

борот, у мужчин повышена, у женщин снижена. После лечения у мужчин наблюдали повышение эстеразной активности и полное перераспределение качественного состава реагирующих нейтрофилов (со степени «а» на степень «б»). У женщин после лечения активность АЭ снижена, а БЭ повышена. Перераспределения качественного состава клеток не отмечалось.

Таким образом, выявили гендерные особенности у больных ХВГС низкой степени активности на фоне применения комплексной терапии (БТ + ЦФ). Применение ЦФ дает положительный эффект как у мужчин, так и у женщин. У мужчин и женщин произошла полная нормализация активности обеих диафораз, а также БЭ у мужчин и АЭ у женщин.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.В., Малеев В.В. Эпидемиологические и клинические особенности хронического гепатита С. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2008; 2: 32–5.
2. Бондаренко А.Н. Этиотропная терапия вирусных гепатитов у лиц, употребляющих наркотики. *Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова*. 2006; 4: 168–74.
3. Латентные формы вирусных гепатитов В, С и D: *Диагностика, лечение и профилактика*: Методические рекомендации. М.: Воениздат; 2002.
4. Малова Е.С., Юшук Н.Д., Балмасова И.П. и др. CD56+ лимфоциты и иммунопатогенез хронического гепатита С. *Иммунология*. 2010; 31 (6): 310–5.
5. Пигаревский В.Е. *Зернистые лейкоциты и их свойства*. М.: Медицина; 1978.
6. Пигаревский В.Е. Полиморфоядерный лейкоцит и макрофаг в реакциях воспаления и гиперчувствительности. *Архив патологии*. 1983; XV (11): 14–22.

7. Радченко В.Г., Стельмах В.В., Козлов В.К. *Оптимизация этиопатогенетической терапии хронического гепатита С*. СПб.; 2004.
8. Ozkan M., Corapcioglu A., Bakioglu I. et al. Psychiatric morbidity and its effect on the quality of life patients with chronic hepatitis C. *International Journal of Law and Psychiatry*. 2006; 36 (3): 283–97.

#### REFERENCES

1. Baranov A.V., Maleev V.V. Epidemiological and clinical features of chronic hepatitis C. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2008; 2: 32–5. (in Russian)
2. Bondarenko A.N. Etiotropic therapy of viral hepatitis among people who inject drugs. *Vestnik Sankt-Peterburgskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii im. I.I. Mechnikova*. 2006; 4: 168–74. (in Russian)
3. *The latent form of viral hepatitis B, C and D: Diagnosis, treatment and prevention*. Moscow: Voenizdat; 2002.
4. Malova E.S., Yushchuk N.D., Balmasova I.P. et al. CD56+ lymphocytes and immunopathogenesis of chronic hepatitis C. *Immunologiya*. 2010; 31 (6): 310–5. (in Russian)
5. Pigarevskiy V.E. *Granular leukocytes and their properties*. Moscow: Meditsina; 1978. (in Russian)
6. Pigarevskiy V.E. Polymorphonuclear leukocyte and macrophage in inflammations and hypersensitivity. *Arkhiv patologii*. 1983; XV (11): 14–22. (in Russian)
7. Radchenko V.G., Stel'makh V.V., Kozlov V.K. *Optimization etiopathogenic therapy of chronic hepatitis C*. Saint Petersburg: Taktik-Studio; 2004. (in Russian)
8. Ozkan M., Corapcioglu A., Bakioglu I. et al. Psychiatric morbidity and its effect on the quality of life patients with chronic hepatitis C. *International Journal of Law and Psychiatry*. 2006; 36 (3): 283–97.

Поступила 26.03.14

Received 26.03.14

© ГОРБЕНКО А.С., ОЛЬХОВСКИЙ И.А., 2015

УДК 615.277.3.033.07

Горбенко А.С.<sup>1</sup>, Ольховский И.А.<sup>1,2</sup>

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ НАКОПЛЕНИЯ ДАУНОРУБИЦИНА И РОДАМИНА-123 В КЛЕТКАХ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЦИТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

<sup>1</sup>Красноярский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 660036, г. Красноярск; <sup>2</sup>ФГБУН КНЦ СО РАН, 660036, г. Красноярск

В работе представлены сравнительные данные цитометрической оценки накопления даунорубицина и родамина-123 в клетках периферической крови здоровых людей при инкубации веществ в условиях *in vitro*. Показано, что максимальное насыщение тромбоцитов происходит в течение первых 5 мин, лейкоцитов – в течение 45 мин, а эритроциты практически не накапливают эти соединения. Максимальные значения накопления веществ в лейкоцитах характеризуются высокой межиндивидуальной вариацией. Тесная корреляция ( $R_s = 0,96–0,98$ ) параметров накопления веществ в лимфоцитах и нейтрофилах свидетельствует о наличии схожих механизмов контроля активности транспорта ксенобиотиков в ядросодержащих клетках крови. Вместе с тем результаты ингибиторного анализа вклада Pgp-зависимых механизмов накопления родамина-123 лейкоцитами отличаются от данных, полученных при использовании даунорубицина, что отражает различия их внутриклеточных сайтов связывания. Выраженные отличия между параметрами накопления даунорубицина и родамина-123 лейкоцитами у разных пациентов определяют необходимость индивидуального подхода в мониторинге развития лекарственной резистентности.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость; даунорубицин; родамин-123; форменные элементы крови; проточная цитометрия.

