АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

25–27 МАЯ 2021 ГОДА

МВЦ «Крокус Экспо»

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА
М., 2021 – 111 с.

Председатель оргкомитета
Борисевич И.В.

Сопредседатели оргкомитета:
Шипулин Г.А.
Хаитов М.Р.
Баклаушев В.П.

25–27 мая 2021 года
г. Москва

ISBN 978–5–906484–62–8
© «МЕДИ Экспо», 2021

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ «АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА

ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ СИНДРОМОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ. ОПЫТ СОЗДАНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ

Абрамов И.С., Лисица Т.С., Строганова А.М., Данишевич А.М., Хахина А.О., Закаморная А.И., Мацвай А.Д., Шипулин Г.А.

ФГБУ «ЦСП» ФМБА России

Актуальность

Ежегодно в Российской Федерации регистрируются более 500 тысяч новых случаев злокачественных новообразований, из них более 50 тысяч новых случаев обусловлено наследственными формами. Своевременная диагностика данных форм позволит выявлять онкологические заболевания на ранних стадиях (в том числе, у родственников-носителей мутаций), своевременно проводить лечебно-профилактические мероприятия, а также применять передовые высокоэффективные таргетные препараты, действие которых обусловлено наличием повреждений ДНК вследствие герминальных нарушений (препараты платины, PARP-ингибиторы).

Цель

Профилактика и ранняя диагностика наследственных форм онкологических заболеваний путем создания базы данных и разработки программного обеспечения для анализа данных таргетного высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы

В исследование вошли 1860 образцов, полученных от пациентов, у которых установлено онкологическое заболевание, с высокой вероятностью наследственной природы или отягощенным семейным анамнезом, в том числе с раком молочной железы, раком яичника, раком тонкой и толстой кишки, раком желудка, раком поджелудочной железы, раком щитовидной железы, раком почки, меланомой кожи, лимфомой Ходжкина, саркомой Юинга, лейомиосаркомой. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови. Подготовку библиотек ДНК осуществляли с использованием кастомной панели зондов KAPA Hyper

(Roche). Панель включала в себя зонды для таргетного обогащения кодирующей части 44 генов: APC, ATM, AXIN2, BARD1, BLM, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, DICER1, EPCAM, GALNT12, GREM1, MEN1, MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, NTHL1, PALB2, PMS2, POLD1, POLE, PTCH1, PTCH2, PTEN, RAD51C, RAD51D, RET, SMAD4, STK11, SUFU, TP53, TSC1, TSC2, VHL, WT1. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina).

Результаты

Выявлено 152 патогенных/вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности у 278 пациентов в генах BRCA1, BRCA2, PALB2, MLH1, EPCAM, MUTYH, TP53, ATM, BARD1, MSH6, NBN. Также выявлено 1118 варианта нуклеотидной последовательности с неизвестным клиническим значением. В результате была создана локальная база данных генетических вариантов, содержащая также клинико-анамнестические данные. На данный момент в базу депонировано 6252 варианта нуклеотидной последовательности. Из них 1027 – уникальные варианты, выявленные у 1 пациента (то есть с частотой менее 0,05% в нашей выборке)

Заключение

По мере дополнения базы данных новыми данными секвенирования будет проводиться дальнейшая статистическая и клиническая характеристика выявленных генетических вариантов. В перспективе, накопленные данные могут быть использованы как для анализа эпидемиологии онкологических заболеваний, так и разработки тест-систем, актуальных для российской популяции.

HE4 – МАРКЕР РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ, МОНИТОРИНГА И ПРОГНОЗА CA125-НЕГАТИВНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ

Готько О.В., Державец Л.А., Прохорова В.И.

РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова
г. Минск

Актуальность

Поиск новых маркеров CA125-негативного рака яичников (РЯ) обусловлен низкой чувствительностью онкомаркера CA125 для ранних стадий, недостаточным для диагностики уровнем его экспрессии в 20% случаев и потерей информативности после курсов химиотерапии у части пациенток.

Цель

Оценить значимость определения в крови белка 4 эпидидимиса человека (HE4) для диагностики, мониторинга и прогноза у пациенток с CA125-негативным РЯ.

Материалы и методы

В исследование включены 195 пациенток, страдающих РЯ I-IV стадии. Критерием отбора являлся уровень CA125 <35 Е/мл до начала лечения (группа 1, n=43) или после 3 курсов адъювантной полихимиотерапии (АПХТ) (группа 2, n=152). Определение в крови CA125 и HE4 проводили до начала лечения и в динамике химиотерапии.

Результат

Высокие уровни HE4 до начала лечения обнаружены у 180 (92,3%) из 195 обследованных пациенток. Содержание HE4 в крови коррелировало с распространенностью процесса и значимо отличалось при сравнении ранних и поздних стадий РЯ (p<0,001). Анализ результатов динамического определения HE4 показал статистически значимое снижение его уровня в изучаемых группах при проведении АПХТ

(p<0,001).

Анализ распределения пациенток в группе 1 в зависимости от стадии заболевания показал, что 81,3% составили пациентки с I-II стадией РЯ (n=35). Доля пациенток с III и IV стадией заболевания составила 14,0% (n=6) и 4,7% (n=2) соответственно. Высокие уровни HE4 наблюдались у 15 (65,2%) из 23 пациенток с I стадией и у 11 (91,7%) из 12 пациенток со II стадией РЯ. Динамическое определение HE4 проведено у 35 пациенток изучаемой группы. После 3 курсов АПХТ уровень HE4 снизился до возрастной нормы у 31 (88,6%) пациентки, из них прогрессирование диагностировано у 3 (9,7%) женщин. У 28 (90,3%) пациенток прогрессирование заболевания не выявлено. У 4 (11,4%) из 35 пациенток после проведенного лечения выявлено прогрессирование процесса, уровень HE4 после 3 курсов АПХТ при этом оставался выше возрастной нормы у всех женщин (100%). Медиана времени наблюдения составила пять лет.

В группе 2 проведено изучение взаимосвязи уровня HE4 после 3 курсов АПХТ с выживаемостью до прогрессирования. Для этого пациентки разделены на 2 подгруппы: в первую вошли 80 (52,6%) пациенток с нормальными значениями HE4 после 3 курсов АПХТ, во вторую – 72 (47,4%) пациентки с уровнем HE4, превышающим возрастную норму. Установлены статистически значимые различия 1-, 3 – и 5-летней выживаемости до прогрессирования в зависимости от уровня HE4 после 3 курсов АПХТ в изучаемых подгруппах (p<0,001). У пациенток с нормальным уровнем HE4 1-, 3 – и 5-летняя выживаемость до прогрессирования составила 98,7%, 91,0% и 71,3% соответственно, а в группе пациенток с повышенным уровнем маркера – 59,2%, 8,5% и 4,2% соответственно.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о целесообразности определения маркера HE4 для диагностики ранних стадий заболевания и мониторинга терапии у пациенток с CA125-негативным РЯ, а также для мониторинга и оценки прогноза у пациенток с нормализацией уровня CA125 после 3 курсов АПХТ.

ОПЫТ ВЫЯВЛЕНИЯ FLT3 И NPM1 МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ КРАСНОЯРСКОГО РЕГИОНА С ДИАГНОЗОМ ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ

Маслюкова И.Е.[1], Субботина Т.Н.[2], Мартынова Е.В.[3], Верещагина С.В.

1 ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск.
2 ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск.
3 «Краевая клиническая больница», Красноярск
г. Красноярск

Актуальность

Мутации в генах FLT3 и NPM1 входят в перечень мутаций, определение которых рекомендовано при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Для их обнаружения и количественного анализа чаще используют фрагментный анализ. В Красноярском крае пациентам с ОМЛ данный вид исследования ранее не проводился.

Цель

Анализ драйверных мутаций в генах FLT3 и NPM1 у пациентов Красноярского региона с диагнозом ОМЛ.

Материалы и методы

Шесть пациентов с диагнозом ОМЛ, проходивших в 2020 г. лечение в КГБУЗ «Красноярская краевая больница» г. Красноярска обследованы на наличие FLT3 и NPM1 мутаций методом фрагментного анализа.

5'-FAM меченные ампликоны (FLT3-ITD и NPM1) и рестрикты (FLT3-TKD) разделяли капиллярным электрофорезом. Положительные образцы секвенировали по Сэнгеру.

Результат

Важно отметить, что никому из шести пациентов с ОМЛ своевременно не был проведен генетический анализ с целью выявления драйверных, ассоциированных с ОМЛ мутаций в генах FLT3 и NPM1, по причине невозможности выполнения такого анализа в г. Красноярске. В нашу лабораторию образцы крови соответствующих пациентов были переданы в разные сроки после начала заболевания. Из шести пациентов с ОМЛ у троих (№1, №2 и №6) были выявлены какие-либо FLT3 и/или NPM1 мутации. Все три пациентки на момент проведения данного анализа находились в стадии рецидива.

Пациентка №1 с вторичным ОМЛ в исходе из миелодиспластического синдрома в дебюте заболевания не имела хромосомных аномалий. В предоставленном нам образце крови была выявлена FLT3-ITD мутация c.1774_1838–1dup (не представленна в COSMIC), уровень аллельной нагрузки – 18%, длина ITD повтора – 153 bp. Поскольку данный повтор перекрывает часть 14 экзона и весь 14 интрон, то можно предполагать влияние этой мутации на механизм сплайсинга. Кроме этого у пациентки обнаружена самая распространенная NPM1 мутация c.860–863dup с уровнем аллельной нагрузки 34%. Пациентка по клиническим факторам относилась к группе неблагоприятного прогноза (возраст старше 60 лет и вторичный ОМЛ), но по выявленным нами молекулярным маркерам – к группе благоприятного прогноза (NPM1«+» / FLT3«+» < 50%). На сегодняшний день пациентка скончалась.

У пациентки №2 с диагнозом ОМЛ (М3) была выявлена t(15;17), то есть можно отметить, что по цитогенетическим маркерам пациентку можно отнести к группе благоприятного прогноза. В предоставленном нам образце крови была выявлена FLT3-TKD мутация (c.2503G>T) с уровнем аллельной нагрузки около 50%. Судьба данной пациентки в настоящее время неизвестна по причине её проживания вдали от Краевого центра.

Пациентка №6 с диагнозом ОМЛ неопределенного фенотипа относится к группе неблагоприятного прогноза (наличие мутации inv(3)/t(3;3)). В предоставленном нам образце крови была выявлена FLT3-ITD мутация с повтором длиной 99 bp, уровень аллельной нагрузки составил 5%. Секвенирование подтвердило наличие мутации, так как на секвенограмме видно окончание фрагмента дикого типа и продолжение мутантного фрагмента. Но по причине низкого уровня аллельной нагрузки идентифицировать мутацию было невозможно. На сегодняшний день пациентка скончалась.

Заключение

На примере описанных случаев можно отметить, что своевременное выявление и количественная оценка FLT3 и NPM1 мутаций является актуальной проблемой для пациентов с ОМЛ в Красноярском регионе. В ходе данной работы впервые в Красноярском регионе было проведено генетическое исследование ассоциированных с ОМЛ мутаций в генах FLT3 и NPM1 методом фрагментного анализа. У троих из шести пациентов были выявлены какие-либо FLT3 и/или NPM1 мутации. У пациентки №1 выявлена новая FLT3-ITD мутация, не представленная в COSMIC, которая возможно влияет на механизм сплайсинга.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ TNF-A И IL-8 У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Прохорова В.И., Красный С.А., Державец Л.А., Цырусь Т.П., Готько О.В., Мавричев А.С., Грачев Ю.Н., Грицкова О.А.

РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова
г. Минск

Актуальность

Известную роль в качестве предикторов опухолевой прогрессии играют цитокины. Подъем уровня цитокинов в крови пациентов с глиальными опухолями могут рассматриваться в качестве показателя прогрессирования опухоли.

Цель

Определить прогностическую значимость основных медиаторов воспаления – TNF-α и IL-8 у пациентов с глиальными опухолями головного мозга.

Материалы и методы

Исследование провоспалительных цитокинов TNF-α и IL-8 проведено в сыворотке крови методом ИФА у 20 здоровых лиц и 72 пациентов с глиальными опухолями. У 39 пациентов диагностированы глиобластомы, у 28 – астроцитомы, у 5 – олигоастроцитомы. Различия считали значимыми при $p<0,05$.

Результат

Анализ полученных результатов измерений концентраций изучаемых показателей установил, что у пациентов с глиальными опухолями медиана TNF-α составила 12,3 пг/мл, нижний квартиль – 5,5 пг/мл, верхний квартиль – 28,6 пг/мл в сравнении со здоровыми лицами, где медиана равна 6,3 пг/мл, нижний квартиль – 5,2 пг/мл, верхний квартиль 8,8 пг/мл. В крови пациентов с глиальными опухолями наблюдался разброс данных. Максимальное значение TNF-α у пациентов с глиальными опухолями составляло 1150,1 пг/мл, а минимальное было равно 0,0 пг/мл. У здоровых лиц максимальный уровень TNF-α достигал 11,8 пг/мл и минимальное значение его было равно 3,6 пг/мл. Исследования концентрации TNF-α установили значимые различия между здоровыми лицами и пациентами с глиальными опухолями (pMannWhitney=0,006).

Медиана IL-8 у пациентов с глиальными опухолями составила 115,6 пг/мл, нижний квартиль – 55,6 пг/мл, верхний квартиль – 264,4 пг/мл в сравнении с со здоровыми лицами где медиана равна 0,0 пг/мл, нижний квартиль – 0,0 пг/мл, верхний квартиль 0,0 пг/мл. Максимальное значение IL-8 у пациентов с глиальными опухолями составляло 1461,6 пг/мл, а минимальная концентрация IL-8 была равна 0,0 пг/мл. У здоровых лиц концентрация IL-8 была равна 0,0 пг/мл. Данные IL-8 у пациентов с глиальными опухолями выявили значимые различия между здоровыми лицами и пациентами с глиальными опухолями (pMannWhitney=<0,001).

Проведен анализ взаимосвязи концентрации цитокинов со степенью злокачественности глиальных опухолей. У пациентов с глиальными опухолями концентрация исследуемых провоспалительных цитокинов с низкой степенью злокачественности значимо отличалась от содержания цитокинов у пациентов с высокой степенью злокачественности. У пациентов с глиальными опухолями выявлена умеренная зависимость концентрации исследуемого TNF-α ($\tau_{Kendall}=0,23$, $p=0,006$), IL-8 ($\tau_{Kendall}=0,21$, $p<0,001$) от степени злокачественности опухолевого процесса.

Заключение

У пациентов с глиальными опухолями выявлено значимое увеличение концентрации TNF-α (pMannWhitney p=0,006) и IL-8 (pMannWhitney=<0,001) в сравнении со здоровыми лицами. Установлена умеренная

корреляционная зависимость концентрации TNF-α (τKendall=0,23, p=0,006) и IL-8 (τKendall=0,21, p<0,001) со степенью злокачественности опухоли. Результаты свидетельствуют о возможности применения TNF-α и IL-8 в качестве дополнительных факторов для оценки риска прогрессирования глиальных опухолей.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Прохорова В.И.[1], Готько О.В.[1], Таганович А.Д.[2], Ковганко Н.Н.[2], Державец Л.А.[1], Цырусь Т.П.[1], Грицкова О.А.[1]

1 РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова
2 Белорусский государственный медицинский университет
г. Минск

Актуальность

Общим недостатком имеющихся лабораторных онкомаркеров является невысокая диагностическая эффективность их определения, обусловленная низкой специфичностью или чувствительностью.

Цель

Оценить диагностическую значимость определения рутинных показателей крови и антигена CYFRA 21–1 при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ).

Материалы и методы

Обследовано 137 пациентов с диагнозом НМРЛ I-IV стадии. В группы сравнения вошли 28 клинически здоровых лиц и 13 пациентов с гамартомой. В исследовании определяли клеточный состав крови, концентрацию альбумина, С-реактивного белка (СРБ), антигена CYFRA 21–1, рассчитывали отношение СРБ/альбумин и иммуно-прогностический индекс (IPI).

Результат

Анализ результатов определения клеточного состава крови, антигена CYFRA 21–1, альбумина, СРБ, отношения СРБ/альбумин и индекса IPI, рассчитанного по уравнению ([СРБ]×[нейтрофилы])/([лимфоциты]×[альбумин]), выявил статистически значимые различия всех изучаемых показателей у пациентов с НМРЛ по сравнению с клинически здоровыми лицами и пациентами с гамартомой легкого (p<0,05), а также наличие слабой или умеренной корреляционной взаимосвязи со стадией заболевания, размером опухоли и метастазами в регионарных лимфоузлах. С использованием ROC-анализа определены пороговые значения, разграничивающие группы пациентов с I-II стадией НМРЛ и здоровых лиц, пациентов с I-II стадией НМРЛ и гамартомой, пациентов с I-II и III-IV стадиями НМРЛ, а также пациентов с наличием или отсутствием метастазов в регионарных лимфоузлах.

Наибольшую ценность для разграничения здоровых лиц и пациентов с ранними стадиями НМРЛ представляет определение CYFRA 21–1, СРБ, отношения СРБ/альбумин и индекса IPI. Пороговые значения составили > 2,81 нг/мл, > 0,17 мг%, > 0,004 и > 9,26, соответственно. При этом диагностическая эффективность (ДЭ) определения этих показателей составила 73,9%, 76,1%, 76,1% и 71,6%, соответственно.

Для дифференциальной диагностики ранних стадий НМРЛ и гамартомы наибольшую ценность имеет определение CYFRA 21–1, СРБ, отношения СРБ/альбумин и индекса IPI. Пороговые значения для этих показателей составили > 2,5 нг/мл, > 0,3 мг%, > 0,03 и > 9,9; ДЭ – 84,1%, 84,2%, 85,3% и 88,1%, соответственно.

Для разграничения ранних (I-II) и поздних (III-IV) стадий НМРЛ наибольшую информативность показали CYFRA 21–1, СРБ, отношение СРБ/альбумин и индекса IPI. ДЭ составила 71,6%, 72,5%, 73,4% и 73,4% при пороговых значениях > 4,6 нг/мл, > 0,85 мг%, > 0,015 и > 35,3, соответственно. Для выявления пациентов с наличием метастазов в лимфоузлы была большей, чем при использовании результатов измерения CYFRA 21–1

(72,5%, 75,2%, 78% и 68,0%, соответственно).

Заключение

Таким образом, наибольшую ценность для диагностики ранних стадий НМРЛ, а также для подтверждения наличия у пациентов с НМРЛ метастазов в регионарные лимфоузлы имеет определение уровня СРБ, отношения СРБ/альбумин и индекса IPI, которая в этих случаях превышает диагностическую эффективность определения уровня антигена CYFRA 21–1.

АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ GBA У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА

Разумова А. А.[1], Субботина Т.Н.[1], Абрамов В.Г.[2], Верещагина С.В.[2]

1 ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск.
2 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», Красноярск
г. Красноярск

Актуальность

Болезнь Паркинсона (БП) – тяжелое нейродегенеративное заболевание. К причинам развития БП относятся как экзогенные, так и эндогенные факторы, в том числе мутации в различных генах. Мутации в некоторых генах могут повышать риск развития заболевания, например, мутации в гене GBA.

Цель

Анализ мутаций во 2, 7, 8, 9, 10 и 11 экзонах гена GBA у пациентов с БП методом секвенирования по Сенгеру.

Материалы и методы

Объектом исследования стала геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови пациентов с БП. Секвенирование проводилось на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500.

Результат

Всего был проанализирован 61 образец ДНК от пациентов с БП из Красноярского региона. Какие-либо изменения первичной структуры ДНК выявлены у 10 человек. Среди выявленных вариантов были как «тяжелые» мутации (то есть приводящие к значительному снижению активности фермента): L444P, D409H и H294Q, так и «очень мягкие» полиморфизмы T369M и E326K, ассоциация которых с БП подтверждается не во всех исследованиях. Также была выявлена синонимичная замена V460V, но в литературе мы не встретили данных об ассоциации данного варианта с БП. Кроме того, был обнаружен редкий 3'-UTR полиморфизм rs708606, возможно ассоциированный с БП, однако вероятный механизм данной ассоциации остается неизвестным. В целом можно отметить, что частота встречаемости патогенетически значимых вариантов гена GBA (L444P, D409H и H294Q) в представленной когорте пациентов составила 5%, что соответствует литературным данным.

Заключение

Таким образом, анализ мутаций в гене GBA в выборке пациентов Красноярского региона показал их сопоставимую с европейскими популяциями частоту встречаемости. Каких-либо особенностей в течении заболевания у пациентов с БП, имеющих мутации и полиморфизмы в гене GBA, выявлено не было, что соответствует данным аналогичных исследований.

ВЫЯВЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Сай А.В., Мацвай А.Д., Михайлов И.М., Киселев Д.А., Айгинин А.А., Гордукова М.А., Шипулин Г.А.

ФГБУ "ЦСП" ФМБА РОССИИ

Актуальность

Согласно исследованиям ВОЗ, инфекционные болезни являются одной из основных причин смертности у детей в неонатальном периоде и в возрасте до 5 лет. Для эффективной терапии необходима своевременная, быстрая и качественная диагностика.

Цель

азработать систему, основанную на методе метабаркодирования ДНК и выявить бактериальные патогены в образцах, полученных от пациентов с нейроинфекцией неустановленной этиологии.

Материалы и методы

Были исследованы ликворы педиатрических пациентов. Нуклеиновые кислоты были выделены набором AllPrep DNA/RNA Kit (QIAGEN). Осуществлялась амплификация локуса 16S рибосомальной РНК, с последующей пробоподготовкой библиотек для секвенирования на высокопроизводительной платформе (Illumina).

Результаты

Нами была исследована коллекция спинномозговой жидкости педиатрических пациентов с клиническими проявлениями инфекционного процесса в центральной нервной системе, для которых в ЛПУ этиологический фактор заболевания был не установлен (проводился ПЦР-скрининг на типичные возбудители нейроинфекций). По уровню прокальцитонина, как биомаркеру бактериальной инфекции, коллекция образцов была разделена на 6 групп. В нашем исследовании в 68% образцах мы обнаружили бактериальную ДНК. В 32% от всей выборки были обнаружены патогенные и условно-патогенные бактерии, вызывающие различные инфекции, включая менингит у новорожденных и иммуносупрессированных лиц: Staphylococcus (17%), Pseudomonas (12%), Acinetobacter (12%), Streptococcus (3%), Enterococcus (3%), Haemophilus (1%), Escherichia (1%). В 30% от всей выборки нами были обнаруженных бактериальные агенты, которые в литературных источниках описаны как редкие возбудители инфекционных заболеваний. Часто встречающиеся в нашей выборке: Sphingomonas (11%), Leuconostoc (4%), Caulobacter (3%), Fusobacterium (3%), Thiopseudomonas (3%); единичные находки: Prevotela, Brevundimonas, Burkholderia, Chryseobacterium, Leptothrix, Methylobacterium, Bacteroides, Corynebacterium, Lactobacillus, Micrococcus, Erysipelothrix, Stenotrophomonas, Empedobacter, Dolosigranulum, Finegoldia, Anaerococcus. В 6% выборки нами были обнаружена ДНК бактерий, опасность которых для человека не описана в литературных источниках: Schlesneria, Blastomonas, Pajaroellobacter, Chthoniobacter, Brochothrix, Gallicola, Streptomyces. Примечательно, то что при исследовании ликворов пациентов, люмбальная пункция у которых осуществлялась в двух временных точках, нами были обнаружены бактериальные патогены. Это может дополнительно свидетельствовать о неэффективности применения стандартных методов клинико-лабораторной диагностики, вследствие чего таргетность терапии была утрачена. Также мы не обнаружили корреляцию между уровнем прокальцитонина и наличием или отсутствием бактериального патогена в спинномозговой жидкости у педиатрических пациентов.

Заключение

Разработанная нами универсальной методика позволяет не только целенаправленно выявлять известных возбудителей инфекционных заболеваний, но и идентифицировать широкий спектр бактериальных патогенов, что имеет преимущество перед традиционными методами, применяемые в клинико-лабораторной диагностике.

ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ COVID-19

Серёгина П.К.[1], Семейкина А.А.[1], Шпакова Н.А.[1], Шарафан Д.Е.[2], Шаров В.И.[2], Урусов А.Е.[1]

1 Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,
2 ООО «Академинновация»
г. Москва

Актуальность

Точная диагностика инфекции COVID-19 необходима для ограничения распространения вируса SARS-CoV-2 и клинического ведения заболевания. При этом рекомендованная антибиотикотерапия при признаках вторичной инфекции требует ориентира для деэслакации приема данных препаратов.

Цель

Разработка диагностических тест-систем для определения:
– IgG/IgM антител против SARS-CoV-2
– антигена SARS-CoV-2
– воспалительного маркера прокальцитонина (ПКТ)

Материалы и методы

Использовались антитела к ПКТ и N-протеину SARS-CoV-2 (ООО Биалекса, Россия), антивидовые антитела к IgM и IgG (ООО Имтек, Россия). Мембраны для иммунохроматографии (MDI, Индия). Разработка экспресс-тестов включала комплексную оптимизацию рабочих параметров и подбор условий проведения анализа.

Результат

Для разработки серологического теста в качестве мишени использовали RBD белок. Он представляет собой часть S-белка коронавируса, непосредственно обеспечивающий связь с ACE2 рецепторами в клетках человека. Антитела специфичные к RBD белку являются преимущественно нейтрализующими. На тест-полоске реализованы две аналитические зоны, сигнал в которых формируется за счет связывания с иммобилизованными на мембране антивидовыми иммуноглобулинами против антител G и M типа соответственно. Тест система для определения иммуноглобулинов в сыворотке/плазме/крови успешно прошла клинические испытания, по результатам которых чувствительность для IgM составила 99%, а для IgG – 98%. Специфичность составила 99%.

Тест на антиген был разработан для определения нуклеопротеина вируса SARS-CoV-2. В качестве маркеров для образования контрольной и аналитической зон использовали карбоксилированные латексные частицы красного и синего цвета соответственно. Проведен скрининг компонентов и подобраны условия сборки тест-системы, что позволило достичь аналитической чувствительности менее 0,7 нг/мл нуклеопротеина при времени анализа менее 10 минут. Срок хранения тест-системы более 2-х лет (показан в условиях ускоренного старения).

Прокальцитонин, предшественник гормона кальцитонина, неразрывно связан с течением заболевания и, как было подтверждено в ряде исследований, его концентрация может быть использована для корректировки стратегии лечения больных коронавирусной инфекцией. Нами была разработан набор отдельных тест-полосок для определения ПКТ в сыворотке/плазме крови с соответствующими пределами обнаружения 0,1/0,5/5,0 нг/мл. Такой диапазон позволяет проводить эффективное и точное определение концентрации ПКТ. Время анализа составляет 15 минут. Диагностическая чувствительность и специфичность, подтвержденные клиническими испытаниями теста, составили 99% и 99% соответственно.

Заключение

Малое время анализа (10–15 мин), высокая чувствительность и специфичность, а так же простая бесприборная оценка полученных результатов дает возможность эффективно использовать разработанные тесты для клинической диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19, оценки индивидуального и потенциального коллективного иммунитета, а также пересмотра медикаментозной терапии в целях профилактики антибиотикорезистентности и риска развития лекарственных осложнений.

ПРОТЕОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАК СРЕДСТВО КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ИШЕМИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Теряева Н.Б.[1], Петушкова Н.А.[2], Ромашова Ю.А.[2], Арчаков А.И.[2]., Потапов А.А.[1], Лисица А.В.[2], Усачев Д.Ю.[1], Беляев А.Ю.[1]

1 ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им.ак. Н.Н.Бурденко» МЗ РФ,
2 ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича
г. Москва

Актуальность

Существующий разрыв между богатством научных знаний в области молекулярной биологии и возможностью использования этих знаний на практике определяется отсутсивием лабораторных методов, позволяющих определять все многобразие значимых для патохимии молекул в рутинном режиме.

Цель

В настоящем исследовании сделана попытка оценить возможность практического использования протеомного анализа применительно к хронической ишемии головного мозга.

Материалы и методы

Исследован белковый состав плазмы крови 19 пациентов с хронической церебральной ишемией с применением тандемной ВЭЖХ-МС/МС с анализом масс-спектрометрических данных и идентификацией пептидов с использованием программного обеспечения Progenesis LS-MS.

Результат

Спектры 98 белков, идентифицированных в образцах крови пациентов, госпитализированных для хирургического лечения патологии сосудов головного мозга, сопоставлялись с клиническими и анамнестическими данными. Различные составляющие белкового спектра крови продемонстрировали связь с: 1 – исходным состоянием сосудов головного мозга (степень стеноза сонных или позвоночных артерий, наличие в них окклюзий); 2 – особенностями клинического проявления нарушений кровоснабжения головного мозга на момент госпитализации (транзиторные ишемические атаки, инсульты, наличие дисциркуляторной энцефалопатии), а также скоростью и качеством восстановления специфических мозговых функций после острого расстройства мозгового кровообращения; 3 – после оперативного вмешательства – особенностями течения раннего послеоперационного периода; 4 – некоторыми признаками эффективности хирургического лечения патологии сосудов головного мозга.

Среди белковых соединений, показавших связь с клиническими данными, наряду с маркерами повреждения тканей, представлены белки, отражающие некоторые механизмы воспалительного процесса, трофические факторы, во многом определяющие выбор между реализацией программ апоптоза и антиапоптоза, различные факторы быстрой адаптации, регуляции синаптической передачи и обмена медиаторов. Эти данные позволяют обсуждать особенности формирования атеросклеротических изменений в сосудах, баланс между повреждением ткани мозга при ишемии и репаративными процессами, влияние системного метаболизма на развитие заболевания.

Заключение

Использованный подход, на наш взгляд, представляет собой качественно новый – многоплановый – уровень описания патологического процесса – по сравнению с определением в крови отдельных лабораторных показателей. Такое одновременное видение разных составляющих заболевания открывает перспективы комплексного воздействия на отдельные молекулярные звенья патологического процесса, может указать возможные пути к его ограничению, а при сформировавшемся неврологическом дефиците – к его регрессу и восстановлению специфических функций нервной системы.

МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Ушкаленко Н.Д., Филатов П.В., Ерш А.В., Полтавченко А.Г.

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»» Роспотребнадзора
г. Кольцово

Актуальность

Разработка простых в применении мультипараметрических тестов позволит сделать диагностику ВИЧ-инфекции более быстрой и доступной, что упростит скрининговые исследования в группах риска, или диагностику в условиях медицинских учреждений, оказывающих экстренную помощь.

Цель

Создание усовершенствованного аналога иммунного блота –мультипараметрического теста, более простого в проведении, и не требующего специального оборудования.

Материалы и методы

В основу теста положен метод дот-иммуноанализа с использованием наночастиц золота и химическим усилением оптического сигнала. (Poltavchenko A.G. et al.//J. Immunoassay Immunochem., 2016, vol. 37, pp. 540–554. Схема анализа и описание методики приведены ранее (Poltavchenko A.G. et al.//J.Virol. Meth., 2016, vol. 236, pp. 231–236).

Результат

Диагностика ВИЧ-инфекции включает два основных этапа: первичный скрининг и подтверждающее исследование. В случае получения реактивного результата при скрининге, для постановки диагноза необходимо подтверждение методом иммунного блота (ИБ). ИБ высоко специфичен, однако, имеет высокую стоимость и достаточно сложен в исполнении.

За счет использования в разрабатываемой тест-системе рекомбинантных белков и конъюгатов с золями металлов, можно добиться специфичности и чувствительности на уровне передовых систем ИФА, при этом иметь меньшую себестоимость и более простую методику выполнения, не требующую дополнительного оборудования. Еще одним преимуществом является мультипараметричность. Технология дот-блот позволяет наносить на подложку несколько реагентов захвата и, таким образом, дает возможность обнаруживать разные маркеры инфекции.

Разрабатываемый тест состоит из двух основных компонентов: аналитической матрицы и специальной ванночки с готовыми к применению растворами. Матрица представляет собой твердую синтетическую основу, с нанесенными реагентами захвата – антигенами ВИЧ1,2. На основе литературных данных, для формирования зон захвата выбраны следующие вирусные белки: антигены ВИЧ1 – gp160, gp120, gp 41, p24, p51 и p31; антигены ВИЧ2 – gp140, gp35 и gp105. Аналогично иммуноблоту, их совокупность будет позволять обнаруживать диагностически значимые маркеры ВИЧ, а также дифференцировать ВИЧ1 и ВИЧ2 между собой. В качестве конъюгата предполагается использование золя коллоидного золота связанного с антителами против иммуноглобулинов человека класса G. Золотой конъюгат обладает большей контрастностью, нежели ферментные конъюгаты, что при дальнейшей проявке серебряным проявителем позволяет

получить яркий, четкий сигнал, удобный для визуального учета результата анализа. Последующая обработка чипов раствором тиомочевины позволяет дополнительно усилить сигнал. Время выполнения анализа составляет 70 минут, включает в себя по две стадии инкубации (с образцом, с конъюгатом), отмывки, стадии проявки и усиления сигнала.

Заключение

Мультипарметрическая тест-система может стать хорошей альтернативой как для скрининговых исследований, так и для подтверждающих методов диагностики ВИЧ-инфекции, при этом, обладая более низкой себестоимостью и простотой выполнения, не требующей специально оборудованной лаборатории. Благодаря этим факторам она может быть использована в звеньях здравоохранения, нуждающихся в экстренной диагностике, таких как станции переливания крови, больницы скорой медицинской помощи, сельские медицинские учреждения и т.д.

КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ УРОВНИ МАРКЕРОВ СЕПСИСА У ДЕТЕЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Головня Е.Г., Лебедева А.В., Харитиди Т.Ю., Сотников А.В., Кушлинский Н.Е.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Сепсис остается одним из ведущих и грозных осложнений, развивающихся в процессе противоопухолевого лечения детей со злокачественными новообразованиями. Особенно важной является своевременная диагностика септических осложнений, которая требует использования надежных биомаркеров.

Цель

Определить пороговые значения биомаркеров сепсиса на различных стадиях развития инфекционного процесса у детей в процессе комплексного противоопухолевого лечения.

Материалы и методы

В исследование вошли 117 пациентов с онкологическими заболеваниями до 18 лет с признаками синдрома системного воспалительного ответа или сепсиса. Определение концентраций пресепсина (ПСП), прокальцитоннина (ПКТ) и С-реактивного белка (СРБ) проводилось на автоматических анализаторах с в соответствии с инструкицей производителя.

