиммунными заболеваниями, получившие более $2 \times 10^6/\text{кг}$ стволовых клеток меньше подвержены развитию тромбоцитопении $<10 \times 10^9/\text{л}$ и риску трансфузий концентрата тромбоцитов (КТ). При этом не выявлено различий между характеристиками периодов тромбоцитопении ниже 20 и $10 \times 10^9/\text{л}$, а также

потребностями пациентов в донорских тромбоцитах. Онкогематологические реципиенты меньшего количества стволовых клеток более чем в 2 раза чаще получают 3 и более дозы КТ. У пациентов, получивших более $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+, восстановление тромбоцитов выше 10 и $20 \times 10^9/\text{л}$ происходит раньше. В группе пациентов с аутоиммунными заболеваниями не выявлено различий в характеристиках нейтропении при реинфузии разного количества CD34+. Однако была установлена отрицательная корреляция средней и высокой степени между количеством стволовых клеток и временем восстановления нейтрофилов выше 0,5 и $1,0 \times 10^9/\text{л}$ ($k = -0,6$ и $-0,8$ соответственно). У онкогематологических пациентов реинфузия более $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ ассоциируется с уменьшением периода нейтропении и более быстрым временем восстановления нейтрофилов.

Выводы. У пациентов с гематологическими заболеваниями при реинфузии CD34+ клеток более $2 \times 10^6/\text{кг}$ снижается длительность тромбоцитопении, время восстановления тромбоцитов выше 10 и $20 \times 10^9/\text{л}$ и потребность в донорских тромбоцитах; сокращается период нейтропении и время восстановления нейтрофилов. У пациентов с аутоиммунными заболеваниями при реинфузии более $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ снижается риск развития анемии, переливания эритроцитов и время восстановления гемоглобина выше 80 г/л; снижается риск развития тромбоцитопении $<10 \times 10^9/\text{л}$ и риск трансфузий тромбоцитов. Период тромбоцитопении и нейтропении не ассоциируется с объемом трансплантата.

Протопопова Е. Б., Мочкин Н. Е., Мельниченко В. Я., Шестаков Е. А., Жибурт Е. Б.

*ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н. И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва*

ПОТРЕБНОСТЬ В КОМПОНЕНТАХ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Ежегодно в мире выполняется более 50000 пересадок кроветворных стволовых клеток, самым частым (57% — 59%) видом которых является аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Химиотерапия и ауто-ТГСК сопровождаются угнетением кроветворения, которое часто требует заместительного введения компонентов донорской крови.

Цель. Оценить потребность в трансфузионной помощи у различных пациентов после ауто-ТГСК.

Материалы и методы. Изучили 169 случаев ауто-ТГСК у пациентов с аутоиммунными ($n=87$) и онкогематологическими ($n=82$) заболеваниями. Кровотечений не зарегистрировано, летальных исходов — 2. Тромбоциты переливали согласно правилам НМХЦ им. Н. И. Пирогова профилактически, если их концентрация в крови была ниже $10 \times 10^9/\text{л}$. Перелито 158 доз аферезных тромбоцитов 104 реципиентам. Доза содержала не менее 2×10^{11} клеток. Эритроциты переливали на основе комплексной диагностики клинических и лабораторных признаков анемии по Правилам назначения компонентов крови, принятым в Пироговском центре. Обычно для реципиентов ауто-ТГСК целевая концентрация гемоглобина равна 80 г/л. Перелито 55 доз эритроцитной взвеси 37 реципиентам. Изучили частоту и объем переливания концентратов тромбоцитов и эритроцитной взвеси пациентам после ауто-ТГСК. Выявили потребности в компонентах крови у данной группы пациентов.

Результаты. Установлено, что 99% онкогематологических пациентов нуждаются в переливании тромбоцитов, из них 47% получили 2 и более доз. В группе аутоиммунных заболеваний 26% больных получили трансфузии тромбоцитов, большинству из них достаточно 1 дозы. Частота переливания донорских тромбоцитов у онкогематологических больных в 3,7 раз выше,

чем у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Потребность в тромбоцитах у пациентов с аутоиммунными заболеваниями составляет в среднем 0,3 дозы на пациента; у онкогематологических пациентов — 1,6 доз. Установлено, что 22% от всех пациентов с ауто-ТГСК нуждаются в переливании эритроцитов, из них большинству (70%) больных для восполнения дефицита гемоглобина достаточно одной донорской дозы. Повторное переливание эритроцитов требуется лишь 7% реципиентов ауто-ТГСК. Выявлены отрицательные корреляции между концентрацией гемоглобина в начале ауто-ТГСК и потребностью в трансфузиях эритроцитов. В ходе ауто-ТГСК в переливании эритроцитов нуждаются 6% пациентов с аутоиммунными и 39% пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Потребность в эритроцитах у пациентов с аутоиммунными заболеваниями составляет в среднем 0,1 дозы на пациента, а у онкогематологических пациентов — 0,6 доз.

Выводы. В переливании тромбоцитов после ауто-ТГСК нуждаются 99% пациентов с онкогематологическими и 26% пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Частота переливания донорских тромбоцитов у онкогематологических больных в 3,7 раз выше, чем среди пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Потребность в тромбоцитном концентрате у пациентов с аутоиммунными заболеваниями составляет в среднем 0,3 дозы на пациента; у онкогематологических пациентов — 1,6 доз. В ходе ауто-ТГСК в переливании эритроцитов нуждаются 39% пациентов с онкогематологическими и 6% пациентов с аутоиммунными и заболеваниями. Потребность в эритроцитах у пациентов с аутоиммунными заболеваниями составляет в среднем 0,1 дозы на пациента, а у онкогематологических пациентов — 0,6 доз.

Романенко Н. А., Зенина М. Н., Тиранова С. А., Потихонова Н. А., Абдулкадыров К. М.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ИЗМЕНЕНИЕ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ НА ФОНЕ КОРРЕКЦИИ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ ТКАНИ

Анемический синдром (АС) является частым осложнением химиотерапии при опухолевых заболеваниях лимфатической ткани (ОЗЛТ), ухудшает общую выживаемость и качество жизни (КЖ). Для его коррекции используют трансфузии донорских эритроцитов (ТЭ) и препараты рекомбинантного эритропоэтина (ЭПО). Эффективность коррекции анемии оценивают на основании изменений показателей гемограммы, транспорта газов крови. В то же время исследованию качества жизни в настоящее время не придается должного внимания.

Целью работы было сравнить КЖ больных ОЗЛТ на фоне коррекции АС с помощью ТЭ и назначения препаратов ЭПО.

Материал и методы. В исследование включены больные опухолевыми заболеваниями лимфатической ткани с анемией, получившие не менее 2-х курсов противоопухолевой терапии. Эффективность коррекции анемии с помощью ТЭ и назначения ЭПО оценивали на основании клинических, лабораторных методов, а также качества жизни, используя анкету FАСТ-Ап. В первую группу вошли больные (n=54) с тяжелой или средней степенью тяжести анемии с исходным содержанием Hb $70,0 \pm 1,6$ г/л. Для коррекции АС им назначались ТЭ. После гемотрансфузий донорских эритроцитов (Me=3 дозы) уровень Hb повышался до $93,1 \pm 1,2$ г/л. Во вторую группу включены пациенты (n=77) с легкой и средней степенью тяжести анемии с исходным уровнем Hb $88,4 \pm 1,4$ г/л. Эти больные получали лечение препаратами рекомбинантного эритропоэтина. Положительный ответ на ЭПО в виде повыше-

ния уровня Hb на ≥ 20 г/л констатирован у 52 (67,5%) из 77 больных. При этом у больных с положительным ответом на ЭПО концентрация Hb повысилась до $123,1 \pm 2,4$ г/л.

Результаты исследования. Исследование КЖ у больных после переливаний донорских эритроцитов позволило выявить существенное изменение в шкалах «Физическое благополучие», «Эмоциональное благополучие», «Благополучие в повседневной жизни» и «Анемия». На фоне проведения терапии препаратами ЭПО у пациентов значительно улучшилось КЖ в шкалах «Физическое благополучие» и «Анемия». Однако при сравнительном анализе КЖ обеих групп максимальное улучшение констатировано по шкалам «Физическое благополучие» (в группе ТЭ — с $12,9 \pm 0,7$ до $11,0 \pm 0,8$ баллов; $p < 0,001$, в группе ЭПО — с $11,6 \pm 0,7$ до $9,6 \pm 0,7$ баллов; $p < 0,02$) и «Анемия» (в группе ТЭ — с $41,1 \pm 2,0$ до $34,2 \pm 2,1$ баллов; $p < 0,001$, в группе ЭПО — с $34,5 \pm 1,7$ до $30,1 \pm 1,6$ баллов; $p < 0,001$).

Выводы. Оба метода коррекции анемии эффективны, так как позволяют существенно увеличить содержание гемоглобина и улучшить качество жизни. Однако КЖ пациентов на фоне ЭПО значительно лучше, чем после ТЭ в связи с тем, что терапия препаратами ЭПО позволяет достичь нормальных концентраций гемоглобина. Тем не менее, оба метода коррекции анемии эффективны. Однако терапия ЭПО может быть назначена и в качестве профилактики прогрессирования анемии, и для продолжения ее лечения после переливаний донорских эритроцитов.

Ругаль В. И., Семенова Н. Ю., Артюхина З. Е., Бессмельцев С. С.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», г. Санкт-Петербург

СОСТОЯНИЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ НИШИ ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ И НАРУШЕНИЯХ ОСТЕОГЕНЕЗА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Множественная миелома (ММ) — заболевание, обусловленное злокачественной транс-

формацией В-лимфопоэза. Наряду с характерными для гемобластозов чертами ММ имеет

две отличительные особенности, а именно длительная локализация миеломных клеток в костномозговых пространствах без выхода в циркуляцию и выраженная перестройка костной ткани. Поддержание гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в фазе покоя, их пролиферация и направление дифференцировки в сторону В-лимфопоэза определяются стромальными элементами микроокружения, которые формируют гемопоэтическую нишу. Ключевыми структурами гемопоэтической ниши являются эндостальные стромальные клетки костного мозга, которые одновременно регулируют кроветворение и остеогенез, сосуды микроциркуляции, интра-трабекулярный и экстрацеллюлярный матрикс. Очевидно, что перестройки гемопоэтической ниши могут одновременно приводить к развитию патологических состояний кроветворной и костной тканей.

Цель. У больных множественной миеломой изучить морфофункциональный статус стромальных структур костного мозга, формирующих гемопоэтическую нишу.

Материал и методы. Материалом исследований послужили трепанобиопсии подвздошной кости 57 больных ММ с интерстициальной и диффузной инфильтрацией костного мозга. Стромально-паренхиматозные структуры изучены с использованием гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов.

Результаты. В гистологических препаратах подвздошной кости больных ММ с интерстициальным и диффузным типом поражения миелоидной ткани объем опухолевых клеток колебался

от 30 до 80%. У всех больных регистрировались очаговые деструктивные изменения костной ткани. Это были участки гладкой резорбции без видимой активности остеокластов. На поверхности костных балок отмечалось увеличение количества эндостальных стромальных клеток вытянутой формы с уплощенными ядрами, содержащими глыбчатый хроматин. Количество эндостальных клеток, экспрессирующих CD146, снижалось. Обнаруживалось усиление плотности микрососудов эндостальных зон (CD34 c1.П). Происходило изменение содержания коллагенов I и IV типов. Интра-трабекулярный коллаген I типа разрыхлялся, оссификация снижалась, что наиболее заметно обнаруживалось в зонах резорбции трабекул. Одновременно нарастал объем коллагена IV типа в эндостальных пространствах костного мозга. Характерной особенностью было появление очаговой сети ретикулиновых волокон в субэндостальных и периваскулярных пространствах.