Для корреспонденции:

Ольховский Игорь Алексеевич, д-р мед. наук, директор  
Адрес: 660036, Красноярск, ул. Академгородок, 15А  
E-mail: kraschemcenter@mail.ru

Gorbenko A.S.<sup>1</sup>, Olkhovskii I.A.<sup>2</sup>

THE STUDY OF MECHANISMS OF ACCUMULATION OF DAUNORUBICIN AND RODAMIN-123 IN CELLS OF HUMAN VENOUS BLOOD USING CYTOMETRY TECHNIQUE

<sup>1</sup>The Krasnoyarsk department of the hematologic research center of Minzdrav of Russia, 660036 Krasnoyarsk, Russia;

<sup>2</sup>The Krasnoyarsk research center of the Siberian branch of the Russian academy of sciences, 660036 Krasnoyarsk, Russia

*The article presents comparative data of cytometry estimation of accumulation of daunorubicin and rodamin-123 in cells of peripheral blood of healthy people under incubation of substances in vitro. It is demonstrated that maximal saturation of thrombocytes occurs during the first five minutes, of leukocytes during forty five minutes. The erythrocytes factually never accumulate these compounds. The maximal values of accumulation of substances in leukocytes are characterized by high inter-individual variation. The close correlation ( $R_s=0.96-0.98$ ) of parameters of accumulation of substances in lymphocytes and neutrophils testifies the presence of similar mechanisms of control of activity transportation of xenobiotics in nucleated cells of blood. However, the results of inhibitor analysis of input of Pgp-dependent mechanisms of accumulation of rodamin-123 by leukocytes differ the data received under application of daunorubicin that reflects differences of their intracellular binding sites. The expressed differences between parameters of accumulation of daunorubicin and rodamin-123 by leukocytes in various patients determine necessity of individual approach in monitoring of development of medicinal resistance.*

**Key words:** multiple medicinal resistance; daunorubicin; rodamin-123; blood corpuscle; flow cytometry

Известно, что эффективность лечения онкогематологических заболеваний лимитируется развитием множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток к широкому ряду цитостатиков [1]. Использование возможностей проточной цитометрии для исследования проб свежевыделенной крови позволяет надеяться на перспективу внедрения функциональных тестов, отражающих процесс накопления цитостатиков в клетках-мишенях, максимально приближенный к условиям *in vivo*. Описан цитометрический метод определения интенсивности накопления клетками родамина-123, отражающий активность АТФ-зависимых переносчиков, прежде всего транспортера Pgp, и выброс ксенобиотиков из цитоплазмы опухолевых клеток [2]. Результаты ряда исследований подтверждают возможность внедрения в клиническую практику тестов на основе определения активности этого транспортера [3–5], но немало и пессимистических результатов [6, 7]. Известно, что субстратом Pgp является также и широко используемый при лечении пациентов цитостатик даунорубин [8]. Даунорубин обладает собственной флюоресценцией и потенциально может быть использован в цитометрическом тесте накопления. При этом в литературе отсутствуют данные о сравнительной эффективности родамина-123 и даунорубина в оценке АТФ-зависимых транспортных систем в клетках крови здоровых людей.

Целью настоящей работы стала сравнительная оценка динамики и механизмов накопления даунорубина и родамина-123 в клетках периферической крови здоровых лиц.

**Материалы и методы.** Объектом исследований стали пробы периферической крови 24 здоровых доноров-добровольцев. Венозную кровь отбирали стандартным методом в одноразовые вакуумные пробирки с цитратом натрия. Перед цитометрическим исследованием пробы крови разводили PBS в пропорции 1:500. Эритроцитарное накопление веществ оценивали в пробах разведенной цельной крови. Лейкоциты выделяли с использованием лизирующего раствора FACS Lysing Solution (BD Biosciences, США). Полученную взвесь лейкоцитов дважды отмывали PBS и для дальнейших исследований сохраняли их не более 45 мин при 37 °С в среде с PBS, содержащей 1% ЭТС, глутамин. Богатую тромбоцитами плазму получали центрифугированием цельной крови при 150 g в течение 5 мин. В качестве субстратов Pgp использовали родамин-123 (0,1 мкг/мл) или даунорубин в концентрации, эквивалентной его терапевтической дозе (1 мкг/мл).

При интерпретации результатов мы исходили из того, что уровень накопления даунорубина и родамина-123 в клетках можно расценивать как показатель работы белков-переносчиков, препятствующих диффузионному потоку этих веществ из внешней среды в клетку. Чем более активны транспортные системы, тем больше веществ выбрасывается из цитоплазмы и соответственно меньше накапливается.

Для оценки механизмов накопления препаратов в среду

инкубации лейкоцитов добавляли в качестве ингибитора Pgp транспортер верапамил [9] в конечной концентрации 3 мкг/мл или ингибитор продукции АТФ азид натрия в конечной концентрации 5 мМ. Для определения количества прочно связавшегося препарата после 45 мин инкубации проводили отмывку лейкоцитов повторным центрифугированием в исходной среде с дальнейшей инкубацией в среде без субстратов Pgp в течение 45 мин при 37 °С. Уровень накопления субстратов в клетке измеряли на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II в красной (полоса пропускания 620 нм, для даунорубина) и зеленой (полоса пропускания 525 нм для родамина-123) областях спектра при длине возбуждения 488 нм. Концентрацию выражали в условных единицах как отношение уровня флюоресценции к размеру клеток (сигнал канала FSC) [10]. Аналитический разброс (коэффициент вариации) оцениваемых нами цитометрических параметров при анализе сопоставимости 10-кратных повторных измерений пробы крови от одного пациента составил от 3,9 до 7,7%. Корреляционный анализ проводили с использованием метода Спирмена для связанных выборок. Статистическую обработку полученных данных проводили в аналитической среде R [11].