Результат

Для ПСП было определено пороговое значение равное 202 пг/мл (AUC=0,859, чувствительность 75,6%, специфичность 89,5%), позволявшее отделить пациентов без осложнений от группы системного воспаления, а пороговое значение ПСП равное 371 пг/мл (AUC=0,99, чувствительность 92,6%, специфичность 94,7%) отделяло группу пациентов без осложнений от группы с сепсисом. Пороговое значение ПСП равное 604 пг/мл (AUC=0,92, чувствительность 84%, специфичность 89,1%) позволяло разделить пациентов с системным воспалительным ответом и сепсисом. Пороговый уровень ПСП 1500 пг/мл (AUC=0,946, чувствительность 85,4%, специфичность 81,9%) разделил больных с сепсисом и септическим шоком. При разделении больных без осложнений от пациентов с системным воспалением определено пороговое значение ПКТ равное 0,23 нг/мл (AUC=0,814, чувствительность 70,7%, специфичность 76,5%). Пороговое значение ПКТ равное 0,51 нг/мл (AUC=0,769, чувствительность 75,8%, специфичность 67,9%) позволяло отделить группу пациентов с системным воспалением от пациентов с сепсисом. При разделении групп больных с сепсисом и септическим шоком пороговое значение ПКТ составило 3,9 нг/мл (AUC=0,811, чувствительность 77,1%, специфичность 77,9%). Зачастую уровень ПКТ находился в т.н. «серой зоне» – от 0,5 до 2,0 нг/мл, что также затрудняло однозначную интерпретацию полученных результатов и требовало повторного анализа. Для разделения групп пациентов без осложнений и с системным воспалительным ответом определено пороговое значение СРБ равное 12,2 г/л (AUC=0,853, чувствительность 79,7%, специфичность 81,8%). Пороговое значение СРБ равное 50,2 г/л (AUC=0,696, чувствительность 67%, специфичность 60,8%) позволяло разделить группы с системным воспалительным ответом и сепсисом.

Заключение

На основании показателей чувствительности, специфичности и AUC (площадь под ROC-кривой) выявлено преимущество пресепсина перед С-реактивным белком при определении степени тяжести септических осложнений у пациентов детского возраста с онкопатологией. Прокальцитонин, как и пресепсин позволял разделять все 4 исследуемые группы пациентов, но при этом обладал более низкой чувствительностью и специфичностью.

ЗНАЧЕНИЕ ГОМОАРГИНИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
г. Санкт-Петербург

Актуальность

Исследования последних лет указывают на ассоциацию низкого уровня L-гомоаргинина (гАрг) и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний. Однако связь уровня гАрг в крови с сердечно-сосудистыми рисками осложнений (ССР) при артериальной гипертензии (АГ) не охарактеризована.

Цель

Цель исследования заключалась в определении уровней гАрг и сравнительном анализе этого объективного лабораторного показателя ССР у пациентов с АГ.

Материалы и методы

Обследовано 60 пациентов обоего пола с АГ и умеренным, высоким и очень высоким ССР, находившихся на стационарном лечении в клиниках ПСПбГМУ им. И. П. Павлова. В образцах плазмы оценивали комплекс биохимических показателей, включая уровень гАрг. Группа сравнения включала 30 регулярных доноров сопоставимого возраста.

Результат

Обнаружен существенно пониженный уровень гАрг у пациентов в сравнении со здоровыми лицами ($p < 0{,}001$). Выявлены достоверные отрицательные корреляции показателя гАрг с эхокардиографическими показателями, характеризующими степень гипертрофии левого желудочка сердца. По мере увеличения ССР уровень гАрг прогрессивно снижался ($p=0{,}042$). При ROC-анализе площадь под кривой с 95%-м доверительным интервалом составили 0,860 (0,787 – 0,933). Порог отсечения для гАрг составил ≤ 1,69 мкМ при чувствительности 72,0% и специфичности 93,3 %. ГАрг может синтезироваться с участием ферментов цикла мочевины при вступлении в орнитинтранскарбомоилазную реакцию лизина вместо орнитина, но у взрослых гАрг образуется главным образом из лизина и аргинина в реакции, катализируемой аргинин: глицинамидинотрансферазой – ключевым ферментом метаболического пути синтеза креатина. Повышение экспрессии гена этого энзима обнаружено в миокарде пациентов с сердечной недостаточностью, а также в мышечной такни при мышечной дистрофии на мышиных моделях, что рассматривается в качестве механизма поддержания энергетического обмена в условиях патологического процесса. Корреляция уровня гАрг и концентрации гуанидиноацетата – предшественника креатина в сыворотке крови объясняется их общим происхождением за счёт активности аргинин: глицинамидинотрансферазы. После биосинтеза гАрг, в основном не потребляется в метаболических путях, а подлежит экскреции, в отличие от образовавшейся в той же реакции гуанидинуксусной кислоты. Важно отметить, что у пациентов с ухудшением экскреторной функции почек, уровни гАрг, в отличие от других производных аргинина – асимметричного и симметричного диметиларгининов не возрастают, а снижаются. Известно также, что благодаря достаточному

уровню гАрг в тканях и, соответственно, в эндотелии может достигаться угнетение аргиназ, конкурирующих за субстрат – аргинин с эндотелиальной NO-синтазой. Уровень гАрг можно считать важным интегральным метаболическим показателем, отражающим прогрессирование митохондриальной и эндотелиальной дисфункций у пациентов с АГ.

Заключение

Содержание гАрг в крови ниже 1,69 мкМ может расцениваться в качестве интегрального лабораторно-диагностического маркера высокого ССР.

ВАЛИДАЦИЯ РАБОЧЕГО ДИАПАЗОНА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОКРОТЫ

Козлов А.В., Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Ерещенко А.А., Мурский С.И.

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава РФ
г. Самара

Актуальность

На сегодняшний день в лабораторной диагностике объектами биохимических исследований являются кровь, моча, спинномозговая жидкость. Однако для пациентов с муковисцидозом (МВ) может иметь прогностическую ценность биохимическое исследование альтернативного биосубстрата – мокроты.

Цель

Определение коэффициента внутрииндивидуальной вариации показателей обмена железа в мокроте для дальнейшей валидации биохимических методик.

Материалы и методы

Исследования проводились на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Roche, Швейцария). Материалами для исследования являлись 50 образцов мокроты от клинически здоровых курящих мужчин.

Результат

Для валидации рабочего диапазона показателей обмена железа в мокроте необходимо рассчитать коэффициент внутрииндивидуальной вариации. На данном этапе важное значение имеет правильный подбор обследуемой группы лиц. Так как мокрота является патологическим секретом и в отсутствии раздражающих факторов её отхождения не происходит, нами было принято решение обследовать клинически здоровую группу курильщиков из 10 обследуемых. Критериями включения были стаж курения более 5 лет, ежедневное отхождение небольшого количества слизистой мокроты, отсутствие патологий сердечно-сосудистой и дыхательной системы. В критерии исключения входили прием антибиотиков и бактериальный компонент в мокроте. Обследуемые сдавали мокроту ежедневно в течение пяти дней. В исследуемом материале определялось содержание железа, ферритина, трансферрина. Для каждого аналита были рассчитаны среднее значение и доверительный интервал среднего показателя, среднеквадратичное отклонение индивидуального наблюдения от индивидуального среднего, общее среднеарифметическое по всем измерениям у всех испытуемых. Полученные данные позволили провести расчет коэффициента внутрииндивидуальной вариации, который для железа составил 16,8%, для ферритина 12,4% и для трансферрина 15,3%. На основании полученных коэффициентов внутрииндивидуальной вариации были определены линейные рабочие диапазоны измерений с последующей клинической оценкой степени нелинейности для данных аналитов с использованием протокола CLSI EP6-A Института Клинических Лабораторных Стандартов (США). Рабочие диапазоны для ферритина составили 22–295 мкг/л, для железа – 2–72,5 мкмоль/л, для трансферрина – 0,017–0,074 г/л.

Заключение

Определение коэффициента внутрииндивидуальной вариации является основой аналитической надежности последующей валидации биохимических методик для исследования альтернативных биожидкостей. Основной причиной смертности больных МВ является дыхательная недостаточность, развивающаяся вследствие хронической инфицированности неферментирующими грамотрицательными бактериями. Данные микроорганизмы активно метаболизируют железо и железосвязывающие белки, определение уровня которых в мокроте может использоваться для прогнозирования инфекционных осложнений.

БИОХИМИЧЕСКОЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕРМЫ МУЖЧИН, ИНФИЦИРОВАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ UREAPLASMA UREALYTICUM

Луцкий Д.Л., Луцкая А.М., Выборнов С.В.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия
г. Астрахань

Актуальность

Частота встречаемости U. urealyticum в диагностически значимом титре при культуральном исследование спермы составляет более 20%, из них более 70% – это антибиотикорезистентные штаммы. Влияние антибиотикорезитентных штаммов на фертильность сперматозоидов требует всесторонней оценки

Цель

Комплексная оценка фертильности сперматозоидов мужчин, инфицированных антибиотикорезистентными штаммами U. urealyticum.

Материалы и методы

Выполнено микробиологическое исследование спермы мужчин (n=4752) активного репродуктивного возраста (средний возраст 27,8±4,4 лет) с использованием диагностических наборов «Уреаплазма-АЧ-12» (ОНТ ФГУН «СПб НИИЭМ им. Пастера», Россия). Оценка фертильности эякулята проводилась в соответствии с методиками рекомендованными ВОЗ.

Результат

Наиболее часто встречалась резистентность к эритромицину (88,2%), реже к азитромицину (47,0%), тетрациклину (41,7%), спарфлоксацину (36,8%), рокситромицину (35,3%), левофлоксацину (34,4%), моксифлоксацину (29,5%), офлоксацину (29,4%), кларитромицину (23,5%). Сравнительно редко отмечалась резистентность к доксициклину (7,7%), джозамицину (5,9%) и медикамицину (5,8%). Полирезистентные штаммы U. urealyticum (устойчивые к двум и более антибиотикам) составили 63,9% случаев. У мужчин инфицированных антибиотикорезистентными штаммами уреаплазм из показателей стандартной спермограммы наиболее часто наблюдалось нарушение двигательных характеристик сперматозоидов – астенозооспермия (более четвери случаев) и нарушение морфологии сперматозоидов – тератозооспермия (более трети случаев). Достоверной взаимосвязи с изменением концентрации сперматозоидов в эякуляте нами отмечено не было. Наличие полирезистентных штаммов приводило к достоверно более выраженным изменениям показателей стандартной спермограммы ($p<0,001$). При наличие полирезистентных штаммов, устойчивых к пяти и более антибиотикам, высокая степень фрагментация ДНК сперматозоидов встречалась в 1,5 раза чаще, чем у пациентов с штаммами U. urealyticum не резистентными к антибиотикам. У мужчин инфицированных антибиотикорезистентными штаммами более чем в 40% случаев отмечалось достоверное ($p<0,005$) снижение ферментативной активности акрозина (независимо от изменения характеристик стандартной

спермограммы). Нарушение взаимодействия сперматозоидов с гиалуроновой кислотой (HBA-тест) наблюдалось в 12,2% случаев. Достоверного изменеия активности нейтральной альфа-глюкозидазы выявлено не было. При проведении MAR-тестов отмечено увеличение встречаемости положительных MAR-тестов с IgA на 12,5% IgG на 6,3%.

Заключение

Целесообразно проведение антибиотикограммы перед назначением лечения уреаплазмоза для повышения эффективности химиотерапии и снижения токсического влияния на сперматогенез. Антибиотикорезистентные штаммы U. urealyticum оказывают негативное влияние на показатели фертильности сперматозоидов, из них наиболее выраженные отрицательные эффекты вызывают полирезистентные штаммы. Оценку степени фрагментации ДНК сперматозоидов и активности акрозина можно рекомендовать в качестве дополнительных тестов при исследовании спермы пациентов с U. urealyticum в анамнезе.

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Любимова Н.В., Лебедева А.В., Тимофеев Ю.С., Кушлинский Н.Е.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Лабораторная диагностика нейроэндокринных опухолей (НЭО) основывается на исследовании продуцируемых опухолевыми клетками специфических соединений, биохимический анализ которых позволяет проводить диагностику и мониторинг лечения.

Цель

Оценка клинической значимости биохимических маркеров НЭО при их сравнительном определении в крови и моче больных НЭО и здоровых доноров.

Материалы и методы

Обследовали 302 больных НЭО и 80 здоровых доноров (контроль). Анализ хромогранина А (ХгА) и панкреатического пептида (ПП) в плазме крови, серотонина в сыворотке крови и 5-ГИУК в суточной моче проводили методом ИФА тест-системами Chromogranin A ELISA kit (Dako), PP EIA (Peninsula Inc), Serotonin ELISA и 5-HIAA ELISA (IBL).

Результат

Для больных НЭО характерна выраженная вариабельность ХгА, максимальные концентрации были зафиксированы у больных НЭО желудка (102000 Ед/л) и легкого (29603 Ед/л). Повышение медианы ХгА установлено у больных со всеми типами НЭО: желудка (59,1 Ед/л), поджелудочной железы (135,9 Ед/л), тонкой кишки (183,9 Ед/л), толстой кишки (148,4 Ед/л), легких и средостения (97,4 Ед/л) относительно контроля. Оценка диагностической значимости ХгА с учетом порогового уровня 33 Ед/л (при специфичности 98,5%) показала высокую диагностическую чувствительность в общей группе НЭО – 85,8%, которая достигала максимума при НЭО поджелудочной железы (92,8%) и желудка (84,9%). Секреция ХгА коррелировала с распространенностью и биологической активностью опухолевого процесса. Повышение уровня ХгА в плазме крови было первым маркером развития рецидива у пациентов с НЭО тонкой и толстой кишки и поджелудочной железы после радикального удаления опухоли. Серийное определение маркера отражало прогрессирование, стабилизацию или положительный эффект лечения аналогами соматостатина или химио-

терапии. Прослежена связь выживаемости без прогрессирования с уровнями ХгА до начала лечения у 30 больных НЭО на фоне химиотерапии. Уровни ХгА более 100 Ед/л были достоверно ассоциированы с менее благоприятным прогнозом 1-летней выживаемости без прогрессирования, которая составила 13,7% при ХгА >100 Ед/л и 65,9% – при низких значениях ХгА. Проанализировали результаты определения ПП у больных НЭО поджелудочной железы с преимущественно низкими уровнями ХгА. У обследованных больных средний уровень ПП в плазме крови составил 2540±986 пг/мл (колебания 28–15530 пг/мл) и статистически значимо (p=0,01) превышал значения в контроле (453±45,4 пг/мл). Повышение диагностической эффективности достигалось при комплексном исследовании ХгА и ПП, при котором диагностическая чувствительность в исследуемой группе больных повышалась до 69%.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования ХгА, серотонина и 5-ГИУК в целях повышения диагностической эффективности при обследовании больных НЭО, а также для оценки распространенности и биологической активности НЭО. Комплексное использование ХгА и ПП позволяет повысить чувствительность биохимической диагностики при НЭО поджелудочной железы.

РОЛЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ КОРОНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID 19

Никулина Д.М., Иванов П.А., Титова О.Л., Волошан О.А., Соколова Е.В.

ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, г. Астрахань
ГБУЗ Астраханской области Александро-Мариинская областная клиническая больница

Актуальность

При COVID 19 характерно развитие атипичной пневмонии, поэтому рекомендовано определение маркеров воспаления, выводы по диагностическому значению которых не всегда однозначны. Это, вероятно, связано с отсутствием учета их роли в развития болезни при интерпретации результатов

Цель исследования

Определить диагностическое и прогностическое значение С-реактивного белка (СРБ)
и ферритина Ф) при короновирусной инфекции с учетом их биологической и патогенетической роли

Материал и методы

В работе использованы данные лабораторного обследования в динамике 40 больных ковидного госпиталя АМОКБ Астрахани. Использованы автоматический гематологический анализатор (ОАК); анализатор иммуноферментный HumaReader HS, реагенты АО Вектор-Бест (ферритин); химический анализатор BS-400, реагенты Randox Laboratories Limited (СРБ)

Результаты

Средние значения маркеров воспаления во всей группе больных обоих полов с учетом повторных определений составили: СРБ – 78,97 (min – max: 1-294 при референс значении <5 нг/мл); Ф – 597,59 (min – max: 15 –2220 при референс-интервалах: М - 20-350 и Ж 1-150 нг/мл). При этом количество лейкоцитов было – 13,68 (min – max: 1,6 –43,4 тыс/мкл), лимфоцитов – 23,62 (min – max: 1 –88%) нейтрофилы – 70,95 (min – max: 12–97 тыс/мкл). Все показатели варьируют в широком диапазоне значений, что определяется стадией заболевания и может быть связано с особенностями организма больного.

СРБ – классический острофазовый белок, функционально связанный с активацией системы комплимента. Результаты наших многолетних исследований подтверждают его снижение до дискриминационной величины к 7-10 дню заболевания. Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что уровень СРБ более 100 мг/л наблюдается при бактериальной инфекции, а при вирусной инфекции его уро-

вень, как правило, не превышает 20 мг/л. Мониторинговые данные одного из больных показали, что уровень СРБ на протяжении 17 дней наблюдения не имел линейного характера изменений 215 (11.11.2020), 26 (12.11.2020), 119 (23.11.2020), 54 (27.11.2020), что может свидетельствовать о появлении новых очагов воспаления через 11 дней после затихания процесса или о присоединении бактериальной инфекции.

В то же время уровень Ф чаще имел разнонаправленную динамику с СРБ. Пример 1: через 10 дней от начала наблюдения Ф с 500 поднялся до 726,8 (СРБ снизился с209 до 76) и еще спустя 10 дней уровень Ф составлял 792, а СРБ – 11. Пример 2: в течение 11 дней (17, 18, 24 и 27.11.2020) уровень Ф изменялся с незначительными колебаниями на высоких значениях (1126, 1642, 1120 и1336), а СРБ постоянно снижался (63, 100, 26 и 6). Безусловно, такой высокий уровень Ф свидетельствует о тяжелом упорном течении заболевания с преобладанием деструктивных процессов. С этим белком связывают ряд функций в различных типах клеток и в зависимости от внутриклеточной локализации.

Однозначно, что сывороточный Ф является показателем тканевой деструкции при воспалении, но при этом, есть мнение, не исключена иммуносупрессивная функция.

Выводы

Изменения уровня СРБ и Ф как маркеров развития воспаления при коронавирусной инфекции статистически достоверны и позволяют мониторировать его течение с определением преобладающих патогенетических механизмов, что очень важно в формировании тактики лечения. Можно считать, что увеличение уровня СРБ на два порядка свидетельствует не только о возобновлении воспаления, но и о присоединении бактериальной инфекции. Эти показатели должны входить в минимальный лабораторный протокол при COVID 19 с учетом их высокой информативности, технической и финансовой доступности.

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ

Новоженова Ю.В., Лянг О.В.

ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России
г. Москва

Актуальность

Выраженная воспалительная реакция в ответ на коронавирусную инфекцию может вызывать повреждение сосудистой стенки и активацию системы гемостаза.

Цель

Оценка динамики показателей системы гемостаза и острофазных белков у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию.

Материалы и методы

В исследование включен 41 пациент с диагнозом «новая коронавирусная инфекция». При выписке из стационара и через 3 месяца после выписки всем пациентам определяли протромбиновое время по Квику, АЧТВ, фибриноген, D-димер, ферритин и С-реактивный белок. Результаты представлены в виде медианы и квартилей: Me (Q25-Q75).

Результат

На момент выписки у пациентов наблюдались следующие значения показателей системы гемостаза: протромбиновое время по Квику 87% (84–91), АЧТВ 31,3 с (29–32,7), фибриноген 3,3 г/л (3,0–3,9), D-димер 872 нгФЭЕ/мл (503–2183). При этом концентрация D-димера была в 1,6 раза выше верхней границы референтного интервала, остальные показатели находились в пределах референтных значений. При обследо-

вании через 3 месяца было выявлено повышение протромбина по Квику в 1,25 раза до 109% (101–123), укорочение АЧТВ в 1,2 раза до 25,9 с (24,4–27,3), а также снижение D-димера в 2,5 раза до уровня 340 нгФЭЕ/мл (220–520). Данные изменения свидетельствуют о нормализации активности внешнего и внутреннего путей свертывания вследствие отмены антикоагулянтных препаратов, назначаемых для профилактики тромбообразования, маркером которого на госпитальном этапе являлся повышенный уровень D-димера. Снижение через 3 месяца концентрации D-димера до референтных значений отражает восстановление антикоагулянтной и фибринолитической систем крови.

Также в динамике были проанализированы белки острой фазы ферритин и С-реактивный белок. При выписке у пациентов наблюдался уровень ферритина, в 2,9 раза превышающий верхнюю границу референтного интервала – 440 нг/мл (286–607), С-реактивный белок был на верхней границе референтного интервала – 5 мг/л (2–14,5). Через 3 месяца наблюдалось снижение белков острой фазы: ферритина в 3,2 раза до уровня 139 нг/мл (86–237), С-реактивного белка до 1 мг/л (0–5). Данная динамика свидетельствует об исчезновении признаков воспалительной реакции, вызванной новой коронавирусной инфекцией.

Заключение

Трехмесячный восстановительный период после коронавирусной инфекции сопровождается нормализацией активности фибринолитической системы крови и уровня маркеров воспаления.

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ С ОТРАВЛЕНИЯМИ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

Павлушкина Л.В., Веденьева Т.В., Амергулова С.Б., Коваленко Л.А., Бояджян М.Б., Юдин М.Ю., Павлова П.В., Орехова Е.А., Чугунова О.Л.

ГБУЗ «ДГКБ им. Н.Ф. Филатова ДЗМ» КДЛ
г. Москва

Актуальность

Токсическое поражение почек при отравлениях различными химическими веществами и лекарственными препаратами,сопровождается развитием осторого поражения почек(ОПП).Наиболее перспективные маркеры – липокалин-2(NGAL), цистатин С и молекула почечного повреждения(KIM-1).

Цель

Оптимизировать диагностику острого повреждения почек у детей с отравлениями химической этиологии на основании изучения ранних маркеров ОПП.

Материалы и методы

У 120 пациентов токсикологического отделения в возрасте от 1 года до16 лет, поступивших с отравлениями химической этиологии, на 1 сутки исследовался уровень KIM-1, NGAL и цистатин С в моче методом иммуноферментного анализа.Также осуществлялось определение нормативных значений маркеров ОПП в моче у 20 пациентов контрольной группы.

Результат

Отравление нейролептиками диагностировано у 30 чел., нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС) – у 27 детей, уксусной эссенцией – у 18, гипотензивными препаратами – у 12, феназепамом – у 9, алкоголем – у 6, деконгестантами – у 6, продуктами горения – у 3, прижигающими ядами – у 9 детей.

Повышение креатинина сыворотки в 1 сутки заболевания отмечалось только в 0,8% случаев (у 1 ребенка из 120), в то время, как на 3-и сутки развернутая картина ОПП с азотемией и изменением крово-

тока по данным допплерографии сосудов почек выявлялась у 26,6% (у 32 из 120) детей: у 5 – с отравлением уксусной эссенцией; у 15 – НПВС; у 9 – нейролептиками; у 3 – детергентами. Установлено, что NGAL оказался наиболее значимым маркером ранней диагностики острого повреждения почек (чувствительность 75%, специфичность – 100%). В то же время, в зависимости от типа химического вещества и его воздействия на почки значимость маркеров отличалась: NGAL был наиболее значим для ранней диагностики ОПП при отравлении нейролептиками и НПВС. В группе детей, сформировавших ОПП после отравления детергентами и уксусной эссенцией, наиболее значимым маркером оказался KIM-1. В группах отравления алкоголем, феназепамом, деконгестантами и гипотензивными препаратами развития ОПП не наблюдалось: уровни в моче NGAL и KIM-1 не превышали значений в группе контроля, азотемия не развивалась ни в одном из случаев. Уровень маркеров ОПП в моче у детей контрольной группы: KIM-1 равен 178,6±65,75 пг/мл, NGAL – 3,28±1,59 нг/мл, Цистатин С – 11,7±3,04 нг/мл.

Заключение

Концентрации NGAL и KIM-1 в моче являются информативными маркерами ОПП. При повышении одного или обоих биомаркеров в 100% случаев выявлена азотемия на 3-и сутки. У детей с ОПП на фоне отравления химической этиологии отмечалось повышение NGAL в моче в 84,3% , а увеличение KIM-1 – в 43,7% по сравнению с показателями в контрольной группе. Цистатин С не отличался от показателей в группе контроля и не может быть рекомендован для диагностики ОПП.Увеличение NGAL и/или KIM-1 отмечалось при отравлении НПВС, нейролептиками, прижигающими ядами и, в меньшей степени уксусной эссенцией.

ЗНАЧЕНИЕ АМИНОТЕРМИНАЛЬНОГО ФРАГМЕНТА МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Петрова О.В., Никулина Д.М., Шашин С.А., Тарасов Д.Г.

ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой диагностики» Минздрава России (г. Астрахань), ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России
г. Астрахань

Актуальность

Сердечная недостаточность у пациентов с приобретенными пороками сердца является показанием для хирургического лечения. Оценка течения послеоперационного периода осуществляется на основании клинико-инструментальных методов, которые имеют ограничения.

Цель

Изучить значение аминотерминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида в оценке риска развития послеоперационных осложнений.

Материалы и методы

Дооперационные уровни аминотерминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида определяли на анализаторе «Cobas e 411» («Roche Diagnostics», Германия). Результаты исследования обработали с помощью пакета «Statistics 6 for Windows», ROC – анализа определяли значение cut off.

Результат

Исследуемую группу составили 30 пациентов с «Склеро-дегенеративным пороком сердца». При поступлении в стационар тяжесть состояния была обусловлена сердечной недостаточностью. Дооперационные уровни пептида варьировали от 796,9 до 16327 пг/мл, и в среднем составили 2484,0±861,04 пг/мл. Пациентам были выполнены операции клапанной коррекции в условиях искусственного кровообращения. У 24 (80%)

пациентов послеоперационный период протекал без осложнений. У 6 пациентов (20%) послеоперационный период осложнился острой сердечно-сосудистой недостаточностью. В 1 случае кардиальное осложнение оказалось летальным. Течение послеоперационного периода сопоставили с дооперационными значениями пептида. По течению послеоперационного периода пациентов разделили на 3-и группы:

У пациентов 1-й группы (n-24) ранний послеоперационный период протекал благоприятно. Пребывание пациентов в реанимационном отделении составило в среднем 26,43±2,43 часов, инотропная поддержка не потребовалась, пациенты были выписаны на 14,5±1,64 сутки в удовлетворительном состоянии. Средний уровень пептида составил 843,60±64,92 пг/мл.

У пациентов 2-й группы (n-6) ранний послеоперационный период осложнился острой сердечно-сосудистой недостаточностью. Пребывание пациентов в реанимационном отделении составило в среднем 106,83±13,58 часов, потребовалась инотропная поддержка, пациенты были выписаны на 17,56±2,04 сутки в удовлетворительном состоянии. Средний уровень пептида – 2549±188,08 пг/мл.

В 3-ей группе (n-1) – ранний послеоперационный период осложнился острой сердечно-сосудистой недостаточностью. Потребовалась инотропная поддержка, пациент погиб на 6-е сутки. Уровень пептида составил 16327 пг/мл.

Высокие дооперационные уровни пептида коррелировали с увеличением частоты развития сердечно-сосудистых осложнений у кардиохирургических больных, а также указывали на декомпенсацию сердечной недостаточности. cut off пептида составила 970 нг/мл (чувствительность – 85%, специфичность – 83%).

Заключение

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Высокие дооперационные уровни пептида указывают на декомпенсацию сердечной недостаточности.
2. Дооперационные уровни пептида выше 970 нг/мл указывают на риск развития сердечно-сосудистых осложнений в послеоперационном периоде.
3. Пациентам с дооперационным уровнем пептида выше 970 нг/мл необходима дооперационная подготовка в условия кардиологического стационара для компенсации сердечной недостаточности.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ ПУПОВИНЫ У НОВОРОЖДЕННЫХ, РОДИВШИХСЯ У МАТЕРЕЙ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Попова И.Г., Ситникова О.Г., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Харламова Н.В., Клычева М.М., Веселкова Ю.Н.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, 153045, Иваново, Российская Федерация
г. Иваново

Актуальность

Преэклампсия (ПЭ) является причиной заболеваемости и смертности матери и плода. Развитие дисфункции эндотелия при ПЭ ведет к развитию патологии периода новорожденности, поэтому актуальным является оценка функционального статуса плацентарных сосудов.

Цель

Оценить функциональное состояния клеток эндотелия пуповины при преэклампсии и беременности без ПЭ.

Материалы и методы

Обследовано 60 детей от матерей с ПЭ и 30 детей, от женщин без признаков ПЭ. В лизатах, полученных из эндотелиальных клеток вены пуповины определяли показатели окислительного стресса методом хемилюминесценции (ХЛ), цГМФ реактивами фирмы «Enzo» (Швеция), eNOS и ангиогенина реактивами фирмы «RayBiotech» (США).

Результат

Выявлено, что у новорожденных от матерей с ПЭ относительные величина интенсивности свечения (Imax) как в общей группе, так и в подгруппах по степени тяжести преэклампсии у матери, возрастала по сравнению с аналогичным показателем у новорожденных от матерей без ПЭ, что свидетельствует о более выраженной степени развития окислительного стресса. Изменения средних величин угла спада кинетической кривой – tgα, в группе новорожденных у матерей с ПЭ в основной группе и в подгруппах также были выше, что свидетельствует об активации антиоксидантной системы. При сравнении показателей внутри основной группы по степени тяжести ПЭ у матери значимых различий не выявлено. Известно, что цГМФ является вторичным посредником, который участвует в передаче гормональных сигналов через мембранные рецепторы. Он сопряжен с гуанилатциклазой, активность, которой регулируется оксидом азота. В эндотелии сосудов NO образуется из аминокислоты аргинина при участии сложной Ca2+-зависимой ферментной системы, названной NO-синтазой. В клетках-мишенях NO способствует быстрому образованию цГМФ, который вызывает расслабление гладкой мускулатуры сосудов. Ангиогенин (ANG), является одним из ключевых факторов ангиогенеза. Выявлена взаимосвязь между эффектом ангиогенина, как основного ангиогенного фактора и высвобождением внеклеточного NO. Было показано, что ангиогенин увеличивает уровни NO, тем самым запуская активность синтазы оксида азота. Содержание цГМФ в лизате было в 1,5 раза выше у новорожденных в общей основной группе и при тяжелой ПЭ по сравнению с контрольной группой (p=0,049, p=0,046, соответственно). Отмечено повышение уровня цГМФ в 1,4 раза при тяжелой ПЭ по сравнении с детьми от матерей с умеренной ПЭ (p=0,021). Содержание eNOS в основной и контрольной группе были сходными. Уровень ангиогенина был значимо выше в основной группе и в подгруппах по сравнению с контролем (p=0,001).

Заключение

У новорожденных, родившихся у матерей с ПЭ, на фоне развития окислительного стресса отмечается изменение функционального состояния клеток эндотелия пуповины, что подтверждается повышением уровней регулятора ангиогенеза – ангиогенина и высокими уровнями цГМФ.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 18–415-370002.

ДИАГНОСТИКА ФОЛИЕВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Субботина Т.Ф., Жлоба А.А.

ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
г. Санкт-Петербург

Актуальность

Прогрессирование артериальной гипертензии (АГ) усугубляется дефицитом фолиевой кислоты (ФК). Диагностика недостаточности ФК может быть затруднена из-за несоответствия уровня ФК, определяемого в крови, со степенью внутриклеточной обеспеченности этим витамином.

Цель

Оценка применимости метаболических маркеров – общего гомоцистеина (оГци) и гомоаргинина (гАрг) для выявления скрытой недостаточности ФК у пациентов с АГ.

Материалы и методы

В исследование были включены образцы плазмы крови 60 пациентов с АГ в возрасте 61 (45–70) лет, из них 31 без признаков поражения почек и 29 с диагностированной хронической болезнью почек, а также образцы 30 здоровых доноров старшего возраста. Были оценены клинические и биохимические данные, включая оГци, ФК, витамин B12 и гАрг.

Результат

Гипергомоцистеинемия у пациентов с хронической болезнью почек была значительно выше, чем у пациентов без таковой. Уровень оГци у пациентов обратно коррелировал с уровнем ФК в крови (Rs=-0,39, p=0,0019). У части пациентов без недостатка ФК и витамина B12 обнаруживался повышенный уровень оГци, свидетельствующий о функциональном дефиците ФК. Кроме того, низкий уровень ФК в плазме крови не всегда сопровождался гипергомоцистеинемией, то есть у таких пациентов не было функционального дефицита ФК. Определен пороговый уровень оГци для диагностики функционального дефицита ФК в отсутствие ее снижения в плазме крови – оГци ≥ 10,9 мкМ. В сопоставлении с этим пороговым значением, а также учитывая ее концентрацию в плазме, недостаточность ФК, включая скрытую, встретилась у 78% обследованных пациентов. Медианный уровень гАрг у пациентов с АГ был почти в 2 раза ниже, чем у здоровых лиц, а у 75% ниже 1,80 мкМ. Уровням гАрг при значениях менее 1,80 мкМ соответствовало статистически значимое снижение ФК. В группе пациентов с уровнем гАрг < 1,80 мкМ и ФК < 13,5 нМ (n=22) между этими показателями отмечена статистически значимая корреляция (Rs=0,63, p=0,020), которая проявляется у пациентов независимо от количества и выраженности поражений органов-мишеней.

Заключение

1. В отсутствие понижения уровня ФК в плазме, ее скрытый дефицит может быть диагностирован при уровне оГци ≥ 10,9 мкМ. 2. При различных исходных причинах развития АГ недостаток коферментных функций ФК в значительной мере может быть обусловлен нарушением энергетического метаболизма, маркером которого может быть принят уровень гАрг ниже 1,5–1,8 мкМ.

РОЛЬ НЕЙРОМОДУЛИНА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Харламова Н.В., Андреев А.В., Кузьменко Г.Н., Песенкина А.А.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» Минздрава России
г. Иваново

Актуальность

Внутрижелудочковые кровоизлияния остаются одной из основных причин заболеваемости и смертности у глубоко недоношенных новорожденных. В доступной литературе отсутствуют данные о роли нейромодулина в формировании ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде.

Цель

Цель : установить роль нейромодулина в формировании внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у глубоко недоношенных детей в раннем неонатальном периоде.

Материалы и методы

Обследовано 78 глубоко недоношенных новорожденных, ретроспективно разделены на группы: 1 группа (n=30) – глубоко недоношенные новорожденные, у которых выявлено ВЖК в раннем неонатальном периоде, 2 группа (n=48) – без ВЖК. Критерии включения: срок гестации новорожденных – 25–31 недели 6 дней, масса менее 1500 г.