Выводы. Развитие ММ сопровождается изменением морфофункционального состояния стромальных структур кроветворного микроокружения, формирующих гемопоэтическую нишу. Установленные перестройки структур ниши могут быть причиной расстройств развития ГСК и способствовать появлению лейкозного клона. Одновременно дефекты эндостальных стромальных клеток, образующих кроветворную нишу и непосредственно определяющих остеогенез, могут быть одной из ведущих причин костной патологии у больных ММ.

Рыбкина В. Л., Азизова Т. В., Адамова Г. В., Румянцева А. В., Теплякова О. В., Тепляков И. И.

ФГУП «Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России», г. Озерск

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ АНТИГЕНОВ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ УРАЛЬСКОГО РЕГИОНАЛЬНОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Успех трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) определяется эффективностью подбора донора для реципиента. Учитывая высокую степень полиморфизма генов системы HLA, такой подбор является сложной задачей. Для ее решения во всем мире создаются регистры доноров гемопоэтических стволовых клеток. В Южно-Уральском институте биофизики с 2007 года создается Уральский региональный регистр доноров гемопоэтических стволовых

клеток (УРРД ГСК). Работа по его созданию основана на российских законах, международных стандартах и собственных методических разработках. На конец 2015 года в нем содержалась информация о 5058 лицах, давших информированное согласие стать потенциальными донорами ГСК и согласие на обработку персональных данных. Из них большинство составляли мужчины — 3074 (60,8%), 1984 (39,2%) — женщины. Этнический состав был представлен,

в основном, русскими (88%). Второе и третье место по численности разделили башкиры и татары (по 5%). УРРД ГСК может способствовать обогащению международной сети регистров разнообразием местных генотипов. Основным этносом, населяющим г. Озерск Челябинской области, являются русские. Русские проживают в Челябинской области с 18-го века. Они приехали в основном из Поволжья и из северо-европейских частей России. Однако в г. Озерск основная масса русских приехала из различных регионов России. Вторым по численности этносом УРРД являются башкиры. Башкирская этническая группа формировалась на территории Башкирии, которая включала северные и западные районы Челябинской области до 17 века. Аргаяшский и Кунашакский районы оставались в составе Башкирии до 1934 года. Однако эти районы в настоящее время включены в состав Челябинской области. Третье место в этнической структуре УРРД занимают татары. Этническая история татар Челябинской области сложная и недостаточно изученная. Есть версии, что они мигрировали из Поволжья, но не исключено, что из Башкортостана или других регионов России. Каждому этносу свойственны свои особые генетические черты и, следовательно, особенности распространения тех или иных HLA-генотипов.

Цель. Оценить частоту аллельных семейств локусов A, B, DRB1 у лиц, состоящих в УРРД ГСК.

Материал и методы. HLA-типирование было проведено 302 регистрантам с использованием методов сиквенс-специфических праймеров (SSP) с использованием реактивов фирмы Protrans и сиквенс-специфических олигонуклеотидов (SSO) с использованием реактивов фирмы One Lambda.

Результаты. У обследованных лиц отмечалась высокая частота семейств аллелей 02, 03 и 24 и низкая — 34, 66, 74 и 80 локуса A. Наиболее полиморфным был локус B. При анализе частоты семейств аллелей этого локуса установ-

лена высокая частота семейств аллелей 07, 35 и низкая — 26, 42, 73. Для локуса DRB1 были характерны максимальные частоты аллелей 01, 07, 13, 15, минимальная — 10 семейства аллелей. Распределение частот семейств аллелей в целом характерно для большинства популяций кавказоидов. Кроме того, были проанализированы частоты семейств аллелей среди русских, татар и башкир в УРРД ГСК. Распределение семейств аллелей системы HLA среди русских регистра близко к другим кавказоидным популяциям. Например, аллели семейств A*01, 02, A*03, 24, B*07, B*35, DRB1* 03, DRB1* 04, DRB1* 07, DRB1* 11, DRB1* 13 и DRB1* 15 встречались с высокой частотой. Аллели семейств A* 66, B*47 и B*49 встречались редко (частота менее 0,010). Так же, как и у русских Челябинской области, у русских г. Озерска отмечалась высокая частота B*13 по сравнению с другими европейскими популяциями, за исключением поляков и чехов. В отличие от русских Челябинской области частота аллелей HLA DRB1*01 у доноров г. Озерска была ниже и совпадала с частотой этой специфичности у русских Вологодской и Архангельской областей. Особенностью УРРД является и более низкая частота специфичности A*01 по сравнению с таковой у русских в Челябинской области. Для татар УРРД характерны черты кавказоидных популяций, однако частоты аллельных семейств A*01, B*44 ниже, чем у русских УРРД и русских Челябинской области, что сближает их с представителями монголоидных популяций. Для подтверждения этого факта необходима большая статистическая мощность исследования. У башкир в УРРД встречаются высокие частоты следующих аллельных семейств A*01, A*02, A*03, A*24, B*08, B*13, B*35, B*51, DRB1*07, DRB1*13. Более высокие частоты A*24, B*40 и DRB1*12, чем у русских УРРД и ненулевые уровни A*33, B*46, B*48, B*58 и DRB1*09 роднят их в большей степени с монголоидными популяциями, чем с кавказоидными.

Северин И. Н.¹, Гончарова Н. В.¹, Анацкая Л. Н.²

¹ Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, г. Минск

² Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, г. Минск

ПОЛУЧЕНИЕ КУЛЬТУР ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЛАКУНАРНЫМИ ИНФАРКТАМИ МОЗГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕДЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ СЫВОРОТКУ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ГРУППЫ АВ (IV)

Наличие эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП), их роль в ангиогенезе и неоваскулогенезе были продемонстрированы группой Asahara T. с соавторами в 1997 году. В 2000 году Lin Y. с соавторами сообщили о выявлении нового типа эндотелиальных клеток, циркулирующих в крови и отрицательных по экспрессии гемопоэтических маркеров CD45 и CD133. Данные клетки демонстрируют зависимость от присутствия в среде эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF), характеризуются экспрессией поверхностных маркеров CD31+VEGFR-2+CD144+CD34+/-, поддерживаются в культуре *in vitro* при пересевах. Содержание циркулирующих в крови эндотелиоцитов может быть прогностическим маркером в ряде патофизиологических состояний. Также данный тип клеток рассматривается как потенциальный биомедицинский продукт для терапии ряда сосудистых патологий. Эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) в разных концентрациях стандартно применяется в культуре клеток, в том числе при культивировании эндотелиоцитов периферической крови. Накопленные данные о встраивании в плазмалемму человеческих клеток ксеногенных компонентов ЭТС *in vitro* заставляют искать альтернативы данной добавке.

Цель работы. Изучение возможности применения сыворотки крови человека при получении культур эндотелиальных клеток из периферической крови.

Материалы и методы. Образцы периферической крови пациентов в остром периоде лакунарного инфаркта (ЛИМ) мозга при церебральной микроангиопатии (ЦМА) получены из РНПЦ неврологии и нейрохирургии МЗ Республики Беларусь. Возраст пациентов на момент исследования составлял $59 \pm 4,3$ лет (диапазон 45–79 лет). Монуцлеарные клетки (МНК) выделяли из крови пациентов по стандартной методике на градиенте плотности 1,077 г/мл. МНК высевали в культуральные сосуды с фибронектиновым покрытием в полноценной питательной среде (ППС) следующего состава: 80% среды MCDB131,

20% сыворотки крови человека группы АВ (IV), 10 нг/мл VEGF, 20 нг/мл FGF-2, 25 нг/мл EGF, 1 мкг/мл гидрокортизон-21-гемисукцината, 5 ед/мл гепарина. На следующие сутки в культуре заменяли среду. В дальнейшем среду меняли через день на протяжении 2–3 недель. По достижении эндотелиальными клетками 70–80% конfluenceности производили субкультивирование. Фенотип клеток определяли с помощью метода проточной цитометрии на присутствие поверхностных маркеров CD31, VEGFR-2, CD144, CD34, CD45, CD14 соответствующими антителами по протоколу производителя антител.

Результаты. Первые колонии эндотелиальных клеток обнаруживали в течение $5 \pm 1,26$ суток (диапазон 3–6 суток, $n = 6$) после высева в первичную культуру *in vitro*. Период колониеобразования длился на протяжении $14,5 \pm 6,38$ суток (диапазон 8–22 суток, $n = 6$) и считался завершённым, когда колонии начинали сливаться. Частота колоний в пересчете на 1 мл цельной крови составила $1,38 \pm 0,97$ колоний/мл. Полученные культуры содержали активно пролиферирующие клетки эндотелиальной морфологии и фенотипа. Время удвоения для культур 1–3 пассажей составило $24,48 \pm 6,06$ часа. Эндотелиальные клетки из периферической крови были положительны по эндотелиальным маркерам CD31 ($99,75 \pm 0,1\%$, СИФ = $259,8 \pm 115,04$, $n = 6$), CD144 ($99,4 \pm 0,25\%$, СИФ = $30,2 \pm 7,44$, $n = 6$), VEGFR-2 ($97,69 \pm 0,55\%$, СИФ = $29,4 \pm 10,08$, $n = 6$). При этом отсутствовали клетки, несущие гемопоэтические маркеры CD45 и CD14.

Выводы. Нами была показана возможность получения культур эндотелиальных клеток из периферической крови с использованием среды, содержащей сыворотку крови группы АВ (IV) человека. Полученные клетки по своим морфологическим, фенотипическим и пролиферативным показателям идентичны культурам эндотелиальных клеток-предшественниц, получаемым по стандартной методике с использованием среды, содержащей эмбриональную телячью сыворотку.

Семелев В. Н., Тыренко В. В., Никитин В. Ю., Юркин А. К., Тараканова Л. А., Сухина И. А.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНОГО ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ С СЕПСИСОМ

Больные с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) представляют особую группу онкогематологических больных, у которых на фоне проведения цитостатической терапии, сопровождаемой длительной цитопенией, всегда существует высокий риск возникновения септических осложнений.

Цель исследования. Оценить показатели клеточного и гуморального иммунитета у больного ОМЛ с диагностированным сепсисом и их динамику на фоне проведения терапии.

Материалы и методы. Показатели иммунитета оценивались у больного с верифицированным диагнозом ОМЛ с t(11;19) (FAB M5b вариант). Терапия проводилась по унифицированному протоколу для больных ОМЛ в возрасте моложе 60 лет. Клинико-гематологическая ремиссия достигнута после 1-го курса индукции. Диагноз сепсиса установлен на седьмые сутки от начала 2-го курса консолидации по схеме «HiDAC» (цитарабин 3000 мг/м² 2 раза/сутки/3 дня) в период нейтропении ($<0,5 \times 10^9/\text{л}$) на основании критериев ACCP/SCCM (1992) — синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), очага инфекции в виде инфильтрата правой паховой области и уровня прокальцитонина более 10 нг/мл. Исследование субпопуляций лимфоцитов выполнялось на проточном цитометре “Cytomics FC500” фирмы “Beckman Coulter” (США) с использованием 4-х и 5-ти цветных комбинаций прямых моноклональных антител и изотипических контролей. Гуморальное звено иммунитета оценивали количественным определением иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа и определением циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Исследование показателей иммунитета проводили в 1-е, 7-е и 21-е сутки от дня верификации сепсиса на фоне проведения комплексной терапии (хирургические методы лечения, антибактериальная терапия — линезолид 1,2 г/сутки, доприпеном 1,5 г/сутки, иммунокоррекция — пентаглобин 5 мл/кг массы тела в течение 5 дней) с положительной динамикой в клинической картине (санация очага инфекции, отсутствие ССВР), нормализации показателей перифери-

ческой крови и лабораторных маркеров системного воспаления.

