

НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ імені П.Л.ШУПИКА МОЗ УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ
НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ АМН УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ
ГЕМАТОЛОГІЇ И ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ

UKRAINIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ

4(11)' 2011

Головний редактор: С.А. ГУСЄВА

Редакційна колегія:

К. М. Абдулкадиров (*Росія*), Д. А. Базика, В. Г. Бебешко, С. С. Бессмельцев (*Росія*), К. М. Бруслова,
Я. І. Виговська, С. В. Видиборець, С. М. Гайдукова, І. В. Дзюблик, Г. М. Драник, М. О. Дружина, І. С. Дягіль,
Л. М. Ісакова, Л. О. Ковалкіна, Т. І. Козарезова (*Білорусія*), Ю. Й. Кудрявець, Г. М. Липкан, В. Є. Логінський,
Ж. М. Мінченко, П. М. Перехрестенко, О.А. Рукавіцин (*Росія*), А. В. Старіков, А. С. Тимченко (*заступник
редактора*), Н. М. Третяк, О. О. Федоровська, Н. В. Харченко, А.А. Чумак

Редакційна рада: Д. Ф. Глузман, А. Дмошинська (Польща), І. С. Зозуля, В. Л. Новак, Є. О. Селіванов (*Росія*)

Рекомендовано:

Вченою радою Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України
Протокол № 5 від 14.06.2011 р.

Постановою президії ВАК України від 12.06.2002 р. № 1-05/6 та від 15.01.2003 р. № 1-05/1

«Український журнал гематології та трансфузіології» включено до переліку наукових фахових видань
України з медичних наук і біології

Спонсор:

EUROMEDEX

Представництво Євромедекс Франс,
Україна, вул. Грушевського, 28/2, НП 43,
e-mail: euxmed@i.com.ua

Тел/факс 044-486-08-29,

Адреса редакції:

04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, тел.: (044) 483-16-61, 285-40-41,

E-mail: gushem@yandex.ru

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №13097-1981 ПР від 07.09.2007 р.

«Український журнал гематології та трансфузіології» можна передплатити
у будь-якому відділенні поштового зв'язку.

Передплатний індекс журналу — 23871.

Підп. до друку 20.06.2011, Формат 60 x 84 1/8. Папір офс. Гарнітура «Таймс».

Друк офс. Ум. друк. арк. 4,7 Обл.-вид. арк. 5,4. Тираж 500 прим. Зам. 243

Видавництво «Логос»,

01030, Київ-30, вул. Богдана Хмельницького, 10

Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.

Цілковите або часткове розмноження в будь-який спосіб матеріалів, опублікованих у цьому виданні, допускається лише з письмового дозволу редакції.

Відповідальність за зміст рекламних матеріалів несе рекламодавець.

© Редакція журналу, 2011

ЗМІСТ

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Менделєєва Л. П., Покровська О. С., Урнова О.С., Грецов Є.М., Пантелєєв І.В., Калінін Н.Н., Штирьова Е.М.
ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ ФІЛГРАСТИМА (ГРАНОГЕН®) ЗАДЛЯ МОБІЛІЗАЦІЇ
АУТОЛОГІЧНИХ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У ХВОРИХ З ОНКОГЕМАТОЛОГІЧ-
НИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ 5

*Виговська Я.І., Євстахевич І.Й., Бужерак Н.Ф., Шевченко Л.В., Книш О.В., Євстахевич Ю.Л., Інденко В.Ф.,
Логінський В.Є.*
РЕФРАКТЕРНА ІМУННА ТРОМБОЦИТОПЕНІЧНА ПУРПУРА (ПАТОГЕНЕЗ, ПЕРСПЕКТИВИ
ЛІКУВАННЯ) 12

Вознюк В.П.
ГЕМОСТАТИЧНІ ПРЕДИКТОРИ ЗАЛЕЖНИХ ВІД ЕНДОТЕЛІУ ПАРАМЕТРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ
ВАЗОРЕГУЛЯЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ТРОМБОТИЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ 18

Перехрестенко П.М., Гащук Г.П., Калиниченко Т.О., Аношина М.Ю., Глухенька Г.Т., Скачкова Н.К., Шорон Є.В.
ЗВ'ЯЗОК ПОКАЗНИКІВ ОКИСНО-ВІДНОВЛЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ЯКОСТІ
ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН ПУПОВИННОЇ КРОВІ ПІД ЧАС КРІОКОНСЕРВУВАННЯ 22