Результат

У всех обследованных новорожденных (гестационный возраст – 28 [27; 30] недель) клинически регистрировалась неврологическая симптоматика в виде синдрома угнетения. Антенатальная профилактика респираторного дистресс-синдрома плода проведена у 46 (59%) детей в полном объеме, неполная профилактика – у 14 (18%). В умеренной асфиксии (4–7 баллов по шкале Апгар) родились 59 детей, тяжелая асфиксия (1–3 балла) зарегистрирована у 19.

При корреляционном анализе также выявлено, что уровень нейромодулина (GAP-43) в крови у глубоко недоношенных новорожденных с верифицированным ВЖК имеет некоторые прямые и обратные статистически значимые связи с количеством баллов по шкале Ballard (r=-0,614; p=0,019), минимальной амплитудой тренда аЭЭГ (r=-0,404; p=0,004), длительностью респираторной поддержки (r=0,653; p=0,001).

Учитывая значимые прямые корреляционные взаимосвязи между концентрацией нейромодулина в первые сутки жизни и степенью диагностированного в последствии ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных, можно предположить, что чем тяжелее перинатальное поражение ЦНС, тем больше нейронов повреждено и тем большее количество нейромодулина выделяется в кровь.

С целью прогнозирования ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных с помощью ROC-анализа нами определена точка отсечения такого биохимического маркера как нейромодулин (0,61 нг/мл). Также нами выведена линейная дискриминантная функция, с помощью которой можно спрогнозировать развитие ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде, где одним из составляющих является уровень нейромодулина в крови.

Разработаны способы прогнозирования ВЖК у глубоконедоношенных новорожденных (Патент №2741722 от 6.07.2020 и патент №2741727 от 6.07.2020).

Заключение

Установлена роль нейромодулина в формировании ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных. Установлены взаимосвязи между клиническими проявлениями ВЖК и содержанием нейромодулина в крови у глубоко недоношенных детей в раннем неонатальном периоде. Предложены и обоснованы способы прогнозирования ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде.

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

ОЦЕНКА РИСКА РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ НА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ МЕТОДОМ СТИМУЛЯЦИИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ

Бердюгина О.В.

ГАУЗ СО «Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии имени В.Д. Чаклина»
г. Екатеринбург

Актуальность

Большинство лабораторий не используют в рутинном режиме диагностические тесты для определения чувствительности к лекарственным препаратам, что обусловлено трудоемкостью исследования, отсутствием стандартизации аллергена, сложностью интерпретации полученных данных.

Цель

Изучение возможности применения CAST-теста в оценке риска аллергической реакции на лекарственные препараты.

Материалы и методы

Обследовано 115 человек. Реагенты CAST®-2000 Elisa (Bűhlmann, Germany) включали набор для определения концентрации сульфидолейкотриенов и реагенты для антигенной стимуляции клеток in vitro. В качестве аллергенов использованы реагенты производителя и нативные препараты с концентрацией, рассчитанной известным способом (RU 2480750 C1).

Результат

Согласно протоколу исследования, использовали концентрацию аллергена, рассчитанную из максимальной суточной дозы (далее по тексту как высокую), а также дополнительную, полученную путем пятикратного разведения последней (низкую), что было обусловлено особенностями реагирования разных пациентов. В целом, у 64 из 115 обследованных была выявлена антигенная стимуляция базофилов на лекарственные препараты (55,7% от всех обследованных человек). Наиболее часто назначались исследования с рентгеноконтрастными веществами. Было установлено, что стимуляцию клеток in vitro чаще всего вызывает ультравист 370 мг йода/мл (в 15,6% случаев – здесь и далее по тексту – от всех выявленных положительных реакций), при этом не было обнаружено зависимости от величины стимулирующего вещества, положительная реакция наблюдалась примерно в равных случаях как на низкие дозы (7 человек), так и на высокие дозы (8 человек) аллергена. Следующим по частоте встречаемости был препарат омнипак (350 мг йода/мл), реакция на который была отмечена в 11% случаев с такой же зависимостью на низкие (5 человек) и высокие (6 человек) дозы аллергена. Другая большая группа препаратов была представлена местными анестетиками (лидокаин, маркаин, новокаин). Положительная реакция встречалась у 12,5% пациентов и преимущественно отмечалась на высокие дозы аллергена (69% случаев). Среди витаминных препаратов выявлена реакция базофилов на стимуляцию цианокобаламином – в 4,7% случаев (на высокие дозы), гидрохлоридом пиридоксина, хлоридом тиамина и никотиновой кислотой – с одинаковой встречаемостью: 3,1% случаев (низкие и высокие дозы), аскорбиновую кислоту – в 1,6 % случаев (низкие и высокие дозы). Изучение реакции крови на антибиотики показало следующее. Положительная реакция была отмечена на сумамед, цефотаксим, гентамицин, таваник, ципрофлоксацин, абактал, циклофосфан, линкомицин,

ровамицин, метрогил, цефтизидим, пенициллин, амикацин, цефтриаксон, тиенам, ванкомицин, в общем счете в 28% случаев из всех положительных проб. Стимуляция хлорсодержащими дезрастворами была выявлена у 6,3% обследованных больных (в 87,5% случаев это были высокие концентрации). Сосудистые препараты (кавинтон) дали 1,6% положительных проб, сильнодействующие вещества (деприван, ардуан) – 7,8% случаев.

Заключение

Использование теста стимуляции базофилов in vitro позволяет стандартизировать процедуру выполнения рутинного исследования в оценке риска развития гиперчувствительности немедленного типа на лекарственные препараты, что дает возможность клиницисту опираться на достоверные результаты лабораторного исследования при постановке диагноза. Существует значительная вариабельность стимулирующего действия аллергена в зависимости от его дозы в реакции и вида лекарственного препарата.

ЛАБОРАТОРНЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ У ВЗРОСЛЫХ

Бердюгина О.В.

ГАУЗ СО «Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии имени В.Д. Чаклина»
г. Екатеринбург

Актуальность

Несмотря на значительные успехи современной медицины в вопросах диагностики туберкулеза легких, сложности остаются. Они обусловлены тем, что иногда при имеющейся клинической картине верифицировать диагноз микробиологически или морфологически не удается.

Цель

Целью исследования стала разработка лабораторного метода диагностики туберкулеза легких у взрослых.

Материалы и методы

Обследовано 124 человека, из которых: у 99 был туберкулез легких, 25 – были практически здоровыми людьми. Среди больных был 31 пациент с туберулемами, 44 человека с инфильтративным туберкулезом легких и 24 – с фиброзно-кавернозным. Всем выполнено определение количества CD3+CD4+CD127-CD25+ – лимфоцитов крови методом проточной цитофлуориметрии.

Результат

Было установлено, что абсолютное количество регуляторных Т-клеток (CD3+CD4+CD127-CD25+) было достоверно выше во всех трех группах больных в сравнении с данными контрольной группы, эти различия составляли 1,5 раза. То есть, увеличение количества CD3+CD4+CD127-CD25+ – клеток крови до величины равной и более 0,12х109/л свидетельствовало о высоком риске наличия туберкулеза легких, а снижение популяции клеток менее 0,12х109/л о том, что туберкулеза нет.

Для оценки возможности использования данного теста в клинической практике, по общепринятым формулам, в процессе исследования, были рассчитаны стандартные статистические показатели. Диагностическая чувствительность теста составила 80,5%, диагностическая специфичность – 97,6%.

Дополнительно для проверки выявленной закономерности была набрана тестовая группа из 36 человек, в которой распределение клинических вариантов течения туберкулеза, а также отсутствия инфицирования Micobacterium tuberculosis было сопоставимо с группами исследования. Прогноз был подтвержден в 94,5% случаев.

На предложенный способ диагностики туберкулеза легких получен Патент РФ (RU 2 680 838 C1).

Заключение

В сравнении с используемыми в настоящее время методами диагностики туберкулеза легких данный метод обладает рядом преимуществ: высокой информативностью, быстротой получения результата, безопасностью для пациента, относительной простотой исследования, отсутствием необходимости длительного ожидания результата, минимальными объемами необходимого для исследования биологического материала. Метод может быть использован в случаях, не позволяющих верифицировать диагноз при имеющейся клинической картине, например, в отсутствие бактериовыделения.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ СВЯЗАН С РАСПРОСТРАНЁННОСТЬЮ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Бердюгина О.В.

ГАУЗ СО «Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии имени В.Д. Чаклина»
г. Екатеринбург

Актуальность

В формировании и течении туберкулезного процесса важную роль играет наличие патогенного штамма микобактерии и реакция иммунной системы на возбудителя заболевания.

Цель

Изучение популяционного состава иммунокомпетентных клеток крови у больных ограниченными и распространенными формами туберкулеза легких.

Материалы и методы

Осуществлен анализ образцов крови 125 пациентов (4 группы по 25 человек): с туберкулемами легких, инфильтративным туберкулезом 1–3 сегментов легких, инфильтративным туберкулезом легких 4 и более сегментов, фиброзно-кавернозным туберкулезом и практически здоровых людей. Субпопуляции лимфоцитов оценены методом проточной цитофлуориметрии.

Результат

Уровень лейкоцитов имел значимые отличия у больных с инфильтративным туберкулезом 4 и более сегментов, а также при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких и составлял 7,34х109/л и 8,04х109/л против 6,36х109/л у здоровых людей. Количество лимфоцитов в группе с туберкулемами было на 12% выше, чем в контрольной группе, а при инфильтративном туберкулезе 1–3 сегментов и фиброзно-кавернозном туберкулезе был несколько снижен – на 11% и 7% соответственно. Популяция В-лимфоцитов была на 13,2% снижена при инфильтративном туберкулезе 1–3 сегментов, вместе с тем, при инфильтративном туберкулезе 4 и более сегментов и при фиброзно-кавернозном туберкулезе отмечалось увеличение относительного количества клеток более, чем в 1,5 раза в сравнении со здоровыми добровольцами. Общее количество CD3+-лимфоцитов несколько снижалось в обеих группах с инфильтративным туберкулезом и при фиброзно-кавернозном туберкулезе и составляло соответственно: 1,32х109/л (74,7%), 1,45х109/л (70,0%) и 1,39х109/л (70,8%) против 1,58х109/л (76,2%) в контрольной группе. Уровень Т-хелперов (CD3+CD4+) имел достоверные различия только у больных туберкулемами: он был на 21% выше, чем в контрольной группе. Количество Т-цитотоксических клеток снижалось в обеих группах с инфильтративным туберкулезом, а также при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких (0,45х109/л, 0,52х109/л, 0,49х109/л – соответственно). У здоровых добровольцев этот показатель составил 0,59х109/л. Количество NK-клеток (CD3-CD16+56+)

не имело значимых различий в исследуемых группах, число клеток варьировало от 0,24х109/л при туберкулемах и фиброзно-кавернозном туберкулезе до 0,28х109/л при инфильтративном туберкулезе малой распространенности. В контрольной группе этот показатель составил 0,26х109кл/л. Также было установлено, что количество γσ-Т-клеток, показателей естественной резистентности организма, увеличивалось у больных при туберкулемах и инфильтративном туберкулезе малой распространенности (0,07х109/л и 0,71х109/л против 0,05х109/л в контроле), по мере утяжеления процесса их число этих клеток снижалось.

Заключение

Таким образом, популяционный состав иммунокомпетентных клеток крови отражает распространенность туберкулезного процесса в паренхиме поврежденного легкого, что может быть критерием прогноза тяжести поражения.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЦЕЛИАКИИ В ГРУППАХ РИСКА

Гудкова Р.Б., Быкова С.В., Сабельникова Е.А., Салиев К.Г., Парфенов А.И.

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» ДЗМ
г. Москва

Актуальность

Целиакия (Ц) – аутоиммунное заболевание тонкой кишки, обусловленное глютеном с выработкой антител к глиадину (АТ DPG) и тканевой трансглутаминазе (АТ tTG). Диагностика вариантов целиакии трудна, поэтому необходимы иммунологические исследования.

Цель

Определение специфичных антител для ранней диагностики целиакии у пациентов с кишечными и аутоиммунными заболеваниями в группах риска.

Материалы и методы

В группах риска обследовано 1358 пациентов (23,7% мужчин и 76,3% женщин, в возрасте 51,5±15,4 лет): из них 140 с целиакией и 80 с аутоиммунными заболеваниями печени. В сыворотке крови определяли АТ DGP IgA и IgG; и АТ tTG IgA и IgG (Orgentec. ELISA), Ig A, IgG, IgE (LAZURITE). Statistica 6.0.

Результат

Повышенные антитела выявлены к глиадину IgA и IgG у 174 (12,3 %) и антитела АТ tTG у 59 (4,3%). Выделены группы: 1 – Ц впервые установленная (51 больной); 2 – Ц при соблюдении аглютеновой диеты (140 больных); 3 – заболевания кишечника и печени (1167 больных): СРК, холецистит, аутоиммунный гепатит (АИГ), первичный билиарный холангит (ПБХ), первичный склерозирующий холангит (ПСХ), болезнь Крона (БК). В 1 группе – повышены АТ tTG IgA и АТ DPG IgA у 54 (4,1%) и АТ tTG IgG и АТ DPG IgG у 58 (4,2%), что указывает на целиакию. Диагноз впервые выявленной целиакии подтвержден морфологическими изменениями слизистой оболочки тонкой кишки у 51 (4,1%) больного. При первично выявленной Ц у 51 пациента достоверно чаще наблюдались анемия, мальабсорбция, снижение белка, альбумина, кальция и повышение аминотрансфераз. Во 2 группе – повышены АТ DGP IgA и IgG в 35,2% случаев, АТ tTG IgA и IgG – в норме. Выявленный иммунный ответ на глиадин свидетельствует о нарушении безглютеной диеты. В 3 группе при ПБХ и БК повышены АТ: DGP IgA – у 17, IgG – у 23 (4,6%), tTG IgA и IgG – у 3 (0,3%), что подтверждает аутоиммунную сенсибилизацию. У 18 больных СРК и ЯК повышены АТ: tTG IgA, tTG IgG, DPG IgA, DPG IgG, что свидетельствует о перекрестной иммунной реактивности между микрофлорой и аутоиммунным ответом.

Заключение

В группах риска впервые установлена целиакия по выявлению повышенных значений специфических антител AT tTG IgA и AT tTG IgG Высокая частота выявления AT tTG IgA и AT tTG IgG у больных с диагностированной целиакией рекомендуется данный метод для иммунологической диагностики в группах риска.

СРАВНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАТИВНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ АНТИТЕЛ С ПОМОЩЬЮ НЕПРЯМОЙ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ (НРИФ) И ИММУНОБЛОТА (ИБ) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОГО ГЕПАТИТА (АИГ) И ПЕРЕКРЁСТНОГО СИНДРОМА (АИГ/ПБХ)

Дорофеев А.С., Новиков А.А., Салиев К.Г., Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В., Александрова Е.Н.

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», 111123 Москва, Россия
г. Москва

Актуальность

ASMA – антитела, реагирующие против белков цитоскелета гладких мышц (преимущественно с F-актином) и являющиеся маркёром цитолиза гепатоцитов. ASMA служат одним из наиболее часто встречаемых серологических маркеров АИГ 1 типа.

Цель

Сравнить диагностическую значимость методов определения ASMA в сыворотках больных АИГ и АИГ/ПБХ с использованием НРИФ и ИБ.

Материалы и методы

Исследованы сыворотки 51 больного АИГ, 46 – АИГ/ПБХ, 30 – не аутоиммунными хроническими заболеваниями печени, 30 здоровых лиц. ASMA определяли с помощью НРИФ на криосрезах печени-почек-желудка крыс и ИБ. Позитивные результаты измерения ASMA соответствовали значениям ≥1:40 (НРИФ) и ≥1 у.е. (ИБ).

Результат

Исследование ASMA методом НРИФ на криосрезах печени, почек, желудка крыс продемонстрировало более высокую диагностическую чувствительность (ДЧ) (13,4%) по сравнению с ИБ (3,09%) ($p<0,05$). Диагностическая специфичность (ДС) анализа ASMA с помощью НРИФ (85%) была ниже таковой при использовании ИБ (99%) ($p<0,05$).

Заключение

Исследование ASMA в НРИФ является чувствительным скрининговым тестом для диагностики АИГ и АИГ/ПБХ по сравнению с ИБ. Исследование методом ИБ более целесообразно использовать как подтверждающий тест, позволяющий определять антиген-специфические антитела к F-актину.

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ИММУННОГО СТАТУСА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ОБШИРНЫМИ ОЖОГАМИ

Козлова М.Н., Земсков В.М., Демидова В.С., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Алексеев А.А.

ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Гнойно-септические осложнения у тяжелообожженных сопровождаются иммунными нарушениями организма, часто сопряженными с воспалительной реакцией и иммуносупрессией, диагностика которых на современном этапе возможна с помощью комплексного анализа иммунного статуса.

Цель

На основании комплексного анализа иммунного статуса определить информативные маркеры для диагностики гнойно-септических осложнений у больных с обширными ожогами.

Материалы и методы

В исследование включено 158 пациентов (М:83. Ж:75) в возрасте 47 ± 18 лет с общей площадью поражения 44 ± 16 %, глубокие ожоги составили 24 ± 9 % п.т. В группу сравнения включили 25 здоровых добровольцев. Комплексный иммунный анализ (45 показателей) крови выполняли в динамике методами проточной цитофлуориметрии, турбидиметрии, хемилюминесценции.

Результат

Изменения иммунной системы у тяжелообожженных при диагностированной инвазивной раневой инфекции в большинстве случаев свидетельствовали о наличие эндогенной интоксикации с бактериальным компонентом с возрастанием лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) в 1,5–4 раза от нормы и токсическим повреждением нейтрофилов со сдвигом формулы крови влево на фоне лейкоцитоза. Выявлено достоверное повышение гранулоцитов с экспрессией активационных маркеров, в т.ч. с экспрессией аналогов рецепторов семейства ФНО (CD40+), эндотоксина и ЛПС (CD14+), высокоаффинного Fc-γ рецептора для IgG (CD64+) на фоне дефицита моноцитарных клеток HLA-DR+ Мн, отражающих степень выраженности системной воспалительной реакции и инфекционно-воспалительного процесса, особенно при развитии сепсиса. Нарушения количественного состава и функциональной активности лимфоидного, Т-клеточного и клеточного киллерного потенциала в сочетании с развитием вторичного иммунодефицитного состояния выявлены у 41% пациентов, преимущественно на фоне преобладания в тканевых биоптатах полирезистентной микрофлоры и (или) ассоциации различных возбудителей. У пациентов с риском генерализации инфекции или начале септических осложнений регистрировался дефицит IgG = 4,6 ± 1,3 г/л ($p<0,05$), причем у трех больных он полностью исчез из циркуляции, а у 16 пациентов возник сочетанный дефицит IgG и IgM, отражающий глубокое поражение гуморальной системы иммунитета. Оксидативный стресс фагоцитов с накоплением вне – и внутриклеточных активных форм кислорода развивался преимущественно при диагностированном сепсисе и септическом шоке с признаками полиорганной недостаточности и воспалительно-тканевой деструкции. Таким образом, на основе статистического анализа полученных данных, а также проведенных ранее исследованиях у 85 обожженных больных с септическими осложнениями, дополнительно с клинико-лабораторными данными была разработана иммунная количественная формула прогноза и диагноза сепсиса, обладающая 95% специфичностью и возможностью прогнозировать сепсис за несколько дней до постановки клинического диагноза. Данная формула состоит

из семи маркеров из которых 4 резко снижены (ЛФ < 9,3%, NK-клетки < 5%, HLA-DR+ Мн < 50%, IgG < 6,0 г/л) и 3 резко повышены (ЛИИ >4,0 ед, CD64+Гр 90–100%, П/я Нф >21%).

Заключение

Важно проводить комплексную оценку иммунного статуса у тяжелообожженных для диагностики нарушений иммунной системы, выраженности иммунодефицита и прогноза развития инвазивной и генерализованной инфекции. При этом особенно важна оценка иммунного статуса и ключевых прогностических маркеров для своевременного купирования гнойно-септических осложнений и использования персонифицированной иммунотерапии обожженных пациентов, основанной на применении иммунозаместительной, иммуномодулирующей и антиоксидантной терапии в комплексном лечении ожоговой болезни.

АУТОАНТИТЕЛА ПРИ САРКОИДОЗЕ ЛЕГКИХ

Москалец О.В.

МОНИКИ
г. Москва

Актуальность

Саркоидоз – системное гранулематозное заболевание, этиология которого остается неизвестной. Гуморальный ответ при саркоидозе, в частности, продукции аутоантител, изучены недостаточно.

Цель

Целью данного исследования было изучение роли аутоиммунных механизмов , в частности, продукции аутоантител, при саркоидозе легких.

Материалы и методы

Обследовано 40 больных с легочным саркоидозом. Группа сравнения включала 48 больных с легочными диссеминациями другой этиологии. Определяли содержания антител к двуспиральной ДНК (анти-дсДНК), антител к фосфолипидам (АФЛ) и антинейтрофильных антител (АНА) в сыворотке крови методом ИФА.

Результат

Анализ результатов показал, что повышенный уровень к АНА и анти-дсДНК с достаточно высокой частотой встречаются как при саркоидозе легких (32,5% и 47,5%, соответственно), так и при других легочных диссеминациях (35,4% и 52,1%, соответственно) , в том числе у 6 больных саркоидозом и 5 больных из группы сравнения одновременно выявлялись и те, и другие аутоантитела. При сопоставлении частоты выявления аутоантител и продолжительности заболевания оказалось, что у больных саркоидозом легких АНА и анти-дс ДНК встречались чаще при длительности заболевания свыше одного года: от 1 до 5 лет – 91%, от 5 до 10 лет-85%, более10 лет – 66%. При других легочных диссеминациях частота выявления аутоантител от продолжительности заболевания не зависела.

Зависимости исследуемых показателей от особенностей клинических проявлений, а также корреляции с рентгенологической картиной не выявлено.

Заключение

Достаточно большая частота выявления антинейтрофильных антител и повышенного уровня антител к двуспиральной ДНК при саркоидозе и других легочных диссеминациях указывает на определенную роль аутоиммунных механизмов в патогенезе этих заболеваний, однако их клиническая значимость пока остается неясной, что требует более детальных исследований.

АСПЕКТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АНТИТЕЛ К SARS-CoV-2 МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ПРИМЕРЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Пешне Е.Н., Пешне К.А., Горячая М.Н.

ГУЗ городская поликлиника №1 им.С.М.Кирова
г. Ульяновск

Актуальность

Разнообразие предлагаемых тест-систем для определения антител к SARS-CoV-2 предполагает сравнение их между собой. Показано, что в начале инфекции специфические антитела у больных Covid-19 формируются на RBD-участок белка Spike, а позже появляются иммуноглобулины к нуклеокапсиду.

Цель

Сравнить чувствительность и специфичность различных тест-систем по определению антител IgG к SARS-CoV-2 методом иммуноферментным анализа.

Материалы и методы

Исследование проводилось на иммуноферментном анализаторе Infinite F50 (Tecan, Австрия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistica 8.0 («StatSoftInc.», США). Использованы тест-системы трех российских производителей.

Результат

Показано, что у 24 (36%) пациентов, переболевших Covid-19, в тест-системах № 1, 2 определяются антитела с коэффициентом позитивности (КП) 18,25±3,91 и 7,37±3,32 соответственно, в третьей тест-системе у этих же пациентов определяется отрицательный результат при КП 0,17±0,22. У других 26 (39%) пациентов, перенесших Covid-19, на всех трех тест-системах положительный результат, КП составил №1 17,69 ±4,12; №2 6,37±2,17; №3 4,16±2,90. Результат исследования 16 (24%)здоровых пациентов показал в тест-системах №1 и №2 отрицательные результаты, КП составил 0,42±0,57 и 0,14±0,15 соответственно, а в третьей тест-системе эти же пациенты имели положительные результаты при КП 3,48±2,55. В первых двух тест-системах определялись антитела к белкам (RBD) S-белку и N (нуклеокапсиду), что соответствует клинической картине Covid-19. В третьей тест системе определялись антитела к нуклеокапсидному антигену коронавируса SARS-CoV-2 при отсутствии данных анамнеза по поводу наличия заболевания или симптоматики ОРВИ.

Заключение

При выборе тест-системы для определения антител иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 необходимо учитывать не только чувствительность и специфичность, но и набор белков (детерминант), для определения иммунологического ответа. Различия в результатах одних и тех же пациентов ставят вопрос о целесообразности использования, для скринингового исследования иммунитета, тест-системы, включающие в себя только один нуклеокапсидный белок.

РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РАННЕГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Рыбакова В.В., Авдеева А.С., Черкасова М.В., Насонов Е.Л.

ФГБНУ «Научно – исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия 115522
Каширское шоссе, 34А
г. Москва

Актуальность

Применение активной терапии раннего ревматоидного артрита (рРА) в дебюте заболевания приводит к достоверному снижению активности заболевания, уровня острофазовых показателей и имеет хорошие отдаленные результаты.

Цель

изучить показатели цитокинового профиля в зависимости от активности РА достигнутой на фоне терапии.

Материалы и методы

В анализ было включено 93 пациента с рРА. Всем больным назначалась терапия метотрексатом, при недостаточной эффективности назначение генно – инженерных биологических препаратов. Концентрацию 27 цитокинов в сыворотке крови определяли с помощью мультиплексной технологии xMAP.

Результат

До начала терапии значение индексов активности DAS 28 – Me (ИР)-5,31 [4,79; 6,14], SDAI – 28,27 [18,79; 40,73], CDAI-25 [17; 36] соответствовало высокой воспалительной активности заболевания. Через 6 лет значение индексов активности составило – DAS 28–4 [3,4; 4,59], SDAI-15,06 [9,32; 21], CDAI-15 [9; 21]; ремиссия заболевания была выявлена у 7,7%, низкая активность – 21,1%, умеренная активность у 60%, высокая активность – 11,1%. Исходный уровень провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с РА был выше по сравнению со здоровыми донорами (пг/мл). ИЛ-6 46,7 (23,8–101,7) и ИЛ-6 7,8 (4,5–13,1), ИЛ-12 48,4 (24,8–99,2) и 5,8 (2,2–9,9),ФНО-α 59,1 (35,5–157,6) и 38,9 (17,2–64,9), IP10 5176,5 (2679,7–8788,9) и 717,8 (188,7–4064,8), MIP-1β 139,5 (114,5–173,1) и 66 (49,4–99,4) ИЛ-8 30,6 (24,7–44,3) и 12,5 (4,8–16,3), ИЛ-7 45,3 (29,7–66,9) и ИЛ-7 8,2 (0,5–21,5), PDGF-BB 5407,6(3747,8–8299,5) и 26024,5 (5854,8–58715) (соответственно $p < 0,05$ между группами).

Через 6 лет пациенты были поделены на группы в зависимости от активности болезни. Среди больных, достигших ремиссии/низкой активности по SDAI и CDAI наблюдался более низкий уровень ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ9, IP10 через 3 и 6 месяцев от начала терапии. Значения: ИЛ-6 7,73(7,4; 23,3), и 23,5(12,4;69,5) $p < 0,0435$. IP-10 1319 (936,1;2586,1) и 2430 (2074;4023). ИЛ-17 0,01 (0,01; 5,57) и 13,6 (0,01; 25,47). ИЛ-9 SDAI 12,65 (6,84;16,21) и 18,57 (14,2;22,82). ИЛ-9 CDAI 13,11 (6,84;16,21) и 18,16 (13,9;23,29) $p < 0,05$ во всех случаях.

Заключение

Показатели цитокинового профиля имеют важное значение для прогнозирования отдаленных результатов у пациентов с РА получающих генно – инженерную биологическую терапию.

ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Чуксина Ю.Ю.

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского
г. Москва

Актуальность

Ключевую роль в элиминации опухолевых клеток играет адаптивный и врожденный клеточный иммунитет, реализуемый Т – и NK– лимфоцитами, в настоящее время недостаточно изученный при В-клеточном хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ).

Цель

Оценить параметры адаптивного клеточного иммунитета у пациентов ХЛЛ в сопоставлении с клинической эффективностью применяемых режимов иммунохимиотерапии.

Материалы и методы

Обследовано 60 больных ХЛЛ до начала лечения, а также после проведения курсов ритуксимаб-содержащей терапии 1 и 2 линий. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, Т-регуляторных клеток и детекция минимальной остаточной болезни (МОБ) проводились методом 4-цветной проточной цитометрии.

Результат

При достижении частичной (ЧР) и полной (ПР) ремиссий после индукции программой RFC (Ритуксимаб+Флюдарабин+Циклофосфан) и далее иммунофенотипической МОБ-негативной ПР после проведения поддерживающей терапии Ритуксимабом у пациентов сохранялось достоверно сниженным абсолютное количество Т-лимфоцитов (как CD4+, так и CD8+клеток) и NK-клеток, хотя по относительным параметрам данные показатели не отличались от нормы. Уровень Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+hiCD127-) не отличался от нормы, но содержание Т-хелперных лимфоцитов 2 типа (CD4+CD294+) резко снижалось после проведения курсов поддерживающей монотерапии Ритуксимабом, в то время как значительно увеличивалось содержание Т-лимфоцитов с супрессорной активностью (CD8+CD28-). У рецидивных/резистентных больных в процессе терапии R+B при достижении ЧР сохранялось еще более выраженное снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов (CD3+) и NK, а также высокий уровень CD3+HLA-DR+клеток. Выявлено достоверное увеличение содержания Т-рег. клеток (CD4+CD25+hiCD127-) в рецидиве заболевания и его снижение при достижении ЧР, что сопровождалось достоверным увеличением содержания эффекторных Т-цитотоксических клеток (CD3+CD8+CD28+) и Т-лимфоцитов с супрессорной активностью (CD8+CD28-).

Заключение

Несмотря на достижение полной ремиссии заболевания, в том числе МОБ-негативной ремиссии, у больных ХЛЛ сохраняется резкое снижение абсолютного количества Т – и NK-лимфоцитов. В популяции CD3+CD8+клеток преобладает субпопуляция Т-лимфоцитов с супрессорной активностью (CD8+CD28-), содержащая «VETO»-клетки CD8+CD28-FOXP3+, ингибирующие противоопухолевый иммунный ответ. Длительная терапия пациентов ХЛЛ ритуксимаб-содержащими режимами приводит к резкому снижению содержания Т-хелперных лимфоцитов 2 типа, регулирующих функцию эффекторных Т – и В-лимфоцитов.

ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ

Чуксина Ю.Ю.

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского
г. Москва

Актуальность

Изучение показателей адаптивного клеточного иммунитета, в частности, факторов, опосредующих достижение иммунологической толерантности у реципиентов в отдаленном периоде после аллогенной трансплантации почек (АТП), является актуальной и недостаточно изученной проблемой.

Цель

Оценить факторы клеточного адаптивного иммунитета, способствующие развитию толерантности у пациентов в отдаленном периоде после трансплантации почки.

Материалы и методы

Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, Т-регуляторных клеток с различным фенотипом проведена методом 4–цветной проточной цитометрии 20 пациентам через 4–6 лет после проведения АТП. Обследовано 20 практически здоровых лиц для определения референсных значений по аналогичным показателям.

Результат

У пациентов 1 года после трансплантации выявлено достоверное (p=0,001) увеличение содержания «VETO»-клеток с фенотипом CD8+CD28-CD62L+(52,6±10,8%) по сравнению с практически здоровыми лицами (26,1±2,7%). В последующие сроки наблюдения (4–6 лет) их количество снижалось, но не достигало нормальных значений. «VETO»-клетки являются индуцированными Т-регуляторными клетками, входящими в популяцию Т-лимфоцитов с супрессорной активностью CD8+CD28-. У пациентов через 5 – 6 лет после трансплантации выявлены следующие статистически значимые изменения: снижение содержания Т-хелперных лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2 (CD4+CD25+), снижение количества В-лимфоцитов (CD19+); увеличение числа NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+), увеличение абсолютного количества Т-рег. клеток (CD4+CD25+hiCD127-). При прогрессивном ухудшении функции почек и при хронической трансплантационной нефропатии 3 степени снижение В-лимфоцитов было более резко выражено. Нефротоксичность ингибиторов кальцинейрина характеризовалась значительным увеличением содержания субпопуляции эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+CD28+), NKT-лимфоцитов и значительным увеличением субпопуляции индуцированных Т-регуляторных клеток с фенотипом CD8+CD28-CD62L+.

Заключение

Исследование параметров клеточного иммунитета у пациентов после АТП в отдаленные периоды дает ценную дополнительную информацию о функциональном состоянии ПАТ и / или о нефротоксичном влиянии иммуносупрессирующих препаратов. Частичная иммунологическая толерантность к трансплантату в позднем послеоперационном периоде сохраняется за счет присутствия большего количества Т-регуляторных клеток с фенотипом CD3+CD4+CD25+(hi)CD127-, а также за счет индуцированных Т-регуляторных клеток CD8+CD28-CD62L+.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫРАБОТКИ «ПРОТЕКТИВНЫХ» И «ИНДИКАТОРНЫХ» АНТИТЕЛ К SARS-COV-2

Шустов В.В., Баженов А.И., Годков М.А.

НИИ СП им. Н.В. Склифосовского
г. Москва

Актуальность

Серологические исследования широко применяются в диагностике COVID-19. Огромный выбор тест-систем позволяет определить несколько вариантов антител, специфичных конкретному участку вируса SARS-CoV-2.

Цель

Провести сравнительный анализ наличия «протективных» антител у пациентов с «индикаторными» антителами IgM и IgG к SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Обследовано 442 человека подтвержденным диагнозом COVID-19. Тестирование проводили с помощью наборов реагентов двух производителей: Mindray (SARS CoV 2 IgM/IgG) к S-(splike) и N-белку коронавируса («индикаторные») и Siemens (COV2T), направленные на поиск суммарных антител (IgM+IgG) к RBD S-белка SARS-CoV-2 («протективные»).

Результат

В соответствии с результатами тестирования на наличие «индикаторных» антител сформировали три группы пациентов:

1. группа с IgM+; II группа с IgM+/IgG+; III группа с IgG+.

Разделение пациентов по группам считали отражающим периоды заболевания: продромальный, разгар и угасание инфекционного процесса. Сыворотки пациентов всех трех групп тестировали на наличие «протективных» антител.

В I группе (52 чел.) лишь у 21,2% пациентов (11 чел.) выявлены «протективные» антитела. Во II группе (205 чел.) доля пациентов с АТ к RBD составляет 94,1% (193 чел.), у 5,9% пациентов данные антитела отсутствуют (12 чел.), что отличается от таковой в I группе (p value <0,05). В III группе (185 чел.) у 88,6% (164 чел.) обнаружены антитела к RBD белка S1 SARS-CoV-2, а у 11,4% пациентов (21 чел.) антител к данному участку не обнаружено, что в 2 раза больше относительно II группы и в 7 раз меньше относительно I группы (p value <0,05).