Результаты. У обследуемого пациента на фоне лейкопении отмечалось снижение абсолютного числа основных субпопуляций Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (NK). Наблюдалась умеренная активация как Т-хелперов, так и цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), что проявлялось ростом процента общих Т-клеток (CD3⁺) до 90,1 %, Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) до 69,6 %, активированных CD25⁺ — (CD3⁺CD25⁺) до 16,6 % и HLA-DR⁺-Т-клеток (CD3⁺HLA-DR⁺) до 19,2 %, активированных ЦТЛ (CD3⁺CD8^{bright}CD38⁺) до 12,4 %. Обнаружена активация NK, подтверждающаяся ростом процента активированных HLA-DR⁺-NK-лимфоцитов (CD16⁺56⁺HLA-DR⁺) до 9 % и активированных CD38⁺-NK-клеток (CD3⁻CD8^{dim}CD38⁺) до 23,5 %. При оценке В-клеток был обнаружен вторичный В-клеточный иммунодефицит. Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) CD64 на мембране клеток составляла 47 ед. (при сепсисе MFI выше 20 ед.). В сыворотке крови был увеличен уровень ЦИК до 86 отн. ед. при сохранении концентрации иммуноглобулинов А, М, G в пределах нормы. При исследовании иммунологических параметров на 7 и 21 сутки было отмечено постепенное снижение процента Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) до 64,2 % и 49,5 %, и увеличение относительного количества ЦТЛ (CD3⁺CD8⁺) до 24,7 % и 36,9 %, соответственно. В то же время, отмечалось нарастание признаков активации основных субпопуляций Т-клеток, что проявлялось ростом процента активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD25⁺) до 38,3 % и 10,1 %, HLA-DR⁺-Т-клеток (CD3⁺HLA-DR⁺) до 23,2 % и 34,7 %, активированных ЦТЛ (CD3⁺CD8^{bright}CD38⁺) до 15,4 % и 36,9 %, регуляторных Т-хелперных клеток (CD4⁺CD25^{bright}CD45⁺) до 6,8 % и 3,3 %. Наряду с этим сохранялись признаки активации NK-клеток, что подтверждалось высоким процентом активированных HLA-DR⁺-NK-лимфоцитов (CD16⁺56⁺HLA-DR⁺) до 8 % и 7 % и активированных CD38⁺-NK-клеток (CD3⁻CD8^{dim}CD38⁺) до 29,9 % и 23,5 %. При этом наблюдалось постепенное снижение MFI CD64 до 23,9 % и 4,2 %. Уровень ЦИК на 7 сутки составил 60 отн. ед.,

а на 21 сутки 68 отн. ед. При этом сохранялась высокая концентрации IgG на уровне 26,46 г/л и 23,8 г/л соответственно, что вероятно обусловлено проведением терапии пентаглобином.

Выводы. Развитие и течение септического процесса у больных ОМЛ проходит на фоне

комплексных нарушений показателей клеточного и гуморального иммунитета, своевременная коррекция которых позволит значительно улучшить общую выживаемость данной группы больных.

*Семелев В. Н.¹, Тыренко В. В.¹, Никитин В. Ю.¹, Успенская О. С.², Карягина Е. В.³,
Сухина И. А.¹, Тараканова Л. А.¹, Живописцева А. М.¹*

¹ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург

² ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», г. Санкт-Петербург

³ СПб ГБУЗ «Городская больница № 15»³, г. Санкт-Петербург

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В РЕМИССИИ

Нарушения в иммунной системе, как правило, являются основными причинами развития инфекционных заболеваний, возникающих в процессе проведения химиотерапии у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ).

Цель исследования: Оценить показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных ОМЛ в ремиссии.

Материал и методы. В исследовании приняли участие больные с диагнозом ОМЛ в количестве 25 человек, средний возраст которых составил 54,4±5,2 года. Программная терапия у этих больных проводилась по унифицированному протоколу лечения больных ОМЛ в возрасте моложе 60 лет (ФГБУ ГНЦ МЗ РФ). Клинико-гематологическая ремиссия у всех больных, участвующих в исследовании, достигнута после первого курса индукции по схеме «7+3» (цитарабин 100 мг/м² 2 раза в сутки в течении 7 дней, даунорубин 60 мг/м² в сутки в течении 3 дней), а индукционные курсы протекали без тяжелых инфекционных осложнений. Исследование субпопуляций лимфоцитов выполнялось на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter» (США) с использованием 4-х и 5-ти цветных комбинаций прямых моноклональных антител и изотипических контролей. Гуморальное звено иммунитета оценивали количественным определением иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа и определением

циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Результаты. У обследуемых групп больных на фоне лейкопении ($2,7 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$) выявлены признаки умеренной активации основных субпопуляций Т-клеток, как Т-хелперов, так и цитотоксических Т-лимфоцитов, характеризующиеся ростом процента общих Т-клеток ($CD3^+ = 82,4 \pm 8,5\%$), цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+ = 35,3 \pm 5,6\%$), активированных $CD25^+$ ($CD3^+CD25^+ = 24,6 \pm 3,6\%$) и HLA-DR⁺-Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+ = 19,8 \pm 4,6\%$), активированных Т-хелперов ($CD4^+CD45RO^+CD45RA^{+/-} = 35,2 \pm 3,7\%$) и активированных цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^{\text{bright}}CD38^+ = 11,5 \pm 1,6\%$). Наряду с этим отмечается рост процента активированных HLA-DR⁺-NK-лимфоцитов ($CD16^+56^+HLA-DR^+ = 3,2 \pm 0,8\%$) и активированных $CD38^+$ -NK-клеток ($CD3-CD8^{\text{dim}}CD38^+ = 25,5 \pm 2,8\%$) и резкое снижение относительного и абсолютного числа общих В-лимфоцитов ($CD19^+ = 1,7 \pm 0,8\%$). Содержание иммуноглобулина А, М, G и высокомолекулярных ЦИК оставалось в пределах нормы и составляло в среднем $2,02 \pm 0,8$ г/л, $1,28 \pm 0,4$ г/л, $16,52 \pm 1,2$ г/л и $54 \pm 4,8$ отн.ед. соответственно.

Выводы. У больных ОМЛ в период ремиссии выявлены признаки вторичного Т-клеточного иммунодефицита цитотоксического типа и выраженный вторичный В-клеточный иммунодефицит.

Сидорова Ж. Ю., Кострома И. И., Грицаев С. В.,
Дрижун Ю. С., Капустин С. И., Чечеткин А. В.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

АБЕРРАНТНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ МЕТИОНИНОВОГО И ФОЛАТНОГО ЦИКЛОВ У БОЛЬНЫХ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Аберрантное метилирование промоторных областей некоторых генов, участвующих в регуляции процессов клеточной дифференцировки и пролиферации, играет важную роль в патогенезе онкогематологических заболеваний. Ферменты метионинового и фолатного циклов задействованы в процессе метилирования ДНК, обеспечивая синтез метаболитов, выступающих в качестве доноров метильных групп. В связи с этим представляется актуальным изучение взаимосвязи статуса метилирования ДНК и полиморфизма генов ферментов метионинового и фолатного циклов при различных гемобластозах, в частности, у больных миелодиспластическим синдромом (МДС).

Цель. Изучить взаимосвязь частоты встречаемости (ЧВ) аллелей и генотипов основных ферментов фолатного и метионинового метаболических циклов и профиля аберрантного метилирования промоторных областей ряда генов супрессоров опухоли у больных МДС.

Материалы и методы. В качестве материала исследования использовали образцы геномной ДНК, полученные в дебюте заболевания от 51 больного МДС (24 мужчины и 27 женщин, средний возраст 62,4 года). Контрольную группу составил 121 донор крови (73 мужчины и 48 женщин). Идентификацию полиморфизма генов метилентетрагидрофолат редуказы (MTHFR, C677T и A1298C), метионин синтазы (MS, A2756G), редуказы метионин синтазы (MTRR, A66G) и метилентетрагидрофолат дегидрогеназы (MTHFD, G1958A) осуществляли с помощью ПЦР и последующего рестрикционного анализа. Аберрантное метилирование промоторных областей генов *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4* и *SFRP5* исследовали с помощью метил-специфической ПЦР. Статистическая обработка результатов проводилась по точному методу Фишера, с использованием показателя «отношения шансов» (OR – odds ratio) и р-значения.

Результаты. Аберрантное метилирование не более двух генов (0–2 МГ) было обнаруже-

но у 21 пациента (9 мужчин и 12 женщин) и 3–5 генов (3–5 МГ) — у 30 человек (15 мужчин и 15 женщин). Доля больных с генотипом MTRR66 GG была значительно выше в группе с 0–2 МГ, чем в группе с 3–5 МГ (47.6% против 13.3% соответственно, OR=5.9, 95%CI: 1.5–22.9, p=0.011). Гомозиготный вариант гена MTHFR (1298 CC) встречался у 6 пациентов в группе с 3–5 МГ и только у 1 пациента в группе с 0–2 МГ (20.8% против 4.8% соответственно, OR=5.0, 95%CI: 0.6–45.1, p=0.2). Доля пациентов с генотипом MTRR66GG и одновременным носительством аллеля MTHFR677T оказалась в 3 раза выше в группе с 0–2 МГ по сравнению с пациентами из группы с 3–5 МГ (33.3% против 10.0% соответственно, OR=4.5, 95%CI: 1.0–20.1, p=0.07).

Носительство аллеля MTHFR677T обнаруживалось у мужчин в группе с 0–2 МГ в 3 раза чаще, чем у женщин из той же группы (100% против 33.4% соответственно, OR=35.9, 95%CI: 1.7–77.0, p=0.005), а также значительно чаще, чем в группе мужчин с 3–5 МГ (100% против 46.7%, соответственно, OR=21.5, 95%CI: 1.2–437, p=0.01). В то же время, не было выявлено значительных отличий в ЧВ аллеля MTHFR677T у женщин в группах с 0–2 МГ и с 3–5 МГ (33.4% против 46.7% соответственно, OR=1.8, 95%CI: 0.4–8.4, p=0.7).

Выводы. При стратификации группы больных МДС по числу метилированных генов (0–2 МГ против 3–5 МГ) анализ аллельного полиморфизма генов ключевых ферментов метионинового и фолатного циклов позволил выявить ряд интересных особенностей, свидетельствующих об их вовлечении в процессы аберрантного метилирования ДНК. Дальнейшие исследования в данном направлении представляются перспективными, как с точки зрения выяснения молекулярных механизмов патогенеза МДС, так и с целью совершенствования подходов к его лечению.