**Результаты и обсуждение.** На первом этапе работы определяли зависимость накопления даунорубина форменными элементами крови доноров от времени инкубации с препаратами.

Накопление используемых соединений тромбоцитами характеризуется кривой с быстрым накоплением родамина-123 к 3-й минуте, а даунорубина к 6-й минуте после начала инкубации (рис. 1). Быстрое насыщение тромбоцитами исследуемых веществ определяется их относительно малым объемом. В отличие от тромбоцитов насыщение лейкоцитов даунорубином происходит медленнее, и только 45-минутный период инкубации достаточен для установления равновесия и максимального уровня накопления препарата в цитоплазме лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов (рис. 2). После отмывки лейкоцитов определенная часть веществ остается в клетках (см. рис. 2). Причиной этому может быть связывание даунорубина с ДНК [12], а родамина-123 с митохондриальным матриксом [13].

Эритроциты здоровых людей в наших условиях в течение 45 мин практически не накапливали ни даунорубин, ни родамин-123 (см. рис. 2), что свидетельствует о низкой проницаемости интактных мембран эритроцитов к используемым концентрациям веществ. Описанные ранее данные о накоплении даунорубина эритроцитами [14] получены при использовании концентрации, превышающей на три порядка терапевтический диапазон даунорубина.

Учитывая полученные данные временной динамики (см. рис. 2), в последующих постановках измеряли уровень накопления даунорубина и родамина-123 в лейкоцитах на максимуме насыщения и после полной отмывки.

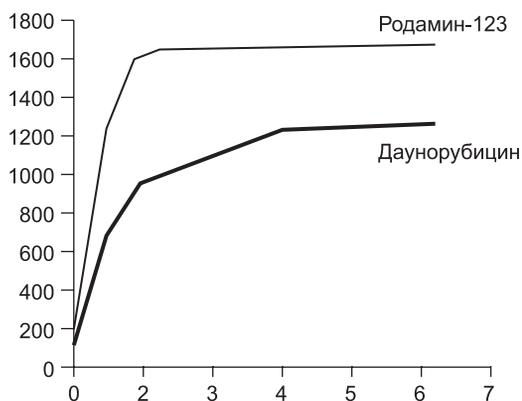


Рис. 1. Динамика накопления даунорубицина и родамина-123 тромбоцитами периферической крови.

Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс – время (в мин); по оси ординат – флюоресценция (в усл. ед.).

На рис. 3 приведены данные о накоплении даунорубицина и родамина-123 лейкоцитами и нейтрофилами в индивидуальных пробах. Видно, что лимфоциты накапливают больше даунорубицина, чем нейтрофилы ( $p < 0,01$ ), а различий в накоплении родамина-123 между этими клетками не наблюдали. Вероятно, это связано с лучшей доступностью сайтов связывания даунорубицина с ДНК лимфоцитов. Так как в отличие от даунорубицина родамин-123 не связывается с ДНК, его накопление лимфоцитами и нейтрофилами достоверно не отличается. Следует отметить, что уровень накопления как даунорубицина, так и родамина-123 лимфоцитами имеет прямую корреляционную связь с накоплением этих веществ в нейтрофилах (табл. 1). Это свидетельствует о наличии единого механизма контроля трансмембранного переноса ксенобиотиков в ядродержащих клетках крови.

На рис. 4 показан остаточный уровень даунорубицина и родамина-123 в лимфоцитах и нейтрофилах после отмывки клеток. Прямую корреляцию наблюдали между остаточным количеством даунорубицина и родамина-123 в разных клетках (табл. 1, 2). Необходимо отметить существенное различие значений абсолютного остаточного уровня родамина-123

Таблица 1

**Результаты корреляционного анализа параметров в лимфоцитах и нейтрофилах периферической крови**

Параметр	Коэффициент корреляции (лимфоциты/нейтрофилы)	$p$
Уровень максимального накопления даунорубицина	0,59	< 0,001
Уровень максимального накопления родамина-123	0,70	< 0,001
Остаточный уровень даунорубицина	0,77	< 0,001
Остаточный уровень родамина-123	0,93	< 0,001
Эффект верапамила на уровень накопления клетками даунорубицина	0,95	< 0,001
Эффект азида натрия на уровень накопления клетками даунорубицина	0,96	< 0,001
Эффект верапамила на уровень накопления клетками родамина-123	0,98	< 0,001
Эффект азида натрия на уровень накопления клетками родамина-123	0,99	< 0,001