ЛЕКЦІЯ

Гусева С.А. ¹, Гончаров Я.П. ²
ДЕФИЦИТ ВІТАМІНА В₁₂ (Лекція, 1 часть) 26

Мироненко Г.А.
АСОЦІАТИВНИЙ ЗВ'ЯЗОК ЕРИТРОЦИТАРНОГО АНТИГЕНУ С^w СИСТЕМИ РЕЗУС З
АУТОІМУННОЮ ГЕМОЛІТИЧНОЮ АНЕМІЄЮ 39

Дубей Л.Я. ^{1,3}, Дубей Н.В. ¹ Цимбалюк-Волошин І.П. ^{2,3},
ІДІОПАТИЧНА ТРОМБОЦИТОПЕНІЧНА ПУРПУРА У ДІТЕЙ: ДІАГНОСТИКА І ЛІКУВАННЯ
НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ 43

ІНФОРМАЦІЯ

«ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ» 16-17 НОЯБРЯ 2011 Г.,
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ 52

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ БУДУТ ОПУБЛИКОВАНЫ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК
ГЕМАТОЛОГИИ» 53

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Менделеева Л.П., Покровская О.С., Урнова Е.С., Грецов Е.М., Пантелеев И.В., Калинин Н.Н., Штырева Е.М.
ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ФИЛГРАСТИМА (ГРАНОГЕН®) ДЛЯ МОБИЛИЗАЦИИ
АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРОВИ У БОЛЬНЫХ С
ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ 5

РЕФРАКТЕРНАЯ ИММУННАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА (ПАТОГЕНЕЗ,
ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ) 12

Вознюк В.П.

ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ЗАВИСИМЫХ ОТ ЭНДОТЕЛИЯ ПАРАМЕТРОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ВАЗОРЕГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ТРОМБОТИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ 18

*Перехрестенко П.М., Калиниченко Т.А., Аношина М.Ю., Глухенькая Г.Т., Гащук А.П., Скачкова Н.К.,
Шороп Е.В.*

СВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНО - ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА
И КАЧЕСТВА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ВО ВРЕМЯ
КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ 22

ЛЕКЦИЯ

Гусева С.А.

ДЕФИЦИТ ВИТАМИНУ В₁₂ (ЛЕКЦИЯ, 1 ЧАСТИНА) 26

Мироненко Г.А.

АССОЦИАТИВНАЯ СВЯЗЬ ЭРИТРОЦИТАРНОГО АНТИГЕНА С^W СИСТЕМЫ РЕЗУС С
АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ 39

Дубей Л.Я., Цымбалюк-Волошын И.П., Дубей Н.В.

ИДИОПАТИЧЕСКАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА У ДЕТЕЙ: ДИАГНОСТИКА И
ЛЕЧЕНИЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ 43

ИНФОРМАЦИЯ

CONTENS

ORIGINAL ARTICLES

Mendeleeva L.P., Pokrovskaya O.S., Urnova E.S., Gretsov E.M., Pantelev I.V., Kalinin N.N., Shtyreva E.M.
FILGRASTIM (GRANOGEN®) THERAPY FOR MOBILIZING AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC
STEM CELLS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES. 5

REFRACTORY IMMUNE THROMBOCYTOPENIC PURPURA (PATHOGENESIS, PERSPECTIVES
FOR MANAGEMENT) 12

Voznyuk V.P. .

HEMOSTATIC PREDICTORS OF ENDOTHELIUM-DEPENDENT PARAMETERS OF PERIPHERAL
VASOREGULATION IN PATIENTS WITH TROMBOTIC DISEASES 18

*Perekhrestenko P.M., Kalynychenko T.O., Anoshina M.U., Glukhen'ka G.T., Gashchuk G.P., Skachkova N.K.,
Shorop E.V.*

THE OXIDATION AND RECOVERY METABOLIC FIGURES AND UMBILICAL CORD BLOOD
NUCLEAR CELL QUALITY'S CONNECTION DURING THEIR CRYOPRESERVATION 25

LECTURE

Guseva S.A. Goncharov Ya.P.

VITAMIN B12 DEFICIENCY 26

Myronenko G.A.

ASSOCIATIVE CONNECTION OF THE ERYTHROCYTE ANTIGEN C^w OF THE RHESUS
SYSTEM WITH THE AUTOIMMUNE HAEMOLYTIC ANAEMIA 39

Dubey L.Ya. , Tsymbaluk-Voloshyn I.P., Dubey N.V.

IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA IN CHILDREN: CURRENT DIAGNOSTIC AND
TREATMENT 43

INFORMATION

УДК

Менделеева Л.П., Покровская О.С.,
Урнова Е.С., Грецов Е.М.,
Пантелеев И.В., Калинин Н.Н.,
Штырева Е.М.

Гематологический научный центр
РАМН, Москва

Ключевые слова: филграстим,
Граноген[®], гранулоцитарный
колониестимулирующий фактор,
мобилизация гемопоэтических
стволовых клеток

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ФИЛГРАСТИМА (ГРАНОГЕН[®]) ДЛЯ МОБИЛИЗАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Резюме. Доказана эффективность и безопасность российского препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ) Граноген[®] (МНН – филграстим, производитель «Фармапарк» (ГК «Биопроект», Москва), применявшегося для мобилизации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) крови у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. В исследовании приняли участие 17 пациентов в возрасте 19 – 26 лет с диагнозами множественная миелома, острый лейкоз, лимфома, лимфогранулематоз. Мобилизация ГСК осуществлялась по двум схемам. В первой схеме курс интенсивной химиотерапии (ХТ) (DexaBEAM) сочетался с последующим назначением филграстима, вторая схема включала только филграстим, назначаемый на фоне стабильного кроветворения. При терапии Граногеном[®] не наблюдалось ни одного случая тяжелых нежелательных эффектов, отмечалось повышение уровня лактатдегидрогеназы (у 70% пациентов) и щелочной фосфатазы (у 59% пациентов). Применение Граногена[®] в виде монотерапии обеспечило повышение содержания CD34⁺-клеток в среднем в 27,5 раза, что позволило за 3 – 5 процедур лейкофереза собрать достаточное для трансплантации количество ГСК у 71% пациентов с гемобластомами. Мобилизация CD34⁺-клеток после ХТ обеспечила успешный сбор ГСК у 100% пациентов. Мобилизирующий эффект и безопасность Граногена[®] не отличались от такового при использовании лучших импортных аналогов.

Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) обеспечивает в достаточно короткие сроки устойчивое восстановление гемопоэза после применения высоких доз химиотерапевтических препаратов у больных гемобластомами и солидными опухолями. В недалеком прошлом источником ГСК являлся только костный мозг (КМ), однако в последнее десятилетие трансплантация ГСК (ТГСК), полученных из периферической крови, практически полностью вытеснила ТКМ. Это объясняется тем, что сбор ГСК с помощью сепаратора крови может выполняться практически в амбулаторных условиях, аутотрансплантат может быть менее контаминирован опухолевыми клетками, а восстановление показателей гемограммы после ТГСК, собранных из периферической крови, происходит быстрее.

В физиологических условиях в периферической крови содержится ничтожно малое количество ГСК, так как местом их постоянного пребывания является КМ. Для мобилизации ГСК из КМ в периферическую кровь используются рекомбинантные ростовые факторы.

В настоящее время стандартом мобилизации ГСК периферической крови является применение

гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ). При этом схема мобилизации может включать только Г-КСФ или его сочетание с другими цитокинами (фактором стволовых клеток – ФСК, интерлейкинами – ИЛ-3 и/или ИЛ-12), а также последовательное применение миелосупрессивных химиотерапевтических препаратов и Г-КСФ [1, 2].

Одним из условий восстановления кроветворения в посттрансплантационном периоде является достаточное количество гемопоэтических клеток в трансплантате [3]. Основным маркером этого клеточного пула считается антиген CD34. Трансплантация большого количества CD34⁺-клеток сопровождается уменьшением ранней посттрансплантационной летальности, при трансплантации более $5 \cdot 10^6$ CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела больного количество гранулоцитов и тромбоцитов периферической крови восстанавливается быстрее, что уменьшает потребность в антибактериальной терапии и заместительных трансфузиях компонентов крови [4].

Однако наряду с успехами в проведении мобилизации и сбора ГСК крови в некоторых случаях не представляется возможным заготовить их оптимальное количество. Даже у здоровых доноров

гемопоезических клеток эффективность мобилизации различна: в 5–15% случаев не удается заготовить более $2,5 \cdot 10^6$ CD34⁺-клеток/кг [5]. При попытках прогнозировать эффективность мобилизации у больных гемобластозами и солидными опухолями оценивали пол, возраст, наличие или отсутствие поражения КМ, длительность предшествовавшей химиотерапии (ХТ), показатели гранулоцитов и тромбоцитов перед началом мобилизации, пиковые значения CD34⁺-клеток в крови на фоне введения Г-КСФ, интервал между предыдущим курсом ХТ и мобилизацией и др. Несмотря на многочисленные противоречия, большинством исследователей наиболее важным фактором, влияющим на результаты мобилизации, признан объем проводившейся миелосупрессивной терапии [6, 7].