Силина Н. Н., Головина О. Г., Смирнова О. А., Кобилянская В. А., Папаян Л. П.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии
и трансфузиологии ФМБА России», г. Санкт-Петербург*

ПОКАЗАТЕЛИ КОАГУЛОГРАММЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

При нормально протекающей беременности происходит повышение свертывающего потенциала крови. Лабораторно это проявляется увеличением активности коагуляционных факторов, которые непосредственно участвуют в гемостазе. Также выявляется изменение показателей, характеризующих систему фибринолиза и антикоагулянтов. Гиперкоагуляция постепенно нарастает в процессе беременности, что наиболее выражено в третьем триместре и в первый день послеродового периода. Чрезмерное проявление данного состояния говорит о неблагоприятном течении беременности и требует назначения патогенетической терапии. Поэтому использование общих популяционных интервалов нормальных колебаний значений коагуляционных тестов при беременности неприемлемо, а референсные значения для различных сроков гестации должны быть определены в каждой лаборатории с учетом используемых анализаторов и реактивов.

Цель исследования. Определение нормальных показателей коагулограммы при физиологической беременности.

Материалы и методы. Обследованы 93 здоровые беременные женщины в возрасте от 19 до 39 лет. Из них в I триместре беременности было 24, во II триместре — 52 и в III триместре — 17 женщин. Определение показателей коагулограммы проводили стандартными методами, согласно инструкциям фирм-производителей. Уровень D-димера определяли полуколичественным методом латексной агглютинации. Для оценки показателей использовали такие статистические параметры как медиана и 95% доверительный интервал (Me; ДИ). Критерий Манна-Уитни применяли для оценки достоверности различий. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Значения показателей коагулограммы, полученные при обследовании здоровых беременных женщин, претерпевали изменения в процессе прогрессирования беременности. Так, если индекс АПТВ во всех триместрах сохранял нормальные значения и лишь в III триместре имел тенденцию к укорочению (086; 0,81–1,00), то значения протромбинового теста по Квику последовательно увеличивались в каждом триместре (109,00%; 96,10–114,95%, ($p < 0,05$),

114,00%; 94,60–119,85%, ($p < 0,05$) и 117,00%; 93,60–127,53%, ($p < 0,05$) в I, II и III триместрах соответственно). Концентрация фибриногена уже в I триместре превышала нормальные значения (4,33 г/л; 2,63–5,75 г/л, $p < 0,05$) и постепенно нарастала, увеличиваясь во II до 4,60 г/л; 2,57–7,01 г/л, ($p < 0,05$) и в III триместре до 5,05 г/л; 3,75–7,12 г/л ($p < 0,05$). Значительные изменения претерпевали показатели, характеризующие активность фактора VIII, составляя 144,00%; 83,53–273,00%, ($p < 0,05$), 159,00%; 104,75–232,55% ($p < 0,05$) и 199,00%; 148,20–261,20% ($p < 0,05$) в I, II и III триместрах соответственно. Также изменялась активность фактора Виллебранда — 145,00%; 81,40–232,00% ($p < 0,05$) в I триместре, 185,00%; 101,00–289,00% ($p < 0,05$) во II и 207,50%; 104,00–275,00% ($p < 0,05$) в III триместрах. Исследование активности антитромбина — показателя, характеризующего антикоагулянтную систему, обнаружило у здоровых беременных значимые изменения на протяжении всех трех триместров (99,35%; 83,69–119,20% ($p < 0,05$) в I, 95,40%; 73,46–116,40% ($p < 0,05$) во II и 91,60%; 75,21–124,90% ($p < 0,05$) в III триместре). Уровень D-димера является важным показателем для характеристики степени активации гемостаза. Появление в циркуляции повышенного количества этих продуктов деградации фибрина указывает не только на активацию фибринолиза, но и на увеличение образования тромбина. В течение нормально протекающей беременности уровень D-димера в плазме крови постепенно увеличивается в несколько раз, достигая своего пика к первому дню послеродового периода. Чрезмерное повышение уровня D-димера является свидетельством неблагоприятного течения беременности, которое может развиваться вследствие целого ряда осложнений, в том числе тромботических, связанных с нарушением в системе гемостаза. Определение уровня D-димера в этом случае играет значимую роль. В нашем исследовании повышение уровня D-димера выявлялось уже с I триместра беременности: так показатель 500–1000 нг/мл выявлялся в 27,78%, 1000 нг/мл — в 11,11% и 2000 нг/мл — 5,55% случаев. Частота встречаемости высоких значений увеличивалась во II

триместре: 500–1000 нг/мл — у 29,41%, 1000 нг/мл — у 23,53% и 2000 нг/мл — 8,82% здоровых беременных женщин. В III триместре уже появился показатель 3000 нг/мл (10%), в то время как низкие уровни D-димера 500–1000 нг/мл отмечались реже (10%), а значение 1000 нг/мл возросло до 70%.

Выводы. Физиологически протекающая беременность сопровождается гиперкоагуляционными изменениями, наиболее выраженными в III триместре. Правильная интерпретация результатов коагуляционных тестов и уровня D-димера во время беременности возможна только при наличии референсных интервалов для разных сроков гестации.

Степанов А. А., Коротаев Е. В., Косарев А. Н., Пономарев С. А.

*Автономное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа — Югры
«Югорский научно-исследовательский институт клеточных технологий с банком стволовых клеток»*

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЭКСПОЗИЦИИ РАЗМОРОЖЕННОГО ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТА НА СОХРАННОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Достаточно часто в процессе инфузии ауто-трансплантата, содержащего гемопоэтические стволовые клетки (ГСК), наблюдаются побочные эффекты, которые возникают, в том числе, вследствие раздражения блуждающего нерва при инфузии холодного трансплантационного материала. Поэтому рекомендуется дольше прогревать размороженный трансплантат на водяной бане, а инфузию выполнять медленнее. С другой стороны, рекомендуется проводить инфузию трансплантата как можно быстрее, так как сохранность ГСК быстро снижается после размораживания. Однако в литературе нет данных о динамике снижения сохранности ГСК после размораживания, что помогло бы обосновать оптимальную продолжительность размораживания для достаточного прогрева трансплантата перед его инфузией. Кроме того, лабораторный контроль количества ГСК в размороженном трансплантате выполняется не всегда непосредственно после его инфузии. Например, пробу приходится транспортировать в лабораторию проточной цитометрии, что может занимать определенное время. Целесообразно установить значимость влияния данных обстоятельств на результаты контроля количества трансплантированных ГСК.

Цель исследования: оценить влияние экспозиции размороженного лейкоконцентрата на сохранность гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы. Было проведено стендовое испытание с использованием 15 лейкоконцентратов, полученных у пациентов с гемобластомами. Данные лейкоконцентраты, согласно актам списания, подлежали утилизации по причине смерти пациентов. Полученные у пациентов лейкоконцентраты были заморожены с использованием криопротектора 7,5% диме-

тилсульфоксида и заморожены с помощью программного замораживателя. Перед испытанием все образцы были одновременно разморожены в течение минуты, после чего из каждого крио-пакета был произведен отбор проб для определения концентрации жизнеспособных ГСК. Аналогичный отбор проб был произведен еще 2 раза с интервалом в 10 и 20 минут после размораживания. Лабораторный анализ проб выполнялся непосредственно после их отбора. Концентрацию ГСК и лейкоцитов оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием протокола ISHAGE. Сохранность ГСК при экспозиции 10 и 20 минут рассчитывали как процентное отношение концентрации ГСК соответственно в пробах № 2 и № 3 к их концентрации в пробе № 1, отобранных сразу после размораживания. Достоверность изменения сохранности оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты. Установлено, что уже через 10 минут после размораживания концентрация ГСК достоверно снизилась до $46 \pm 18,5\%$ от исходного уровня. Доля лейкоцитов с неповрежденными мембранами составила $80,7 \pm 10\%$. После дополнительных 10 минут экспозиции данные показатели оставались уже без изменений. Таким образом, значительные потери сохранности ГСК происходят в первые минуты после их размораживания. Учитывая полученные результаты, целесообразно проводить инфузию трансплантата сразу после его полного оттаивания. Так как инфузия недостаточно согретого трансплантата часто ведет к «эффектам холодной крови», необходимо регулировать скорость проведения процедуры с учетом самочувствия пациента. Очередную порцию трансплантата целесообразно размораживать только после нормализации со-

стояния пациента. Если протоколы трансплантации предполагают лабораторный контроль количества трансплантированных ГСК, то исследование необходимо выполнить как можно быстрее после размораживания, иначе достоверность полученных результатов не гарантирована.

Выводы. Сохранность ГСК снижается в первые 10 минут экспозиции после размораживания трансплантационного материала. При дальнейшей экспозиции сохранность более не снижается.

Тарковская Л. Р.¹, Веселкина О. С.², Гельцер И. В.¹, Морозова Т. В.¹

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»

² ЗАО «ВЕРТЕКС», г. Санкт-Петербурге

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НОТРОМБЕЛ НА ИНДУЦИРОВАННУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

Профилактика и лечение тромботических осложнений остается в настоящее время одной из приоритетных задач медицины. В связи с этим продолжается разработка и создание новых препаратов для антикоагулянтной и антиагрегантной терапии.

Цель работы. Изучение влияния 4-(2,3,4,5-тетраметоксибензоил) пиперазин-1-карбоксимидамид (2E)-бут-2-ендиоат гидрата (препарат Нотромбел) на индуцированную агрегацию тромбоцитов у доноров и пациентов, находящихся на индивидуально подобранной антиагрегантной терапии АСК-содержащими препаратами.

Материалы и методы. Антиагрегантные свойства Нотромбела оценивали *in vitro* по его влиянию на тромбоциты в тестах с агрегацией тромбоцитов, индуцированной с помощью АДФ в конечной концентрации 1 мкМ, коллагена (2 мкг/мл), ристоцетина (1 мг/мл) и арахидоновой кислоты (АА) в концентрации 0,5 мМ. Нотромбел в последовательно возрастающей конечной концентрации 0,125; 0,25 и 0,75 мкМ/мл в количестве 50 мкл вносили в кювету агрегометра CHRONO-LOG 490-4D, добавляли стандартизованную тромбоцитарную плазму (400 мкл), перемешивали, инкубировали при 37°C в течение 4 мин. После инкубации кювету помещали в агрегометр, добавляли 50 мкл индуктора и регистрировали в процентах максимальную амплитуду (МА) агрегации тромбоцитов. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA 6.1 фирмы StatSoft, Inc.

Результаты. Было обследовано 33 здоровых донора (18 женщин и 15 мужчин) с нормальными показателями коагулограммы и количеством тромбоцитов. У всех доноров Нотромбел подавлял индуцированную агрегацию с АДФ, АА,

коллагеном и ристоцетином по сравнению с контролем в концентрации 0,125 мкМ/мл и во всех последующих концентрациях ($p < 0,05$). Кроме того, было обследовано 34 пациента, находящихся на индивидуально подобранной терапии АСК-содержащими препаратами (17 женщин и 17 мужчин). Показатели коагулограммы этих пациентов: индекс АПТВ, протромбиновый тест по Квику, концентрация фибриногена, тромбиновое время, количество тромбоцитов были в пределах нормальных колебаний, в то время как активность фактора VIII ($133 \pm 59\%$) и активность фактора Виллебранда ($145 \pm 53\%$) некоторых пациентов превышала норму. У всех пациентов Нотромбел подавлял индуцированную агрегацию с АДФ и ристоцетином, а также усиливал подавление агрегации, индуцированной АА и коллагеном по сравнению с контролем в концентрации 0,125 мкМ/мл ($p < 0,05$). Среди обследованных были выявлены 12 пациентов (5 женщин и 7 мужчин), принимающих АСК-содержащие препараты, у которых не была подавлена агрегация тромбоцитов с АА и/или с коллагеном и, по всей видимости, отсутствовала ингибиция циклооксигеназы тромбоцитов. Активность фактора VIII ($146 \pm 63\%$) и фактора Виллебранда ($162 \pm 74\%$) у этой группы пациентов была еще выше, хотя статистически не отличалась от остальных пациентов. Если агрегацию тромбоцитов, индуцированную АДФ и коллагеном, у этой группы пациентов Нотромбел подавлял в конечной концентрации 0,125 мкМ/мл ($p < 0,05$), то подавление агрегации, индуцированной АА и ристоцетином, происходило только при концентрации Нотромбела 0,75 мкМ/мл ($p < 0,05$).