Высокий процент пациентов с отсутствием антител к RBD белка S1 SARS-CoV-2 на начальной стадии заболевания (в I группе 79%) вероятно обусловлен более поздним образованием антител с протективными свойствами. Наибольшая доля пациентов с «протективными» антителами установлена в период разгара заболевания (во II группе 94,1%) на пике иммунного ответа. Снижение доли пациентов с «протективными» антителами в III группе (88,6%) требует дополнительных исследований.

Заключение

«Протективные» антитела формируются в течение всего инфекционного процесса; доля пациентов с антителами к RBD SARS-CoV-2 меняется в зависимости от периода заболевания.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ, ИНФИЦИРОВАННЫХ SARS-COV-2

Щёкина Л.А.*, Улейская Г.И.*, Стюф И.Ю., Малахова М.Я., Шеламова Д.А., Евтеева Д.А., Гайковая Л.Б.

ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, *Городская клиническая больница №31, Санкт-Петербург
г. Ленинградская область,г. Мурино

Актуальность

В ответ на инфицирование SARS-CoV-2 развиваются защитные реакции, обусловленные механизмами врожденного и приобретенного иммунного ответа. Особенности клеточного иммунитета больных COVID-19 в зависимости от тяжести течения изучены не достаточно.

Цель

Оценить состояние клеточного иммунитета у пациентов с Covid-19 в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материалы и методы

У 10 пациентов Covid-19 с различной степенью тяжести заболевания через 6–8 дней после госпитализации определяли количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, натуральных киллеров, В-лимфоцитов методом проточной цитометрии на анализаторе BD FACS Canto II и соотношение CD4/CD8.

Результат

У больных Covid-19 с легким и среднетяжелым течением заболевания абсолютное количество Т-лимфоцитов (CD3+CD19-) находилось в пределах референтных значений (1,0–2,41x10^9/л), у пациентов с тяжелым течением этот показатель был 3,2[1,33;3,8]x10^9/л и превышал референтные значения в 1,5–2 раза. У всех пациентов содержание Т-хелперов (CD3+CD4+) было в пределах референтного интервала 0,60–1,7x10^9/л. Содержание цитотоксических Т-клеток (CD3+CD8) у пациентов с легким и среднетяжелым течением пневмонии находилось в пределах референтных значений (0,3–1,0x10^9/л), тогда как у пациентов с тяжелым течением их количество резко возрастало в 2–3 раза, и составляло 1,87[0,33;2,31]x10^9/л.

Количество естественных киллеров (CD16+CD56+) с цитотоксической активностью у пациентов с тяжелым течением пневмонии было 0,98[0,25;1,41]x10^9/л, что выше референтного интервала (0,03–0,5x10^9/л), а у пациентов легким и средним течением этот показатель не выходил за пределы референтных значений. При оценке В-клеточного звена иммунитета (CD19+ CD3-) количество В-лимфоцитов у пациентов в зависимости от тяжести процесса не изменялось и находилось в пределах референтного интервала 0,04 – 0,4x10^9/л. При оценке соотношения Т-хелперов к цитотоксическим Т-клеткам (CD4+/CD8+) было выявлено, что у пациентов с легкой и среднетяжелой формой оно было выше 2,2[1,1;2,9], чем референтные значения (1,5–2), тогда как при тяжелом течении ниже – 0,76[0,48;3,1]. Таким образом, при оценке клеточного иммунитета, у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, с тяжелым течением пневмонии было установлено повышение количества Т-лимфоцитов, цитотоксических клеток и натуральных киллеров, что соответствует течению вирусной инфекции. Однако снижение у них соотношения Т-хелперов к цитотоксическим Т-клеткам свидетельствует о нарушении функционирования иммунной системы и ухудшении прогноза.

Заключение

Для оценки прогноза и тяжести течения вирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, рекомендовано определять количество Т-лимфоцитов, цитотоксических Т-клеток, цитотоксических клеток и соотношения Т-хелперов к цитотоксическим клеткам.

КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АБСОЛЮТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ, ЛИМФОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С СИСТЕМНЫМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕАКЦИЯМИ

Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Борисенко Н.Н., Сытов А.В., Плужникова Н.А.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Нарушение качественного состава лейкоцитов и особенно их количественных характеристик, в частности, абсолютного числа клеток в периферической крови, могут играть большую роль в развитии септических состояний (СВР) онкологических больных.

Цель

Детальный анализ лейкоцитарной формулы для оценки прогностической значимости показателей крови.

Материалы и методы

В объект исследования включили 32 онкологических больных. В послеоперационном периоде (п/о) у 13 из них выявили СВР, у 12 чел. диагностирован сепсис, у 7 чел. развился септический шок. Исследование проведено на 1–3 сутки появления осложнений. Были успешно пролечены 23 больных и 9 чел. умерли

Результат

Показатели клинического анализа крови контрольной группы без СВР на 7–11 день п/о восстановились до референсных значений нормы. У больных с СВР сопровождались лейкемоидной реакцией нейтрофильного типа. Количество WBC значительно превышало норму у большинства из них, с колебаниями в широких пределах от 1,0 до 41,3 х109/л, среднее значение составило (17,2±1,9)х109/л (P<0,001). В лейкоцитарной формуле отмечался как относительный, так и абсолютный нейтрофилёз (P<0,01) во всех группах. Следует отметить, что более чем у половины (4 чел; 57,1%) больных с септическим шоком отмечалась выраженная, по сравнению с другими группами, лейкопения (WBC<2х109/л), с абсолютной нейтропенией (<0,8х109/л), лимфопенией (<0,5х109/л), и моноцитопенией (<0,03х109/л). В этой же группе выявлены более высокие значения (P<0,02) IG, выраженная дисплазия НФ и МЦ, значительная вакуолизация цитоплазмы клеток, пикноз ядер, в НФ-гипогрануляция. В группе умерших по сравнению с выжившими больными также обнаружены более низкие абсолютные значения (P <0,02) НФ, особенно ЛФ и МЦ.

Заключение

Абсолютные показатели количества НФ, ЛФ и МЦ периферической крови могут являться прогностическими критериями клинического течения системных воспалительных заболеваний, наряду с другими информативными тестами.

ОСОБЕННОСТИ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Хагажеева М.Н.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Имеются предположения, что гиперпродукция белка гепсидина (ГП25) под воздействием ИЛ-6 может быть ответственна за анемию, ассоциированную со злокачественными новообразованиями. Вместе с тем клиническая значимость этого показателя окончательно не определена.

Цель

Совершенствование лабораторной диагностики анемического синдрома у больных с колоректальным раком (КР).

Материалы и методы

Исследование проведено у 63 больных с КР и анемическим синдромом (АС), до лечения. Средний возраст (67,5±2,3) лет. Контрольная группа – 50 здоровых лиц. Ферритин (ФР), растворимые рецепторы трансферрина (рРТФ), эритропоэтин (ЭПО), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и гепсидин-25 (ГП25) определяли методом ИФА.

Результат

Больные с анемий имели одинаковые морфологические признаки эритроцитов и ретикулоцитов крови, а именно, микроцитоз (MCV=74,3±2,1 фл) и гипохромию (MCH=22,9±1,2) пг, среднее содержание гемоглобина в ретикулоците составило (22,8±0,7) пг. На основании показателей ФР, рРТФ, ИЛ-6, ГП25 среди больных были выделены три группы: первая (20 чел.) – с истинной ЖДА, при которой отмечено снижение ФР (13,6±1,3) нг/мл, повышение уровня рРТФ (3,2±0,8) мкг/мл, ИЛ-6 колебался от 0 до 4,1 пг/мл (2,4±0,4) пг/мл. Концентрация ГП25 была (2,7±0,4) нг/мл ниже нормы; 2-я (24 чел.) с железодефицитным эритропоэзом (ЖДЭ) отличалась от 1-й группы значительной концентрацией ФР (197,1±39,1) нг/мл; 3-я (19 чел.) – с функциональным дефицитом железа (ФДЖ), характеризовалась высокой концентрацией ФР (359,4±99,3) нг/мл и рРТФ (1,7±0,4) мкг/мл. Показатели ГП25 (45,0±7,1) нг/мл и ИЛ-6 (24,3±5,5) пг/мл были достоверно ($p < 0,001$) выше, чем у больных с ЖДА и ЖДЭ. Анализ показателей ЭПО выявил адекватное повышение более 100 мЕ/мл у 26 (41,2%) чел. с колебаниями от 57 до 227 мЕ/мл. У 37 (58,8%) больных ЭПО колебался от 3,2 до 43,0 мЕ/мл (18,1±3,8) мЕ/мл, медиана-10,5 мЕ/мл, т.е. был неадекватным степени тяжести анемии. Более низкая продукция ЭПО отмечалась у всех больных с ФДЖ, в меньшей степени у пациентов с ЖДЭ и ЖДА.

Заключение

Показатели концентрации ГП25, ИЛ-6, ЭПО у больных с колоректальным раком и железодефицитными синдромами могут предоставить клиницистам новые инструменты для разработки иных способов и механизмов терапевтического воздействия. Это, в свою очередь, будет способствовать адекватному назначению препаратов железа, rEPO, возможно, антагонистов ИЛ-6, ГП25 и, соответственно, оптимальной эффективности терапии анемического синдрома

ВОЗМОЖНОСТЬ РАННЕГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЗДНЕЙ АНЕМИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Иваненкова Ю.А., Харламова Н.В., Матвеева Е.А., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Филькина О.М.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н.Городкова» Минздрава России
г. Иваново

Актуальность

Частота поздней анемии у недоношенных детей, родившихся с массой тела менее 1500 г., колеблется от 16,5–91,5%. Развитие у ребенка данной патологии приводит к снижению качества жизни и требует своевременной профилактики.

Цель

Цель – разработать способ раннего прогнозирования поздней анемии у недоношенных детей, родившихся с массой тела менее 1500.

Материалы и методы

Обследовано 58 недоношенных новорожденных. На 3–5 сутки жизни на гематологическом анализаторе Advia 2120I определяли абсолютное число ретикулоцитов, средний объем ретикулоцитов, на биохимическом анализаторе AU480 – содержание ферритина и сывороточного железа, рассчитывали коэффициент насыщения трансферрина железом.

Результат

Использование гематологического анализатора позволяет в минимальном количестве крови определять максимальное количество показателей, в том числе ретикулоцитарные показатели: RET# – абсолютное количество ретикулоцитов (×109 /л) и MCVr – средний объем ретикулоцитов (фл).

С учетом определения в периферической венозной крови новорожденного на 3–5 сутки жизни показателей абсолютного числа ретикулоцитов среднего объема ретикулоцитов, коэффициента насыщения трансферрина железом, содержания ферритина и сывороточного железа с использованием дискриминантного анализа разработан способ прогнозирования развития поздней анемии у детей, родившихся при сроке гестации до 32 недель с массой тела менее 1500г. Рассчитывается прогностический индекс D по формуле: D=6,071–0,0055×A1+0,0607×A2+0,0033×A3–0,7626×A4+0,2325×A5, где: A1 – абсолютное число ретикулоцитов (RET#), ×109 /л; A2 – средний объем ретикулоцитов (MCVr), fl; A3 – ферритин, мкг/л; A4 – сывороточное железо, мкмоль/л; A5 – коэффициент насыщения трансферрина железом %, 6,071 – CONSTANT. При D более 0 прогнозируют развитие в три месяца жизни поздней анемии недоношенных, а при D менее 0 прогнозируют отсутствие развития в три месяца жизни поздней анемии недоношенных.

Заключение

Разработанный способ раннего прогнозирования поздней анемии у недоношенных детей имеет высокую точность 93,1%, специфичность 90% и чувствительность 94,74%. Все используемые показатели (ферритин, сывороточное железо, коэффициент насыщения трансферрина железом, ретикулоцитарные показатели доступны практическому здравоохранению. Учитывая тот факт, что прогнозирование осуществляется по показателям, взятым из крови в раннем неонатальном периоде, имеется возможность провести профилактические мероприятия для профилактики этой патологии.

В ПОИСКАХ УДОБНОГО БИОМАРКЕРА: ДЕЛЬТА ГЕМОГЛОБИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ СТАТУСА ПАЦИЕНТА И ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ.

Теряева Н.Б., Гаджиева О.А., Баширян Б.А.

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им.ак. Н.Н.Бурденко» МЗ РФ
г. Москва

Актуальность

Расширение использования ряда новых гематологических параметров, таких, как дельта гемоглобина (Delta-He), может стать источником практичных биомаркеров, позволяющих быстро оценивать и регистрировать изменения в состоянии пациента, включая динамическое наблюдение.

Цель

Цель исследования – оценить возможность «нетрадиционного» использования Delta-He для мониторинга состояния и эффективности терапии пациентов хирургического стационара

Материалы и методы

Проанализированы результаты 6652 анализов, выполненных на гематологическом анализаторе Sysmex XN-1000, соответствующих 832 пациентам стационара. Значения Delta-He сопоставлены с клиническим диагнозом, тяжестью состояния, особенностями течения до – и послеоперационного периода, наличием и характером осложнений, способами их коррекции.

Результат

Абсолютные значения Delta при поступлении варьировали в диапазоне от – 6,9 до 19,7, отражая тяжесть исходного состояния пациента. Анализ значений для каждого пациента продемонстрировал наличие достаточно четких динамических паттернов, характерных для пребывания в нейрохирургическом стационаре. В раннем послеоперационном периоде прослеживалось снижение значений Delta-He на 7–63% (в зависимости от сложности вмешательства); гладкое послеоперационное течение продемонстрировало тенденцию к постепенному повышению значений. При наличии осложнений значений показателя продолжали снижаться, при этом в ряде случаев такое снижение на протяжении нескольких дней могло быть единственным признаком, имеющим стойкую негативную динамику. Анализ индивидуальных историй болезни показал, что динамика исследуемого показателя может быть использована для мониторинга состояния пациента и эффективности терапии.

Заключение

Delta-He, отражая не только обмен гемоглобина, но и факт изменения биодоступности железа, может использоваться для динамического наблюдения. Помимо традиционного применения, этот показатель может быть полезен в оценке общего состояния пациента, выявляя формирование провоспалительного статуса, использоваться для мониторинга терапии, указывая на благоприятное или неблагоприятное течение заболевания.

ПАРАМЕТРЫ ТРОМБОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Харламова Н.В., Будалова А.В., Кузьменко Г.Н.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» Минздрава России
г. Иваново

Актуальность

Изучение тромбоцитарных показателей на гематологическом анализаторе у новорождённых детей, в том числе родившихся преждевременно, является актуальным, так как позволяет оценить тромбоцитарное звено гемостаза для прогнозирования нарушений и определения тактики ведения пациентов.

Цель

Цель исследования – изучение морфометрических особенностей тромбоцитов у новорожденных детей в раннем неонатальном периоде

Материалы и методы

На 3–5 сутки сутки жизни обследован 101 новорожденный ребенок, в том числе 80 – до 32 недели гестации. Проведен анализ венозной крови на гематологическом анализаторе Advia 2120i, с определением показателей тромбоцитов: PLT, PCT, PDW, Large Plt, MPC, MPM, MPV. Данные проанализированы с использованием программного пакета «Statistica 13.0».

Результат

В исследование включены недоношенные новорожденные с гестационным возрастом до 32 недель – 80 детей (79,2%), они составили основную группу новорожденных, и 21 условно здоровый новорожденный (20,8%) сроком гестации более 37 недель – группа контроля. Гестационный возраст обследованных недоношенных новорожденных составил 30,5 [28,6; 31,3] недель. Масса тела при рождении 1377,0 [1151,0; 1480,0] грамм, длина тела 39,0 [36,0; 41,0] см. Оценка по шкале Апгар в конце 1 минуты жизни составила 5,0 [4,0; 6,0] баллов, оценка степени дыхательных нарушений по шкале Сильверман 5,0 [4,0; 5,0] баллов. В состоянии тяжелой асфиксии родилось 14 детей (17,5%). Доношенные новорожденные родились в удовлетворительном состоянии, не имели отклонений в состоянии здоровья в раннем неонатальном периоде, имели при рождении срок гестации 39,0 [38,2; 39,3] недели, массу тела 3550,0 [3020,0; 3720,0] грамм, длину тела 51,0 [50,0;53,0] см. Оценка по шкале Апгар в конце первой минуты жизни составила 8,0 [7,0; 8,0] баллов. В группе недоношенных новорожденных были получены следующие показатели тромбоцитов: PLT-234,5 [166,0; 269,5], ×103 cells/µl., MPV – 9,2 [8,7; 10,5] fl, PDW – 64,3 [60,2; 70,4] %, PCT-0,20 [0,15; 0,25] %, LargePlt – 7,0 [5,0; 9,0] ×103 cells/µl., MPC-24,3 [23,1; 25,3] g/dl, MPM-2,02 [1,91; 2,14] pg. Доношенные новорожденные в раннем неонатальном периоде имели следующие показатели тромбоцитов: PLT-260,0 [197,0; 289,0], ×103 cells/µl., MPV – 8,4 [7,8; 8,9] fl, PDW – 62,1 [58,3; 64,2] %, PCT-0,20 [0,17; 0,24] %, Large Plt – 6,0 [5,0; 8,0] ×103 cells/µl., MPC-25,5 [23,9; 26,1] g/dl, MPM-1,93 [1,89; 2,05] pg. При сравнении полученных результатов установлено, что у недоношенных новорожденных наблюдается циркуляция в крови тромбоцитов со значимо большими значениями среднего объема (MPV) ($p < 0{,}0002$), ширины распределения тромбоцитов по объему (PDW) ($p < 0{,}03$), и более высокой средней сухой массой тромбоцита (MPM) ($p < 0{,}02$), но более низкой гранулярностью (MPC) ($p < 0{,}009$).

Заключение

Особенностью тромбоцитарного звена гемостаза у недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде является активный тромбоцитопоэз с образованием молодых (крупных) форм тромбоцитов, о чем свидетельствует более высокие показатели среднего объема, ширины распределения тромбоцитов по объему и средней сухой массы тромбоцитов (по данным гематологического анализатора). При этом наблюдается снижение гранулярности тромбоцитов, что ограничивает их функциональную активность.

МЕДИЦИНСКАЯ ЦИТОЛОГИЯ

СРОЧНОЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ОБРАЗОВАНИЙ ЛЕГКОГО

Круглова И.А.[1], Паранина Т.В.[2], Зиновьев С.В.[3], Уткин О.В.[4]

1 ГБУЗ НО Городская больница № 35,
2 ГБУЗ НО «НОКПД,
3 ГБУЗ НО «НОКОД,
4 ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной
г. Нижний Новгород

Актуальность

Срочное интраоперационное исследование – наиболее сложный вариант морфологической верификации поражений легкого, который требует подробного и точного ответа за минимальный промежуток времени. А решающая роль в случае неясного диагноза отводится имеено морфологической верификации.

Цель

Оценить эффективность цитологического исследования (ЦИ) в интраоперационной диагностики объемных образований легкого.

Материалы и методы

Ретроспективно проанализировано 173 цитологических препарата, полученных при интраоперационном исследовании новообразований легкого и внутригудных лимфатических узлов. В ходе исследования проведена оценка ЦИ и сопоставление данных с результатами планового гистологического исслелования с расчетом показателей эффективности.

Результат

По данным срочного цитологического исследования из 173 случаев в 112 наблюдениях был установлен гранулематозный характер поражения (туберкулезный процесс). Злокачественный характер поражения установлен в 31 случае (рак –16, карцинойдная опухоль – 5, злокачественное новообразование неясной этиологии – 7, подозрение на злокачественное поражение – 3); доброкачественный характер объемного образования был высказан в 16 случаях (гамартома + хондрома – 9, хронический воспалительный процесс – 7). Отсутствие диагностического материала было выявлено в 5 случаях и в 2 случаях материал, доставленный на цитологическое исследование, оказался не информативным. Использование транспортной среды ТПС-1 позволяет доставлять сохранный материал для исследования, а так же хранить оставшуюся часть материала до 14 дней не теряя морфологические характеристики клеточного состава.

При сопоставлении с результатами гистологического исследования операционного материала расхождения наблюдались в 5 случаях, причиной которых стал неинформативный материал (2 случая в цитологическом исследовании и 3 случая в гистологическом исследовании). При сравнении данных морфологического (цитологического) исследования с первоначальным клиническим диагнозом расхождении наблюдались в 10 случаях.

Рассчитанные критерии эффективности цитологического метода при исследовании интраоперационного материала с легкого составили: чувствительность – 95,9%; специфичность – 71%; точность – 98%

Заключение

Т.о. срочное интраоперационное ЦИ объемных образований легкого является высокоэффективным методом в диагностики новообразований легких. Учитывая простоту получения, обработки образцов, минимальное время исследования и возможность повторного анализа по ходу оперативного вмешательства, снижается вероятность возникновения ситуации с необходимостью вторичной операции, после получения результатов планового гистологического исследования и возникает возможность оценить (изменить) объем выполняемого вмешательства непосредственно на операционном столе.

МЕДИЦИНСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ СТАЦИОНАРА В 2020 ГОДУ

Цитренко С.А., Лукьянова Е.Ю., Полуэктова М.В.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России
г. Обнинск

Актуальность

Инфекционные осложнения у онкогематологических больных в большинстве случаев имеют нозокомиальную природу, протекают крайне тяжело и плохо поддаются терапии вследствие высокой резистентности возбудителей.

Цель

Провести анализ распределения клинически значимых возбудителей инфекционных осложнений по локализации с определением чувствительности к основным группам антибиотиков.

Материалы и методы

В 2020 году было обработано 373 культуры клинически значимых микроорганизмов, выделенных из 843 образцов биоматериала. Посев производился общепринятыми методами. Идентификация и определение чувствительности проводилось на анализаторе Vitek-2 Compact (bioMerieux, Франция).

Результат

Наибольшее количество осложнений связано с инфекциями дыхательной системы (59,9%) и мочевыводящих путей (22,9%), изоляты из крови и раневого отделяемого составили 8,7% и 6,8% соответственно. По сравнению с пациентами хирургического профиля, доля грамположительной флоры составила 37%(гематология) против 35% (хирургия), грамотрицательной – 32%(гематология) против 53%(хирургия), грибов – 31%(гематология) против 13%(хирургия).

Среди грамположительных микроорганизмов преобладали: коагулазонегативные стафилококки (КНС) – 43,5%; E. faecalis – 13,0%; S. aureus – 9,4%; E. faecium – 3,0%. Среди КНС доля метициллинрезистентных стафилококков составила 70%, но сохранилась чувствительность на высоком уровне к рифампицину, нитрофурантоину. Резистентных к ванкромицину обнаружено не было. S. aureus был устойчив к метициллину в 15% случаев, чувствительность к ванкомицину, тигециклину и линезолиду сохранилась у 100 % выделенных изолятов. Среди энтерококков ванкомицин резистентных изолятов обнаружено не было. E. faecalis и E. faecium были чувствительны в 100% случаев к тигециклину и линезолиду.

Среди грамотрицательных микроорганизмов преобладали: K. pneumoniae – 34,5%; E.coli 26,1%; A. baumannii – 12,6%; P. aeruginosa – 5,9%.

K. pneumoniae чувствительна к амикацину в 61% случаев, тогда как устойчивость к цефалоспоринам 3–4 поколения составила 87–100%, к карбапенемам 59–80%. E.coli чувствительна к карбапенемам 97–100%, аминогликозидам – 73–97%, и защищенным цефалоспоринам – 100%.

A. baumannii сохранил чувствительность на уровне 100% только к полимиксину. P. aeruginosa была чувствительна в 100% случаев к полимиксину, в 71–86% случаев к амикацину и нетилмицину, чувствительность к меропенему составила 43%.

Грибы рода Candida высевались чаще всего в ассоциации с другими микроорганизмами. Основную долю составила C.albicans – 62,6%, которая сохранила высокую чувствительность к основным противогрибковым препаратам (93–100%).

Заключение

Основные инфекционные осложнения приходятся на долю дыхательной и мочевыводящей системы.

Этиологическая структура осложнений у онкогематологических больных в равной степени представлена грам(+), грам(-) флорой и грибами, в то время как у пациентов хирургического профиля грам(-) флора преобладает, а доля грибов снижена.

Среди грам(+) микроорганизмов преобладают КНС.

Грибы рода Candida чаще высеваются в ассоциации с другими микроорганизмами.

K. pneumoniae, A. baumannii, P. aeruginosa часто полирезистентны.

КОГЕРЕНТНАЯ ФЛУКТУАЦИОННАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ В ОЦЕНКЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Щелкова В.В., Кильдеева Н.Р., Русанова Е.В., Василенко И.А., Гурьев А.С.

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, ФГБОУ ВО РГУ им. А.Н. Косыгина
(Технологии. Дизайн. Искусство)
г. Москва

Актуальность

Создание биополимеров на основе хитозана с биоцидными свойствами весьма актуально при растущей антибиотикорезистентности микроорганизмов. Поиск новых композитов требует использования, наряду с рутинными, современных диагностических технологий.

Цель

Цель – оценка антимикробной активности хитозансодержащих биополимеров методом когерентной флуктуационной нефелометрии (КФН).

Материалы и методы

Изучены биоцидные свойства хитозансодержащих композитов с молекулярной массой 60, 190 и 320 кДа. В работе использовали суспензии 103КОЕ/мл S.aureus, E.coli и грибы рода Candida. Исследования антибактериальной активности пленок проводили рутинными микробиологическими методами и на анализаторе «КФН-Ф-12» (ООО «Медтехнопарк»).

Результат

Нами были получены оригинальные образцы биополимерных материалов на основе хитозана с различной молекулярной массой Пленки формовали методом полива 2% раствора хитозана на стерильные чашки Петри с последующим испарением растворителя при комнатной температуре в течение 4 суток. В качестве растворителя использовали раствор ледяной уксусной кислоты. Соотношения Gp/ NH2 для получения пленок хитозана составило 0,0035 моль/моль. Антибактериальную активность каждого образца оценивали, подсчитывая колонии микроорганизмов на агаре и наблюдая за кривыми роста или отсутствием роста культур в кюветах КФН-анализатора. Установлено снижение жизнеспособности микроорганизмов при контакте с хитозановыми пленками: чем длиннее контакт образцов с микроорганизмами (2, 4, 6 час), тем менее жизнеспособными они становятся вне зависимости от структуры клеточной стенки. Наибольшей биоцидной активностью обладали биополимеры, созданные на основе хитозана с молекуляр-

ной массой 320 кДа. Так, содержание колоний S.aureus через 2, 4 и 6 часов составило 10±2,3, 7±1,5 и 5±1,1 против 150±24,9, 50±18,3 и 9±3,2; 100±29,5, 17±4,3 и 11±2,7 при использовании хитозансодержащих композитов с молекулярной массой 60 и 190 кДа. Метод КФН позволяет легко достичь чувствительности 104 КОЕ/мл, которая ограничивается мутностью самих питательных бульонов. Кроме того, при использовании нового аппаратного метода оптической флуктуационной нефелометрии можно было наблюдать гибель микроорганизма уже после контакта с хитозановыми пленками. Высокая чувствительность отечественного анализатора позволяет проводить скрининг проб не только регистрируя кривые роста, но и оценивать начальную мутность исследуемого образца, которая соответствует концентрации микроорганизмов.

Заключение

Наши исследования продемонстрировали антимикробный эффект биополимеров на основе хитозана в отношении грибов рода Candida и клинических штаммов S.aureus и E.coli, свидетельствующий о перспективах создания медицинских материалов с программируемыми биоцидными свойствами. Результаты рутинных микробиологических тестов были подтверждены методом когерентной флуктуационной нефелометрии. Безусловно, этап культивирования – золотой стандарт микробиологической практики. В то же время развитие современных технологий открывает новые горизонты для микробиологии.

МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

ОЦЕНКА КОММЕРЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ/ПЛАЗМЕ БОЛЬНЫХ COVID-19

Алимбарова Л.М. [1], Казаков С.П. [2], Крюков Е.В.[3], Чиркова Е.Ю.[4]

1 ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва;
2 ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, Москва;
3 ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург;
4 ООО «Медико-Диагностическая Лаборатория», Москва
г. Москва

Актуальность

Распространенным методом оценки иммунного ответа организма на SARS-CoV-2 является определение уровня специфических антител посредством иммуноферментного анализа. ИФА-тест-системы – простые, быстрые и удобные в применении, однако их эффективность варьирует в широких пределах

Цель

Оценить диагностические характеристики коммерческих тест-систем, предназначенных для определения уровня специфических антител в крови у больных COVID-19

Материалы и методы

Оценены 6 тест-систем разных производителей на клиническом материале, полученном от больных COVID-19 (n=75); 50 доноров крови, 115 пациентов с ОРИ вирусной и бактериальной этиологии (собранном до появления SARS-CoV-2) с исполь-зованием ИФА – и статистического методов исследования

Результат

Оценена эффективность коммерческих тест-систем для твердофазного ИФА, в том числе компании «NovaTec Immundiagnostica GmbH» (Германия) – к N-белку нуклео-капсида SARS-CoV-2 («NovaLisa® SARS-CoV-2 (COVID-19) IgM», «NovaLisa® SARS-CoV-2 (COVID-19) IgG») в сравнении с таковыми компании «Вектор-Бест» (Россия): «SARS-Cov-2-IgM-ИФА-Бест» – к N-белку нуклеокапсида и RBD-фрагменту S1-антигена вируса, «SARS-Cov-2-IgG-ИФА-Бест» – к S-белку вируса; компании «Euroimmun» (Германия): «Anti-SARS-CoV-2 IgA» и «Anti-SARS-CoV-2 IgG» – к фрагменту S1-антигена вируса. Чувствительность и специфичность тест-системы «NovaLisa® SARS-CoV-2 (COVID-19) IgM» составила 80,85 и 100%, тест-системы «NovaLisa® SARS-CoV-2 (COVID-19) IgG» – 98,9 и 100%. Установлено, что эндогенные интерференты не влияют на резуль-таты анализов. Не исключены перекрёстные реакции с антителами к респираторно-синти-циальному вирусу и коронавирусам, отличным от SARS-CoV-2. Расхождений результатов исследования сопоставленных образцов сыворотки и плазмы крови выявлено не было. Результаты детекции антител IgM, IgG к SARS-CoV-2 методом ИФА совпали с резуль-татами выявления РНК вируса методом ОТ-ПЦР: при общем совпадении результатов двух методов – 84 и 100%. Отмечается высокая идентичность результатов коэффициентов позитивности по IgM и IgG в трёх тест-системах по позитивным и негативным результатам. Показано, что выявле-

ние антител IgA к SARS-CoV-2 обнаруживается раньше и в более высокой концентрации, чем IgM к SARS-CoV-2. Статистически значимых различий между диагностическими параметрами тест-систем, полученными в нашем исследовании и заявленными фирмами-производителями при диагностировании COVID-19, не выявлено, о чем свидетельствуют значения F-критерия

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования коммерческих тест-систем, основанных на иммунохимических методах детекции антител к SARS-CoV-2, для диагностики у больных с разной степенью тяжести COVID-19, а также для оценки сохранности иммунного ответа у реконвалесцентов. Для широкого скрининга паци-ентов целесообразна разработка и использование суммарных антител классов IgA, IgM, IgG к SARS-CoV-2.

РОЛЬ АНТИГЕНА А В РАСПРОСТРАНЕНИИ SARS-COV-2

Бородина И.А., Селезнева И.А., Гильмиярова Ф.Н., Борисова О.В., Колотьева Н.А., Гусякова О.А., Балдина О.А.

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава
г. Самара

Актуальность

Известно, что обладатели A(II) группы крови более подвержены риску заражения COVID-19. Изучая компоненты ротовой жидкости, мы обратили внимание на секрецию в ротовую жидкость антигенов А и В системы АВ0, что может быть ассоциировано с некоторыми инфекционными заболеваниями.

Цель

Установить взаимосвязь новой коронавирусной инфекции с групповой принадлежностью крови по системе АВ0 и оценить секреторный статус ротовой жидкости пациентов с COVID-19.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 89 клинически здоровых лиц (контрольная группа) и 92 пациента с COVID-19 (опытная группа).Определение группы крови проводили перекрестным методом на плоскости. Секреторный статус ротовой жидкости определяли при помощи методики I.Vidas

Результат

Среди больных COVID-19 преобладали представители A(II) группы крови – 43,5%, O(I) группу крови имели 36,9%, B(III) – 17,4%, AB(IV) – 2,2%. Положительный резус-фактор присутствовал у 92,4% пациентов. Среди представителей секреторов – антиген А секретируется в 92,1% случаев, антиген В – в 7,9 % случаях. У обследуемых пациентов с AB(IV) группой крови антигены А и В в ротовой жидкости отсутствовали.

Заключение

Среди пациентов со средне-тяжелым течением COVID-19 преобладают носители A(II) группы крови. Гликопротеин А, очевидно, может служить фактором, облегчающим механизм проникновения вируса SARS-CoV-2 в организм человека благодаря стимуляции образования сиалозидных кластеров, что увеличивает взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с клетками-мишенями. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости учёта групповой принадлежности крови и персонализированного подхода на этапе диагностики и мониторинга лечения новой коронавирусной инфекции.

МИКРОСКОПИЯ

ВЛИЯНИЕ ЛОЖНОЙ ЭРИТРОЦИТАРХИИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЛИКВОРОГРАММЫ

Галстян А.Г. , Захарящева А.А., Надыршина С.Г. , Лянг О.В., Пудкарадзе И.П., Сидорова М.А.

ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России
г. Москва

Актуальность

Общеклинический анализ ликвора, назначаемый после нейрохирургических операций, имеет важное значение при определении дальнейшей тактики ведения пациента. На результаты исследования могут оказать влияние факторы преаналитики, в том числе попадание «путевой» крови.

Цель

Выявить лабораторные признаки ложной эритроцитархии путем сопоставления результатов ликворограммы, клинического анализа крови и маркеров воспаления.

Материалы и методы

В исследование вошло 38 пациентов, которым на 1–2-й день после операции на спинном/головном мозге был взят ликвор для общеклинического исследования. Госпитальный период у всех протекал без осложнений. В эти же сроки был выполнен клинический анализ крови на анализаторе МЕК-7300 с подсчетом лейкоцитарной формулы методом микроскопии.

Результат

Все пациенты по уровню эритроцитархии были разделены на 2 группы. В группу 1 вошло 20 пациентов, с визуально бесцветным ликвором, количество эритроцитов составило менее 200 в 1 мкл (медиана 36 (Q 11–80)). При микроскопии эритроциты выглядели компактной массой с нечеткими краями. Цитоз составил 59 (Q 14–142) кл/мкл. При этом концентрация лейкоцитов в цельной крови составила 8,3 (Q 6,5–10,4) х 109/л, процентное содержание нейтрофилов и лимфоцитов было в референтных пределах: 64 (Q 60–77) % и 25 (Q 18–30) % соответственно. Концентрация С-реактивного белка в сыворотке крови составила 54 (Q 10–122) мг/л, пресепсина в цельной крови – 577 (Q 434–755) пг/мл.