Целью настоящего исследования являлась оценка эффективности и безопасности отечественного препарата филграстима (МНН) - Граноген® («ФАРМАПАРК», Москва), применявшегося для мобилизации аутологичных ГСК крови у больных онкогематологическими заболеваниями.

В качестве активного компонента Граногена® использовали высокоочищенный негликозилированный человеческий Г-КСФ (филграстим), полученный по технологии рекомбинантных ДНК с использованием генно-инженерного штамма *Escherichia coli*. Препарат Граноген® содержит филграстим в дозировке 30 млн ЕД/мл (300 мкг/мл), вспомогательные вещества: ацетатный буфер, сорбитол, полисорбат 80 и воду для инъекций. Препарат Граноген® является биодженериком препарата Нейпоген® («Ф. Хоффман Ля Рош», Швейцария). Используемые в исследовании серии препарата Граноген® были проконтролированы в Государственном институте стандартизации и контроля им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора (Москва).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 17 больных (8 мужчин и 9 женщин) множественной миеломой, острым лейкозом, лимфосаркомой и лимфогранулематозом в возрасте от 19 до 62 лет, которым проведена мобилизация ГСК крови с использованием Граногена® и последующим сбором CD34⁺-клеток для аутологичной трансплантации. На предыдущих этапах лечения всем больным проводили индукционную ХТ в объеме 3–9 курсов, у 1 больного была выполнена спленэктомия, локальная лучевая терапия проведена еще у 1 больного.

До начала мобилизации всем больным были проведены клинические, инструментальные и лабораторные исследования в соответствии с протоколом исследования. После того, как больной был признан соответствующим критериям включения

в исследование, он был подробно ознакомлен с «Информацией для пациента, участвующего в исследовании», и подписывал «Информированное согласие на участие в исследовании».

Для осуществления мобилизации и сбора аутологичных ГСК пациенты были госпитализированы в отделение химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга Гематологического научного центра (ГНЦ) РАМН (Москва). С целью регистрации нежелательных явлений на фоне применения Граногена® осуществляли динамическое наблюдение за больными, в ходе которого измеряли артериальное давление, температуру тела, определяли биохимические показатели и клеточный состав периферической крови.

Мобилизацию ГСК крови выполняли по 2 схемам. Первая схема включала курс интенсивной ХТ (DexaBEAM – дексаметазон, кармустин, этопозид, цитозин-арабинозид, мелфалан или высокие дозы циклофосфана 6 г/м² в 1-е сутки) с последующим назначением Граногена®. В данную группу вошло 10 больных. Вторая схема включала применение только Граногена® на фоне стабильного состояния кроветворения, в эту группу вошло 7 больных.

Для мобилизации ГСК после миелосупрессивной ХТ Граноген® вводили подкожно по 5 мкг/кг в сутки, начиная с того момента, когда число лейкоцитов периферической крови составляло менее $1 \cdot 10^9$ /л, и продолжали в течение времени, необходимого для гематологического восстановления и сбора достаточного количества CD34⁺-клеток. Процедуры лейкофереза начинали выполнять при количестве лейкоцитов в периферической крови $7-8 \cdot 10^9$ /л.

Для мобилизации ГСК в условиях стабильного состояния кроветворения Граноген® применяли в дозе 10 мкг/кг в сутки подкожно в течение 5–6 суток. Сбор CD34⁺-клеток проводили на 4, 5, 6-е (при необходимости на 7-е) сутки от начала введения Граногена®.

Процедуры лейкофереза выполняли на сепараторах непрерывного тока крови. Для оценки эффективности мобилизации и сбора ГСК осуществляли подсчет содержания клеток, несущих маркер CD34, в образцах периферической крови и лейкоконцентратах методом проточной цитометрии.

В качестве дополнительной задачи при изучении мобилизующего эффекта Граногена® в условиях стабильного состояния кроветворения была проанализирована ежедневная динамика содержания CD34⁺-клеток в периферической крови больных острым лейкозом ($n = 3$) и лимфосаркомой ($n = 2$). Подсчет числа CD34⁺-клеток в крови выполняли до начала мобилизации (исходные значения), затем ежедневно через 4 ч после каждого

очередного введення Граногена® до завершення мобілізації і збору ГСК.