Выводы. Нотромбел достоверно подавляет не только АА- и коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов, как АСК-содержащие пре-

параты, но и обладает ингибирующим влиянием на АДФ- и ристоцетин-индуцированную агрегацию. Кроме того, Нотромбел достоверно подавляет коллаген- и АА-индуцированную агрегацию тромбоцитов у пациентов, принимающих АСК-содержащие препараты, в том случае, ког-

да, по данным лабораторного анализа, терапия АСК не имеет успеха. Поскольку Нотромбел одновременно обладает способностью к подавлению как АДФ-, так и коллаген-индуцированной агрегации, то этот препарат может применяться для двойной антиагрегантной терапии.

Тыренко В. В., Носков Я. А., Поляков А. С., Ковалев А. В.

ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕГИЛИРОВАННОГО ИНТЕРФЕРОНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НЕОПЛАЗИЙ

Хронические миелопролиферативные заболевания — группа заболеваний, характеризующихся клональными нарушениями гематопоеза. На настоящее время терапия классических Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний зависит от стратификации риска и вероятности развития тромбозов и геморрагических осложнений. Больные с низким риском осложнений обычно получают симптоматическую терапию: низкие дозы ацетилсалициловой кислоты при эссенциальной тромбоцитемии или ацетилсалициловую кислоту, в сочетании с венесекциями при истинной полицитемии. У больных с высоким риском осложнений часто требуется применение более агрессивной терапии с применением циторедуктивных агентов. В настоящее время гидроксимочевина во всем мире является золотым стандартом лечения хронических миелопролиферативных заболеваний. В тоже время, не разработана вторая линия терапии при неэффективности препаратов первой линии. Согласно ряду зарубежных работ, лечение пегилированным интерфероном представляется наиболее современным и эффективным подходом к терапии хронических миелопролиферативных заболеваний.

Материал и методы. В настоящий момент в клинике факультетской терапии Военно-медицинской академии получают лечение пегилированным интерфероном 24 пациентов, из них 9 по поводу истинной полицитемии, 11 по поводу эссенциальной тромбоцитемии, 2 по поводу первичного миелофиброза в хронической фазе и 2 по поводу вторичного миелофиброза после истинной полицитемии в хронической фазе. Все пациенты предварительно прошли стационарное обследование с целью верификации окончательного диагноза. Все больные до начала терапии прошли обследование в объеме: клинический

анализ крови, оценка иммунной реактивности пациента, цитогенетическое исследование с целью выявления наличия мутации янус-киназы 2 типа V617F и количественной оценки клеток периферической крови содержащих данную мутацию. Наличие мутантного клона было подтверждено у 23 (95,8%) пациентов. Всем пациентам с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией был назначен пегилированный интерферон- α -2a в дозировке 180 мкг 1 раз в неделю подкожно. Больным миелофиброзом назначался препарат в первоначальной дозе 90 мкг. С целью оценки эффективности проводимой терапии один раз в месяц выполнялся клинический анализ крови, один раз в три месяца выполнялось цитогенетическое исследование клеток периферической крови. С целью контроля переносимости проводимого лечения проводилась оценка токсичности по шкале NCI CTC, а также оценка качества жизни опросником EORTC QLQ-C30 (3-rd edition).

Средний период наблюдения составил 17,2 месяца. На момент статистической обработки данных 1 пациент с истинной полицитемией исключен из исследования по причине отсутствия гематологического ответа в течении 9 месяцев наблюдения. У всех остальных 19 больных с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией достигнута гематологическая ремиссия. При этом какой-либо значимой негематологической токсичности не отмечалось. За время наблюдения 7 пациентам требовалось снижение дозировки до 90 мкг по причине гематологической токсичности второй степени. После коррекции проводимой терапии отмечалась нормализация показателей крови. При оценке качества жизни отмечалось ухудшение самочувствия больных, а также появление таких симптомов, как боль, тошнота, снижение

аппетита. Статистически значимыми данные проявления были в течение первых двух месяцев терапии.

Результаты. В группе больных с миелофиброзом отмечалась увеличение уровня лейкоцитов и тромбоцитов на фоне проводимой терапии. При этом оценка качества жизни показала результаты, сходные с остальными больными. Также при самостоятельной оценке общего самочувствия отмечалась положительная динамика в виде улучшения к моменту обработки данных, что связано с уменьшением конституциональных проявлений в данной группе.

При оценке процента клеток, несущих мутацию JAK2v617f, получено статистически значимое снижение уровня аллельной нагрузки.

Выводы. Таким образом, опыт применения пегилированного интерферона показывает чрезвычайную эффективность препарата при лечении миелопролиферативных неоплазий. Данная терапия на настоящий момент позволила достичь клинико-гематологической ремиссии у большинства пациентов, при отсутствии каких-либо значимых побочных эффектов, что позволяет вести пациентов в амбулаторных условиях, не ограничивая их повседневную деятельность.

**Фоминых М. С.¹, Абдулкадыров К. М.¹, Туркина А. Г.², Шуваев В. А.¹,
Мартынкевич И. С.¹, Цаур Г. А.^{3,4}, Бедрак Н. В.⁵, Челышева Е. Ю.², Шухов О. А.²,
Абдуллаев А. О.², Удальева В. Ю.¹, Зотова И. И.¹, Шихбабаева Д. И.¹, Полушкина Л. Б.¹,
Иванова М. П.¹, Петрова Е. В.¹, Мартыненко Л. С.¹, Клеина Е. В.¹, Цыбакова Н. Ю.¹**

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России», г. Санкт-Петербург

² ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, г. Москва

³ ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1», г. Екатеринбург

⁴ ГАУЗ Свердловской области «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург

⁵ МБУ «Центральная городская больница № 7», г. Екатеринбург

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ *BCR-ABL* НА 12 МЕСЯЦЕВ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ И ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РАННЕГО ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗОЙ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

С целью раннего выявления больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) с высоким риском прогрессирования заболевания и высоким риском развития резистентности к терапии, введено понятие групп риска, применяемое к больным только с хронической фазой (ХФ) ХМЛ. Однако существующие шкалы определения групп риска учитывают только характеристики заболевания на момент диагностики, тогда как индивидуальная динамика клиренса опухолевого клона остается вне поля их зрения. В последние годы появились исследования, авторы которых обращают внимание не только на объем лейкоемического клона на определенных сроках терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) при ХМЛ (3, 6, 12 месяцев терапии), но и оценивают индивидуальные характеристики ответа на лечение, а именно индивидуальный клиренс опухолевого клона, определяемый при ХМЛ как скорость снижения уровня *BCR-ABL*^{IS} или соотношение экспрессии *BCR-ABL*^{IS} на разных сроках. Именно поэтому поиск прогностических маркеров для раннего выявления больных ХМЛ с высоким риском прогрессирования заболевания остается до сих пор актуальным вопросом.

Цель. Определить взаимосвязь между индивидуальными факторами раннего ответа на лечение и достижением оптимального ответа у больных с ХФ ХМЛ на 12 месяцев терапии.

Материалы и методы. В исследование были включены 54 пациента с ХФ ХМЛ. Медиана наблюдения составила 27 (диапазон 12–59) мес. В качестве терапии 1-й линии больные получали: ингибиторы тирозинкиназ 1-го поколения (ИТК1) — иматиниб 400 мг/сут ($n=41$), ингибиторы тирозинкиназ 2-го поколения (ИТК2) — нилотиниб 600 мг/сут ($n=12$), дазатиниб ($n=1$); 14 пациентов из группы ИТК1 впоследствии были переведены на ИТК2. Оптимальным ответом на 12 месяцев терапии ИТК считали достижение большого молекулярного ответа (БМО). С помощью многофакторного регрессионного анализа оценивали взаимосвязь уровня *BCR-ABL* на 12 месяцев терапии со следующими параметрами: ранний молекулярный ответ (РМО, $\leq 10\%$ *BCR-ABL* к 3 месяцам терапии), индивидуальная скорость элиминации *BCR-ABL*, вид терапии 1-й линии, смена терапии на ИТК2 при недостаточной эффективности ИТК1.

Результаты. Статистическая значимость уровня *BCR-ABL* на 12 месяцев терапии с оцениваемыми параметрами была следующей: индивидуальное соотношение уровня экспрессии *BCR-ABL* на 3 месяца к уровню на момент диагностики ($<0,1/>0,1$) — $p=0,044$, вид терапии больных в 1-й линии (ИТК1/ИТК2) — $p=0,0002$, смена терапии ИТК1 на ИТК2 (да/нет) — $p<0,0001$; достижение РМО — $p=0,51$, не имело статистической значимости и не показывает взаимосвязи. В случае неэффективности ИТК1, своевременная смена терапии на ИТК2 у резистентных к терапии больных приводила к частоте достижения БМО на 12 месяцев лечения, схожей с частотой БМО в группе ИТК1 в целом, устраняя влияние резистентности к ИТК1. Таким образом, соотношение индивидуального уровня *BCR-ABL* через 3 месяца терапии к начальному уровню, вид терапии 1-й линии (ИТК1/ИТК2) и фактор смены терапии при неэффективности ИТК1 оказывает статистически значимое влияние на уровень *BCR-ABL* к 12 месяцам терапии.

Выводы. Индивидуальные характеристики раннего ответа на лечение могут быть использованы как прогностические маркеры вероятности достижения оптимального ответа на проводимую терапию в отдаленные сроки. Эти результаты помогают правильно сориентироваться в тактике ведения больных, вовремя произвести смену терапии и предопределить большее число больных в группу оптимального ответа, что особенно важно для предупреждения прогрессии и получения более глубоких молекулярных ответов в будущем. Таким образом, учитывая хороший прогноз длительной выживаемости у большинства больных ХМЛ, важно уже на первых этапах терапии выделить группу больных неблагоприятного прогноза. Подбор максимально эффективной и переносимой терапии у этих пациентов и своевременная смена терапии ИТК с учетом оценки клиренса опухоли позволит улучшить результаты лечения и снизить риск прогрессии заболевания.

*Хамаганова Е. Г., Кузьмина Е. П., Чапова Р. С.,
Чугреева Т. П., Гапонова Т. В., Савченко В. Г.*

ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения России, г. Москва

HLA-A*~B*~C*~DRB1*~DQB1*-ГАПЛОТИПЫ У ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГИСТРЕ ФГБУ ГНЦ МЗ РФ

Москва — весьма многонациональный город и единственный регион России, имеющий положительное миграционное сальдо со всеми другими регионами РФ, при этом, согласно итогам последней переписи 2010 г., более 90% жителей Москвы относят себя к русским. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) — наиболее эффективный метод терапии гемобластозов и некоторых других заболеваний системы крови, однако только четверть пациентов, нуждающихся в алло-ТГСК, имеют HLA-идентичного родственного донора. Для остальных больных необходим поиск HLA-совместимого неродственного донора. Совместимость донора и реципиента не только по аллелям HLA-генов, но и по HLA-гаплотипам (HLA-гаплотип — совокупность генов HLA, лежащих на одной хромосоме) повышает шансы на успех алло-ТГСК.