В группу 2 вошло 18 пациентов, с ликвором, имеющим цвет от розового до красного, количество эритроцитов составило более 200 в 1 мкл (медиана 10531 (Q 1785–44939)). При микроскопии эритроциты имели четкую морфологию, были отделены друг от друга. Цитоз составил 198 (Q 63–555) кл/мкл, что было более чем в 3,3 раза выше чем в группе 1. Данные результаты свидетельствуют о наличии воспалительного процесса в полостях центральной нервной системы, однако дальнейшее сопоставление значений цитоза с показателями клинического анализа крови показало, что повышение уровня лейкоцитов, скорее всего, обусловлено попаданием их в ликвор из крови при проведении пункции. Концентрация лейкоцитов в цельной крови составила 9,8 (Q 8,0–14,5) х 109/л, процентное содержание нейтрофилов и лимфоцитов отклонялось от референтных пределов: 84 (Q 72–87) % и 12 (Q 9–25) % соответственно. При этом лейкоцитарная формула в ликворе при подсчёте с окраской азур-эозином по Романовскому-Гимзе соответствовала лейкоцитарной формуле периферической крови. Концентрации С-реактивного белка в сыворотке и преспесина в цельной крови были сопоставимы с таковыми в группе 1 и составили 92 (Q 13–201) мг/л и 676 (Q 607–955) пг/л соответственно.

Заключение

Нарушение преаналитического этапа при взятии ликвора для общеклинического исследования может приводить к ложному повышению цитоза, обусловленному попаданием лейкоцитов из периферической крови, а не развитием воспалительной реакции в центральной нервной системе.

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ, ПРИ БОКОВОМ АМИОТРОФИЧЕСКОМ СКЛЕРОЗЕ.

Иванова М.В., Воронкова А.С., Магнаева А.С., Захарова М.Н., Сухоруков В.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии»
г. Москва

Актуальность

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – неизлечимое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, преимущественно пожилого возраста. Ключевым элементом поражения мотонейронов при БАС считаются нейровоспалительные реакции, однако они мало изучены.

Цель

Цель исследования – анализ экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением, у пациентов с различными темпами прогрессирования БАС в сравнении со здоровым контролем.

Материалы и методы

Проведен мультиплексный анализ экспрессии 770 генов нейровоспаления в периферических мононуклеарах у пациентов с различными темпами прогрессирования БАС (n = 22) в сравнении с контролем. Достоверно выявлена дифференциальная экспрессия генов и установлены связи между экспрессией и клиническими характеристиками заболевания.

Результат

В исследование были включены 22 пациента с БАС: 11 с быстрыми темпами прогрессирования, 11 с медленными темпами прогрессирования и 12 здоровых добровольцев. Статистически значимых различий по полу, возрасту, частоте встречаемости различных форм заболевания между группами не выявлено.

Между пациентами с БАС и здоровым контролем выявлены различия в экспрессии 14 генов. Функционально эти гены ассоциированы с аутофагией (CLN3, AKT1, LAMP1, RAC2, VAV1, CSK, MSN), апоптозом (BAX, AKT1, TFG, GBA), приобретенным иммунитетом и факторами роста (AKT1, RAC2, VAV1, CSK). Существенных различий экспрессии генов между пациентами с различными темпами прогрессирования БАС выявлено не было.

Установлены корреляции экспрессии с клиническими параметрами: генов BRD2 и FYN со стадией заболевания; генов C6, CCNG2, CD47, CLDN5, CLIC4, COA5, COL6A3, DNA2, ESAM, IKBKB, PROS1, RAB6B, TMEM64, DDB2 – с длительностью заболевания. В основном, выявленные гены связаны с активацией микроглии и ремоделированием матрикса.

Кроме того, была выделена подгруппа пациентов с БАС (n=7), профиль экспрессии которых отличался по 208 генам от других пациентов с БАС и по 262 генам от здоровых добровольцев. Среди них преобладали гены, связанные с врожденным и приобретенным иммунитетом, функционированием микроглии, апоптозом, аутофагией и факторами роста.

Заключение

Полученные нами результаты свидетельствуют об активации воспалительного процесса в периферических иммунных клетках у пациентов с БАС. Среди больных выделено 2 различных профиля экспрессии генов, диагностическую значимость которых еще предстоит выяснить. Установленные корреляции между

генной экспрессией и клиническими параметрами проливают свет на вовлеченность периферических воспалительных реакций в патогенез БАС. Дальнейшее изучение воспалительных при БАС позволит разработать новые терапевтические подходы для снижения темпов прогрессирования заболевания.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЭКЗОМА КАК ИНСТРУМЕНТ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ДЕТСКОЙ КЛИНИКИ

Кожанова Т.В.[1,2], Жилина С.С.[1,2], Мещерякова Т.И.[1], Абрамов А.А.[1], Притыко А.Г.[1,2], Заваденко Н.Н.[2]

1ГБУЗ «НПЦ спец мед помощи детям ДЗМ», Москва, Россия; 2ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, Москва, Россия.
г. Москва

Актуальность

Секвенирование экзома применяется для диагностики наследственных болезней, особенно для выявления мутаций в генах, связанных с фенотипически вариабельными и генетически гетерогенными состояниями, с целью улучшения клинической диагностики и дальнейшей тактики введения пациентов.

Цель

Определить эффективность секвенирования экзома для выявления генетических причин заболеваний у пациентов многопрофильной специализированной детской клиники.

Материалы и методы

С 2017–2020 гг. в ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ» методом секвенирования экзома (ПЭС) обследованы 157 пациентов. Проведены клиническое фенотипирование, видео-электроэнцефалография, компьютерная и магнитно-резонансная томография. Все пациенты получили информированное согласие на проведение полноэкзомного секвенирования.

Результат

Варианты нуклеотидной последовательности в генах выявлены у 114/157 (72,6%) пациентов. У 43/157 (27,4%) пациентов мутации не выявлены, что вероятно предполагает либо негенетическую природу заболевания, либо присутствие варианта нуклеотидной последовательности в некодирующей части гена (интрон), которая не попадает в регион покрытия при использовании данной технологи, или хромосомной перестройки. Среди обследованных пациентов значительную долю представляли пациенты с неврологическими нарушениями, а именно с судорогами и задержкой моторного и психо-речевого развития (131/157; 83,4%). Варианты нуклеотидной последовательности в генах у данной группы детей выявлены у 96/131 (73,3%). Варианты генов, ассоциированных с ранней инфантильной эпилептической энцефалопатией, выявлены у 40/96 (41,7%), а варианты генов, ассоциированных с умственной отсталостью – у 16/96 (16,7%). Остальные пациенты имели варианты генов, ассоциированные с разными типами эпилепсии и нарушением нервного развития (26/96; 27,1%), туберозным склерозом-2 (3/96; 3,1%), спастической параплегией (3/96; 3,1%) и редкими синдромами (8/96 8,3%). Чаще всего мутации были выявлены в генах SCN1A – 5, CACNA1A – 3, GABBR2 – 2, GRIN1 – 2, GRIN2B – 2, TSC2 – 3, SYNGAP1 – 2, SPTAN1 – 3, PCDH19 – 2, TRIO – 2, CHD2 – 2, FGF12 – 2, KCNQ2 – 2, MECP2 – 2, KCNB1 – 2. Из остальных 26/157 обследованных пациентов с другой патологией, 6 детей были с мутацией в генах, ассоциированных с нервно-мышечными заболеваниями, 1 пациент сМВПР, хондродисплазия, 1 ребенок с первичным иммунодефицит, 1 пациент с объемным образование яичка и 1 пациент с нейрофиброматозом.

Заключение

Полученные данные иллюстрируют диагностическую значимость ПЭС и показывают эффективное взаимодействие лечащего врача и врача-генетика в отборе пациентов для проведения данного исследования. Результаты ПЭС помогают определить диагноз, сэкономить дальнейшую диагностику, дать совет по прогнозу и генетическому консультированию, а также повлиять на принятие лечащим врачом решения о дальнейшем ведении пациентов и персонализированном лечении.

ПРИМЕНЕНИЕ ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМ СКРИНИНГЕ МУКОПОЛИСАХАРИДОЗОВ.

Мазанова Н.Н., Койзер Р.А., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Мукополисахаридозы (МПС) – группа наследственных заболеваний, вызываемых мутациями в генах лизосомных ферментов и приводящих к нарушению метаболизма глигозамингликанов. Из-за ферментативной недостаточности мукополисахариды накапливаются в большом количестве а органах и тканях.

Цель

Оценить эффективность в применении в диагностике 5 типов болезни мукополисазаридозов (МПС II, МПСIII B, МПС IV, МПС VI, МПС VII) у российских пациентов.

Материалы и методы

Разработан и внедрен метод тандемной масс-спектрометрии ВЭЖХ МС/МС для определения активности ферментов: идуронат-2-сульфатазы (МПС II), N-ацети-L-D – глюкозаминидазы (МПС III B), галактозамин-6-сульфатазы (МПС IV), N-ацетигалактозамин-4-сульфатазы (МПС VI), b-глюкуронидазы (МПС VII). Для исследования использовали сухие пятна крови.

Результат

С 2019 года в лабораторию молекулярной генетики и медицинской геномики ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Министерства здравоохранения поступило 246 биологических образцов из разных регионов Российской Федерации. Мы изучали в рамках исследования пятна крови от пациентов с подозрением на болезнь МПС тип II, III B, IV, VI, VII. Информированное согласие на проведение биохимических и молекулярно-генетических исследований было получено от законных представителей и пациентов. В результате проведенного биохимического исследования на активность фермента заболеваний: Хантера, Санфилиппо, Моркио, Морото-Лами и Слая. Получено 224 образца мужского пола и 22 образца женского прола (соотношение пола 10:1). В этом исследовании мы идентифицировали 8 пациентов мужского пола, которые имели низкие значения активности фермента идуронат-2-сульфаьазы (МПС II), которая лежала ниже отрезной точки и составляла 0,05 ± 0,01 мкмоль/л/час (≥ 0,98 мкмоль/л/час) и 1 пациента мужского пола с низким значением активности фермента N-ацети-L-D-глюкозаминидазы (МПС III B), которая лежала ниже отрезной точки и составляла 0,08± 0,02 мкмоль/л/час (≥ 1,78 мкмоль/л/час). С целью окончательного подтверждения диагноза проводилось молекулярно-генетическое исследование: поиск мутаций в генах методом прямого автоматического секвенирования у 8 пациентов гена IDS (синдром Хантера) и 1 пациента гена NAGLU (синдром Санфилиппо). Проведенный ROC-анализ показал, что чувствительность метода составила 93,7%, при специфичности 98%. В результате выявлены мутации в гене IDS: миссенс мутация встретилась у двух не родственных пациентов c.1122C>T; две разные делеции c.428_430 del в гомозиготном состоянии и c.249 del в гемизиготном состоянии; выявлена 1 дупликация c.776_777 dup; две инверсии IDS/IDS P1; и одна нон-

сенс мутация c.458G>A. Одна дуплекация выявлена в гене NAGLU:c.34dup. Случаи заболевания, выявленные в нешем исследовании, расположились по всем округам Российской Федерации. В ходе исследования не было обнаружено пациентов с синдромоми Моркио, Морото-Лами и Слая, значения активности ферментов лежали выше референсных значений.

Заключение

С целью ранней диагностики заболевания применяя тандемную масс-спектрометрию необходимо внедрить программу селективного скрининга заболеваний из группы мукополисахаридозов (МПС II, МПСIII B, МПС IV, МПС VI, МПС VII) у пациентов в возрасте до двух лет, госпитализированных в отделения отоларингологии, хирургии и педиатрии в связи с частыми отитами, бронхитами, риносинуситами, рецидивирующими грыжами. Использование тандемной масс-спектрометрии показало высокую специфичность и чувствительность метода по двум сниженным ферментам при синдроме Хантера и Санфилиппо.

ГЛОБОТРИАОЗИЛСФИНГОЗИН (ЛИЗО ГБ-3) МОЖЕТ БЫТЬ ОСНОВНЫМ БИОМАРКЕРОМ ДЛЯ СКРИНИНГА БОЛЕЗНИ ФАБРИ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Мазанова Н.Н., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации
г. Москва

Актуальность

Болезнь Фабри (БФ), редкое орфанное заболевание, обусловленное мутациями в гене GLA, который кодирует фермент α-галактозидазу А (α-гал А). В результате недостаточной активности фермента α-гал А, происходит накопление гликосфинголипидов, в том числе и лизосомного лизо Гб-3.

Цель

Оценить эффективность использования лизо-Гб3, как биомаркера для диагностики БФ у российских пациентов.

Материалы и методы

В 2017 году в лаборатории молекулярной генетики и медицинской геномики ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России был разработан и внедрен метод тандемной масс-спектрометрии ВЭЖХ МС/МС для определения концентрации лизосомного лизо-Гб3 для диагностики БФ у российских пациентов из пятен крови, нанесенных на фильтровальную бумагу.

Результат

Исследовано 10000 биологических образцов поступивших из разных регионов Российской Федерации. Мы изучали в рамках исследования пятна крови от пациентов с подозрением на БФ. Информированное согласие на проведение биохимических и молекулярно-генетических исследований было получено от законных представителей и пациентов. В результате проведенного биохимического исследования, полученных от 8902 пациентов мужского пола и 1098 женского пола (соотношение пола 9:1), в возрасте от 6 до 70 лет. В этом исследовании мы идентифицировали 14 пациентов, которые имели завышенные значения лизо-Гб3 и генетические изменения в кодирующих областях или сайтах сплайсинга гена GLA. 12 пациентов мужского пола имели снижение активности фермента α-гал А, которая лежала ниже отрезной точки, составляла 0,98 ± 0,17 мкмколь/л/час (≥ 1,89 мкмколь/л/час) и не перекрывалась с областью значений активности α-гал А в контрольной группе. Значение концентрации лизо-Гб3 удалось измерить всем пациентам из пятен крови. Завышение было у 14 пациентов (12 мужского пола и 2 женского пола), концентра-

ция лизо-Гб3 была выше значения отрезной точки и составили 29,64 ± 4,10 нг/мл (≤ 2,10 нг/мл). У 2 женщин, которые имели активность фермента в норме 4,72 ± 1,39 (≥ 1,89 мкмколь/л/час), а концентрация лизо-Гб3 была выше референсных значений.

Контрольную группу составили 100 пациентов, это условно здоровые люди без подозрения диагноза БФ, соотношение мужского пола к женскому (1,7:1). Средний возраст составил 16,6 ± 0,57 лет. В этой группе активность фермента α-гал А составило 6,2 ± 0,21 мкмколь/л/ч, что выше референсной границы (≥ 1,89 мкмколь/л/ч), а концентрация лизо-Гб3 была равна 0,68 ± 0,02 нг/мл (≤ 2,10 нг/мл)

В результате молекулярно-генетического исследования гена GLA у 14 пациентов выявлены мутации, это 3 разные делеции: c.539_547+9del, c.442_450del, c.1072_1074del. Среди обнаруженных вариантов найдены 5 миссенс-мутаций: c.895G>C, c.1228A>G c.782G>T, c.1021G>A, c.758T>C. Кроме того, найдены 4 нонсенс-мутации: c.1134T>A, c.901C>T, c.679C>T. Нонсен мутация c.1134T>A встретилась у двух не родственных пациентов.

Случаи заболевания, выявленные в нашем исследовании, распределялись по всем округам Российской Федерации. Наибольшее число пациентов выявлено с БФ было в Центральном округе (37%) и в Северо-Западном округе (21%).

Заключение

В результате проведенного исследования получено преимущество измерения концентрации биомаркера лизо-Гб3 по сравнению с определением активности фермента α-гал А для первичной диагностики мужчин с подозрением на БФ, а также возможность использования этого биомаркера для первичной диагностики женщин с подозрением на БФ. Благодаря последующему молекулярно-генетическому обследованию можно точно установить причину заболевания. Ранняя биохимическая диагностика БФ и ферментозаместительая терапия предотвращают серьезные и угрожающие жизни осложнения.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ EMM-ТИПОВ И НАБОРОВ ГЕНОВ СУПЕРАНТИГЕНОВ У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ STREPTOCOCCUS PYOGENES С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ EMM-ТИПИРОВАНИЯ, МУЛЬТИПРАЙМЕРНОЙ ПЦР И ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ (ПЦР-РВ)

МИНКО А.Г., ДАНИЛОВА Т.А., ДАНИЛИНА Г.А., АДЖИЕВА А.А., ЖУХОВИЦКИЙ В.Г.

ФГБУ «НИЦЭМ» имени Н.Ф. Гамалеи, МЗ РФ, г. Москва.

Актуальность

Emm-типирование клинических штаммов Streptococcus pyogenes (стрептококков группы А, СГА), а также определение генов суперантигенов у них с помощью мультипраймерной ПЦР являются актуальными задачами, которые позволяют быстро идентифицировать emm-тип и набор генов суперантигенов у стрептококков и оценить степень патогенности каждого штамма.

Цель

Выявление с помощью ПЦР наборов генов суперантигенов у клинических штаммов СГА и сопоставление их с определёнными emm-типами.

Материалы и методы

В работе было использовано 82 штамма Streptococcus pyogenes. Штаммы выращивали на агаре Columbia с добавлением 5% бараньей крови в атмосфере 5% CO2. Групповую принадлежность штаммов идентифицировали методом латекс-агглютинации с помощью набора Slidex Streptoplus (bioMerieux, Франция). Для выделения ДНК изолированные колонии штаммов ресуспендировали в 50 мкл 1× TE-буфера, нагревали до

100°C 10 мин и центрифугировали при 13000 об/мин 10 мин. Emm-типирование СГА осуществляли согласно протоколу, размещенному на сайте организации Centers for disease control and prevention (CDC), США.

https://www.cdc.gov/streplab/groupa-strep/emm-typing-protocol.html

Определение наборов генов суперантигенов у СГА осуществлялось с помощью ПЦР-РВ (Yang P et al (2013)) и мультипраймерной ПЦР (Borek AL et al (2012)). В качестве мишеней ПЦР были выбраны гены стрептококковых пирогенных экзотоксинов (speA, speB, speC, speG, speH, speI, speJ, speK, speL, speM), стрептококкового митогенного экзотоксина (smeZ) и стрептококкового суперантигена (ssa). Наличие генов speA и speB определялось с помощью ПЦР-РВ.

Полученные ампликоны разделяли методом электрофореза в 1,5% агарозном геле в течение 40 мин при 120 В, 400 мА, после чего проводили их визуализацию в УФ-свете.

Результаты

Обнаружено 27 emm-типов СГА, включая также подтипы. Среди них преобладали emm-89 (18%), emm-75 (11%) и emm-1 (7%) типы. Примерно с равной частотой определялись типы emm-3, emm-12 и emm-58 (по 5% каждый) и ещё реже встречались остальные типы. Гены суперантигенов распределились в следующих пропорциях: speA – 43%; speC – 38%; speG – 93%; speH – 13%; speI – 6%; speJ – 24%; speK – 13%; speL и speM – по 11% каждый; smeZ – 98%; ssa – 15%. Все штаммы содержали ген speB.

Выявлены также группы штаммов СГА, имеющие как одинаковые emm-типы, так и наборы генов суперантигенов. Эти группы наиболее выражены у emm-1, emm-3, emm-12, emm-75 и у emm-89.

Выводы

1. Из 82 изученных клинических штаммов Streptococcus pyogenes 77 были отнесены к 27 различным emm-типам; 5 штаммов отнесены к нетипируемым.

2. С помощью ПЦР у всех 82 клинических штаммов Streptococcus pyogenes обнаружены суперантигены.

3. В ходе работы были выявлены также группы штаммов СГА, имеющие как одинаковые emm-типы, так и наборы генов суперантигенов. Эти группы наиболее выражены у emm-1, emm-3, emm-12, emm-75 и у emm-89.

4. Наборы генов суперантигенов, по-видимому, коррелируют с определенными emm-типами СГА.

КОАГУЛОЛОГИЯ

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМЫХ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРА ХА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Гайковая Л.Б., Замятина К.Н., Алиев Б.Г, Шеламова Д.А., Власова Ю.А.

ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург
г. Ленинградская область,г. Мурино

Актуальность

Антикоагулянтная терапия является важнейшей составляющей в профилактике венозной тромбоэмболии у пациентов, перенесших ортопедическую операцию. Оценка эффективности прямых ингибиторов факторов свертывания актуальна для снижения риска осложнений.

Цель

Оценить эффективность действия апиксабана и ривароксабана и систему гемостаза у больных после эндопротезирования тазобедренного сустава в динамике.

Материалы и методы

У 15 пациентов, принимавших апискасбан (2,5мг/2раза/сут) или ривароксабан (10мг/1раз/сут) в течение 7 дней, определяли их концентрации в плазме крови, а также скриниговую коагулограмму и D-димер на анализаторе ACL TOP 500CTS (Werfen, США) при госпитализации, после операции и перед выпиской.

Результат

Оценивали эффективность действия прямых ингибиторов фактора Ха (ривароксабан, апиксабан) по максимальной концентрации (Cmax) лекарственного средства в плазме (взятие крови осуществлялось в момент достижения предполагаемой максимальной концентрации). У пациентов, получавших апиксабан и ривароксабан, в первый день после эндопротезирования тазобедренного сустава в плазме крови средняя Cmax апиксабана была равна 60,3 [14;95,2]нг/мл, у получавших ривароксабан – средняя Cmax ривароксабана – 122,4нг/мл [94;178] и при выписке – 79,85[14;196,4]нг/мл и 186,47[152,8;239]нг/мл, соответственно, что соответствовало терапевтическим интервалам. Однако у некоторых пациентов концентрация была ниже минимальной концентрации, что, возможно, обусловлено нарушением преаналитического этапа. При сравнении показателей, характеризующих сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, у пациентов в первые дни после операции было выявлено статистически значимое повышение концентрации фибриногена 6,75[6,03;7,42]г/л ($p<0,01$) и D-димера 2,05[1,21;2,94]мкг/мл ($p<0,01$) по сравнению с исходными данными 3,78[3,64; 4,05]г/л и 0,17[0,15;0,3]мкг/мл, соответственно, и референтным интервалом. При выписке концентрация фибриногена и D-димера оставались высокими 6,4[5,46;7,61]г/ли 2,08[0,62;2,28]мкг/мл, соответственно. В динамике АЧТВ достоверно изменялось, но оставалось в переделах референтных значений. Такие скрининговые тесты, как АЧТВ и фибриноген, которые в динамике повышались, не могут быть использованы для полной характеристики гиперкоагуляционного состояния системы гемостаза в связи с тем, что отражают только 5% генерации тромбина. Напротив, определение максимальной концентрации лекарственных средств в плазме крови является наиболее информативным для оценки эффективности антикоагулянтной терапии.

Заключение

Оценка концентрации апиксабана и ривароксабана в плазме крови и эффективности антикоагулянтного действия прямых ингибиторов фактора Ха свертывания крови показала необходимость их применения для профилактики при высоком риске патологического тромбообразования у пациентов после ортопедической операции.

ЗАВИСИМОСТЬ НАРУШЕНИЙ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПСОРИАЗА

Гайковая Л.Б., Шеламова Д.А., Власова Ю.А., Крылова Л.С., Ермаков А.И.

ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург
г. Ленинградская область,г. Мурино

Актуальность

В основе патогенеза псориаза лежит воспалительный процесс, который приводит к усилению агрегационных свойств тромбоцитов, экспонированию на их поверхности Р-селектина, ухудшению процессов микроциркуляции и развитию эндотелиальной дисфункции.

Цель

Изучить особенности эндотелиальной дисфункции и функциональной активности тромбоцитов у пациентов в зависимости от степени тяжести псориаза.

Материалы и методы

В исследование включено 20 пациентов с псориазом средней тяжести (PASI-17), 11 – тяжелой (PASI>30), 25 человек группы контроля. Средний возраст – 48±15 лет. Циркулирующие эндотелиоциты и Р-селектин на тромбоцитах определялись на проточном цитометре FC500 (Beckman Coulter) при поступлении в стационар.

Результат

При сравнительном анализе показателя, характеризующего эндотелиальную дисфункцию, у пациентов с псориазом средней степени тяжести было выявлено статистически значимое повышение уровня циркулирующих эндотелиальных клеток (9,5 [8,0–11,5] /300000 WBC) по сравнению с контрольной группой (3,0 [1,0–5,0] /300000 WBC), $p<0,001$. У этих же пациентов определялось достоверное повышение количества тромбоцитов с экспрессией Р-селектина (1,8% [1,0–2,6]) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (0,9% [0,7–1,7]), $p<0,02$. При анализе аналогичных показателей у пациентов с тяжелой формой псориаза было установлено, что количество циркулирующих эндотелиоцитов было достоверно выше (13 [8,0–11,5] /300000 WBC), чем в контрольной группе. Этот показатель был выше на 26% по сравнению с группой пациентов со средней степенью тяжести. При анализе функции тромбоцитов у пациентов с тяжелым течением псориаза было выявлено статистически значимое повышение тромбоцитов с экспрессией Р-селектина (3,2 % [1,5–5,4]) по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля ($p<0,001$). При сравнении этого показателя с группой пациентов со средней степенью тяжести заболевания также установлена тенденция к его повышению в 1,7 раза. Следовательно, количество циркулирующих эндотелиоцитов и количество тромбоцитов, экспрессирующих Р-селектин, выше в группе пациентов с псориазом по сравнению с контрольной группой. При этом у пациентов с тяжелым течением псориаза эндотелиальная дисфункция и активация тромбоцитов выше, чем у пациентов со средней степенью тяжести псориаза. Повышение количества циркулирующих эндотелиальных клеток и активированных тромбоцитов в крови пациентов с псориазом свидетельствует об активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, и зависит от степени тяжести заболевания.

Заключение

У пациентов с псориазом выявлена активация сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, которая подтверждается повышением содержания циркулирующих эндотелиоцитов и функции тромбоцитов по экспрессии Р-селектина. Установлена связь эндотелиальной дисфункции и активности тромбоцитов от степени тяжести псориаза. Данные лабораторные маркеры рекомендуется включать, как дополнительные, в оценку тяжести состояния пациентов с псориазом.

ОСОБЕННОСТИ КОАГУЛОПАТИИ У ПАЦИЕНТОВ СО СРЕДНИМ И ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19

Довгаль А.О., Соколова С.С.

ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ
г. Москва

Актуальность

Коагулопатия является одним из главных неблагоприятных прогностических факторов у пациентов с COVId-19 и связана с возникновением венозных и артериальных тромбоэмболий и дессиминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС).

Цель

Оценить изменения в системе гемостаза у больных коронавирусной инфекцией.

Материалы и методы

В исследование включены 22 пациента с коронавирусной инфекцией,находившиеся на стационарном лечении в МКНЦ им А.С. Логинова. В первую группу были включены пациенты терапевтического отделения (n=10; 6 женщин и 4 мужчин; от 52 до 82 лет, медиана возраста 74,5),2 группа пациенты ОРИТ (n=12; 7 мужчин и 5 женщин от 53 до 82 лет, медиана возраста 73 года).

Результат

Пациентам проводилось исследование уровня Д-димера, фибриногена, антитромбина-3, протромбинового времени, АЧТВ и подсчет количества тромбоцитов.Средняя концентрация Д-димера в первой группе составила 0,62 мкг/л, во второй группе – 1,5 мкг/л, уровень выше 10 мкг/л наблюдался у пациентов с тромботическими и геморрагическими осложнениями. Не наблюдалось достоверных различий концентрации фибриногена между группами: средняя концентрация фибриногена составила 4,32 г/л и 4,78 г/л, соответственно. Уровень антитромбина-3 (ATIII) находились в пределах нормы. Прослеживалась тенденция к незначительному удлинению ПВ, а АЧТВ у большинства оставалась в пределах референсных значений в обеих группах. Тяжелая тромбоцитопения на этапе госпитализации отмечалась у больных с гематологической патологией ниже 100x10^9/л. В остальных случаях наблюдались либо нормальное количество тромбоцитов, либо умеренная тромбоцитопения.

Заключение

Коагулопатия при короновирусной инфекции характеризуется выраженным повышением концентрации Д-димера и фибриногена, умеренными изменениями уровней АЧТВ, ПВ, а также умеренной тромбоцитопенией.

ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ НКИ COVID-19

Ройтман Е.В.

1 ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва;
2 Научный центр неврологии, Москва;
3 Национальная ассоциация по тромбозу и гемостазу, РФ
г. Москва

Актуальность

В конце января 2021 года Национальная ассоциация по тромбозу и гемостазу совместно с МГО «Антирефлюкс» (Сургут, руководитель – проф.К.В.Мазайшвили) провели опрос среди более, чем 200 врачей «красной зоны» относительно проведения антикоагулятной терапии у больных с НКИ COVID-19.

Цель

Целью было выявления реальной ситуации с назначением и проведением антикоагулянтной терапии и ее контролем у таких пациентов.

Материалы и методы

Участникам опроса было предложено ответить на 18 вопросов, касавшихся различных аспектов антикоагулятной терапии у пациентов с НКИ COVID-19.

Результат

Большинство врачей отмечают клинические признаки развития COVID-19-ассоциированной коагулопатии, значимое повышение частоты тромботических осложнений и частично увеличение количества геморрагических осложнений. При этом в активной фазе заболевания НКИ COVID-19 выбор антикоагулянтов определяется преимущественной целью терапии микротромбообразования на фоне воспаления и гиперкоагуляции и делается в пользу препаратов гепаринов, преимущественно низкомолекулярных (НМГ).

Прямые оральные антикоагулянты назначаются реже, в основном, у больных с легким или умеренным течением НКИ COVID-19 и/или в стадии реконвалесценции исключительно с целью профилактика венозных тромбоэмболических осложнений.

Индивидуальную коррекцию доз НМГ выполняют 45% врачей только при повышенном индексе массы тема больного (ИМТ) и 41% как при повышенном, так и при сниженном ИМТ. Неожиданно выяснилось, что в зависимости от ИМТ пациента 21,6% врачей корректируют дозу и ПОАК, что категорически неправильно.

Для контроля за состоянием системы гемостаза у преимущественно стационарных пациентов более 85% врачей используют коагулограмму в объеме, определенном ВМР М3 РФ, совместно с количеством тромбоцитов. От 4% до 9% указали на отсутствие возможностей лабораторного контроля. В контроле за применением НМГ 55,9% опрошенных опираются на значения АЧТВ. Крайне отрадно, что 17,1% используют для той же цели рутинные определения анти-факторХа-активности. Тем не менее, следует отметить в целом слабую подготовку врачей в данном вопросе, поскольку для контроля за применением НМГ ими используются и МНО, и фибриноген, и Д-димер, и тромбоциты, а 12.4% вообще утверждают, что лабораторных контроль не нужен. Также нельзя не отметить и тот удручающий факт, что 27,1% респондентов указали, что они используют «протромбиновый индекс». Очень жаль, что российские клиницисты упорно продолжают демонстрировать свое невежество и неумный консерватизм.

Заключение

Полученные данные отражают понимание врачами разницы целей в применении антикоагулянтной терапии в зависимости от стадии заболевания НКИ COVID-19 и демонстрируют навыки индивидуализации дозирования препаратов-антикоагулянтов. Существенный процент рутинных определений анти-фактор-

Ха-активности можно считать прорывом в российской лаборной диагностике антикоагулянтной терапии. Но вместе с тем, подготовка врачей в этой области остается слабой.

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ НА ЦИТОРЕДУКТИВНОЙ И/ИЛИ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ

Силина Н.Н., Корсакова Н.Е., Головина О.Г., Котельников П.А., Фоминых М.С., Ефремова Е.В., Волошин С.В., Папаян Л.П.

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

Актуальность

Истинная полицитемия (ИП) – миелопролиферативное заболевание клональной природы. Активация эндотелия, приводящая к эндотелиальной дисфункции, является одним из факторов, способствующим развитию тромбоза, профилактика которого – важная проблема в лечении этих больных.

Цель

Сравнить влияние циторедуктивной и/или антиагрегантной терапии на активацию эндотелия у пациентов с ИП.

Материалы и методы

Обследовано 18 пациентов, получающих ацетилсалициловую кислоту в профилактических дозировках и 20 пациентов – циторедуктивную и антиагрегантную терапию. Группа сравнения – 43 здоровых человека. Определяли ристоцетин-кофакторую активность и уровень фактора Виллебранда.

Результат

У пациентов, находящихся на циторедуктивной и антиагрегантной терапии, выявлено повышение уровня фактора Виллебранда по сравнению с контролем (медиана; 50% доверительный интервал – 143,75%; 125,15–160,20% против 107,00%; 89,25–134,75% соответственно; $p<0,05$) и активности – как относительно группы сравнения (138,00%; 107,25–167,30% против 97,00%; 84,00–110,00% соответственно; $p<0,05$), так и больных на антиагрегантах (138,00%; 107,25–167,30% против 80,00%; 74,00–110,00% соответственно; $p<0,05$), тогда как у лиц, получающих только ацетилсалициловую кислоту, данные показатели не отличались от нормальных значений. Известно, что повышение содержания и активности фактора Виллебранда является признаком эндотелиальной дисфункции, которая наиболее выражена у больных на комбинированной терапии.

Заключение

У пациентов с ИП, получающих циторедуктивную и антиагрегантную терапию, повреждение сосудистой стенки более выражено, чем у лиц, получающих только ацетилсалициловую кислоту. Циторедуктивные препараты оказывают выраженное активирующее влияние на сосудистую стенку и способствуют усилению прокоагулянтных изменений и являются потенциальным фактором риска тромботических осложнений у больных ИП.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА И ЭНДОТЕЛИЙ ПРИ ГЕСТАЦИОННОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО

Шабалина А.А.[1], Ройтман Е.В.[1], Соболева В.В.[2], Александров Л.С.[2]

1 ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия;
2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва, Россия
г. Москва

Актуальность

Гестационная артериальная гипертензия (ГАГ) – фактор риска преэклампсии, гестационного диабета, сердечно-сосудистых и цереброваскулярных осложнений у беременных. К числу ключевых звеньев патогенеза ГАГ относятся нарушения в системе гемостаза и дисфункция эндотелия.

Цель

Цель – изучить взаимосвязь состояние системы гемостаза и эндотелия с развитием ГАГ у пациенток во время беременности после ЭКО

Материалы и методы

Обследовано 40 пациенток во время беременности после ЭКО. Были выделены группа I (n = 22) – беременные с ГАГ, диагностированной в III триместре и группа II (n = 18) – беременные без ГАГ. Исследовали агрегацию тромбоцитов (АТ), плазменный гемостаз, фибринолиз и анализировали маркеры эндотелия.