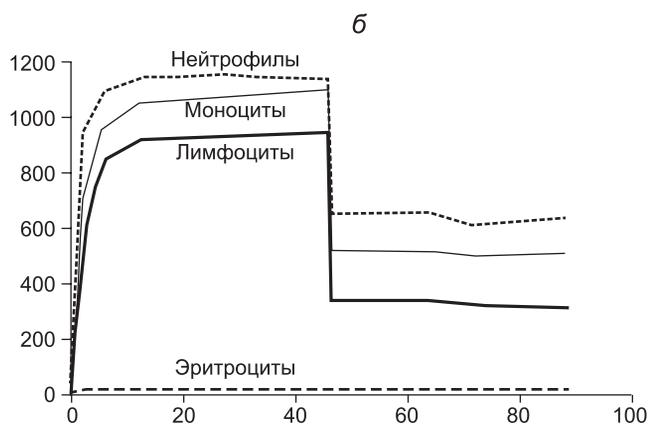
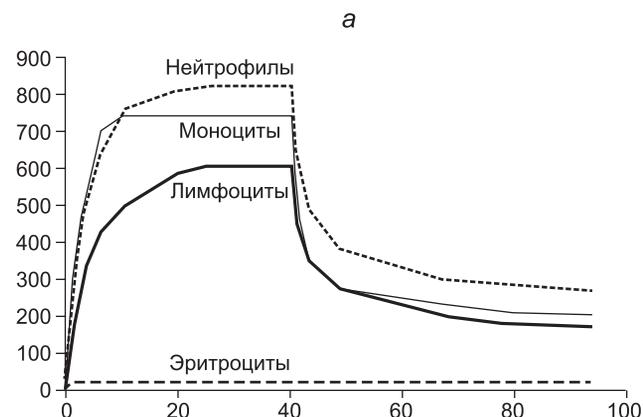


Рис. 2. Динамика накопления даунорубицина (а) и родамина-123 (б) клетками периферической крови с последующей отмывкой от препарата.

Представлены абсолютные значения флюоресценции.

по сравнению с остаточным уровнем даунорубицина (см. рис. 4). Кроме того, максимальное накопление даунорубицина в отличие от такового родамина-123 коррелирует с его остаточным уровнем ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,01$ ). Это согласуется с

Таблица 2

**Результаты корреляционного анализа показателей накопления даунорубицина и родамина-123 лейкоцитами**

Параметр	Коэффициент корреляции (даунорубицин/родамин-123)	$p$
Максимальное накопление лимфоцитами	0,64	< 0,001
Максимальное накопление нейтрофилами	0,72	< 0,001
Остаточный уровень в лимфоцитах	0,72	< 0,001
Остаточный уровень в нейтрофилах	0,71	< 0,001
Эффект верапамила на уровень накопления лимфоцитами	-0,41	0,07
Эффект верапамила на уровень накопления нейтрофилами	-0,30	0,19
Эффект азида натрия на уровень накопления лимфоцитами	-0,38	0,09
Эффект азида натрия на уровень накопления нейтрофилами	-0,39	0,08

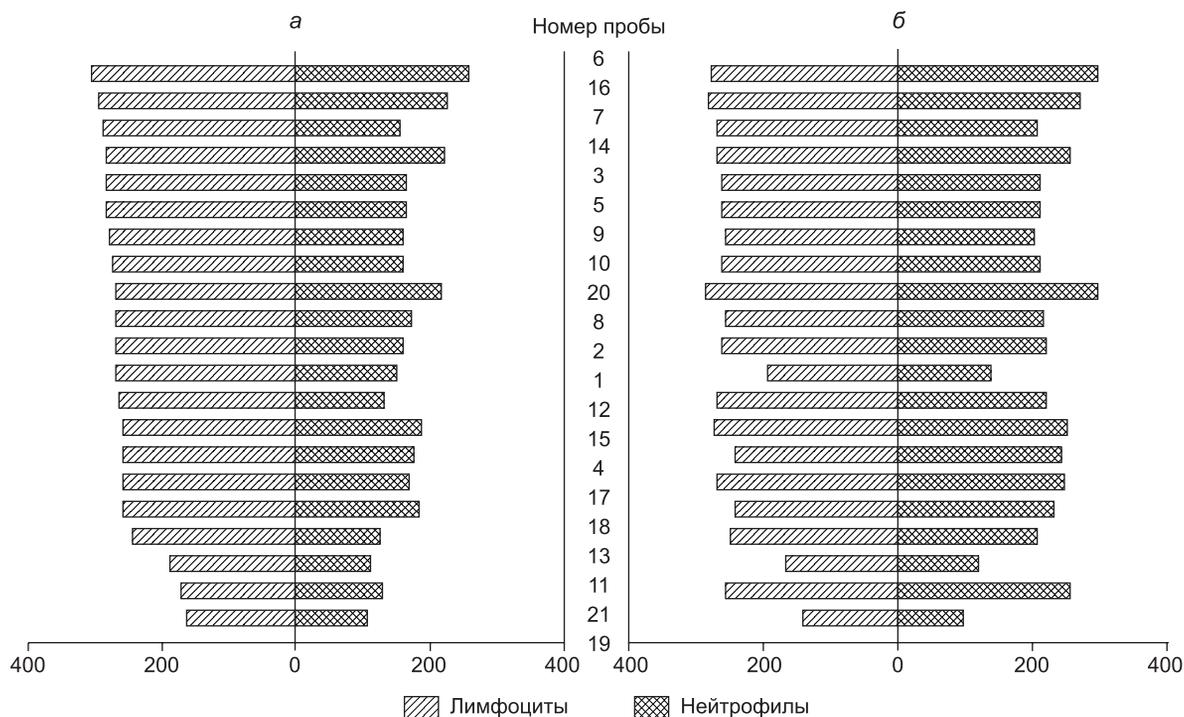


Рис. 3. Накопление (в усл. ед.) даунорубицина (а) и родамина-123 (б) лимфоцитами и нейтрофилами периферической крови. Здесь и на рис. 4, 5: представлены значения удельной флюоресценции на единицу объема клеток. Здесь и на рис. 4: результаты отдельных проб, ранжированных по уровню накопления даунорубицина лимфоцитами.