Цель исследования. Установить особенности распределения пятилокусных HLA-A*~B*~C*~DRB1*~DQB1* гаплотипов у доно-

ров гемопоэтических стволовых клеток в регистре ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, которые самоопределились как русские.

Материал и методы. 557 доноров HLA-типированы по генам A*~B*~C*~DRB1*~DQB1* методом PCR-SSO с использованием анализатора Luminex 200 и наборов Lifecodes (Immucor, USA), или методом PCR-SSP с помощью наборов Protrans (Germany). У 504 доноров (90,5% от HLA-типированных), самоопределившихся как русские, проведено определение частот HLA-генов и их гаплотипов методом максимизации ожидания с использованием компьютерной программы «Арлекин» (<http://anthro.unige.ch/arlequin>).

Результаты. У 504 доноров (2n=1008) выявлено 597 различных пятилокусных HLA-A*~B*~C*~DRB1*~DQB1* гаплотипов. Из них наиболее высокочастотные:

1. A*01~B*08~C*07~DRB1*03~DQB*02 (n=41; 4,1%),
2. A*03~B*07~C*07~DRB1*15~DQB1*06 (n=25; 2,5%),

3. $A^*03\sim B^*35\sim C^*04\sim DRB1^*01\sim DQB1^*05$ ($n=23$; 2,3%),
4. $A^*02\sim B^*13\sim C^*06\sim DRB1^*07\sim DQB1^*02$ ($n=17$; 1,7%),
5. $A^*02\sim B^*07\sim C^*07\sim DRB1^*15\sim DQB1^*06$ ($n=16$; 1,6%),
6. $A^*25\sim B^*18\sim C^*12\sim DRB1^*15\sim DQB1^*06$ ($n=16$; 1,6%),
7. $A^*02\sim B^*18\sim C^*07\sim DRB1^*11\sim DQB1^*03$ ($n=9$; 0,9%),
8. $A^*02\sim B^*50\sim C^*06\sim DRB1^*07\sim DQB1^*02$ ($n=9$; 0,9%).

У русских доноров регистра ФГБУ ГНЦ МЗ РФ гаплотип АН8.1 — $A^*01\sim B^*08\sim C^*07\sim DRB1^*03\sim DQB^*02$ являлся наиболее высокочастотным HLA-гаплотипом (как и у большинства европейских популяций), однако наблюдалось некоторое понижение частоты этого гаплотипа по сравнению с другими европейскими популяциями. Частота гаплотипа $A^*03\sim B^*35\sim C^*04\sim DRB1^*01\sim DQB1^*05$, преобладающего у финнов (7,1%), у русских доноров Москвы была в 3 раза ниже, однако это выше, чем у большинства других европейских популяций. Распределение первых шести HLA-гаплотипов совпало с распределением этих гаплотипов среди русских Челябинской области,

а частоты этих гаплотипов оказались весьма близки к частотам у русских доноров из Челябинска. Достаточно высокое носительство гаплотипов $A^*02\sim B^*18\sim C^*07\sim DRB1^*11\sim DQB1^*03$ и $A^*02\sim B^*50\sim C^*06\sim DRB1^*07\sim$

$DQB1^*02$ у московских доноров, самоопределившихся как русские, вероятно говорит о влиянии миграционных потоков из разных регионов России на иммуногенетические характеристики московской популяции. Гаплотип $A^*02\sim B^*18\sim C^*07\sim DRB1^*11\sim DQB1^*03$ весьма распространён у южно-европейских популяций. Высокие частоты гаплотипа $A^*02\sim B^*50\sim C^*06\sim DRB1^*07\sim DQB1^*02$ характерны как для популяций Средиземноморского региона, так и для российских татар.

Выводы. Распределение HLA- $A^*\sim B^*\sim C^*\sim DRB1^*\sim DQB1^*$ гаплотипов у русских доноров в регистре ФГБУ ГНЦ МЗ РФ (Москва) схоже с распределением HLA-гаплотипов у русских из других регионов России. Однако распределение и частоты некоторых HLA-гаплотипов имеют отдельные особенности как в сравнении с другими европейскими популяциями, так и с популяциями русских из иных регионов нашей страны.

Чеботкевич В. Н., Кайтанджан Е. И., Киселева Е. Е., Бурyleв В. В., Стижак Н. П.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

ВИРУСНЫЕ И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ КРОВЕНОСНОГО РУСЛА У ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Инфекции кровеносного русла являются грозным осложнением у больных гемобластомами, особенно при проведении интенсивной цитотоксической терапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Во многих случаях первичный очаг инфекции остается не установленным. Определенное значение имеют инфекции, связанные с лечебными мероприятиями, в частности с установкой центрального венозного катетера. Необходимо также учитывать возможность проникновения патогенов при гемотрансфузиях. Так, частота заражения через контаминированный тромбоцитный концентрат (ТК) у онкогематологических больных, в связи с большой частотой переливания ТК, может достигать 1: 150 трансфузий.

Цель работы. Изучение частоты и этиологии инфекций кровеносного русла у онкогематологических больных.

Материалы и методы. Были проанализированы результаты бактериологических исследований крови за период с 1992 по 2012 гг. В качестве материала использовали венозную кровь, полученную от больных в период нейтропении или при повышении температуры более чем 38,5 °С. Всего изучено 438 штаммов микроорганизмов, выделенных из образцов крови больных с различными формами гемобластозов. Кроме того, с 2008 года проводили тестирование крови на наличие геномов вирусов группы герпесвируса в крови с помощью ПЦР в реальном времени. В экспериментальной части работы также проводили бактериологическое

исследование образцов ТК, полученных путем аппаратного тромбоцитафереза у доноров ин- ститута.

Результаты. Анализ 438 штаммов бактерий, выделенных от обследованных больных, показал преобладание грамположительных микроорганизмов — 69,2%. Следует отметить, что в последнее десятилетие (2002–2012) частота выявления грамотрицательных бактерий увеличилась до 40,2%. Установлено, что бактериальные инфекции кровеносного русла примерно в 40% развиваются на фоне обнаружения вирусов группы герпеса (ЦМВ и ВЭБ).

Выводы. В развитии инфекций кровеносного русла принимают участие как грамположительные, так и грамотрицательные микроорганизмы. Необходимо также помнить об установленной нами роли вирусов группы герпеса в возникновении бактериальных инфекций. Основным источником бактериемий являются эндогенные очаги (пневмония, пиелонефрит и др.), в то же время нельзя исключить возможность инфицирования через гемокомпоненты. Частота и значение гемотрансфузионного пути инфицирования требует дальнейшего изучения, особенно у иммуносупрессивных реципиентов.

Чумак А. А., Лебедева Л. Л., Пухликова Т. В., Зинкин В. Ю., Майорова О. А.

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы
«Станция переливания крови Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва*

HLA-МАРКЕРЫ ПРИОБРЕТЕННОЙ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ И ИХ ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ СОЧЕТАНИЯ У ДЕТЕЙ В МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ

Взаимосвязь антигенов HLA с развитием приобретенной апластической анемии (ПАА) у взрослых и детей была продемонстрирована многими исследованиями. Большинство из них основано на оценке частоты встречаемости групп аллелей HLA и выявлении HLA-маркеров заболевания. Однако, по нашему мнению, характер генотипических сочетаний маркеров предрасположенности к ПАА также заслуживает внимания.

Цель. Охарактеризовать маркеры предрасположенности и протекции к ПАА у детей, а также проанализировать генотипические сочетания выявленных маркеров в сравнении с группой контроля.

Материалы и методы. Проведено HLA-типирование детей с ПАА (86 мальчиков и 63 девочки в возрасте от 1 до 17 лет (средний возраст $10,8 \pm 4,8$ лет)), наблюдавшихся в разных больницах города Москвы. Контрольная группа состояла из 1500 образцов пуповинной крови условно здоровых новорожденных доноров. Индивидуумы в обеих группах были представлены восточно-европейскими славянами. Типирование HLA генов I и II классов было выполнено методами SSO и PCR-SSP. Сравнение частот генов HLA и их генотипических сочетаний в исследуемой и контрольной группах проводилось с использованием χ^2 -теста.

Результаты. Обнаружили положительную ассоциацию групп аллелей HLA-B*51 (OR=1.77, $p=0.04$), DRB1*15 (OR=2.29, $p=0.000002$)

и DQB1*06 (OR=1.97, $p=0.001$) с предрасположенностью к развитию ПАА у детей Московского региона. Последующий анализ выявил увеличение частоты генотипических сочетаний A*02 и B*51 (OR=2.7, $p=0.003$), B*07 и DRB1*15 (OR=2.5, $p=0.00002$), B*51 и DRB1*13 (OR=2.65, $p=0.03$) по сравнению с контролем. Подобное сочетание, вероятно, обусловлено явлением неравновесного сцепления и формированием единого гаплотипа, т. к. группы аллелей A*02, B*07, DRB1*13 сами по себе не ассоциированы с ПАА. Однако у больных ПАА нами было также выявлено сочетание в генотипе HLA-B*51 и DRB1*15, ассоциированное с почти пятикратным риском развития ПАА у детей. Анализ литературных данных показал, что для здорового славянского населения в целом не характерны ни гапло-, ни генотип HLA-B*51 и DRB1*15. Следовательно, можно предположить, что одновременное присутствие двух независимых маркеров HLA-B*51 и DRB1*15 в генотипе ребенка в большей степени увеличивает риск развития ПАА у детей, нежели каждый из маркеров по отдельности.

Выводы. В настоящей работе были охарактеризованы маркеры предрасположенности к развитию ПАА у детей: HLA-B*51, DRB1*15 и DQB1*06, а также охарактеризованы генотипические сочетания маркеров с группами аллелей других локусов, что может быть тесно связано с патогенезом этого заболевания.

*Шмелева В. М., Головина О. Г., Матвиенко О. Ю., Смирнова О. А.,
Карнич С. А., Гарифуллин А. Д., Волошин С. В., Папаян Л. П., Абдулкадыров К. М.*

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

ВЫЯВЛЕНИЕ ТРОМБОФИЛИЧЕСКОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА

Тест генерации тромбина (ТГТ) как способ интегральной оценки системы гемостаза в настоящее время считается наиболее перспективным для выявления тромбофилического статуса, а также оценки эффективности и индивидуализации антитромботической терапии. Введение в реакционную смесь тромбомодулина (ТМ) позволяет оценить вклад системы протеина С в генерацию тромбина и выявить наличие резистентности к активированному протеину С (APCR) как наследственного, так и приобретенного характера. По имеющимся литературным данным, использование иммуномодуляторов в лечении множественной миеломы (ММ) значительно увеличивает риск тромбообразования при наличии APCR. Предполагают, что наличие APCR у больных ММ связано с высоким титром моноклональных парапротеинов, выступающих в роли неспецифических аутоантител к протеину С.

Цель исследования. Выявление тромбофилического статуса у больных ММ, в том числе получающих леналидомид, с помощью ТГТ.