Результат

Выявлены показатели, статистически значимо отличавшиеся между группами. Первый триместр группа I: АДФ-АТ – 62,5 [56,5; 69,8] %, Кол-АТ – 66,9 [62,2; 71,7] %, ADAMTS-13 – 0,77 [0,70; 0,85] мкг/мл; t-PA – 2,8 [2,5; 3,5] нг/мл, vWF – 176% [165;184], (р ТМ) – 375 нг/мл [346; 397]; первый триместр группа II: АДФ-АТ – 53,6 [49,5; 59,9] %, Кол-АТ – 56,5 [51,3; 60,8] %, ADAMTS-13 – 0,89 [0,81; 0,95] мкг/мл; t-PA – 3,5 [3,1; 3,9] нг/мл, vWF – 160% [152;175], (р ТМ) – 334 нг/мл [319; 362].

Второй триместр группа I: Кол-АТ – 42,3 [38,2; 46,6] % ADAMTS-13 – 0,69 [0,64; 0,78], второй триместр группа II: Кол-АТ – 36,3 [34,0; 41,9] %, ADAMTS-13 – 0,77 [0,73; 0,87].

Третий триместр группа I: АДФ-АТ – 43,7 [40,5; 51,3] %, ADAMTS-13 – 0,77 [0,70; 0,85] мкг/мл; t-PA – 2,0 [1,7; 2,5] нг/мл, vWF – 200% [187;220], (р ТМ) – 419 нг/мл [389; 431]; Третий триместр группа II: АДФ-АТ – 38,1 [34,1; 42,9] %, ADAMTS-13 – 0,71 [0,68; 0,75] мкг/мл; t-PA – 2,4 [2,2; 2,9] нг/мл, vWF – 180% [169;194], (р ТМ) – 367 нг/мл [358; 375].

Выявлены прямые корреляции развития ГАГ от уровня АДФ-, Кол-АТ, р-ТМ и обратные – с уровнем t-PA и ADAMTS-13 в I триместре беременности.

Заключение

Активация тромбоцитарно–сосудистого гемостаза и дисфункция эндотелия наблюдались на протяжении гестации в обеих группах пациенток. Снижение АТ во II и III триместре в обеих группах, возможно, связано с антиагрегантной терапией. Развитие ГАГ в III триместре беременности у пациенток связано с исходным состоянием тромбоцитарно-сосудистого гемостаза и функцией эндотелия в I триместре с наибольшей взаимосвязью с повышенным уровнем АДФ – и Кол–АТ, р-ТМ и сниженным уровнем t-PA и ADAMTS-13.

УСТАНОВЛЕНИЕ HLA-МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ И ПОВЫШЕННЫМ РИСКОМ СМЕРТИ ПРИ COVID-19

И.А. Булушева*, В.В. Черанев, Д.О. Коростин, Д.В. Ребриков

Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины,
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия

Значительная разница в тяжести протекания и симптоматике в зависимости от конкретного пациента является фактором, влияющим на распространение COVID-19. Одним из генетических предикторов протекания и исхода заболевания предположительно являются HLA-гены I и II класса, кодирующие белки главного комплекса гистосовместимости (MHC). В нашей работе мы провели сравнение групп пациентов и здоровых доноров, по частоте встречаемости различных аллелей HLA-генов I (A, B, C) и II класса (DRB1, DQB1). Основной целью является поиск и подтверждение аллелей, значимо связанных с исходом заболевания COVID-19. Мы выполнили секвенирование с высоким разрешением генов HLA класса I и класса II, используя выборку из 147 пациентов, умерших от COVID-19 (положительный результат теста на COVID-19 был подтвержден с помощью наборов кПЦР в клинико-диагностических лабораториях Москвы, в которых собирали биоматериал) и статистически сравнили наши результаты с частотами генотипов HLA в контрольной популяции из 346 выборок людей, которые имели COVID-19 и тех, у кого не проявились симптомы болезни: 270 из них собраны у членов Национального реестра доноров костного мозга Медицинским университетом им. Пирогова в начале 2020 года и 76 - в Российском клиническом и научном центре геронтологии (РГНКЦ) в конце 2020 года. Биоматериал в виде цельной венозной крови собирался в пробирки с ЭДТА в качестве консерванта. Выделение gDNA проводилось из 100 мкл цельной венозной крови с помощью набора реагентов ПРОБА-МЧ-МАКС на автоматической дозирующей станции ДТстрим (ДНК-Технология, Россия). Контроль качества выделенной ДНК проводился с помощью гель-электрофореза в агарозном геле и измерения концентрации на флуориметре Qubit 2 с набором Qubit dsDNA BR Assay (ThermoFisher Scientific, USA). Подготовка библиотек ампликонов для генотипирования HLA высокого разрешения проводилась с помощью набора HLA-Эксперт (ДНК-Технология, Россия) по протоколу производителя. Секвенирование проводилось на Illumina MiSeq с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) по протоколу производителя. Анализ fastq файлов проводился с помощью ПО HLA-Эксперт (ДНК-Технология, Россия) версии 2.0 по протоколу производителя. Для проведения анализа использовались написанные нами скрипты, позволяющие оценить разнообразие каждого гена и частотное отличие отдельных аллелей в группах; скрипт, очищающий входную таблицу с данными пациентов от ошибок и приводящий написание HLA аллелей к единому синтаксису; скрипт для создания входного файла с данными пациентов для Arlequin; программа Arlequin версии 3.5.2.2 и критерий согласия Пирсона. Полученные данные показали, что аллели 51:05 и 15:18 из локуса B* статистически значимо связаны с тяжестью COVID-19, а аллели C* 14:02, DRB1* 04:07 и DRB1* 14:03 коррелируют с вероятностью смерти от COVID-19 для пациентов без сопутствующих заболеваний.

РАЗРАБОТКА МИКРОЧИПОВОЙ ПАНЕЛИ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ТЕСТА НА АНТИТЕЛА К SARS-COV-2

Ведехина Т.С., Манувера В.А., Варижук А.М., Матюшкина Д.С., Мусарова В.А., Тихонова П.О., Басманов Д.В., Лазарев В.Н., Позмогова Г.Е., Говорун В.М.

ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, лаборатория искусственного антителогенеза

Актуальность

Детекция уровней антител к SARS-CoV-2 значима для своевременного выявления инфекции и мониторинга заболевания. На сегодняшний день для профилирования антител доступны коммерческие ИФА-наборы. Они рассчитаны на обнаружение антител к одному-двум структурным белкам SARS-CoV-2 и дают полуколичественную информацию об уровне антител. Меж тем, для прогнозирования тяжести заболевания, а также отбора оптимальных доноров среди переболевших пациентов целесообразно анализировать панель из нескольких вирусных белков. Предложенные нами белковые чипы рассчитаны на параллельный экспресс-анализ антител ко множеству антигенов у нескольких пациентов и могут быть адаптированы для профилирования иммунного ответа на белки различных штаммов вируса. Последнее чрезвычайно актуально не только в контексте диагностики, но и в плане оценки рисков повторного заражения пациентов, перенесших инфекцию ранними штаммами, либо прошедших вакцинацию.

Цель

Разработка технологии изготовления микрочипов для профилирования антител в сыворотке пациентов/доноров.

Материалы и методы

Предложенная технология изготовления микрочипов с иммобилизованными белками SARS-CoV-2 опирается на известные протоколы. В ходе ее разработки были оптимизированы методы функционализации поверхности стеклянных слайдов и иммобилизации белков. Слайды модифицировали аминопропилтриэтоксисиланом, далее активировали бифункциональным агентом для ковалентного присоединя белков по боковым аминогруппам. Рекомбинантные белки вируса (структурные - N, S2 и RBD, а также неструктурные - NSP2, NSP5, NSP7, NSP9, NSP10 и NSP15) получали, используя бактериальную систему экспрессии, и наносили в заданные споты на поверхности слайда с помощью микродиспенсера. Фибриноген использовали в качестве отрицательного контроля. Свободную поверхность чипа блокировали. Микрочипы обрабатывалисыворотками COVID-19-положительных и отрицательных доноров. Иммунный ответ оценивали по нормированной флуоресценции вторичных антител.

Результаты

Разработана технология получения микрочипов с белками SARS-CoV-2 для экспресс-профилирования уровней антител. Выполнено профилирование антител в 95 образцах сыворотки, полученных от 13 уникальных инфицированных COVID-19 пациентов с критическими, тяжелыми, умеренными и легкими симптомами, а также 37 контрольных сывороток. Статистически значимая разница между группами ковидных пациентов и здоровых доноров наблюдалась по всем структурным белкам, наиболее значима была для нуклеокапсидного белка. Что касается неструктурных белков, значимой разницы не наблюдалось, но были отмечены отдельные случаи иммунного ответа на протеазу NSP5. Получена хорошая сходимость с данными ИФА.

Заключение

Предложенная технология позволяет ускорить диагностику и повысить ее надежность не только за счет экспресс-тестирования, но и за счет параллельного анализа на несколько антигенов. Это снижает веро-

ятность заражения сопутсвующими COVID-19 инфекциями, сократив время пребывания в медицинских учреждениях или вообще исключив их посещение.

Выводы

Была отработана технология изготовления микрочипов для высокопроизводительного параллельного тестирования на антитела к SARS-CoV-2.

ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ БАРКОДИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ РЕПЕРТУАРОВ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Козлов И.Б.

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Одним из перспективных путей применения синтетических олигонуклеотидов (ОН) в лабораторных исследованиях является молекулярное мечение ОН (баркодирование). Встроенные в последовательность ОН молекулярные баркоды могут использоваться при анализе результатов секвенирования для идентификации продуктов, полученных из отдельных клеток. В частности, это важно для исследований, направленных на изучение адаптивного иммунного ответа, с привлечением данных о клональном происхождении лимфоцитов и экспрессии генов, вовлеченных в их активацию. В ряде работ предлагаются методы анализа единичных лимфоцитов, однако их недостатком является низкая чувствительность и высокая стоимость.

Для решения этих задач нами была разработана новая технология синтеза баркодированных ОН на твердофазном носителе, которая позволяет с высокой точностью определять и характеризовать профиль экспрессии функциональных генов Т-лимфоцитов.

В работе были использованы «инвертированные» 5′-фосфорамидиты. Это позволило синтезировать последовательность ОН в направлении от 5′ к 3′ концу, оставляя свободной 3′-гидроксильную группу, необходимую для затравки синтеза кДНК. Для идентификации РНК из отдельных клеток использовали последовательности (молекулярные баркоды), которые формировались в процессе синтеза ОН, методом рандомизации, подаваемых в реакторы растворов нуклеозидов (метод split-and-pool). Применение такого подхода позволяет присвоить уникальный код нескольким миллионам клеток. Встраивание линкерных молекул (Spacer phosphoramidite 18, GlenResearch, США) в структуру ОН позволило исключить пространственные факторы, препятствующие наработке кДНК. Для повышения эффективности обратной транскрипции был использован фоточувствительный линкер (PC Linker Phosphoramidite, GlenResearch, США) на основе о-нитробензильной группы, который под действием мягкого УФ-излучения (365 нм), не нарушающего структуру биополимера, разрушался с образованием терминальных фосфатов, высвобождая рабочий ОН в раствор.

Эффективность разработанной технологии синтеза баркодированных ОН была подтверждена с помощью электрофореза. Было установлено, что фотоконтролируемое высвобождение ОН с поверхности носителя существенно повышает эффективность обратной транскрипции.

МИКРОФЛЮИДНЫЙ БИОСЕНСОР НА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛНАХ В ОДНОМЕРНОМ ФОТОННОМ КРИСТАЛЛЕ ДЛЯ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ДЕТЕКЦИИ ЛИГАНДОВ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Митько Т.В., Шакуров Р.И., Ширшиков Ф.В., Сизова С.В., Алиева Е.В., Конопский В.Н., Беспятых Ю.А., Басманов Д.В.

ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России

Актуальность

В Российской Федерации туберкулез остается одной из наиболее значимых проблем здравоохранения и социального развития страны. В настоящее время актуальны исследования, направленные на определение популяционной структуры M. tuberculosis и своевременное выявление лекарственно устойчивых форм туберкулёза.

Цель

Целью данной работы являлась разработка метода идентификации и типирования M. tuberculosis с помощью микрофлюидного биосенсора на поверхностных волнах в одномерном фотонном кристалле

Материалы и методы

В качестве ДНК-мишеней для типирования возбудителя туберкулеза подобраны и синтезированы 43 олигонуклеотидных зонда, соответствующие DR (direct repeat) региону. В качестве контрольных лигандов использовали человеческие IgG и поликлональные кроличьи антитела к ним, HBsAg-ayw и моноклональные антитела мыши к нему. Для модификации поверхности биосенсора использовались водные растворы АПТЕСа, декстранов из Leuconostoc mesenteroides, БСА. Эксперименты проводились с помощью биосенсора на поверхностных волнах (ПВ) в одномерном фотонном кристалле (ФК).

Результаты

Для демонстрации мультиплексного потенциала метода проводилась запись кинетики реакции одновременно в 384 точках на поверхности ФК. В данном эксперименте было использовано 2 пары антиген-антитело:

- человеческие иммуноглобулины класса G и поликлональные кроличьи антитела против них;
- поверхностный антиген вируса гепатита B и моноклональные антитела мыши.

Поверхность ФК кристаллапредварительно отмывалась и отжигалась в установке плазмохимического травления, на поверхности ФК создавались реакционноспособные силанольные группы с которыми монослоем связывался (3-аминопропил)триэтоксисилан из водного раствора. На силанизированную таким образом поверхность ФК с помощью споттера iTwo M2 (Германия) наносились антигены по заранее заданной схеме. Свободные сайты связывания АПТЕС блокировались раствором БСА. Кинетика реакций была записана на биосенсоре на ПВ в ФК в процессе последовательного инжектирования растворов антител в микрофлюидную кювету биосенсора.

Для использования биосенсора в экспериментах с модельными олигонуклеотидными ДНК-мишенями необходимо предварительно увеличить сорбционную ёмкость поверхности ФК. На силанизированную поверхность ФК наносились растворы различных полисахаридов: эпоксидированного декстрана, карбоксиметилдекстрана и декстрана с полиальдегидными группами. После химической модификации для каждого полисахарида была записана кинетика взаимодействия с модельным белком (БСА) на биосенсоре на ПВ в ФК.

Наиболее перспективной для экспериментов с олигонуклеотидными ДНК-мишенями, моделирующими уникальные участки генома Mycobacterium tuberculosis была признана модификация поверхности эпоксидированным декстраном. Эта модификация позволила создать наиболее развитую поверхность, увеличивающую сорбционную емкость.

При работе с олигонуклеотидами поверхность ФК с эпоксидированным декстраном модифицировали стрептавидином и детектировали специфическое связывание биотинилированных олигонуклеотидных ДНК-зондов в реальном времени, а затем и их последующее взаимодействие с одноцепочечными ДНК-мишенями. Полученные результаты говорят о хорошей применимости разработанной методики для детекции биомолекул различной молекулярной массы, в том числе нуклеиновых кислот различной последовательности.

Заключение

Разработан протокол для использования биосенсора на ПВ в одномерном ФК для мультиплексного анализа. Исследованы различные подходы к модификации поверхности ФК на основе взаимодействия активированной поверхности с различными типами декстранов из Leuconostoc mesenteroides. Разработанная методика модификации и активации рабочей поверхности ФК позволяет связывать олигонуклеотиды различной последовательности для дальнейшей разработки биосенсора с двухмерным пространственным разрешением. Использование такого биосенсора в диагностике туберкулезной инфекции будет обеспечивать максимально быструю постановку диагноза, определение лекарственной устойчивости и соответственно назначение схемы лечения в максимально короткие сроки. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 20-75-10144."

АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

25–27 МАЯ 2021 ГОДА

МВЦ «Крокус Экспо»

СБОРНИК ПОСТЕРОВ

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ «АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА

АКТИВНОСТЬ ФОРМ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ АУТОИММУННЫХ ПАТОЛОГИЯХ

Хижа В.В., Козлова Д.И, Васильев Д.С.

Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН
г. Санкт-Петербург

Актуальность

Бутирилхолинэстераза (БуХЭ) плазмы крови способна влиять на баланс цитокинов, что позволяет использовать её в качестве перспективного маркера для дифференцированной диагностики заболеваний аутоиммунной природы от схожих по симптоматике неаутоиммунных патологий.

Цель

Сопоставить общую активность БуХЭ и активность её изоформ у групп пациентов с аутоиммунными патологиями (АИП) и заболеваниями неаутоиммунной природы.

Материалы и методы

Плазма крови условно здоровых пациентов (n=27), с диагнозом аутоиммунного (n=25) и неаутоиммунного (n=25) тиреоидита, с диабетом второго типа (n=21) (возраст внутри данных групп от 25 до 55 лет) и диабетом первого типа (n=21; возраст от 6 до 26 лет). Активность определяли модифицированным методом Эллмана в сочетании с ингибиторным анализом.

Результат

Показано, что общая активность БуХЭ почти в 2 раза выше у пациентов с сахарным диабетом первого типа (2798,39±15,86 пмоль субстрата/мг/мин) и аутоиммунным тиреоидитом (2702,89±14,54) по сравнению с группой условно здоровых доноров (1512,98±13,99), а также по сравнению с группами пациентов с сахарным диабетом второго типа (1215,37±15,86) и неаутоиммунным тиреоидитом (1591,2±14,5). Показано, что наибольший вклад в общую активность фермента вносит его типичная изоформа, которая позволяет с высокой точностью различать между собой группы условно здоровых доноров (769,78±13,99), пациентов с диабетом первого типа (1757,89±15,86) и аутоиммунным тиреоидитом (1362,02±14,54). Также она дает воз-

можность отделить аутоиммунный тип диабета и тиреоидита от схожих по симптоматике диабета второго типа (880,75±15,86) и неаутоиммунного тиреоидита (877,76±14,54). Активность атипичной формы в плазме крови условно здоровых доноров, пациентов с сахарным диабетом первого типа, с аутоиммунным и неаутоиммунным находится на одном уровне (около 420,112±10,00) и не имеет диагностического значения для дифференцирования данных заболеваний между собой. Важно отметить, что в плазме крови пациентов с сахарным диабетом второго типа активность данной изоформы слишком мала и не поддаётся анализу, что также может быть использовано в качестве маркера для дифференциальной диагностики данного заболевания от сахарного диабета первого типа. Активность минорных форм БуХЭ в 2–3 раза выше у пациентов с диабетом первого типа (617,33±15,86) и аутоиммунным тиреоидитом (922,43±14,54) по сравнению с группой условно-здоровых доноров (333,94±13,99), пациентами с сахарным диабетом второго типа (332,62±15,86) и неатуиммунными тиреоидитом (303,12±14,54).

Заключение

Показано, что соотношение активности разных форм БуХЭ позволяет проводить дифференциальную диагностику аутоиммунных и неаутоиммунных патологий со схожей симптоматикой. Особенностью данной методики является то, что она не требует долгой и дорогостоящей подготовки исследуемого материала и позволяет проводить диагностику заболеваний на ранних стадиях.

Часть исследований выполнена за счет гранта РФФИ 18–515-57001.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МУТАЦИИ V617F В ГЕНЕ JAK2 С КЛИНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Вавилова Т.В..

ФГБНУ Научный центр неврологии
г. Москва

Актуальность

Сочетание двух патогенетически различных тяжелых патологий – ишемического инсульта (ИИ) и истинной полицитемии (ИП) – обусловливает поиск прогностических биомаркеров для создания алгоритмов диагностики и контроля лечения подобных пациентов.

Цель

Целью было выявления взаимосвязи мутаций в гене JAK2V617F с клиническими характеристиками и лабораторными показателями при ИИ у пациентов с ИП.

Материалы и методы

Обследован 181 пациент; группа I – 68 пациентов с ИП и ИИ; группа II – 59 больных с ИИ, группа III – 54 пациента с ИП. Молекулярно-генетическое исследование величины аллельной нагрузки мутации V617F в гене JAK2 проводилось с помощью тест-системы ГеноТехнология (Россия) с использованием аллель-специфических праймеров (зондов).

Результат

У пациентов со средним и большим размером ишемического очага поражения мозга медиана аллельной нагрузки V617F в гене JAK2 составила 58%, тогда как у пациентов с малым размером очага медиана составила 42%. Корреляционный анализ Пирсона показал прямую связь величины аллельной нагрузки V617F в гене JAK2 с размером очага ($r = 0{,}393$; $p = 0{,}008$). При анализе взаимосвязи аллельной нагрузки JAK2V617F с наличием и степенью АГ, а также с атеросклерозом и степенью стеноза БЦА у пациентов ИИ

на фоне ИП корреляций выявлено не было, что возможно свидетельствует об отсутствии ассоциации интенсивности основных сосудистых заболеваний с активностью миелопролиферативного процесса.

Для изучения взаимосвязи аллельной нагрузки JAK2V617F с другими лабораторными параметрами был проведен корреляционный анализ Пирсона с последующим факторным анализом. Согласно результатам выявлено 11 лабораторных показателей с наибольшей взаимосвязью с величиной аллельной нагрузки JAK2V617F: деформируемость эритроцитов, фактор VII, VEGF-A, ADAMTS-13, TGF-β1, АДФ-АТ, количество тромбоцитов, количество лейкоцитов, ФВ, t-PA и мочевая кислота.

Наибольшее влияние высокая аллельная нагрузка JAK2V617F оказывает на снижение деформируемости эритроцитов и увеличение активности фактора VII. Ттакже высокая аллельная нагрузка JAK2V617F была взаимосвязана с активацией ангиогенеза через VEGF-A и TGF-β1 с большим количеством и плохими функциональными свойствами тромбоцитов и дисфункцией эндотелия.

Кроме того, были установлены обратные корреляции величины аллельной нагрузки с хорошим функциональным исходом по индексу Бартель и по шкале Рэнкина. Анализ характеристических кривых выявил пороговые величины аллельной нагрузки JAK2V617F по отсутствию положительной динамики по индексу Бартель – 51% (чувствительность 68,8%, специфичность 78%) и по шкале Рэнкина – 46% (чувствительность 74,5%, специфичность 82%).

Заключение

Таким образом, при ИИ у пациентов с ИП величина аллельной нагрузки мутации V617F в гене JAK2 является диагностически и прогностически значимым маркером в отношении развития тромбогеморрагических осложнений и функциональных исходов ИИ.

КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ АЛГОРИТМОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СУСТАВНЫХ ТКАНЯХ У ПАЦИЕНТОВ С НАЧАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ПЕРВИЧНОГО И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОАРТРОЗА КРУПНЫХ СУСТАВОВ

Гладкова Е.В., Ульянов В.Ю., Ромакина Н.А., Зубавленко Р.А.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов;
г. Саратов

Актуальность

Разработка персонализированных подходов к ранней диагностике первичного и посттравматического остеоартроза недостаточной чувствительностью и специфичностью существующих имеющихся лабораторно-инструментальных методов.

Цель

Изучить информативность биохимических маркеров ремоделирования суставного гиалинового хряща и субхондральной кости при ранних проявлениях остеоартроза.

Материалы и методы

У 102 пациентов с ранними стадиями первичного (ПГА), 100 – посттравматического гонартроза (ПТГА) и 50 здоровых лиц в возрасте 39–50 лет методом ИФА в сыворотке крови определяли содержание SerumCrossLaps, BAP, COMP, YKL-40, а также показатели суточной экскреции с мочой Urine CartiLaps (CTX II), учитывая результаты при $p<0,05$.

Результат

Полученные числовые данные не соответствовали закону нормального распределения, что подтверждено на основании вычисления критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Для оценки результатов применяли непараметрические методы. У пациентов с ПГА и ПТГА отмечали увеличение ($p<0,05$) содержания в сыворотке крови COMP до 958,8 (634,9; 985,1) нг/мл и 991,3 (958,4; 1011,2), YKL-40 73,6 (58,2; 81,4) и 66,1(59,2;78,9) нг/мл против нормальных значений в группе здоровых лиц: 550,1(479,3; 577,4) и 22,0 (16,5;27,6) нг/мл соответственно. При ранних проявлениях ПТГА и ПГА уровень экскреции Urine CartiLaps (CTX II) возрастал ($p<0,01$) до 5,4 (4,8;6,1) и 7,9 (6,8; 12,0) μg/сутки в отличие от группы контроля: 2,22 (0,99; 3,6) μg/сутки. В группе пациентов с ПГА отмечали нарастание ($p<0,05$) SerumCrossLaps: 0,422 (0,387; 0,506) нг/мл и BAP 31,28 (29,14; 34,01) ед/л в отличие от группы здоровых лиц: 24,69 (22,19; 27,13) ед/л. В группе с ПТГА также отмечали повышение циркулирующих SerumCrossLaps, но изменения не достигали уровня статистической значимости. По результатам ROC анализа чувствительность COMP при ПГА составила 83%, при ПТГА – 74%, специфичность: 72% и 64% соответственно. Для Urine CartiLaps (CTX II) при ПГА и ПТГА чувствительность составила 98% и 94%, специфичность-91 и 72%.

Заключение

Ранние проявления как первичного, так и посттравматического гонартроза характеризуются дегенеративными изменениями суставного гиалинового хряща, что сопровождается существенным увеличением суточной экскреции фрагментов коллагена II типа с мочой (UrineCartiLaps CTXII) и повышением сывороточных концентраций олигомерного матриксного белка хряща (COMP).

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ТЯЖЕСТИ БЕЛКОВО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ДЕТЕЙ

Горбачева И.В., Кузнецова О.Ю., Гильмиярова Ф.Н., Печкуров Д.В.

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия
г. Самара

Актуальность

Актуальность. Актуальным является изучение обмена железа на ранних стадиях развития белково-энергетической недостаточности.

Цель

Цель исследования. Для оценки обмена железа в крови у детей первого года жизни изучались содержания ведущих показателей белкового обмена сопряженных с метаболизмом железа.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 112 детей (контрольная группа 30, опытная группа 82) в возрасте от 1 до 12 месяцев.Материал для исследования–венозная кровь.Содержания показателей обмена железа проводили на анализаторах «MEDONIK» и Cobas Integra 400+ (Япония).Статистическую обработку результатов с помощью программы SPSS Statistics 21.

Результат

Результаты. В нашей работе, кроме общепринятого определения содержания эритроцитов и гемоглобина, проводилось исследование содержания короткоживущего белка плазмы трансферрина и степени его насыщения. Как известно трансферрин выполняет специфическую роль при транспортировке железа. Период полужизни трансферрина составляет 8 дней, и он практически весь находится во внутрисосудистом компартменте.

У детей с белково-энергетической недостаточностью на фоне стабильных показателей эритроцитов, гемоглобина, трансферрина, выявлено снижение уровня сывороточного железа и показателей степени насыщения трансферрина. Следует отметить, что максимальная выраженность отмечается при I степени тяжести (сывороточное железо-53%; коэффициента насыщения-64%). Далее наблюдается уменьшение выраженности при II (сывороточное железо-27%, коэффициента насыщения-55%, $p<0,05$) и при III (сывороточное железо-10%, коэффициента насыщения-39%, $p<0,05$) степенях тяжести. Мы рассматриваем это как следствие включения адаптационных механизмов по максимальной мобилизации депонированного железа и высвобождением железа, сопровождающим протеолиз мышечных белков.

Заключение

Выводы. Выявлено, что белково-энергетическая недостаточность создает благоприятный преморбидный фон для манифестации железодефицитной анемии, наиболее чувствительным критерием которой можно признать коэффициент насыщения трансферрина. Максимальное уменьшение степени насыщения

трансферрина наблюдается при I степени белково-энергетической недостаточности, что можно рассматривать как состояние острой адаптации.

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ СИНУСИТАМИ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Островская И.Г., Смирнова А.Д., Самусенкова К.В.

ФГБУ ДПО «ЦГМА» УДП РФ
г. Москва

Актуальность

По данным заболеваний ЛОР-органов на долю патологий полости носа и околоносовых пазух приходится 34%.В настоящее время большую роль отводят исследованию слюны при различных воспалительных заболеваниях, так как в слюне первично повышается активность противомикробных белков и ферментов

Цель

Изучить биохимические показатели смешанной слюны, плазмы крови и мочи у пациентов с острым синуситом до и после антибактериальной терапии.

Материалы и методы

Обследовано 27 подростков, из которых у 9 человек был выявлен острый синусит. Пациентам назначали цефтриаксон. Другая группа не получала антибиотик. Третья группа-здоровые подростки. Слюну собирали методом сплевывания в пробирки в течение 5 минут. Исследовали скорость секреции, активность ферментов: АСТ, ЛДГ, АЛТ и количество общего белка.

Результат

Пусковым моментом в развитии острого синусита является вирусное поражение слизистых оболочек, что сопровождается высвобождением биологически активных веществ, таких как интерлейкин-1, фактор некроза опухоли и других, которые ведут к развитию воспалительных реакций в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух. Местный инфекционно-воспалительный процесс сопровождается вазодилатацией и увеличением проницаемости сосудов, что приводит к качественному и количественному изменению характера слюны. Показано, что в результате воспалительных заболеваний ЛОР-органов, в первую очередь синусита, увеличивается скорость слюноотделения. Усиление саливации возникает в результате защитной реакции организма на воспаление, так как в слюне определяются множество форм эндогенных антимикробных пептидов, которые представляют собой небольшие молекулы, например белка кальпротектина, который высвобождается из нейтрофилов и вовлекается в активный воспалительный процесс . Также можно привести в пример α – и β – дефензины-низкомолекулярные пептиды, которые формируют ионные каналы в мембране бактериальной клетки и обеспечивают перенос ионов в клетку, нарушая ее осмос и метаболизм. Также нами было отмечено повышение активности ЛДГ, АСТ, АЛТ и общего белка в слюне при сравнении с контрольной группой. У группы пациентов, принимавших цефтриаксон, скорость слюноотделения значительно снижалась при сравнении с пациентами, которым еще не был назначен антибиотик, а также уровень ферментов практически приравнивался к данным, полученным у контрольной группы. Показатели общего анализа крови и общего анализа мочи существенно не отклонялись от нормальных показателей, что говорит об отсутствии системного воспалительного процесса при синуситах.

Заключение

Слюна может являться клинически информативной биологической жидкостью для определения воспалительных заболеваний ЛОР-органов. Биомаркеры в слюне повышаются быстрее, чем биомаркеры

в других биологических жидкостях, так как слюна является биологической средой организма, которая первично защищает организм от чужеродных антигенов и обладает противогрибковыми, антибактериальными и противовирусными свойствами. Можно прийти к выводу, что слюну можно использовать для оценки воспалительных заболеваний ЛОР-органов.

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫМ ВОСПАЛЕНИЕМ ПОСЛЕ ПЕРВИЧНОЙ АРТРОПЛАСТИКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Галашина Е.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю., Бондаренко А.С.

НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского»
г. Саратов

Актуальность

Известно, что в резорбции костной ткани участвует sRANKL, что приводит к нестабильности эндопротеза и имплантат-ассоциированному воспалению. Процессы формирования костной ткани протекают за счет остеобластов, регуляцию которых осуществляет витамин D.

Цель

Изучить связь маркеров метаболизма костной ткани и гуморального иммунитета у пациентов с имплантат-ассоциированным воспалением после артропластики коленного сустава.

Материалы и методы

Основная группа – 40 больных с имплантат-ассоциированным воспалением, контрольная группа – 20 практически здоровых лиц. Содержания sRANKL, 25-OH Vitamin D определяли ИФА-методом; концентрации Ig M, G – иммунотурбидиметрическим методом. Корреляции между исследуемыми признаками выявляли с помощью коэффициента Спирмена (R).

Результат

Проведя анализ полученных данных установлено, что у пациентов основной группы зафиксировано статистически достоверное повышение содержания sRANKL в 2,39 раз ($p<0,05$) через 1 месяц после оперативного вмешательства и более выраженное повышение в 8,78 раз ($p<0,05$) через 12 месяцев после операции. Уровень 25-OH Vit D по сравнению с контрольными значениями уменьшился в 2,53 раза ($p1=0,0001$) через 1 месяц и в 4,47 раза ($p1=0,06\times10–3$) через 12 месяцев после операции. У пациентов с имплантат-ассоциированным воспалением по отношению к контролю зафиксировано статистически достоверное снижение содержания Ig M в 1,19 раз ($p<0,05$) через 1 месяц и в 1,37 раза ($p<0,05$) спустя 12 месяцев. Содержание IgG в сыворотке крови у пациентов основной группы в отличие от показателей группы контроля было ниже в 1,15 раз ($p<0,05$) через 1 месяц и в 1,23 раз ($p<0,05$) через 12 месяцев после эндопротезирования.

В условиях имплантат-ассоциированного воспаления резко ухудшается состояние метаболического гомеостаза кости, окружающей эндопротез, о чем свидетельствует наличие статистически значимой отрицательной связи средней силы уровней sRANKL с 25-OH Vitamin D ($R=-0,511$; $p<0,05$). Кроме того, условием для формирования дисбаланса процессов метаболизма костной ткани является угнетение первичного и вторичного звеньев иммунного ответа в очаге хронического биопленочного воспаления, что подтверждается основным фактом снижения содержания иммуноглобулинов M и G в сыворотке крови пациентов по сравнению с контрольными значениями. Второстепенным фактом является наличие положительной связи средней силы уровней sRANKL и Ig G ($R=0,423$; $p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют

о нарушении иммунных механизмов в очаге хронического биопленочного воспаления с активацией прорезорбтивного цитокина.

Заключение

Дисбаланс процессов метаболизма костной ткани на фоне угнетения первичного и вторичного звеньев гуморального иммунитета могут являться патогенетическими факторами развития имплантат-ассоциированного воспаления у пациентов после первичной артропластики коленного сустава.

ОЦЕНКА РОЛИ ЭНДОТОКСЕМИИ В ФОРМИРОВАНИИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СУСТАВОВ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИМПЛАНТ-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИИ

Гладкова Е.В., Бабушкина И.В., Ульянов В.Ю., Мамонова И.А.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов;
г. Саратов

Актуальность

Возникновение имплантат-ассоциированных инфекционных осложнений у пациентов травматолого-ортопедического профиля зачастую является результатом кумулятивного влияния несостоятельности гуморальных и клеточных иммунных реакций в условиях хирургической агрессии.

Цель

Определить особенности антиэндотоксинового иммунитета у пациентов с остеоартрозом

Материалы и методы

45 пациентам с ОА и 20 здоровым лицам осуществляли определение методом твердофазного ИФА концентрации в сыворотке крови ЛПС – связывающего белка LBP (HBT) и IgG, IgM и IgA EndoCab (Endotoxin Core Antibody) –ELISA, неоптерина (ELISA Kit). С-реактивный протеин (CRP) был оценен иммунотурбидиметрическим методом.