тем, что родамин-123 не связывается с ДНК, которая сорбирует значительные количества даунорубицина, а остаточная флюоресценция родамина-123 обусловлена его накоплением в митохондриях.

Для анализа механизмов транспорта цитостатиков из клеток мы использовали верапамил в концентрации, соответствующей его селективному ингибированию функции белка-

переносчика Pgp [8], а также азид натрия, который блокирует работу всех АТФ-зависимых транспортеров. Сравнивая уровень накопления веществ в клетках без использования ингибиторов с уровнем их накопления на фоне верапамила и азид натрия можно сделать вывод о вкладе Pgp и других АТФ-зависимых переносчиков в процесс освобождения клеток от цитостатиков.

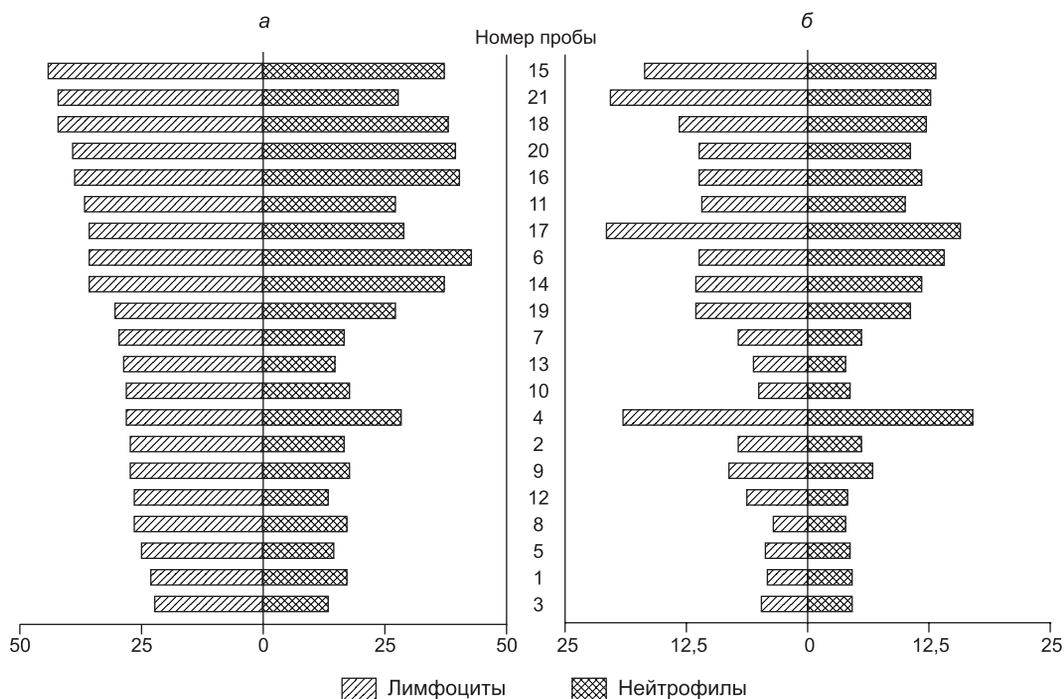


Рис. 4. Остаточный уровень (в %) даунорубицина (а) и родамина-123 (б) в лимфоцитах и нейтрофилах периферической крови после отмывки от препаратов.

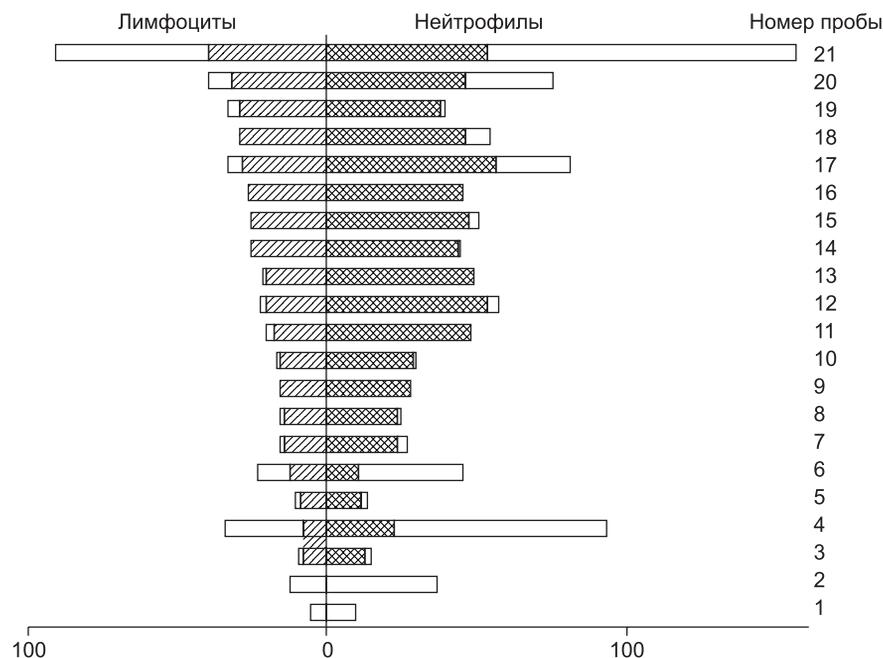


Рис. 5. Прирост (в %) уровня накопления даунорубицина лимфоцитами и нейтрофилами на фоне верапамила (выделенная темным часть столбца) и азида натрия. Светлая часть соответствует вкладу АТФ-переносчиков, отличных от Pgp.