В зв'язі з невеликим розміром виборки статистический аналіз даних був проведений з використанням непараметрических методик і описательной статистики. Для аналізу двох залежних виборок (аналіз параметрів до і після дослідження) використовувався критерій Вилкоксона. Статистический аналіз даних проводили з використанням програмних продуктів Microsoft Office Excel 2003; SPSS 13.0 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБСУДЖЕННЯ

За час проведення дослідження не зареєстровано серйозних нежелательних явлень, зв'язаних з використанням Граногена®. Необхідності відміни препарату по показанням безпеки не було. На фоні використання Граногена® у 9 (53%) з 17 хворих спостерігалися оссалгії легкої і середньої тяжкості в теченні 1–4 днів, у 2 (12%) з 17 хворих відзначалася головна біль.

Сравнительний аналіз рівней аланінаміно-трансферази (АЛТ), аспартатаміно-трансферази (АСТ), креатиніна і общего білірубінa методом Вилкоксона до і після дослідження не виявил статистически значимих різниць ($p > 0,05$). Відмічено статистически значиме перевищення нормальних рівней лактатдегідрогенази – ЛДГ ($p = 0,01$) і щелочної фосфатази – ЩФ ($p = 0,01$) після використання препарату Граноген®. Так, рівень ЛДГ після використання Граногена® перевищував норму (до 480 ЕД/л) у 12 хворих, в той час як існуючі значення були підвищені лише у 4 з них. При цьому у 5 хворих після завершення мобілізації було зареєстровано значительне підвищення рівня ЛДГ (від 2,5 до 4 норм), а у 7 хворих рівень ЛДГ перевищував норму на 20–50%. У інших 5 хворих значення ЛДГ варіювали в межах норми. При аналізі показателів ЩФ у хворих, отримавших Граноген®, було відмічено, що якщо існуючі значення ЩФ перевищали норму (32–92 ЕД/л) у 3 хворих, то після завершення мобілізації підвищений рівень ЩФ виявляли у 10 хворих. При цьому рівень ЩФ більше ніж в 2 рази перевищував нормальні значення у 1 хворого (197 ЕД/л), не менше ніж в 1,5 рази – у 9 хворих. У 7 інших хворих вміст ЩФ в крові коливався в межах норми.

Побочні ефекти, супроводжуючі використання Г-КСФ при мобілізації ГСК, по даним літератури [8], спостерігаються приблизно в 30% випадків, причому як у онкогематологічних хворих, так і у донорів ГСК. Найбільш частими ускладненнями являються болі в кістках, головна біль, слабкість. Кісткові болі виникають в зв'язі з

воздействием Г-КСФ на метаболізм кісточної ткани, наслідком чого являється зниження вмісту сывороточного остеокальціна. Оссалгії звичайно носять диффузний характер, частіше локалізуються в кістках таза, бедрах, ребрах, і регресують після припинення використання Г-КСФ. Значительно рідше спостерігаються міалгії, болі в грудній клітці, почуття тривоги, лихорадка, тошнота, шкірні реакції в місцях ін'єкцій. Такі прояви мають низку або середню ступінь вираженості, носять дозозалежний характер і зникають через 48 ч після відміни препарату.

Опубликовані повідомлення про те, що Г-КСФ може впливати на біохімічні показники крові. Відмічено підвищення значень ЛДГ, ЩФ, мочевої кислоти, АЛТ, глутаміл-транспептидази, зниження вмісту іонів калію і магнію [8, 9]. Все вищеперелічені показники поверталися до існуючих значень після відміни препарату. Причини таких змін до нинішнього часу не пояснені.

Изменение показателів периферическої крові до і після використання Граногена® розглядалося окремо у хворих, отримавших Граноген® після ХТ і в умовах стабільного кровотворення.

Використання Граногена® на фоні стабільного стану кровотворення не супроводжалося значимими змінами показателів гемоглобіна і кількості еритроцитів периферическої крові. Лише у 1 хворого спостерігалося зниження концентрації гемоглобіна нижче 100 г/л. Що стосується показателів тромбоцитів, то після завершення мобілізації було виявлено суттєве зменшення їх числа (до $52-90 \cdot 10^9/л$) у 6 з 7 хворих.

При більш детальному аналізі динаміки показателів тромбоцитів периферическої крові виявлено, що перед виконанням 1-го лейкофереза, т.е. після 3–4 введення Граногена®, клінічески значиме зменшення числа тромбоцитів спостерігалося у 3 (43%) з 7 хворих. Наступуюче зменшення числа тромбоцитів як у цих, так і у інших хворих могло бути зв'язано з втратою тромбоцитів в процесі лейкофереза, число процедур якого складало від 3 до 5.