Материалы и методы. Обследовано 76 больных множественной миеломой, проходивших лечение в Российском НИИ гематологии и трансфузиологии, из них 12 пациентов с впервые выявленной ММ до начала проведения специальной терапии, 11 пациентов с впервые выявленной ММ после первых 3-х циклов индукционной терапии велкейд-содержащими программами (PAD, VD, VMP), 15 пациентов в фазе ремиссии заболевания (PAD, VD, VMP), 25 пациентов с прогрессией заболевания, получавших лечение велкейд-содержащими программами (VD, CVD, VMP) и классическими цитостатическими режимами (CVMP, МОССА, МР) и 13 больных рефрактерной/рецидивирующей ММ, получавших леналидомид (25 мг в течение 21 дня 28-дневного цикла) сочетано с профилактической противотромботической терапией малыми дозами аспирина. Постановка и анализ результатов ТГТ выполнялись по методике Hemker Н. С использованием PPP plasma±ТМ реагент (Thrombinoscope

BV, Maastricht, The Netherlands). Для определения референтных интервалов были обследованы 28 здоровых волонтеров. Статистический анализ выполнен с помощью пакета STATISTICA 6.1.

Результаты. В калиброванной автоматизированной тромбограмме (КАТ) оценивались показатели РТ (Peak thrombin — максимальное количество тромбина образующееся в образце, нМоль) и ЕТР (endogenous thrombin potential — эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль*мин). Для расчета чувствительности к ТМ были использованы показатели ЕТР и РТ, полученные в параллельной постановке с и без ТМ. В тесте, выполненном с добавлением ТМ, регистрировали снижение указанных показателей за счет активации системы протеина С. В контрольной группе показатели ЕТР и РТ при постановке без ТМ составили соответственно $1731,4 \pm 253,7$ и $292,3 \pm 50,0$, при постановке с ТМ $932,8 \pm 272,6$ и $196,2 \pm 58,1$ соответственно. Средние значения ЕТР и РТ больных ММ как на терапии леналидомидом, так и у пациентов на других программах терапии практически не отличались от контроля. На момент обследования ни у одного из пациентов с впервые выявленной ММ до начала проведения им циклов противомиеломной терапии ЕТР не превышал референтных значений (2179 нМмин без ТМ и 390 нМмин с ТМ). Эндогенный гемостатический потенциал был повышен у 9% больных с впервые выявленной ММ после первых 3-х циклов индукционной терапии, 6% больных в ремиссии, 16% больных с прогрессией заболевания и 8% больных, получавших терапию леналидомидом. При этом только 1 пациент с повышенными значениями ЕТР характеризовался состоянием APCR. Признаком резистентности к активированному протеину С в КАТ было ингибирование ЕТР менее 22% и/или РТ менее 15%. APCR выявлена у 18% пациентов с впервые выявленной ММ до начала проведения противомиеломной терапии, 16% больных с впервые выявленной ММ после первых 3-х циклов индукционной велкейд-содержащей терапии, у 6% больных в фазе ремиссии, 6%

больных с прогрессией заболевания и 23 % больных, получавших терапию иммуномодулятором. У больных, получавших леналидомид, в среднем по группе чувствительность к ТМ была достоверно меньше, чем у остальных ($24,9\% \pm 16,6$ против $43,4\% \pm 25,6$, $p=0.006$).

Выводы. В группе больных, получающих терапию леналидомидом, состояние АРСР является значительно чаще, чем у пациентов, получающих велкейд-содержащие и стандартные

цитостатические режимы. ТГТ открывает новые возможности при оценке протромботического фенотипа у пациентов с множественной миеломой, особенно при использовании в терапии иммуномодуляторов. В перспективе использование данного метода лабораторной диагностики может существенно улучшить профилактику тромботических осложнений у гематологических больных.

Шуваев В. А.¹, Шухов О. А.², Фоминых М. С.¹, Чельшева Е. Ю.², Мартынкевич И. С.¹, Туркина А. Г.², Абдулкадыров К. М.¹

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

² ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Москва

РАННЕЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА — КЛИНИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ

Достижение раннего молекулярного ответа ($BCR-ABL \leq 10\%$) к 3 месяцам терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) является важным прогностическим маркером дальнейшей эффективности терапии и выживаемости. Сроки переключения между ИТК первого и второго поколений в зависимости от достижения раннего молекулярного ответа — одно из основных отличий между различными рекомендациями по диагностике и лечению ХМЛ. Перспективой дальнейшего улучшения диагностики и лечения ХМЛ является перевод больных в фазу ремиссии без лечения (TFR) — отмена терапии при наличии стойкого глубокого молекулярного ответа.

Цель. Моделирование сравнения экономических затрат при раннем (3 месяца) и позднем (6 месяцев) переключении терапии между ИТК первого и второго поколений в зависимости от достижения раннего молекулярного ответа ($BCR-ABL \leq 10\%$) к 3 месяцам терапии с последующей отменой терапии у больных со стабильным молекулярным ответом (МО4.0; $BCR-ABL \leq 0,01\%$) в течение 2 лет.

Материалы и методы. Метод цепей Маркова с построением моделей для раннего и позднего переключения терапии ИТК. Размер модели: 700 впервые выявленных больных ХМЛ. Временной горизонт 5 лет. Частоты переходов между со-

стояниями (эффективность терапии, частота достижения МО4.0, вероятность успешной отмены терапии) были выбраны по результатам клинических исследований и собственных данных.

Результаты. Раннее по сравнению с поздним переключение между ИТК приводит к более частому успешному переводу больных в TFR фазу (13,59% при раннем переключении и 10,46% при позднем). Использование стратегии раннего переключения требует 8,54% дополнительных затрат, но позволяет получить 6099 дополнительных QALY (лет жизни с поправкой на качество). Коэффициент стоимости-эффективности затрат на 1 дополнительный QALY при использовании стратегии раннего по сравнению с поздним переключением составляет 46900 руб., что удовлетворяет критериям рациональности внедрения. Анализ чувствительности показал, что при генерической замене ИТК второго поколения затраты при использовании раннего и позднего переключений одинаковы, что позволяет получать беззатратную дополнительную эффективность.

Выводы. Фармакоэкономический анализ позволяет моделировать затраты бюджета при использовании различных модификаций диагностики и лечения хронического миелолейкоза с оценкой экономической целесообразности их внедрения.

Юркин А. К., Максимов А. Г.

ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ г. Санкт-Петербург

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ЦИТОКИНОВ И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОМАМИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

В последние десятилетия достигнуты значительные результаты в комплексном лечении злокачественных лимфом (ЗЛ), однако сохраняется высокая частота постцитостатических инфекционных осложнений. К факторам, определяющим иммунитет человека, относят многие показатели: циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли (ФНО- α), прокальцитонин, иммуноглобулины и другие.

Цель исследования. Изучить роль динамики некоторых цитокинов и иммуноглобулинов у больных ЗЛ после химиотерапии в оценке постцитотоксических инфекционных осложнений.

Материалы и методы. Обследован 151 пациент, среди них 115 (75,2%) мужчин и 36 женщин в возрасте от 18 до 80 лет. Средний возраст женщин составил $49,8 \pm 3,3$ лет, мужчин — $53,0 \pm 3,3$ года. Объем первичного обследования больных ЗЛ соответствовал Международным рекомендациям. Оценка общесоматического статуса больных проводилась по шкале Карновского в модификации Восточной Кооперативной Онкологической Группы. Идентификацию морфологического варианта ЗЛ проводили при изучении биопсийного материала лимфатических узлов или других пораженных тканей в соответствии с усовершенствованной Кильской классификацией ЗЛ. Стадию заболевания определяли согласно классификации, принятой в Ann-Arbor. В зависимости от морфологической формы лимфомы и степени злокачественности все больные были разделены на 2 группы. В группу А вошли 68 пациентов с индолентным течением заболевания, среди которых 51 мужчина и 17 женщин. В группу В вошли 83 пациента с агрессивным течением заболевания, среди которых 64 мужчины и 19 женщин. Определение в сыворотке крови интерферона альфа (IFN- α), ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов ИЛ-1 и ФНО- α также определяли методом ИФА. Прокальцитонин определяли с помощью прокальцитонино-

го теста. Статистическая обработка данных проведена с помощью табличного редактора Excel и пакета программ по статистической обработке данных Statistica for Windows 7.

Результаты. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) до начала лечения в группах А и В не имели достоверных различий ($55,50 \pm 1,86$ и $60,16 \pm 1,49$ ед.) соответственно ($p > 0,05$). ЦИК после лечения находились на верхних границах нормы, так, в группе А показатель составил $56,81 \pm 2,33$ ед., а в группе В был несколько выше — $65,98 \pm 2,18$ ед. ($p < 0,01$). Таким образом, изначально, уже до лечения больные с агрессивным течением заболевания (группа В) были более иммунокомпрометированы по гуморальному и местному иммунитету. Циркулирующие иммунные комплексы до лечения в группах не имели больших различий. Уровень ИЛ-1 не имел каких либо значимых различий в группах при поступлении и после лечения, однако ИЛ-6 при поступлении достоверно имел различия в группах. Так, в группе В его уровень был достоверно выше — ($2,00 \pm 0,26$ и $6,24 \pm 0,82$ пг/мл соответственно), $p < 0,001$. Можно с оговоркой назвать ИЛ-6 медиатором агрессивного течения заболевания больных с ЗЛ. Такая тенденция имеется и для показателей IgA, IgM, IgG: до лечения эти показатели не превышали нормальных значений, но в группе В они были несколько выше, чем в группе А ($p < 0,05$). Показатель ПКТ в группе с агрессивным течением заболевания был значительно выше, поскольку в этой группе инфекционные и постцитотоксические осложнения были значительно тяжелее, чем в группе с индолентным течением заболевания (стадия нейтропении в группе В — $3,24 \pm 0,15$ у. е. была значительно глубже и протекала тяжелее, чем в группе А — $2,74 \pm 0,17$ у. е., $p < 0,01$). Нейтропения, развившаяся в период проведения курса ПХТ, имела более глубокий характер у пациентов группы В ($p < 0,05$), и протекала с более выраженной иммуносупрессией.

Выводы: Больные с индолентными и агрессивными ЗЛ представляют собой гетерогенные группы по гуморальным иммунологическим

показателям. Больные с агрессивным течением заболевания характеризуются большей выраженностью супрессии гуморального и местного иммунитета и имеют более высокий показатель

ПКТ, частота и тяжесть инфекционных постцитотоксических осложнений была значительно выше, чем у больных с индолентным течением заболевания.

Юрьев Н. А., Воробьева А. И., Воробьева Н. А.

*ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет»,
ФГБУ Северный филиал Гематологического научного центра МЗ РФ,
Северный (Арктический) Федеральный университет, г. Архангельск*

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ КАК ФАКТОРА РИСКА СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ ПРИ ТРАНСШИРОТНЫХ РЕЙСАХ В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ

Россия является поистине великой арктической державой, и одной из важнейших задач современного научного сообщества является интеллектуальное освоение Арктики, т. е. организация и проведение всесторонних фундаментальных, прикладных исследований и мониторинговых наблюдений. Исключительная важность в изучении и освоении Арктического региона отводится фундаментальным научным исследованиям, с этой целью уже сейчас существует возможность для проведения морских экспедиций. В 2012 году в рамках инновационного научно-образовательного проекта «Арктический плавучий университет» была проведена первая такая экспедиция, а по настоящий момент проведено 7 рейсов-экспедиций. Однако важно понимать, что Арктика — это экстремальная зона для работников, требующая особого внимания. На здоровье людей, работающих в суровых условиях Арктики, оказывает влияние огромное количество вредных факторов. Сохранение здоровья членов экспедиции является приоритетной задачей для поддержания высокой производительности их труда. Система кровообращения служит отличным маркером успешности адаптации организма к различным условиям среды, а универсальным механизмом, через который реализуется действие многочисленных факторов риска развития сердечно-сосудистых осложнений, в настоящее время общепризнанна эндотелиальная дисфункция (ЭД).