На рис. 5 представлены данные о повышении уровня накопления даунорубицина и родамина-123 в лимфоцитах и нейтрофилах при использовании верапамила и азида натрия. Видно, что основной вклад в противодействие проникновению даунорубицина в лейкоциты крови вносит белок Pgp (темная часть столбцов – доля верапамилорегулируемого ингибирования). Обращают внимание широкие пределы функциональной активности белка Pgp. Наблюдали сильную прямую корреляцию активности Pgp в лимфоцитах и нейтрофилах, равно как и активности в этих клетках АТФ-переносчиков, отличных от Pgp (см. табл. 1). Влияние верапамила и азида натрия имеет однонаправленный характер

как в лимфоцитах ( $r = 0,71; p < 0,001$ ), так и в нейтрофилах ( $r = 0,70; p < 0,001$ ).

При этом также необходимо отметить значительный индивидуальный разброс активности АТФ-зависимых переносчиков, отличных от Pgp. Так, в пробах № 1 и 2 при полном отсутствии свидетельств функционирования Pgp белка Pgp-независимые механизмы эффлюкса достаточно хорошо выражены. Очевидно, данные индивидуальные особенности являются результатом следовых реакций на предшествующие контакты пациентов с различными ксенобиотиками, индуцирующими функции отдельных транспортных систем эффлюкса и детоксикации.

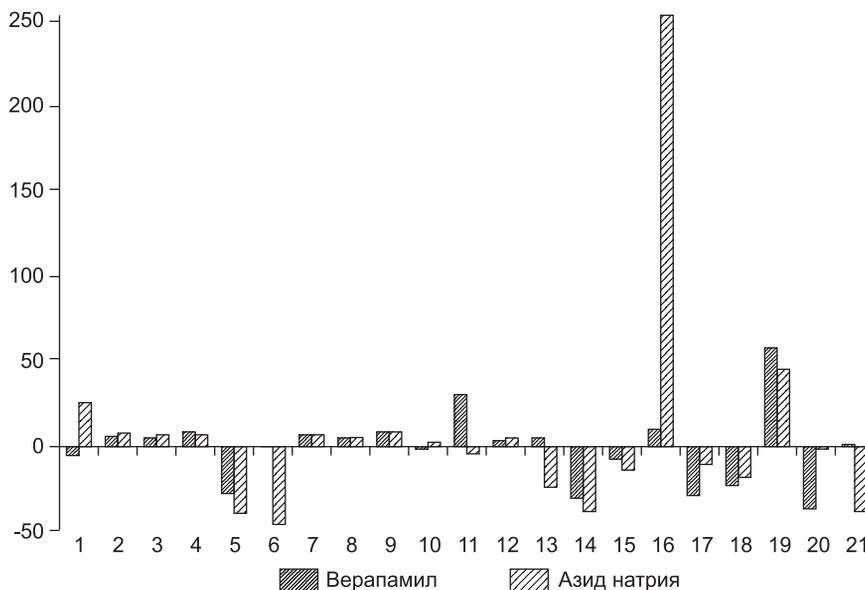


Рис. 6. Изменение интенсивности накопления родамина-123 лимфоцитами периферической крови при воздействии верапамила и азида натрия. Здесь и на рис. 7: по оси абсцисс – номер пробы.

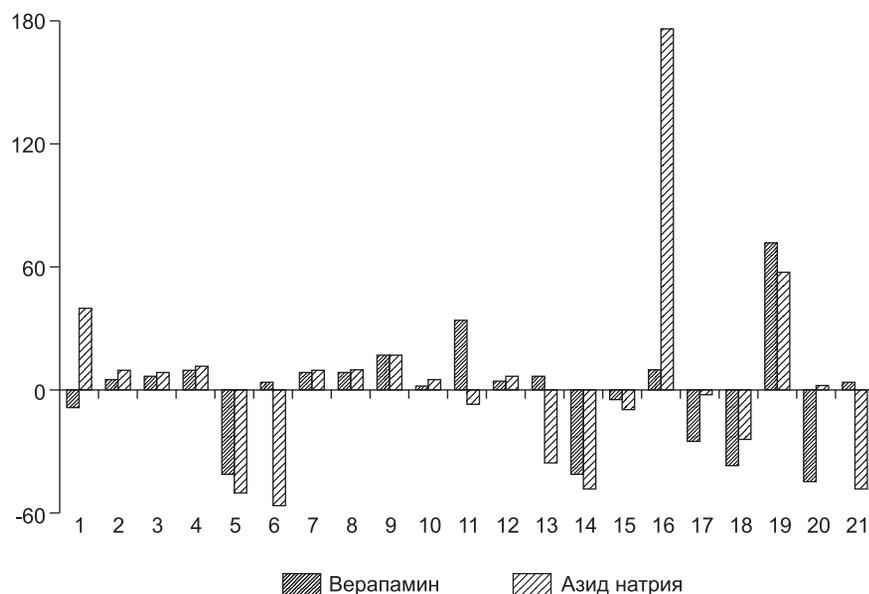


Рис. 7. Изменение интенсивности накопления родамина-123 нейтрофилами периферической крови при воздействии верапамила и азид натрия. Представлены результаты тестирования индивидуальных проб пациентов

В отличие от близких и однонаправленных во всех пробах крови сдвигах в накоплении даунорубицина на фоне верапамила и азид натрия при использовании родамина-123 мы видим гораздо более значительный индивидуальный разброс и даже инверсию эффектов ингибиторов (рис. 6, 7). В отдельных исследуемых образцах верапамил и азид натрия повышали накопление родамина-123 лейкоцитами, тогда как в других образцах, наоборот, его подавляли. Последнее, вероятно, может быть связано с зависимостью накопления родамина-123 от митохондриальной активности и проявлением неспецифического действия на проницаемость плазматических мембран.