Результат

У 11 (основная группа) из 43 пациентов с III-IV ст. первичного ОА крупных суставов до проведения хирургического вмешательства отмечали несущественное повышение уровня LBP – 174,2 (168,5; 219,4) ng/ml против контрольных значений (группа здоровых лиц) – 156,6 (129,8; 171,2). Вместе с тем, констатировали нарастание ($p<0,05$) антиэндотоксиновых ядерных антител всех изученных классов EndoCab IgA до 8,9 (8,1;9,4) MU/ml, EndoCab IgM-65,8 (59,3;71,4) MU/ml, и незначительное повышение IgG EndoCab 43,2 (36,1;46,8) MU/ml по сравнению с группой здоровых лиц – 4,2 (2,6; 5,8) MU/ml, 38,4 (29,6; 47,2) MU/ml и 38,1 (32,4;40,3) MU/ml соответственно. Обращали на себя внимание повышенные уровни неоптерина – 8,71 (7,38; 9,44) ммоль/л и С-реактивного протеина – 7,11 (6,21; 10,08) г/л у лиц данной группы против контрольных значений: 6,31 (4,82; 6,86) ммоль/л и 3,45 (2,99;4,06) г/л соответственно. При проведении корреляционного анализа с использованием коэффициента Пирсона (R) выявлено наличие положительной связи ($p<0,05$) между концентрациями EndoCabIgA и неопетрином (R=0,68), а также неоптерином и EndoCab IgM (R=0,7).

Заключение

Нарушения в системе антиэндотоксинового иммунитета при остеоартрозе с повышением циркуляции в системном кровотоке антиэндотоксиновых ядерных антител EndoCab на фоне недостаточности липополисахарид-связывающего белка LBP приводят к избыточной провоспалительной активности, что может стать причиной инфекционных послеоперационных осложнений.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ МЕМБРАНОЗНОМ КОЛИТЕ

Гудкова Р.Б., Бахарев С.Д, Быкова С.В., Бауло Е.В., Борунова Ж.В., Парфенов А.И.

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» ДЗМ
г. Москва

Актуальность

Тяжесть течения и выраженность иммунного воспаления при колите связана с эндотоксимией и проницаемостью кишки. Маркером эндотоксемии, проницаемости и воспаления у реконвалесцентов COVID-19 являются антитела IgG к бактерицидному белку (IgG BPI) и вирусная нагрузка.

Цель

Выявить связь воспаления (антител IgG BPI) с вирусной нагрузкой и антителами к SARS-COV-2 при колите у реконвалесцентов COVID-19.

Материалы и методы

Обследовано 27 реконвалесцентов с псевдомембранозным колитом (м 12/ж 15, и возрасте 54,7±12,3 лет). В сыворотке крови определяли антитела IgG (anti-BPI IgG) (ANCA Germany), антитела IgG к COVID-19, ДНК вируса Эпштейна-Барр (VEB) и ДНК цитомегаловируса CMV – ПЦР (амплификатор RotorGene 6000 QIAGEN). Statistica 6.0

Результат

Перенесенный COVID-19 подтвержден АТ Ig G SARS-CoV-2 (≥10,0 ед/мл) и данных анамнеза. Повышены АТ IgG COVID-19 у 23/27 (концентрации 189,4±23,2 ед/мл) при непрерывном течении, что свидетельствует о высокой проницаемости кишечной стенки. Антитела IgG BPI выявлены у 25/27 реконвалесцентов с псевдомембанозным колитом, что свидетельствует о воспалительном процессе и связью с непрерывным течением (r=0,43). При тяжелом течении колита с эрозивными изменениями слизистой кишки АТ IgG к COVID-19 коррелировали с IgG BPI (r= 0,64). У больных при средней степени тяжести выявлены IgG BPI и незначительно повышены IgG COVID-19 (21,6±3,2 ед/мл). Активность воспаления в кишечнике подтверждена, выявленными в клиническом материале у 9 больных ДНК VEB и у 8 ДНК CMV. Низкий уровень антител IgG COVID-19 определен у 2 больных с легким неосложненным течением.

Заключение

Прогностическим маркером эндотоксемии у реконвалесцентов COVID-19 являются антитела IgG к бактерицидному белку, усиливающему проницаемость и воспаление. Повышение АТ в сыворотке реконвалесцентов является маркером высокой активности воспаления и повышенного синтеза антител к вирусным антигенам, что может отражать клиническое течение заболевания и в дальнейшем служить предиктором развития осложнений.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ОЖОГАМИ

Козлова М.Н.

ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России
г. Москва

Актуальность

Выявление количественных модуляций содержания ранних и зрелых субпопуляций гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) может дать информацию о степени нарушения гемопоэза, процессах тканевой регенерации и заживления очагов повреждения у ожоговых больных, особенно при обширных ожогах.

Цель

Провести сравнительную оценку содержания различных субпопуляций ГСК в образцах периферической крови у больных с ожогами.

Материалы и методы

Исследованы образцы периферической крови в динамике у 75 пациентов с разной площадью ожогового поражения (в среднем 48,8%) и у 20 здоровых добровольцев с использованием проточной цитофлуориметрии и панелей моноклональных антител. Проведен статистический анализ полученных результатов с помощью программы GraphPad Prism 7.0 (США).

Результат

Разработан протокол для более точной идентификации циркулирующих ГСК с использованием различных комбинаций панелей антител и программы CellQuest. Определены референсные значения относительного содержания в периферической крови у доноров общих ГСК CD45+CD34+ – 0,041–0,05%, а так же субпопуляций ГСК с фенотипами 34+38 – , 34+38+, 34+133-, 34+133+. В общей группе ожоговых пациентов у 42% больных отмечено высокое, а у 22% – очень высокое содержание ГСК [P<0,01]. В то же время выделена группа больных с глубоким дефицитом, в т.ч. с полным отсутствием ГСК в сравнении с донорами, где таких лиц не было. Повышение ранних ГСК CD34+CD38 – отмечено у 37 % пациентов с высоким [P=0,028] и у 15% с очень высоким [P=0,0001] возрастанием. Соответственно у 47% пациентов равнозначных групп содержание ГСК с фенотипом CD34+CD133+ также резко возрастало в сравнении с донорами [P<0,01]. Однако в этой группе больных регистрировалось 18% пациентов с нулевым содержанием ГСК. Близкие изменения содержания у ожоговых больных, как и ранее разделенных на кластеры, отмечены и в отношении двух субпопуляций зрелых ГСК (34+38+ и 34+133-). По первой субпопуляции произошло резкое возрастание ГСК в сравнении с донорами [P=0,006] у 52% пациентов, однако у 32% пациентов ГСК данного фенотипа вообще отсутствовали. При анализе другой субпопуляции 34+133 – получены аналогичные результаты, однако пациентов с полным отсутствием данной субпопуляции ГСК было в 3 раза меньше. Глубокий дефицит содержания ГСК чаще развивался у тяжелообожженных при неблагоприятном течении и наличии осложнений ожоговой болезни, а также у пациентов с вялыми грануляциями и медленным заживлением очагов ожогового поражения. Создается впечатление, что у пациентов при благоприятном течении ожоговой болезни нормальное количество ГСК в процессе лечения пациентов либо повышается, либо остается в пределах физиологических колебаний.

Заключение

Сравнительный анализ субпопуляций ГСК в периферической крови у больных с ожогами может подтверждать предиктивное использование данных маркеров для прогноза развития хронических осложнений, процесса выздоровления и заживления очагов повреждения. Особое значение имеет исчезновение у части больных некоторых субпопуляций ГСК, что требует дальнейшего накопления клинического материала и выявления истинных причин такой модуляции.

ТЕСТИРОВАНИЕ АНТИКОВИДНОЙ ПЛАЗМЫ НА НАЛИЧИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ К SPIKE-АНТИГЕНУ SARS-COV-2

Савчук Т., Гринвальд Е., Мусабекова Ш., Абдрахманова С.

Научно-производственный центр трансфузиологии
г. Нур-Султан, Казахстан

Актуальность

Ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2) играет важную роль как член ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в регуляции превращения ангиотензина II в ангиотензин. В то же время, оседая на поверхности человеческих клеток ACE2 является рецептором проникновения SARS-CoV-2.

Цель

Определить наличие нейтрализующих антител к Spike – антигенам SARS-CoV-2, у доноров иммунной антиковидной плазмы, имевших антитела класса G к нуклеокапсидному антигену.

Материалы и методы

Использовались сыворотки доноров АКП, тестированные с помощью реагентов фирмы ABBOTT на оборудованиях Architect i2000sr (ABBOTT, США).

Подтверждающее тестирование выполнялось на полуавтоматическом оборудовании (TECAN) для ИФА-исследований. Выполнялось определение специфичности антител против иммунодоминантных антигенов SARS-CoV-2.

Результат

В исследовании протестировано 33 образца АКП. Антитела к антигену Nucleocapsid определены во всех образцах (КП (коэффициент позитивности) = 10,83 – 12,97). Антитела к Spike Glycoprotein 1 определены также во всех образцах (КП = 1,20–12,73). Антитела к Spike Glycoprotein 2 определены в 17 (52%) образцах (КП = 1,04 – 12,81).

В образцах АКП с КП= 3,0 – 4,5 в первичном скрининге на IgG антитела в качественном ИХЛА (Architect, ABBOTT) антитела к Spike Glycoprotein 2 определены в четырех (67%) из шести тестируемых образцов.

В образцах АКП с КП ≥ 4,5 в первичном скрининге на IgG антитела в качественном ИХЛА (Architect, ABBOTT) антитела к Spike Glycoprotein 2 определены в 13 (48%) из 27 тестируемых образцов.

Заключение

Все образцы АКП имели антитела к антигенам Nucleocapsid и Spike Glycoprotein 1, соответственно, АКП содержит вируснейтрализующие антитела, блокирующие взаимодействие рецептор-связывающего домена S белка SARS-CoV-2 с клетками-мишенями.

Полный набор антител к трем основным структурным антигенам SARS-CoV-2 имеется в 17 (52%) образцах АКП.

Наличие полного набора антител к антигенам SARS-CoV-2 не зависит от значения КП (при КП >3,0 или > 4,5) при скрининге IgG антител в качественных тестах.

МЕДИЦИНСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА БИОПЛЕНКИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов
г. Саратов

Актуальность

Для грамотрицательных бактерий, являющихся возбудителями имплантат-ассоциированной инфекции, характерно формирование биопленок, являющихся основным патогенетическим механизмом, отвечающим за резистентность к антибиотикам и факторам иммунитета.

Цель

Изучение влияния цефалоспоринов на формирующиеся и предформированные биопленки, образованные грамотрицательными бактериями.

Материалы и методы

Биопленкообразующую способность оценивали по методу O'Toole по степени связывания генциан летового в 96-луночных планшетах. Предформированные биопленки выращивали в течение 48 часов. Количественную оценку интенсивности пленкообразования определяли на спектрофотометре Epoch (Биотек) при λ=620 нм.

Результат

Изучено влияние различных концентраций цефтриаксона и цефипима на формирование микробных биопленок штаммами представителей семейства Enterobacteriaceae и Ps. aeruginosa, выделенными при имплантат-ассоциированной инфекции крупных суставов. Цефтриаксон и цефипим в концентрациях, являющихся субингибирующими для планктонных клеток (0,05 – 0,15 мкг/мл) обладали достоверным ($p<0,05$) стимулирующим влиянием на формирование биопленок. Концентрация изученных антибиотиков 1–15 мкг/мл и выше вызывала полное подавление роста планктонных штаммов грамотрицательных бактерий, но при этом не влияла на формирование биопленок. Увеличение концентрации антибиотиков до 30 мкг/мл приводило к ингибированию формирования биопленок.

При анализе влияния антибиотиков на предформированные биопленки представителей семейства Enterobacteriaceae установлено, что МПК (минимальная подавляющая концентрация) цефтриаксона составляет 250,0 (150,0; 350,0) мкг/мл, цефипима – 350,0 (200,0; 400,0) мкг/мл, что статистически достоверно ($p<0,001$) превышает МПК90 для планктонных штаммов – 3,5 (1,5; 4,0) и 12,0 (8,0; 14,5) мкг/мл соответственно. В отношении биопленок, сформированных штаммами Ps. aeruginosa, также выявлено достоверное ($p<0,001$) превышение МПК90 для сессильных форм – 320,0 (210,0; 390,0) мкг/мл – над концентрациями цефалоспоринов для планктонных форм – 7,5 (5,0; 8,5) мкг/мл.

Также выявлено, что на величину МПД во всех изученных случаях влияет степень зрелости биопленки. Наблюдали статистически достоверное ($p<0,05$) увеличение резистентности ко всем изученным антибио-

тикам при воздействии на предформированную в течение 48 часов биопленку по сравнению с 24-часовой биопленкой

Заключение

Выявленная резистентность биопленочной формы грамотрицательных бактерий к используемым в клинической практике концентрациям антибиотиков требует переоценки эффективности цефалоспоринов в отношении грамотрицательных бактерий для разработки схем эффективной этиотропной терапии, а также пересмотра методов определения чувствительности к антибиотикам при имплантат-ассоциированной инфекции после эндопротезирования крупных суставов.

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ В ПРИСУТСТВИИ АНТИБИОТИКОВ

Бабушкина И.В., Мамонова И.В., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов
г. Саратов

Актуальность

Проблемы этиотропной терапии имплантат-ассоциированного воспаления обусловлены формированием микробной биопленки, ограничивающей спектр эффективных антимикробных препаратов, что связано с защитным действием ее матрикса.

Цель

Изучение in vitro влияния антибиотиков на биопленки, образованные возбудителями имплантат-ассоциированной инфекции.

Материалы и методы

Изучена биопленкообразующая способность 20 штаммов S. aureus и 10 штаммов E.coli, выделенных от пациентов с перипротезной инфекцией, по методу G. D. Christensen в присутствии различных концентраций препаратов групп фторхинолонов и цефалоспоринов.

Результат

Цефтриаксон и цефипим в концентрациях, являющихся субингибирующими для планктонной культуры (0,07 – 0,20 мкг/мл) обладали статистически достоверным ($p<0,001$) стимулирующим влиянием на биопленкообразование штаммами S. aureus. Цефтриаксон в концентрациях 2,5–10,0 мкг/мл и выше вызывала полное подавление роста планктонных штаммов S. aureus, при этом статистически достоверного влияния на формирование биопленки не выявлено. Ингибирование формирования биопленок происходило при концентрациях цефалоспоринов выше 40,0 мкг/мл. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) цефтриаксона в отношении предформированных в течение 24 и 48 часов биопленок S. aureus составили 320,0 (210,0; 390,0) мкг/мл.

МПК для ципрофлоксацина в отношении планктонных штаммов S. aureus составила 1,0 (0,5; 2,5) мкг/мл, при этом в отношении предформированной биопленки была достоверно ($p<0,001$) выше – 80,0 (65,0; 95,0) мкг/мл. Ингибирование формирования биопленки штаммами S. aureus происходило при концентрациях ципрофлоксацина 15,0–50,0 мкг/мл.

При анализе влияния цефалоспоринов на предформированные биопленки E.coli установлено, что МПК цефтриаксона составила 150,0 (100,0; 350,0) мкг/мл, цефипима – 100,0 (70,0; 250,0) мкг/мл и статистически

достоверно (p<0,001) превышала МПК для планктонных штаммов – 5,0 (2,5; 6,0) мкг/мл. Ингибирование формирования биопленок E.coli происходило при концентрациях ципрофлоксацина выше 50,0 мкг/мл.

Также выявлено, что на величину МПД во всех изученных случаях влияет степень зрелости биопленки. Наблюдали статистически достоверное (p<0,05) увеличение резистентности к изученным антибиотикам при воздействии на предформированную в течение 48 часов биопленку по сравнению с 24-часовой биопленкой.

Заключение

Выявленная резистентность биопленочной формы возбудителей перипротезной инфекции к используемым в клинической практике концентрациям антибиотиков требует переоценки эффективности используемых препаратов для разработки схем эффективной этиотропной терапии, а также пересмотра методов определения чувствительности к антибиотикам при имплантат-ассоциированной инфекции после эндопротезирования крупных суставов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

ОЦЕНКА ТОЧНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ В МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Мартынова Т.С., Тумилович А.А.

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ
г. Санкт-Петербург

Актуальность

На данный момент ISO/TS 20914:2018 широко не применяется в КДЛ РФ при оценивании неопределенности измерения. Поэтому представляется целесообразным рассмотреть конкретные примеры использования этого подхода в медицинских лабораториях.

Цель

Оценить прецизионность измерений в лаборатории, используя результаты рутинных измерений для стандартного образца (СО) и контрольного материала.

Материалы и методы

Проанализированы два набора СО и Гематрол 5D с аттестованными значениями (WGB, RBC, HGB). В соответствии с ISO/TS 20914 составляющие неопределенности измерения обусловлены смещением метода, калибратором и прецизионностью измерений, статистические методы оценивания последней являются предметом настоящей работы.

Результат

С целью оценки прецизионности, для каждой характеристики СО и Гематрол 5D было проведено по 10 измерений на одном и том же гематологическом анализаторе при одинаковых условиях. Таким образом, медицинская лаборатория получила по 10 значений характеристик, относящихся к «патологии» из 1го набора, по 10 значений характеристик, относящихся к «патологии» из 2го набора и по 10 значений характеристик, относящихся к измерению Гематрол 5D. Далее, согласно ISO 20914, была оценена дисперсия разброса (SD) для каждой характеристики из каждого набора.

SD=∑(xi-x)2n-1,Для характеристики HGB результаты 10 измерений оказались повторениями, что говорит о некорректности описания случайной погрешности нормальным законом, поэтому результаты были исключены из дальнейшего рассмотрения.

SD=∑(xi-x)2n-1,Для анализа однородности дисперсий разброса результатов измерений характеристик WBC и RBC был использован критерий Кохрена, критическое значение критерия Кохрена для вероятности 5% равно 0,617 .

Для анализируемых характеристик были получены следующие значения критерия Кохрена, что говорит об однородности данных

– WBC: SD (CO1) – 0,079; SD (CO2) – 0,089; Гематрол 5D – 0,075; критерий Кохрена – 0,032<0,617; SD∑ – 0,081;
– RBC: SD (CO1) – 0,034; SD (CO2) – 0,026; Гематрол 5D – 0,046; критерий Кохрена – 0,020<0,617; SD∑ – 0,036.

Заключение

Оценивание неопределенности измерений основано на данных о смещении метода измерений, точ-

ности калибраторов и прецизионности измерений. Для оценивания прецизионности медицинская лаборатория должна обладать большим объемом данных от внутреннего контроля качества и выполняемых измерений. Анализ показал, что прецизионность независимых результатов измерений внутри рассматриваемой лаборатории является достаточно высокой. Данный поход может быть распространен на другие определяемые параметры и использован совместно с методами дисперсионного анализа (ANOVA).

КОАГУЛОЛОГИЯ

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПЛАЗМЕННОГО КОМПОНЕНТА СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КОСМОНАВТОВ.

Кузичкин Д.С., Журавлева Т.В., Лабецкая О.И., Кочергин А.Ю.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН
г. Москва

Актуальность

Известно, что развивающиеся в космическом полете гиподинамия и гиповолемия, наряду с перераспределением жидких сред организма, приводит к гемоконцентрации, изменению реологических свойств крови, что в свою очередь влияет на смещение коагуляционного баланса организма космонавтов.

Цель

Исследование показателей про-, антикоагулянтного и фибринолитического звеньев системы гемостаза космонавтов до и после орбитальных космических полетов.

Материалы и методы

Обследованы 27 космонавтов. Кровь из вены отбирали за 30 суток до старта, на 1-е и 7-е сутки послеполетного периода. В цитратной плазме определяли концентрации фибриногена, плазминогена, Д-димера, антитромбина (ATIII), протеина С (ПС) и α2-антиплазмина; величины МНО, АЧТВ, ТВ. Использовали автоматический коагулометр «Sysmex CA-1500».

Результат

В фоновом периоде у космонавтов значения АЧТВ значительно выше среднепопуляционных, а на первые сутки после длительных полетов (170 – 200 суток) наблюдается существенное их снижение (на 28%, по Уилкоксону, $p<0,05$) и сближение с диапазоном среднепопуляционной нормы.

АЧТВ отражает интегральный потенциал внутреннего пути свертывания, активацию которого можно рассматривать как эволюционно сложившийся механизм, подготавливающий организм к возможной кровопотере в экстремальных стрессогенных условиях. В группе космонавтов сниженный исходный потенциал внутреннего пути может указывать на наличие адаптационных изменений в организме, направленных на предотвращение угрозы возникновения тромбофилических состояний при активации данного процесса в ходе профессиональной подготовки и при воздействии стрессогенных факторов космического полета.

Диапазоны показателей ТВ и концентрации фибриногена во все сроки обследования до и после длительных полетов сужены и приближены к соответственно верхней и нижней границам среднепопуляционного диапазона. На 1-е сутки после кратковременных полетов выявлено повышение концентрации фибриногена на 15% (по Уилкоксону, $p<0,05$), после длительных полетов повышение уровня фибриногена статистически незначимо. Возможно, это связано тем, что гемоконцентрация развивается наиболее сильно именно в течение первых недель полета.

95-е перцентили значений ATIII и ПС у космонавтов до и после после полетов превышают верхний предел среднепопуляционного диапазона. Данные белки, являясь ингибиторами факторов коагуляционного каскада, играют на наш взгляд ключевую роль в механизме наблюдаемого снижения фонового потенциала свертывания по внутреннему пути и на конечном этапе. На 7-е сутки уровень ATIII у космонавтов прибли-

жается к среднепопуляционным. Вероятно, после завершения космического полета в период реадаптации к наземным условиям происходит активация коагуляции, что приводит к умеренному потреблению ATIII.

В подгруппе космонавтов, у которых после полетов наблюдались подкожные экхимозы, выявлено отличие (по Манну-Уиттни, p<0,05) по уровню Д-димера от подгруппы, в которой не наблюдалось видимых кровоизлияний, на 7-е сутки периода восстановления. К 14-м суткам после полета данное различие было статистически незначимо.

Заключение

После космических полетов наблюдается умеренное повышение прокоагулянтного потенциала. Появление подкожных кровоизлияний ожидаемо приводит к повышению уровня фибринообразования и фибринолиза. Референтные значения показателей гемостаза отличаются от среднепопуляционных, соответствуя повышенному адаптивному потенциалу организма космонавтов к действию факторов космического полета и подчёркивая целесообразность использования отдельных коагуляционных тестов не только после полета, но также и на этапе отбора и подготовки космонавтов.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ.

Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г.

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

Актуальность

Учитывая роль иммунного тромбоза при COVID-19, изучение механизмов развития гиперкоагуляционных изменений у пациентов с данным заболеванием, может позволить улучшить исходы заболевания. Особый интерес представляет состояние системы естественных антикоагулянтов.

Цель

Оценка состояния системы естественных антикоагулянтов у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы

Исследование включало образцы плазмы крови 60 пациентов с COVID-19 и 21 донора. Определяли активность антитромбина, протеина С, уровень свободного протеина S, также оценивали генерацию тромбина. Для статистической обработки определяли медиану и 95% ый доверительный интервал (Me; 95% ДИ), критерий Мана-Уитни (достоверные различия при p <0,05).

Результат

В группе пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением острой коронавирусной инфекцией отмечалось достоверное повышение активности антитромбина (Me-101,0, ДИ: 72,4–132, против Me-94,0, ДИ: 75,0–120,2, p=0,0029), вероятно носящее компенсаторный характер. Активность протеина С оставалась в пределах нормальных значений (Me-99,0, ДИ: 62,5–132,6, против 102,0, ДИ: 76,6–145,0). В то же время уровень свободного протеина S был значительно ниже, чем у здоровых лиц (Me-62,4, ДИ: 34,1–106,5, против Me-79,0, ДИ: 58,3–112,0, p= 0,00000016). Исследование параметров генерации тромбина проводили без добавления тромбомодулина и с добавлением такового. Добавление в реакционную смесь тромбомодулина позволяет определить чувствительность к тромбомодулину, которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. Чувствительность к тромбомодулину рассчитывали, как процент падения эндогенного потенциала тромбина (ETP, нМ·мин) и пикового количества тромбина (Peak, нМ) при добавле-

нии тромбомодулина. У пациентов с коронавирусной инфекцией отмечалось резкое снижение чувствительности к тромбомодулину в сравнении со здоровыми лицами (Чувствительность к тромбомодулину ETP Me-11, ДИ: 0,0–61,3 против Me-51,0, ДИ: 22,5–65,5; чувствительность к тромбомодулину Peak Me-4,0, ДИ: 0,0–39,0 против Me-35,0, ДИ: 14,5–53,5, p=0,00000031 и p=0,00000000842, соответственно), что свидетельствует о значительном угнетении работы системы протеина С и соответствует приведённым выше данным о снижении уровня протеина S.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о значительном угнетении работы системы протеина С. Дисбаланс, возникающий при снижении эффективности работы системы естественных антикоагулянтов, частью которой является система протеина С, может быть, одним из ведущих звеньев развития гиперкоагуляционных изменений у пациентов с коронавирусной инфекцией и обуславливать высокий риск тромботических осложнений.

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Смирнова О.А., Лернер А.А. , Шведова Т.Н. , Головина О.Г., Папаян Л.П.

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

Актуальность

Новая коронавирусная инфекция ассоциируется с наличием эндотелиальной дисфункции, которая может вести к развитию гиперкоагуляции. Исследование маркеров эндотелиальной дисфункции может представлять интерес для прогнозирования течения заболевания.

Цель

Определение маркеров эндотелиальной дисфункции для оценки состояния эндотелия у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19.

Материалы и методы

Были исследованы образцы плазмы крови 221 пациента с COVID-19 и 68 здоровых лиц. Определяли активность фактора Виллебранда (%), антиген фактора Виллебранда (%), уровень гомоцистеина (мкмоль/л). Для статистической обработки определяли медиану и 95% ый доверительный интервал (Me; 95% ДИ), критерий Мана-Уитни (достоверные различия при p <0,05).

Результат

В группе пациентов с COVID-19 в сравнении со здоровыми лицами отмечалось значительное повышение всех исследуемых показателей: активности фактора Виллебранда (Me-290,0, ДИ: 109,7 – 724,5 против 97,0 , ДИ: 63,0 – 144,3 ,p=0,01), антигена фактора Виллебранда (Me-255,0, ДИ: 136,1 – 880,4 против 107,0, ДИ: 74,6 – 161,7 ,p=0,01) и уровня гомоцистеина (Me-16,1, ДИ: 7,2 – 36,6 против 10,1, ДИ: 5,1 – 14,8 ,p=0,01). Следует отметить, что более значимое повышение антигена фактора Виллебранда отмечалось у пациентов с летальным исходом в сравнении с выздоровевшими лицами (Me-244,0, ДИ: 216,5–930,0 против Me-219, ДИ: 142,9–829,6, p=0,01).

Заключение

Повышение активности фактора Виллебранда, антигена фактора Виллебранда и уровня гомоцистеина у пациентов с новой коронавирусной инфекцией свидетельствуют о наличии выраженной эндотелиальной дисфункции, которой сопутствует потеря атромбогенности сосудистой стенки, что может приводить к развитию гиперкоагуляционных изменений и предрасполагать к тромботическим осложнениям. Значительное повышение антигена фактора Виллебранда у пациентов с COVID-19 может служить предиктором неблагоприятного исхода заболевания.

ТЕСТ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА В СВЕТЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Пучиньян Д.М., Шахмартова С.Г., Воробьева И.С.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России
г. Саратов

Актуальность

В настоящее время исследование системы гемостаза проводится с помощью локальных и глобальных (интегральных) тестов; среди последних интерес представляет тест генерации тромбина (ТГТ), информационные возможности которого еще полностью не оценены.

Цель

Расширение диагностических возможностей теста генерации тромбина в плане прогнозирования поведения системы гемокоагуляции в экстремальных ситуациях.

Материалы и методы

Коагуляционные свойства крови изучали локальными тестами и ТГТ (два активатора с 2 и 5 пмоль/мл тканевого фактора, коагулометр «Ceveron alpha») у 52 больных с асептическим и инфекционным воспалением после эндопротезирования тазобедренных суставов и 13 здоровых лиц. Статистика: критерий Краскела-Уоллиса для трёх независимых выборок; $p<0,05$.

Результат

Все значения локальных тестов, кроме уровня D-димеров, во всех группах соответствовали контрольным величинам, то есть не отражали изменений в картине коагуляционного статуса плазмы крови.

У здоровых лиц более сильный активатор вызывал укорочение хронометрических показателей, что свидетельствовало об ускорении процесса образования тромбина. Такая реакция процесса генерации тромбина является физиологической и отражает реализацию закона силы раздражителя. У больных, помимо физиологической реакции, наблюдали и парадоксальную, когда на более сильный активатор получали замедление и ослабление процесса образования тромбина. На этом основании были сформированы 4 группы больных – по две на каждый вид воспалительного осложнения. У больных 1-й подгруппы, с перипротезной инфекцией и нормальными показателями тромбиногенеза, определенными на малой концентрации тканевого фактора, на более сильный активатор были получены равноценные значения хронометрических и структурных показателей (инертный тип реагирования с исходной нормотромбинемией). У больных 2-й подгруппы с перипротезной инфекцией слабый активатор вызывал реакцию гипертромбиногенеза (повышенная чувствительность системы к тканевому фактору), а более сильный активатор – реакцию, сопоставимую с исходным фоном по хронометрическим и структурным параметрам (инертный тип реагирования с исходной гипертромбинемией).

У пациентов 1-й подгруппы с асептической нестабильностью эндопротеза и физиологической реак-

цией на более сильный активатор при использовании слабого стимулятора регистрировали структурную гипертромбинемию, при этом на более сильный активатор возникало ещё и ускорение образования тромбина, однако уровень эндогенного тромбинового потенциала соответствовал таковому при слабом воздействии (гипертромбиногенный тип реагирования с повышенной чувствительностью к тканевому фактору и с сохранением физиологической реактивности). Наконец, у пациентов 2-й подгруппы с асептической нестабильностью эндопротеза слабый активатор выявлял тромбиногенез, сопоставимый с контрольным, однако на сильный активатор возникала гипотромбиногенемия по данным хронометрических и структурных параметров (гипотромбиногенный тип реакции, отражающий склонность системы к повышенной кровоточивости).

Заключение

1. ТГТ в исполнении с двумя активаторами, различающимися концентрацией тканевого фактора, позволяет выявить индивидуальную склонность пациентов к развитию тромботических и геморрагических послеоперационных осложнений, что свидетельствует о перспективе использования данного метода в качестве инструмента персонализированной медицины.

2. ТГТ в данной постановке расширяет диагностические возможности гемокоагуляционных лабораторных исследований, однако для окончательного заключения по его эффективности требуется проведение дальнейших испытаний.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19

Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г., Папаян Л.П.

ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России
г. Санкт-Петербург

Актуальность

Течение COVID-19 зачастую сопровождается тромбоэмболическими осложнениями, которые могут стать причиной летального исхода. Соответственно, поиск прогностически значимых маркеров активации системы гемостаза является важнейшей клинической задачей.

Цель

Оценить возможность использования ряда параметров коагуляционного гемостаза в качестве предикторов неблагоприятного прогноза течения новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы

У 104 пациентов с COVID-19 исследовали ПТ по Квику, АПТВ, уровень фибриногена, D-димера и гомоцистеина, активность фактора VIII, антитромбина, активность и уровень фактора Виллебранда. Результаты оценивали с учетом итога заболевания: летальный исход (n=23) или выздоровление (n=81), используя Statistica 12 (уровень значимости $p < 0{,}05$).

Результат

Признаки активации системы гемостаза были выявлены у обеих групп пациентов. Однако у тех, чье заболевание завершилось летальным исходом, отмечалось достоверное снижение показателей протромбинового теста (%) и активности антитромбина (%) по сравнению с выздоровевшими пациентами (Me, 95% ДИ; 66,8 (37,0 – 110,0) vs 82,8 (54,0 – 120,0) и 87,9 (54,1 – 122,0) vs. 99,2 (58,5 – 136,0), соответственно). В то же время, в первой группе пациентов было выявлено значительное повышение уровней D-димера (нг/мл)

и гомоцистеина (мМоль/л) (842,0 (155,0 – 1336,0) vs. 342,0 (63,0 – 3580,0) и 21,2 (12,1 – 31,1) vs. 15,6 (6,9 – 39,0), соответственно). Различий между другими исследованными параметрами выявлено не было.

Заключение

У пациентов с коронавирусной инфекцией выявлены значительные гиперкоагуляционные изменения. Степень их выраженности коррелирует с исходом заболевания. Протромбиновый тест по Квику, активность антитромбина, уровни D-димера и гомоцистеина могут являться прогностически значимыми показателями при оценке тяжести течения заболевания.

ГЕНЕРАЦИЯ ТРОМБИНА У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОФИЛИЕЙ А ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ПЛАЗМЕННЫХ И РЕКОМБИНАНТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ФАКТОРА VIII

Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Комиссаров К.А., Папаян Л.П..

ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России
г. Санкт-Петербург

Актуальность

Преимуществом рекомбинантных препаратов в терапии гемофилии А является их инфекционная безопасность и стабильная технология производства. Однако до сих пор остаётся актуальным вопрос о сравнительной эффективности плазменных и рекомбинантных концентратов.

Цель

Сравнить показатели активности фактора VIII (FVIII) и теста генерации тромбина (ТГТ) у пациентов с гемофилией А после введения плазменных и рекомбинантных концентратов.

Материалы и методы

38 пациентам были выполнены хирургические вмешательства с введением плазменных (n=28) и рекомбинантных препаратов (n=10) под контролем показателей активности FVIII и ТГТ (ETP, нМ/мин и Peak, нМ). Контрольную группу составили 16 здоровых лиц. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием Statistica 12.

Результат

Активность FVIII (Me, 95% ДИ) через час после введения рекомбинантных концентратов была достоверно выше по сравнению с таковой у пациентов, получавших плазменный концентрат: 128,5% (79,3 – 176,0) vs. 79,5% (25,0 – 117,0), p <0,05, однако в обеих группах укладывались в пределы референтных значений (100,5% (66,0 – 182,8)). Параметры ТГТ (Me, 95 % ДИ) также продемонстрировали тенденцию к увеличению в группе пациентов после введения рекомбинантного препарата по сравнению с плазменным, хотя были сопоставимы с нормой в обоих случаях. Так, эндогенный тромбиновый потенциал (ETP) составил 994,5 (364, 1 – 1111,0) vs. 908,7 (504,6 – 1736,9) нМ/мин, а максимальная концентрация тромбина (Peak) – 82, 5 (30,9 – 110,8) vs. 76,6 (41,1 – 207,5) нМ. Нормальные показатели составили 1021,3 (704, 9 – 1400,9) и 69,4 (47,2 – 143,9) для ETP и Peak, соответственно.