Цель исследования. Оценка состояния эндотелия при трансширотных рейсах в условиях Арктики.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Северного филиала ГНЦ МЗ РФ. В группу вошли участники экспедиции «Арктический плавучий университет-2015» (n=11). В течение 2-х дней до начала экспедиции и в те-

чение 2-х дней после им был произведен забор венозной крови для проведения лабораторного исследования (определение общего гомоцистеина (ГЦ), уровня фолатов и витамина В12, активности РАІ-1, молекулярно-генетическое исследование). Вторая группа была сформирована из числа участников экспедиции, прошедших неинвазивное исследование состояния эндотелия методикой EndoPAT до начала и во время экспедиции (n=25).

Результаты. Дефицита фолатов и витамина В₁₂ в обследованных группах не выявлено. Активность РАІ-1 до экспедиции превышала референтную границу у 36% испытуемых; после рейса — у 100%. Увеличение концентрации ГЦ в плазме отмечалось у 63% исследуемых еще до начала экспедиции. Для детального исследования степени влияния трансширотных рейсов в условиях Арктики на развитие ЭД было проведено сравнение показателей ГЦ, витамина В12, фолатов и активности РАІ-1 до и после экспедиции. Статистически значимых различий в уровне ГЦ до и после экспедиции не выявлено (p=0,424). Однако отмечалась некоторая тенденция к увеличению содержания данной аминокислоты после экспедиции. Выявлено статистически значимое повышение активности РАІ-1 после экспедиции (p=0,003), что характеризует снижение фибринолитической активности и, как следствие, повышение риска сосудистых осложнений. С помощью корреляции Спирмена был вычислен статистический показатель вероятностной связи между показателями уровня ГЦ после экспедиции и исходным уровнем витамина В12 и фолатов. Выявлена обратная статистически значимая сильная корреляция и умеренной силы корреляция концентрации ГЦ у первой группы после экспедиции с исходной (до экспедиции) концентрацией витамина В12 (r_s = -0,755

$p=0,007$) и фолатов ($r_s = -0,606$, $p=0,048$) соответственно. По результатам молекулярно-генетического исследования был проведен анализ частоты встречаемости полиморфизмов MTHFR: 677 C>T и SERPINE1: -675 5G>4G. У 37% исследуемой группы обнаружено патологическое носительство гена MTHFR (гомозиготное состояние — у 10% и гетерозиготное — у 27%). Патологический полиморфизм PAI-1 выявлен у 77% (41% — 4G/4G и 37% — 5G/4G). Оценку взаимосвязи активности PAI-1 с носительством различных аллельных вариантов гена PAI-1: -675 5G>4G проводили с использовани-

ем критерия Крускала-Уоллиса с поправкой Бонферрони ($p=0,0125$). Установлено статистически значимое увеличение активности PAI-1 у лиц с полиморфизмом 4G/4G и 5G/4G ($p=0,004$). Взаимосвязи повышения уровня ГЦ в плазме с носительством различных аллельных вариантов гена MTHFR не установлено.

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать предположение, что пребывание в суровых условиях Арктики оказывает значимый неблагоприятный эффект на сосудистый эндотелий, провоцируя развитие его дисфункции.

Алфавитный указатель

Абдулкадыров К. М.....	16, 17, 20, 39, 46, 48, 52, 63, 67, 68	Ильдебенева С. А.....	28	Пухликова Т. В.....	41, 66
Абдуллаев А. О.....	63	Исаева Н. В.....	26, 29	Розанова О. Е.....	11
Адамова Г. В.....	53	Йовдий А. В.....	27	Романенко Н. А.....	52
Азизова Т. В.....	53	Кайтанджан Е. И.....	65	Ругаль В. И.....	52
Алексян Л. Р.....	30	Капустин С. И.....	22, 23, 30, 58	Румянцева А. В.....	53
Алянский А. Л.....	5	Каргин В. Д.....	30	Рыбакова Л. П.....	30
Анацкая Л. Н.....	21, 55	Кардовский А. Г.....	30	Рыбкина В. Л.....	53
Арабей А. А.....	49	Карпич С. А.....	67	Рыжовина Ю. Е.....	11
Артюхина З. Е.....	52	Карягина Е. В.....	57	Саврилова А. М.....	48
Афанасьев Б. В.....	5, 6, 7, 40	Киселева А. Н.....	29, 32	Савченко В. Г.....	64
Ашуралиев Н. К.....	8	Киселева Е. Е.....	65	Свинцова Н. В.....	12
Ашурова Г. С.....	9	Клеина Е. В.....	16, 17, 20, 39, 46, 63	Свитинова С. П.....	22, 23
Бабенко Е. В.....	5	Ключников Д. Ю.....	18, 33	Северин И. Н.....	21, 36, 55
Байков В. В.....	7	Кобиланская В. А.....	34, 59	Семелев В. Н.....	56, 57
Бакай В. В.....	11	Ковалев А. В.....	62	Семенова Н. Ю.....	52
Барабанщикова М. В.....	7	Колесникова Т. С.....	49	Сидорова Ж. Ю.....	22, 23, 58
Бархатов И. М.....	7	Коротаев Е. В.....	35, 60	Силина Н. Н.....	59
Баховадинов Б. Б.....	8, 9, 40	Косарев А. Н.....	35, 60	Смирнова О. А.....	30, 59, 67
Бедерак Н. В.....	63	Космачева С. М.....	49	Солдатенков В. Е.....	30
Белова Н. И.....	10	Кострома И. И.....	22, 23, 42, 58	Степанов А. А.....	35, 60
Белоус И. А.....	32	Костюнина В. С.....	14, 36	Стижак Н. П.....	65
Беляева Е. В.....	11	Костяев А. А.....	37	Сухина И. А.....	56
Беряев А. С.....	11	Кривенко С. И.....	49	Сухина И. А.....	57
Бессмельцев С. С.....	16, 20, 22, 23, 30, 34, 45, 52	Криницына Е. Е.....	24, 38	Сулушин К. С.....	28
Бубнова Л. Н.....	11, 45	Кувшинов А. Ю.....	16, 17, 20, 39	Табаров Х.....	9
Бураков В. В.....	30	Кузьминова Е. П.....	64	Тараканова Л. А.....	56, 57
Бурyleв В. В.....	65	Кузьмич Е. В.....	5	Тарковская Л. Р.....	61
Бутина Е. В.....	12, 32	Кучер М. А.....	5, 8, 40	Теплякова О. В.....	53
Бушуева Н. А.....	13	Лагунова О. Р.....	26	Тепляков И. И.....	53
Васина Е. В.....	14, 36	Лебедева Л. Л.....	41, 66	Тиранова С. А.....	22, 23, 52
Вахидов А. В.....	8	Левандовская О. В.....	49	Троянов А. А.....	49
Веселкина О. С.....	61	Лесниченко И. Ф.....	42	Трусова Л. М.....	33
Витрищак А. А.....	5	Линников С. Ю.....	16, 20	Туркина А. Г.....	63, 68
Власова Ю. Ю.....	7	Майорова О. А.....	41, 66	Тыренко В. В.....	56, 67, 62
Войтехович А. С.....	36	Макаренко О. А.....	5	Тюмина О. В.....	18, 33
Волкова О. Я.....	16	Максимова А. Г.....	69	Удальева В. Ю.....	63
Волошин С. В.....	16, 17, 20, 39, 67	Максимов О. Д.....	26	Успенская О. С.....	57
Волчок С. Е.....	18, 33	Мамаев Н. Н.....	7	Утемов С. В.....	37
Воробьева А. И.....	70	Мартынченко Л. С.....	16, 17, 20, 39, 46, 48, 63	Федоровская Н. С.....	26
Воробьева Н. А.....	10, 13, 19, 70	Мартынкевич И. С.....	16, 17, 20, 22, 23, 39, 46, 48, 63, 68	Фоминых М. С.....	48, 63, 68
Гамыркина Д. Р.....	19	Матвиенко О. Ю.....	67	Фурман О. Г.....	36
Гапонова Т. В.....	64	Мельниченко В. Я.....	50, 51	Хаваева М. Г.....	16
Гарифуллин А. Д.....	16, 17, 20, 39, 67	Минаева Н. В.....	38	Хамаганова Е. Г.....	64
Гельцер И. В.....	61	Мозгунова Г. В.....	16	Хватова Л. А.....	49
Глазанова Т. В.....	11	Моисеева Л. М.....	11	Ходосовская Е. В.....	49
Головачёва А. А.....	5	Морозова Е. В.....	7	Хусанова Е. М.....	28
Головина О. Г.....	59, 67	Морозова Т. В.....	34, 61	Цаур Г. А.....	63
Гончарова Н. В.....	21, 55	Мочкин Н. Е.....	50, 51	Цыбакова Н. Ю.....	46, 48, 63
Грицаев С. В.....	22, 23, 42, 58	Наговицина А. С.....	43	Цыркунова Ж. Ф.....	49
Гусейнова У. А.....	16	Назарова Е. Л.....	43	Чапова Р. С.....	64
Данилкович Н. Н.....	49	Назирова В. Ю.....	56, 57	Чеботкевич В. Н.....	65
Демьянова В. Т.....	43	Никулин Д. А.....	12	Чельшева Е. Ю.....	63, 68
Докшина И. А.....	26, 43	Носков Я. А.....	62	Чечеткин А. В.....	11, 30, 42, 46, 58
Дрижун Ю. С.....	22, 23, 58	Овсепян В. А.....	44, 45	Чубукина Ж. В.....	11, 22
Ермачкова М. Ю.....	38	Павлова А. А.....	45	Чугреева Т. П.....	64
Ерохина Л. В.....	11	Павлова И. Е.....	11, 45	Чумак А. А.....	41, 66
Жернякова А. А.....	48	Паина О. В.....	5	Шабанова Е. С.....	46, 48
Жибурт Е. Б.....	50, 51	Папаян Л. П.....	30, 59, 67	Шардаков В. И.....	24, 27, 30, 43
Живописцева А. М.....	57	Петевка Н. В.....	36	Шахмуть Е. А.....	49
Загоскина Т. П.....	24, 27	Петрова А. Л.....	5	Шестаков Е. А.....	50, 51
Зайдуллоев Б. Б.....	9	Петрова Е. В.....	46, 48, 63	Шилова Е. Р.....	34
Зайцева Г. А.....	12, 32	Петёвка Н. В.....	14	Шихбабаева Д. И.....	48, 63
Зенина М. Н.....	52	Полушкина Л. Б.....	46, 48, 63	Шмелева В. М.....	30, 67
Зинкин В. Ю.....	41, 66	Поляков А. С.....	62	Шубенкина А. А.....	44, 45
Злотникова М. В.....	25	Полякова А. П.....	16	Шуваев В. А.....	48, 63, 68
Зотина Е. Н.....	24, 26, 27, 43, 45	Пономарев С. А.....	35, 60	Шухов О. А.....	63, 68
Зотова И. И.....	63	Попонина Е. А.....	32	Эстрина М. А.....	5
Зубаровская Л. С.....	5, 7	Попцов А. Л.....	38	Юркин А. К.....	56, 69
Иванова М. П.....	46, 48, 63	Потапнев М. П.....	49	Юрьев Н. А.....	70
Иванова Н. Е.....	5	Потихонова Н. А.....	52	Языкова М. Ю.....	33
Игнатъев С. В.....	38	Протопопова Е. Б.....	50, 51	Ярыгин Д. Н.....	26