**Выводы.** 1. Инкубация клеток крови здоровых доноров с даунорубицином и родамином-123 сопровождается различной кинетикой их накопления в тромбоцитах и лейкоцитах. Прямая корреляционная зависимость между параметрами накопления используемых соединений в лимфоцитах и нейтрофилах свидетельствует о единообразном механизме регуляции активности транспорта ксенобиотиков в разных ядродержащих клетках крови.

2. Между параметрами накопления даунорубицина и родамина-123 на фоне ингибиторов эффлюкса ксенобиотиков отсутствует корреляционная связь, что ограничивает информативность использования родамин-123 для оценки механизмов развития множественной лекарственной устойчивости при терапии интеркалирующими цитостатиками.

3. Выявлены существенные отличия между параметрами накопления даунорубицина и родамина-123 лейкоцитами у разных пациентов, что определяет необходимость индивидуального подхода в мониторинге развития лекарственной резистентности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Van der Blik A. M., Borst P. Multidrug resistance. *Adv. Cancer Res.* 1989; 52: 165–98.
2. Гамалей И.А., Березкина Е.В., Ковалева З.В., Игнатова Т.Н. Кинетика выхода родамина 123 из клеток с множественной лекарственной устойчивостью при действии ингибиторов энергетического метаболизма. *Цитология.* 1995; 37 (1/2): 118–25.
3. Ставровская А.А., Стромская Т.П., Штиль А.А. Генетические

механизмы и закономерности развития множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток. *Вестник ОНЦ.* 1993; 3: 37–47.

4. Mahon F.X., Deininger D.W.N., Schultheis B., Goldman J.M., Melo J.V. Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance. *Blood.* 1999; 94 (suppl. 1): 656a.
5. Pirker R., Coldstein L.J., Ludwog H., Linkesch W., Lechner C., Gottesman M.M., Pastan I. Expression of a multidrug resistance gene in blast crisis of chronic myelogenous leukemia. *Cancer Communications.* 1989; 1: 141–4.
6. Соколов А.Н., Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н. Лечение резистентных форм острых лейкозов. *Проблемы гематологии и переливания крови.* 1996; 4: 5–17.
7. Weisenthal L., Marsden J.A., Dill P.L., Macaluso C.K. A novel dye exclusion method for testing in vitro chemosensitivity of human tumors. *Cancer Res.* 1983; 43: 749–57.
8. Hu X.F., de Luise M., Martin T.J., Zalcborg J.R. Effect of cyclosporin and verapamil on the cellular kinetics of daunorubicin. *Eur. J. Cancer.* 1990; 26: 814–7.
9. Tsuruo T., Yusa K. Reversal mechanism of multidrug resistance by verapamil: direct binding of verapamil to P-glycoprotein on specific sites and transport of verapamil outward across the plasma membrane of K562/ADM cells. *Cancer Res.* 1989; 49: 5002–6.
10. Carbonari M., Tedesco T., Fiorilli M. Human peripheral B cells: a different cytometric point of view. *Cytometry Part A.* 2003; 53A: 97–102.
11. Ihaka R., Gentleman R.R.: a language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph. Statist.* 1996; 5: 299–314.
12. Phillips D.R., Greif P.C., Boston R.C. Daunomycin-DNA dissociation kinetics. *Mol. Pharmacol.* 1988; 33 (8): 225–30.
13. Johnson L.V., Walsh M.L., Chen L.B. Localization of mitochondria in living cells with rhodamine 123. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1980; 77 (2): 990–4.
14. Атауллаханов Ф.И., Баташева Т.В., Витвицкий В.М. Влияние температуры, концентрации даунорубицина и гематокрита суспензии на связывание даунорубицина с эритроцитами человека. *Антибиот химиотерапия.* 1994; 39 (9–10): 26–9.

#### REFERENCES

1. Van der Blik A.M., Borst P. Multidrug resistance. *Adv. Cancer Res.* 1989; 52: 165–98.
2. Gamaley I.A., Berezkina E.V., Kovaleva Z.V., Ignatova T.N. The kinetics of rhodamine 123 efflux from cells with multiple drug resistance under the action of energy metabolism inhibitors. *Tsitologiya.* 1995; 37 (1/2): 118–25. (in Russian)
3. Stavrovskaya A.A., Stromskaya T.P., Shtil A.A. Genetic mechanisms and regularities of development of multiple drug resistance of tumor cells. *Vestnik ONC.* 1993; 3: 37–47. (in Russian)
4. Mahon F.X., Deininger D.W.N., Schultheis B., Goldman J.M., Melo J.V. Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance. *Blood.* 1999; 94 (suppl. 1): 656a.
5. Pirker R., Coldstein L.J., Ludwog H., Linkesch W., Lechner C., Gottesman M.M., Pastan I. Expression of a multidrug resistance gene in blast crisis of chronic myelogenous leukemia. *Cancer Communications.* 1989; 1: 141–4.
6. Sokolov A.N., Savchenko V.G., Parovichnikova E.N. Treatment of resistant forms of acute leukemia. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi.* 1996; 4: 5–17. (in Russian)
7. Weisenthal L., Marsden J.A., Dill P.L., Macaluso C.K. A novel dye exclusion method for testing in vitro chemosensitivity of human tumors. *Cancer Res.* 1983; 43: 749–57.
8. Hu X.F., de Luise M., Martin T.J., Zalcborg J.R. Effect of cyclosporin