Заключение

Активность FVIII после введения рекомбинантных препаратов может быть выше по сравнению с аналогичным показателем на фоне использования плазменных концентратов. Однако показатели теста генерации тромбина в двух группах оказались сопоставимыми как между собой, так и с показателями контрольной группы, что свидетельствует об одинаковой гемостатической эффективности обоих видов концентратов в терапии гемофилии.

ДРУГОЕ

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ И ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ И ПРОАПОПТОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПОСЛЕ ПЕРЕРЕЗКИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА

Дзреян В.А., Родькин С.В., Питинова М.А.

Южный федеральный университет, лаборатория молекулярной нейробиологии
г. Ростов-на-Дону

Актуальность

Нейротравмы – одна из важнейших причин смертности и инвалидности населения. Однако, разработка специфических диагностических маркеров повреждения нервов требует более глубокого понимания клеточно-молекулярных механизмов нейродегенерации, что обуславливает актуальность работы.

Цель

Анализ экспрессии эпигенетических и проапоптотических белков, а также защитного эффекта вальпроата натрия в спинномозговых ганглиях крысы после аксотомии.

Материалы и методы

Иммуноблоттинг проводили методом полусухого переноса с помощью системы Trans blot Turbo. Внутриклеточную локализацию исследуемых белков оценивали с помощью двойной иммунофлуоресцентной микроскопии. Апоптоз определяли методом TUNEL. Вальпроат натрия (300 мг/кг/день) вводили внутрибрюшинно сразу после аксотомии и далее в течение 7 дней.

Результат

Иммуноблотинг показал, что в аксотомированных ганглиях дорзальных корешков спинного мозга крысы (DRG, dorsal root ganglia) наиболее ранние и специфичные изменения наблюдались со стороны гистондеацетилаз HDAC1, HDAC2, экспрессия которых возрастала после перерезки седалищного нерва через 1 и 4 часа, соответственно. Кроме того, аксотомия через 24 часа вызывала значительное снижение уровня ацетилирования лизина 9 в гистоне H3. Это происходило задолго до развития апоптоза. Так как активация гистондеацетилаз и деацетилирование гистонов приводят к подавлению белкового синтеза, то можно рассматривать повышение уровня гистондеацетилаз HDAC1 и HDAC2 как начальные этапы патологического процесса. Вероятно, эти белки готовят последующие изменения других белков и общую реакцию клеток DRG ганглиев на перерезку седалищного нерва. Экспрессия фактора транскрипции E2F1 в аксотомированных нейронах DRG повышалась через 4 часа, проапоптотических белков p53 и каспазы 3 – через 24 часа. Через 7 суток повышался уровень маркеров дегенерации и регенерации аксона APP и GAP-43. Ингибитор HDACs вальпроат натрия показал нейропротекторную активность в аксотомированных DRG. Ингибирование гистондеацетилаз HDAC1 и HDAC2 защищало глиальные клетки DRG ганглиев крыс от апоптоза, вызванного аксотомией. Кроме того, нейропртекторный эффект демонстрировался снижением проапоптотических белков E2F1, p53 и caspase 3 в аксотомированных DRG подопытных крыс, которым вводили препарат. Инъекции вальпроата в течение 7 дней снижали накопление APP в нейронах DRG, повышали уровень GAP-43, а также предотвращали вызванное аксотомией снижение уровня ацетилирования гистонов H3 и H4, которое могло приводить к снижению белкового синтеза в клетке. Метод двойной иммунофлуоресцентной микроскопии показал, что перерезка седалищного нерва вызывает транслока-

цию HDAC1 и белка p53 из ядра в цитоплазму в первые 24 часа после аксотомии.

Заключение

Таким образом, наши данные свидетельствуют о вовлеченности HDAC1 и HDAC2 в вызванное аксотомией повреждение нейронов DRG и глиальных клеток. Исследуемые белки могут служить потенциальными маркерами изменений при повреждении нервов и/или мишенями для терапевтического вмешательства. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Минобрнауки РФ № 0852–2020-0028 и стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых.

СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ОТВЕТ В ОСТРЕЙШЕМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю., Кузнецова П.И., Антонова К.В.

ФГБНУ Научный центр неврологии
г. Москва

Актуальность

Сочетание двух патогенетически различных тяжелых патологий – ишемического инсульта (ИИ) и истинной полицитемии (ИП) – обусловливает поиск прогностических биомаркеров для создания алгоритмов диагностики и контроля лечения подобных пациентов.

Цель

Цель – выявление особенностей свертывания крови и воспалительного ответа в острейшем периоде ИИ у пациентов с ИП.

Материалы и методы

Обследован 181 пациент; группа I – 68 пациентов с ИП и ИИ; группа II – 59 больных с ИИ, группа III – 54 пациента с ИП. Показатели гемостаза определяли на агрегометре Биола и коагулометрах ACL 9000 и ACL Elite Pro, определение цитокинов, маркеров воспаления, функции эндотелия и показателей активности ангиогенеза проводили методом ELISA.

Результат

При сравнении показателей гемостаза и функции эндотелия отмечено, что в группах пациентов с ИП выявлена статистически значимые снижение АДФ – и Адр-индуцированной агрегации тромбоцитов, снижение количества и активности ФВ и Антитромбина III, а также значительное повышение активности фактора VII по сравнению с группой пациентов без коморбидной ИП. В группе пациентов с ИИ без ИП установлены отличия от других групп по более высокой активности фактора VIII, по более высокому уровню D-димеров, сниженной концентрации PLG и PAI-1 и более низкому соотношению t-PA/PAI-1. Для группы I по сравнению с другими группами показано значимо более высокое содержание фибриногена, pTM, TF, более высокие активности TAFI и фактора VII. В отношении активности фактора VIII в группе пациентов с коморбидной патологией стоит отметить, что его активность существенно повышена по сравнению с пациентами группы сравнения с ИП без ИИ, но статистически значимо ниже, чем у группы пациентов с ИИ без ИП.

Сравнение уровней цитокинов и значений показателей, характеризующих активность ангиогенеза, показало существенно более высокое содержание у больных с коморбидной миелопролиферативной патологией всех исследуемых цитокинов и факторов роста: IL-1β ($p = 0,000$), IL-6 ($p = 0,000$), TNF-α ($p = 0,010$), TGF-β1 ($p = 0,000$), bFGF ($p = 0,003$), VEGF-A ($p = 0,000$). 20-HETE и 15-HETE были статистически значимо выше в группе пациентов с ИИ+ИП. По уровню молекул межклеточной адгезии статистически значимых различий между группами найдено не было.

Заключение

Таким образом, у коморбидных пациентов отчетливо прослеживается сочетание одновременно повышенной склонности к гемокоагуляции и усиленного воспалительного ответа, что в совокупности осложняет течение острого ИИ и затрудняет лечение таких больных.

ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ КРОВИ В ОСТРЕЙШЕМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю..

ФГБНУ Научный центр неврологии
г. Москва

Актуальность

Сочетание двух патогенетически различных тяжелых патологий – ишемического инсульта (ИИ) и истинной полицитемии (ИП) – обусловливает поиск прогностических биомаркеров для создания алгоритмов диагностики и контроля лечения подобных пациентов.

Цель

Целью было выявления особенностей гемореологических характеристик и клеточного состава в острейшем периоде ИИ у пациентов с ИП.

Материалы и методы

Обследован 181 пациент; группа I – 68 пациентов с ИП и ИИ; группа II – 59 больных с ИИ, группа III – 54 пациента с ИП. Исследования выполнены в лаборатории гемореологии, гемостаза и фармакокинетики с клинической лабораторной диагностикой ФГБНУ НЦН. Реологические характеристики исследовали на анализаторе LORRCA (Mechatronics, Нидерланды).

Результат

При сравнении профилей клинического анализа крови обращает на себя внимание значительное увеличение количества всех клеточных элементов крови у пациентов с ИИ и ИП не только по сравнению с пациентами с ИИ без ИП, но и с пациентами с гематологической патологией без ИИ. Значения гемоглобина и гематокрита были значительно выше при сниженном СОЭ в группах пациентов с ИП по сравнению с пациентами с ИИ без ИП. У пациентов с ИИ и коморбидной ИП ухудшены все исследуемые морфофункциональные характеристики эритроцитов по сравнению с группой без ИП. Причем, если такой показатель как время образования монетных столбиков изменен только в виде тенденции, то индекс агрегации, время образования трехмерных агрегатов, амплитуда агрегации и тем более скорость полной дезагрегации (отражающая плотность эритроцитарных агрегатов) были значительно увеличены ($p = 0{,}000$) при существенно сниженной деформируемости эритроцитов ($p = 0{,}001$). Такие патологические агрегаты образуют крупные конгломераты, которые перекрывают движение восходящих потоков плазмы и нисходящих потоков клеток в системе, что ведет к существенному снижению СОЭ, что и наблюдается у пациентов с ИП (СОЭ снижено более чем в 4 раза по сравнению с группой без ИП). При сравнении показателей общего анализа крови выявлено ожидаемое значительное увеличение количества форменных элементов крови в группах пациентов с ИП, а также более высокие значения гемоглобина и гематокрита. Однако самый высокий уровень тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов отмечался у пациентов с коморбидной патологией в острейшем периоде инсульта и статистически значимо отличался от пациентов в группах сравнения.

Заключение

Таким образом, морфологические и гемореологические нарушения наиболее выражены у коморбидных пациентов, создавая совместно предпосылки для появления тромботических осложнений и развития резистентности проводимой терапии.

СОДЕРЖАНИЕ

Сборник тезисов

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ «АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА

3 **ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ СИНДРОМОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ. ОПЫТ СОЗДАНИЯ БАЗЫ ДАННЫХ**
Абрамов И.С., Лисица Т.С., Строганова А.М., Данишевич А.М., Хахина А.О., Закаморная А.И., Мацвай А.Д., Шипулин Г.А.

4 **HE4 – МАРКЕР РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ, МОНИТОРИНГА И ПРОГНОЗА CA125-НЕГАТИВНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ**
Готько О.В., Державец Л.А., Прохорова В.И.

5 **ОПЫТ ВЫЯВЛЕНИЯ FLT3 И NPM1 МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ КРАСНОЯРСКОГО РЕГИОНА С ДИАГНОЗОМ ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ**
Маслюкова И.Е.[1], Субботина Т.Н.[2], Мартынова Е.В.[3], Верещагина С.В.

7 **ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ TNF-A И IL-8 У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**
Прохорова В.И., Красный С.А., Державец Л.А., Цырусь Т.П., Готько О.В., Мавричев А.С., Грачев Ю.Н., Грицкова О.А.

8 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО**
Прохорова В.И.[1], Готько О.В.[1], Таганович А.Д.[2], Ковганко Н.Н.[2], Державец Л.А.[1], Цырусь Т.П.[1], Грицкова О.А.[1]

9 **АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ GBA У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА**
Разумова А. А.[1], Субботина Т.Н.[1], Абрамов В.Г.[2], Верещагина С.В.[2]

10 **ВЫЯВЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ**
Сай А.В., Мацвай А.Д., Михайлов И.М., Киселев Д.А., Айгинин А.А., Гордукова М.А., Шипулин Г.А.

11 **ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ COVID-19**
Серёгина П.К.[1], Семейкина А.А.[1], Шпакова Н.А.[1], Шарафан Д.Е.[2], Шаров В.И.[2], Урусов А.Е.[1]

12 **ПРОТЕОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАК СРЕДСТВО КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ИШЕМИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**
Теряева Н.Б.[1], Петушкова Н.А.[2], Ромашова Ю.А.[2], Арчаков А.И.[2]., Потапов А.А.[1], Лисица А.В.[2], Усачев Д.Ю.[1], Беляев А.Ю.[1]

13 **МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**
Ушкаленко Н.Д., Филатов П.В., Ерш А.В., Полтавченко А.Г.

КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

15 **ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ УРОВНИ МАРКЕРОВ СЕПСИСА У ДЕТЕЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**
Головня Е.Г., Лебедева А.В., Харитиди Т.Ю., Сотников А.В., Кушлинский Н.Е.

16 **ЗНАЧЕНИЕ ГОМОАРГИНИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**
Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.

17 **ВАЛИДАЦИЯ РАБОЧЕГО ДИАПАЗОНА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОКРОТЫ**
Козлов А.В., Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Ерещенко А.А., Мурский С.И.

18 **БИОХИМИЧЕСКОЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕРМЫ МУЖЧИН, ИНФИЦИРОВАННЫХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ UREAPLASMA UREALYTICUM**
Луцкий Д.Л., Луцкая А.М., Выборнов С.В.

19 **ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**
Любимова Н.В., Лебедева А.В., Тимофеев Ю.С., Кушлинский Н.Е.

20 **РОЛЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ КОРОНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID 19**
Никулина Д.М., Иванов П.А., Титова О.Л., Волошан О.А., Соколова Е.В.

21 **ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ**
Новоженова Ю.В., Лянг О.В.

22 **РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ С ОТРАВЛЕНИЯМИ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ**
Павлушкина Л.В., Веденьева Т.В., Амергулова С.Б., Коваленко Л.А., Бояджян М.Б., Юдин М.Ю., Павлова П.В., Орехова Е.А., Чугунова О.Л.

23 **ЗНАЧЕНИЕ АМИНОТЕРМИНАЛЬНОГО ФРАГМЕНТА МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**
Петрова О.В., Никулина Д.М., Шашин С.А., Тарасов Д.Г.

24 **ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ ПУПОВИНЫ У НОВОРОЖДЕННЫХ, РОДИВШИХСЯ У МАТЕРЕЙ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ**
Попова И.Г., Ситникова О.Г., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Харламова Н.В., Клычева М.М., Веселкова Ю.Н.

25 **ДИАГНОСТИКА ФОЛИЕВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**
Субботина Т.Ф., Жлоба А.А.

26 **РОЛЬ НЕЙРОМОДУЛИНА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**
Харламова Н.В., Андреев А.В., Кузьменко Г.Н., Песенкина А.А.

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

28 **ОЦЕНКА РИСКА РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ НА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ МЕТОДОМ СТИМУЛЯЦИИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ**
Бердюгина О.В.

29 **ЛАБОРАТОРНЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ У ВЗРОСЛЫХ**
Бердюгина О.В.

30 **ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ СВЯЗАН С РАСПРОСТРАНЁННОСТЬЮ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ**
Бердюгина О.В.

31 **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЦЕЛИАКИИ В ГРУППАХ РИСКА**
Гудкова Р.Б., Быкова С.В., Сабельникова Е.А., Салиев К.Г., Парфенов А.И.

32 **СРАВНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАТИВНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ АНТИТЕЛ С ПОМОЩЬЮ НЕПРЯМОЙ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ (НРИФ) И ИММУНОБЛОТА (ИБ) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОГО ГЕПАТИТА (АИГ) И ПЕРЕКРЁСТНОГО СИНДРОМА (АИГ/ПБХ)**
Дорофеев А.С., Новиков А.А., Салиев К.Г., Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В., Александрова Е.Н.

33 **КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ИММУННОГО СТАТУСА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ОБШИРНЫМИ ОЖОГАМИ**
Козлова М.Н., Земсков В.М., Демидова В.С., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Алексеев А.А.

34 **АУТОАНТИТЕЛА ПРИ САРКОИДОЗЕ ЛЕГКИХ**
Москалец О.В.

35 **АСПЕКТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ПРИМЕРЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ**
Пешне Е.Н., Пешне К.А., Горячая М.Н.

36 **РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РАННЕГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА**
Рыбакова В.В., Авдеева А.С., Черкасова М.В., Насонов Е.Л.

37 **ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ**
Чуксина Ю.Ю.

38 **ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ**
Чуксина Ю.Ю.

39 **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫРАБОТКИ «ПРОТЕКТИВНЫХ» И «ИНДИКАТОРНЫХ» АНТИТЕЛ К SARS-COV-2**
Шустов В.В., Баженов А.И., Годков М.А.

40 **КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ, ИНФИЦИРОВАННЫХ SARS-COV-2**
Щёкина Л.А.*, Улейская Г.И.*, Стюф И.Ю., Малахова М.Я., Шеламова Д.А., Евтеева Д.А., Гайковая Л.Б.

КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ

41 **КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АБСОЛЮТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ, ЛИМФОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С СИСТЕМНЫМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕАКЦИЯМИ**
Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Борисенко Н.Н., Сытов А.В., Плужникова Н.А.

42 **ОСОБЕННОСТИ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**
Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Хагажеева М.Н.

43 **ВОЗМОЖНОСТЬ РАННЕГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЗДНЕЙ АНЕМИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ**
Иваненкова Ю.А., Харламова Н.В., Матвеева Е.А., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Филькина О.М.

44 **В ПОИСКАХ УДОБНОГО БИОМАРКЕРА: ДЕЛЬТА ГЕМОГЛОБИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ СТАТУСА ПАЦИЕНТА И ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ.**
Теряева Н.Б., Гаджиева О.А., Баширян Б.А.

45 **ПАРАМЕТРЫ ТРОМБОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**
Харламова Н.В., Будалова А.В., Кузьменко Г.Н.

МЕДИЦИНСКАЯ ЦИТОЛОГИЯ

46 **СРОЧНОЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ОБРАЗОВАНИЙ ЛЕГКОГО**
Круглова И.А.[1], Паранина Т.В.[2], Зиновьев С.В.[3], Уткин О.В.[4]

МЕДИЦИНСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

48 **ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ СТАЦИОНАРА В 2020 ГОДУ**
Цитренко С.А., Лукьянова Е.Ю., Полуэктова М.В.

49 **КОГЕРЕНТНАЯ ФЛУКТУАЦИОННАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ В ОЦЕНКЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**
Щелкова В.В., Кильдеева Н.Р., Русанова Е.В., Василенко И.А., Гурьев А.С.

МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

51 **ОЦЕНКА КОММЕРЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ИММУНОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ/ПЛАЗМЕ БОЛЬНЫХ COVID-19**
Алимбарова Л.М. [1], Казаков С.П. [2], Крюков Е.В.[3], Чиркова Е.Ю.[4]

52 **РОЛЬ АНТИГЕНА А В РАСПРОСТРАНЕНИИ SARS-COV-2**
Бородина И.А., Селезнева И.А., Гильмиярова Ф.Н., Борисова О.В., Колотьева Н.А., Гусякова О.А., Балдина О.А.

МИКРОСКОПИЯ

53 **ВЛИЯНИЕ ЛОЖНОЙ ЭРИТРОЦИТАРХИИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЛИКВОРОГРАММЫ**
Галстян А.Г. , Захарящева А.А., Надыршина С.Г. , Лянг О.В., Пудкарадзе И.П., Сидорова М.А.

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

55 **ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ, ПРИ БОКОВОМ АМИОТРОФИЧЕСКОМ СКЛЕРОЗЕ.**
Иванова М.В., Воронкова А.С., Магнаева А.С., Захарова М.Н., Сухоруков В.С.

56 **СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЭКЗОМА КАК ИНСТРУМЕНТ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ДЕТСКОЙ КЛИНИКИ**
Кожанова Т.В.[1,2], Жилина С.С.[1,2], Мещерякова Т.И.[1], Абрамов А.А.[1], Притыко А.Г.[1,2], Заваденко Н.Н.[2]

57 **ПРИМЕНЕНИЕ ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМ СКРИНИНГЕ МУКОПОЛИСАХАРИДОЗОВ.**
Мазанова Н.Н., Койзер Р.А., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

58 **ГЛОБОТРИАОЗИЛСФИНГОЗИН (ЛИЗО ГБ-3) МОЖЕТ БЫТЬ ОСНОВНЫМ БИОМАРКЕРОМ ДЛЯ СКРИНИНГА БОЛЕЗНИ ФАБРИ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ**
Мазанова Н.Н., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

59 **ИДЕНТИФИКАЦИЯ EMM-ТИПОВ И НАБОРОВ ГЕНОВ СУПЕРАНТИГЕНОВ У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ STREPTOCOCCUS PYOGENES С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ EMM-ТИПИРОВАНИЯ, МУЛЬТИПРАЙМЕРНОЙ ПЦР И ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ (ПЦР-РВ)**
МИНКО А.Г., ДАНИЛОВА Т.А., ДАНИЛИНА Г.А., АДЖИЕВА А.А., ЖУХОВИЦКИЙ В.Г.

КОАГУЛОЛОГИЯ

61 **ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМЫХ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРА ХА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА**
Гайковая Л.Б., Замятина К.Н., Алиев Б.Г, Шеламова Д.А., Власова Ю.А.

62 **ЗАВИСИМОСТЬ НАРУШЕНИЙ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПСОРИАЗА**
Гайковая Л.Б., Шеламова Д.А., Власова Ю.А., Крылова Л.С., Ермаков А.И.

63 **ОСОБЕННОСТИ КОАГУЛОПАТИИ У ПАЦИЕНТОВ СО СРЕДНИМ И ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19**
Довгаль А.О., Соколова С.С.

64 **ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ НКИ COVID-19**
Ройтман Е.В.

65 **ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ НА ЦИТОРЕДУКТИВНОЙ И/ИЛИ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ**
Силина Н.Н., Корсакова Н.Е., Головина О.Г., Котельников П.А., Фоминых М.С., Ефремова Е.В., Волошин С.В., Папаян Л.П.

66 **СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА И ЭНДОТЕЛИЙ ПРИ ГЕСТАЦИОННОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ЭКО**
Шабалина А.А.[1], Ройтман Е.В.[1], Соболева В.В.[2], Александров Л.С.[2]

67 **УСТАНОВЛЕНИЕ HLA-МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ И ПОВЫШЕННЫМ РИСКОМ СМЕРТИ ПРИ COVID-19**
И.А. Булушева*, В.В. Черанев, Д.О. Коростин, Д.В. Ребриков

68 **РАЗРАБОТКА МИКРОЧИПОВОЙ ПАНЕЛИ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ТЕСТА НА АНТИТЕЛА К SARS-COV-2**
Ведехина Т.С., Манувера В.А., Варижук А.М., Матюшкина Д.С., Мусарова В.А., Тихонова П.О., Басманов Д.В., Лазарев В.Н., Позмогова Г.Е., Говорун В.М.

69 **ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ БАРКОДИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ РЕПЕРТУАРОВ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ**
Козлов И.Б.

70 **МИКРОФЛЮИДНЫЙ БИОСЕНСОР НА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛНАХ В ОДНОМЕРНОМ ФОТОННОМ КРИСТАЛЛЕ ДЛЯ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ДЕТЕКЦИИ ЛИГАНДОВ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**
Митько Т.В., Шакуров Р.И., Ширшиков Ф.В., Сизова С.В., Алиева Е.В., Конопский В.Н., Беспятых Ю.А., Басманов Д.В.

СОДЕРЖАНИЕ

Сборник постеров

I ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ ПО ФУНДАМЕНТАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ «АКАДЕМИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ: НОВЕЙШИЕ ДОСТИЖЕНИЯ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА

73 АКТИВНОСТЬ ФОРМ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ АУТОИММУННЫХ ПАТОЛОГИЯХ
Хижа В.В., Козлова Д.И, Васильев Д.С.

74 ВЗАИМОСВЯЗЬ МУТАЦИИ V617F В ГЕНЕ JAK2 С КЛИНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ
Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Вавилова Т.В..

КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

76 МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ АЛГОРИТМОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СУСТАВНЫХ ТКАНЯХ У ПАЦИЕНТОВ С НАЧАЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ПЕРВИЧНОГО И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОАРТРОЗА КРУПНЫХ СУСТАВОВ
Гладкова Е.В., Ульянов В.Ю., Ромакина Н.А., Зубавленко Р.А.

77 ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ТЯЖЕСТИ БЕЛКОВО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ДЕТЕЙ
Горбачева И.В., Кузнецова О.Ю., Гильмиярова Ф.Н., Печкуров Д.В.

78 ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ СИНУСИТАМИ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
Островская И.Г., Смирнова А.Д., Самусенкова К.В.

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

80 ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫМ ВОСПАЛЕНИЕМ ПОСЛЕ ПЕРВИЧНОЙ АРТРОПЛАСТИКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА
Галашина Е.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю., Бондаренко А.С.

81 ОЦЕНКА РОЛИ ЭНДОТОКСЕМИИ В ФОРМИРОВАНИИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СУСТАВОВ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИМПЛАНТ-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИИ
Гладкова Е.В., Бабушкина И.В., Ульянов В.Ю., Мамонова И.А.

82 ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ МЕМБРАНОЗНОМ КОЛИТЕ
Гудкова Р.Б., Бахарев С.Д, Быкова С.В., Бауло Е.В., Борунова Ж.В., Парфенов А.И.

82 СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ОЖОГАМИ
Козлова М.Н.

84 ТЕСТИРОВАНИЕ АНТИКОВИДНОЙ ПЛАЗМЫ НА НАЛИЧИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ К SPIKE-АНТИГЕНУ SARS-COV-2
Савчук Т., Гринвальд Е., Мусабекова Ш., Абдрахманова С.

МЕДИЦИНСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

85 ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА БИОПЛЕНКИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ
Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

86 ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ В ПРИСУТСТВИИ АНТИБИОТИКОВ
Бабушкина И.В., Мамонова И.В., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

88 ОЦЕНКА ТОЧНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ В МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
Мартынова Т.С., Тумилович А.А.

КОАГУЛОЛОГИЯ

90 ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПЛАЗМЕННОГО КОМПОНЕНТА СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КОСМОНАВТОВ.
Кузичкин Д.С., Журавлева Т.В., Лабецкая О.И., Кочергин А.Ю.

91 СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ.
Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г.

92 ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Смирнова О.А., Лернер А.А. , Шведова Т.Н. , Головина О.Г., Папаян Л.П.

93 ТЕСТ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА В СВЕТЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ
Пучиньян Д.М., Шахмартова С.Г., Воробьева И.С.

94 ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19
Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г., Папаян Л.П.

95 ГЕНЕРАЦИЯ ТРОМБИНА У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОФИЛИЕЙ А ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ПЛАЗМЕННЫХ И РЕКОМБИНАНТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ФАКТОРА VIII
Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Комиссаров К.А., Папаян Л.П..

ДРУГОЕ

96 АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ И ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ И ПРОАПОПТОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПОСЛЕ ПЕРЕРЕЗКИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА
Дзреян В.А., Родькин С.В., Питинова М.А.

97 **СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ОТВЕТ В ОСТРЕЙШЕМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ**
Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю., Кузнецова П.И., Антонова К.В.

98 **ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ КРОВИ В ОСТРЕЙШЕМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ**
Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю..

СПИСОК АВТОРОВ

Абрамов И.С., Лисица Т.С., Строганова А.М., Данишевич А.М., Хахина А.О., Закаморная А.И., Мацвай А.Д., Шипулин Г.А.

Готько О.В., Державец Л.А., Прохорова В.И.

Маслюкова И.Е.[1], Субботина Т.Н.[2], Мартынова Е.В.[3], Верещагина С.В.

Прохорова В.И., Красный С.А., Державец Л.А., Цырусь Т.П., Готько О.В., Мавричев А.С., Грачев Ю.Н., Грицкова О.А.

Прохорова В.И.[1], Готько О.В.[1], Таганович А.Д.[2], Ковганко Н.Н.[2], Державец Л.А.[1], Цырусь Т.П.[1], Грицкова О.А.[1]

Разумова А. А.[1], Субботина Т.Н.[1], Абрамов В.Г.[2], Верещагина С.В.[2]

Сай А.В., Мацвай А.Д., Михайлов И.М., Киселев Д.А., Айгинин А.А., Гордукова М.А., Шипулин Г.А.

Серёгина П.К.[1], Семейкина А.А.[1], Шпакова Н.А.[1], Шарафан Д.Е.[2], Шаров В.И.[2], Урусов А.Е.[1]

Теряева Н.Б.[1], Петушкова Н.А.[2], Ромашова Ю.А.[2], Арчаков А.И.[2].,

Потапов А.А.[1], Лисица А.В.[2], Усачев Д.Ю.[1], Беляев А.Ю.[1]

Ушкаленко Н.Д., Филатов П.В., Ерш А.В., Полтавченко А.Г.

Головня Е.Г., Лебедева А.В., Харитиди Т.Ю., Сотников А.В., Кушлинский Н.Е.

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.

Козлов А.В., Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Ерещенко А.А., Мурский С.И.

Луцкий Д.Л., Луцкая А.М., Выборнов С.В.

Любимова Н.В., Лебедева А.В., Тимофеев Ю.С., Кушлинский Н.Е.

Никулина Д.М., Иванов П.А., Титова О.Л., Волошан О.А., Соколова Е.В.

Новоженова Ю.В., Лянг О.В.

Павлушкина Л.В., Веденьева Т.В., Амергулова С.Б., Коваленко Л.А., Бояджян М.Б., Юдин М.Ю., Павлова П.В., Орехова Е.А., Чугунова О.Л.

Петрова О.В., Никулина Д.М., Шашин С.А., Тарасов Д.Г.

Попова И.Г., Ситникова О.Г., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Харламова Н.В., Клычева М.М., Веселкова Ю.Н.

Субботина Т.Ф., Жлоба А.А.

Харламова Н.В., Андреев А.В., Кузьменко Г.Н., Песенкина А.А.

Бердюгина О.В.

Бердюгина О.В.

Бердюгина О.В.

Гудкова Р.Б., Быкова С.В., Сабельникова Е.А., Салиев К.Г., Парфенов А.И.

Дорофеев А.С., Новиков А.А., Салиев К.Г., Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В., Александрова Е.Н.

Козлова М.Н., Земсков В.М., Демидова В.С., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Алексеев А.А.

Москалец О.В.

Пешне Е.Н., Пешне К.А., Горячая М.Н.

Рыбакова В.В., Авдеева А.С., Черкасова М.В., Насонов Е.Л.

Чуксина Ю.Ю.

Чуксина Ю.Ю.

Шустов В.В., Баженов А.И., Годков М.А.

Щёкина Л.А.*, Улейская Г.И.*, Стюф И.Ю., Малахова М.Я., Шеламова Д.А., Евтеева Д.А., Гайковая Л.Б.

Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Борисенко Н.Н., Сытов А.В., Плужникова Н.А.

Блиндарь В.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Хагажеева М.Н.

Иваненкова Ю.А., Харламова Н.В., Матвеева Е.А., Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Филькина О.М.

Теряева Н.Б., Гаджиева О.А., Баширян Б.А.

Харламова Н.В., Будалова А.В., Кузьменко Г.Н.

Круглова И.А.[1], Паранина Т.В.[2], Зиновьев С.В.[3], Уткин О.В.[4]

Цитренко С.А., Лукьянова Е.Ю., Полуэктова М.В.

Щелкова В.В., Кильдеева Н.Р., Русанова Е.В., Василенко И.А., Гурьев А.С.

Алимбарова Л.М. [1], Казаков С.П. [2], Крюков Е.В.[3], Чиркова Е.Ю.[4]

Бородина И.А., Селезнева И.А., Гильмиярова Ф.Н., Борисова О.В.,

Колотьева Н.А., Гусякова О.А., Балдина О.А.

Галстян А.Г. , Захарящева А.А., Надыршина С.Г. , Лянг О.В., Пудкарадзе И.П., Сидорова М.А.

Иванова М.В., Воронкова А.С., Магнаева А.С., Захарова М.Н., Сухоруков В.С.

Кожанова Т.В.[1,2], Жилина С.С.[1,2], Мещерякова Т.И.[1], Абрамов А.А.[1], Притыко А.Г.[1,2], Заваденко Н.Н.[2]

Мазанова Н.Н., Койзер Р.А., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

Мазанова Н.Н., Асанов А.Ю., Пушков А.А., Савостьянов К.В.

МИНКО А.Г., ДАНИЛОВА Т.А., ДАНИЛИНА Г.А., АДЖИЕВА А.А., ЖУХОВИЦКИЙ В.Г.

Гайковая Л.Б., Замятина К.Н., Алиев Б.Г, Шеламова Д.А., Власова Ю.А.

Гайковая Л.Б., Шеламова Д.А., Власова Ю.А., Крылова Л.С., Ермаков А.И.

Довгаль А.О., Соколова С.С.

Ройтман Е.В.

Силина Н.Н., Корсакова Н.Е., Головина О.Г., Котельников П.А., Фоминых М.С.,

Ефремова Е.В., Волошин С.В., Папаян Л.П.

Шабалина А.А.[1], Ройтман Е.В.[1], Соболева В.В.[2], Александров Л.С.[2]

И.А. Булушева*, В.В. Черанев, Д.О. Коростин, Д.В. Ребриков

Ведехина Т.С., Манувера В.А., Варижук А.М., Матюшкина Д.С., Мусарова В.А., Тихонова П.О.,

Басманов Д.В., Лазарев В.Н., Позмогова Г.Е., Говорун В.М.

Козлов И.Б.

Митько Т.В., Шакуров Р.И., Ширшиков Ф.В., Сизова С.В., Алиева Е.В., Конопский В.Н.,

Беспятых Ю.А., Басманов Д.В.

Хижа В.В., Козлова Д.И, Васильев Д.С.

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Вавилова Т.В..

Гладкова Е.В., Ульянов В.Ю., Ромакина Н.А., Зубавленко Р.А.

Горбачева И.В., Кузнецова О.Ю., Гильмиярова Ф.Н., Печкуров Д.В.

Островская И.Г., Смирнова А.Д., Самусенкова К.В.

Галашина Е.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю., Бондаренко А.С.

Гладкова Е.В., Бабушкина И.В., Ульянов В.Ю., Мамонова И.А.

Гудкова Р.Б., Бахарев С.Д, Быкова С.В., Бауло Е.В., Борунова Ж.В., Парфенов А.И.

Козлова М.Н.

Савчук Т., Гринвальд Е., Мусабекова Ш., Абдрахманова С.

Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

Бабушкина И.В., Мамонова И.В., Ульянов В.Ю., Шпиняк С.П.

Мартынова Т.С., Тумилович А.А.

Кузичкин Д.С., Журавлева Т.В., Лабецкая О.И., Кочергин А.Ю.

Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г.

Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Смирнова О.А., Лернер А.А. , Шведова Т.Н. ,
Головина О.Г., Папаян Л.П.

Пучиньян Д.М., Шахмартова С.Г., Воробьева И.С.

Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н.,
Головина О.Г., Папаян Л.П.

Смирнова О.А., Матвиенко О.Ю., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Комиссаров К.А., Папаян Л.П..

Дзреян В.А., Родькин С.В., Питинова М.А.

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю., Кузнецова П.И., Антонова К.В.

Шабалина А.А., Ройтман Е.В., Танашян М.М., Максимова М.Ю..