- and verapamil on the cellular kinetics of daunorubicin. *Eur. J. Cancer*. 1990; 26: 814–7.
9. Tsuruo T., Yusa K. Reversal mechanism of multidrug resistance by verapamil: direct binding of verapamil to P-glycoprotein on specific sites and transport of verapamil outward across the plasma membrane of K562/ADM cells. *Cancer Res*. 1989; 49: 5002–6.
  10. Carbonari M., Tedesco T., Fiorilli M. Human peripheral B cells: a different cytometric point of view. *Cytometry Part A*. 2003; 53A: 97–102.
  11. Ihaka R., Gentleman R.R.: a language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph. Statist*. 1996; 5: 299–314.
  12. Phillips D.R., Greif P.C., Boston R.C. Daunomycin-DNA dissociation kinetics. *Mol. Pharmacol*. 1988; 33 (8): 225–30.
  13. Johnson L.V., Walsh M.L., Chen L.B. Localization of mitochondria in living cells with rhodamine 123. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 1980; 77 (2): 990–4.
  14. Ataulakhanov F.I., Batasheva T.V., Vitvitskiy V.M. Effect of temperature, daunorubicin concentration and suspension hematocrit on daunorubicin binding by human erythrocytes. *Antibiot Khimioter*. 1994; 39 (9–10): 26–9. (in Russian)

Поступила 30.04.14  
Received 30.04.14

## КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.127-005.8-036.11-037-07:616.151.4

Пахрова О.А., Кудряшова М.В., Гринева М.Р., Мишина И.Е.

### ПРИМЕНЕНИЕ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 153012, Иваново

У 60 больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) было проведено комплексное исследование гемореологических показателей с целью установления предикторов развития ранних осложнений заболеваний для обоснования дополнений алгоритма обследования и дифференцирования схем лечения. Установлено, что при ОИМ повышается вязкость крови на низких скоростях сдвига и плазмы, усиливается процесс агрегации эритроцитов, снижается количество дискоцитов без существенных изменений вязкости крови на высоких скоростях сдвига и способности эритроцитов к деформации. Вместе с тем вышеперечисленные изменения у больных, ОИМ не приводят к снижению эффективности доставки кислорода к тканям. На фоне развития ранних осложнений гемореологические нарушения носят более выраженный характер и приводят к прогрессивному снижению тканевой перфузии. Наиболее значимым прогностическим показателем в отношении осложнений ОИМ является временной параметр прироста агрегации эритроцитов, значение которого у 89 % пациентов с осложнениями превышает 2,80. Обоснована целесообразность включения в комплекс обследования пациентов с ОИМ определения реологических показателей крови для их последующей коррекции.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда; гемореология; предикторы осложнений.

*Pakhrova O.A., Kudriashova M.V., Grineva M.R., Mishina I.E.*

#### THE APPLICATION OF HEMOREOLOGIC INDICATORS IN PROGNOSIS OF COMPLICATIONS OF ACUTE MYOCARDIUM INFARCTION

The Ivanovo state medical academy of Minzdrav of Russia, 153012, Ivanovo, Russia

The sampling of 60 patients with acute myocardium infarction underwent a complex study of hemoreologic indicators with purpose to establish predictors of development of early complications of diseases to substantiate additions to algorithm of examination and to differentiate treatment regimens. It is established that under acute myocardium infarction the blood viscosity increases on low velocity of shifting and plasma. Also, the process of aggregation of erythrocytes increases and number of normocytes decreases without significant alterations of blood viscosity on high velocity of shift and capacity of erythrocytes to be distorted. At the same time, the mentioned above alterations in patients with acute myocardium infarction does not result in decreasing of effectiveness of transportation of oxygen to tissues. Against the background of development the hemoreologic disorders have more apparent character and result in progressive decreasing of tissue perfusion. The most significant prognostic indicator concerning complications of acute myocardium infarction is a time parameter of increment of aggregation of erythrocytes surpassing 2.80 in 89% of patients with complications. The expedience of inclusion of detection of reologic blood indicators fir their subsequent correction in the complex of examination of patients with acute myocardium infarction.

Keywords: acute myocardium infarction; hemoreology; predictor; complication.

Для корреспонденции:

Пахрова Ольга Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.  
Адрес: 153012, Иваново, Шереметевский пр., 8  
E-mail: o.pakhrova@mail.ru

Болезни органов кровообращения занимают лидирующее место в структуре заболеваемости и смертности работоспособного населения России, несмотря на внедрение в клиническую практику новых высокоэффективных методов диагностики и лечения ишемической болезни сердца (ИБС) [1, 2]. Существу-