В зв'язі з невеликим кількістю хворих, включених в дослідження, не представлялось можливим зробити чітке висновок про вплив Граногена® на кількість тромбоцитів в периферическої крові при умови його використання на фоні стабільного стану кровотворення.

Значительне збільшення числа лейкоцитів і гранулоцитів в периферическої крові явилось підтвердженням впливу Граногена® на гранулоцитарний ріст кровотворення. Максимальні значення вмісту лейкоцитів на фоні введе-

ний Граногена® достигали $(5,3-67) \cdot 10^9/\text{л}$, в среднем $(30,1 \pm 7,4) \cdot 10^9/\text{л}$, что в 2,1–9,6 раза превышало исходные показатели. Столь резкое повышение количества лейкоцитов происходило за счет увеличения в периферической крови абсолютного числа гранулоцитов. При этом абсолютные значения гранулоцитов достигали $(2,6-35,6) \cdot 10^9/\text{л}$, среднее значение - $(22,2 \pm 3,4) \cdot 10^9/\text{л}$, что в среднем в $7,7 \pm 1,8$ раза превысило исходные показатели.

Динамика показателей периферической крови в группе больных, получавших Граноген® после миелосупрессивной химиотерапии и в режиме монотерапии, значительно отличалась. Показатели гемоглобина, эритроцитов и тромбоцитов периферической крови у половины больных этой группы после завершения мобилизации оказались значительно сниженными: концентрация гемоглобина менее 100 г/л, число эритроцитов менее $3 \cdot 10^{12}/\text{л}$, число тромбоцитов менее $100 \cdot 10^9/\text{л}$. Выявленная цитопения обусловлена применением высоких доз химиотерапевтических препаратов, включенных в схему мобилизации.

В качестве показателей, отражающих влияние Граногена® на гранулоцитарный росток кроветворения, могут рассматриваться сроки и скорость восстановления лейкоцитов и гранулоцитов периферической крови. В результате применения Граногена® у 8 (80%) из 10 больных продолжительность глубокой нейтропении (абсолютное число нейтрофилов менее $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$) после высокодозной ХТ была сокращена до 4–6 сут и лишь у 2 больных составила 7–10 сут. Продолжительность глубокой нейтропении у наблюдавшихся нами больных в среднем составила $5,7 \pm 0,6$ сут, а максимальные значения лейкоцитов и гранулоцитов в дни выполнения лейкаферезов – $(18,8 \pm 3,4) \cdot 10^9/\text{л}$ и $(12,8 \pm 3,2) \cdot 10^9/\text{л}$ соответственно.

Степень эффективности мобилизации ГСК можно определить на основании увеличения содержания $\text{CD}34^+$ -клеток в периферической крови на фоне введения Г-КСФ. В таблице представлены параметры, характеризующие эффективность мобилизации по двум использовавшимся схемам для всей группы больных.

Анализ результатов мобилизации показал, что Граноген® с целью мобилизации ГСК вводили в течение 5–12 дней, для сбора $\text{CD}34^+$ -клеток проводили 1–5 процедур лейкафереза. Достаточное для трансплантации количество $\text{CD}34^+$ -клеток было собрано у 15 (88%) из 17 больных, при этом число собранных $\text{CD}34^+$ -клеток колебалось в широких пределах – от 2,37 до $82,7 \cdot 10^6/\text{кг}$. В 2 случаях сбор ГСК был неудовлетворительным, за 3–4 процедуры лейкафереза было собрано 1,0 и $1,1 \cdot 10^6 \text{CD}34^+$ -клеток/кг.

Результаты, представленные в таблице, свидетельствуют о высокой эффективности Граногена®, использовавшегося в двух различных схемах мобилизации ГСК. Особенно важна оценка результатов мобилизации Граногеном® в режиме монотерапии при стабильном состоянии кроветворения, поскольку именно эта схема дает возможность конкретно охарактеризовать эффект препарата.

Исследование показало, что применение только Граногена® в течение 5–7 дней обеспечило повышение содержания $\text{CD}34^+$ -клеток в крови у больных гемобластозами в 2,4–74,9 раза (в среднем в 27,5 ± 11,3 раза). При исходном содержании $\text{CD}34^+$ -клеток в крови в пределах 450–9360 (в среднем $2247,1 \pm 1195,5$) в 1 мл их максимальные значения на фоне введения граногена достигали уровня 4240–107200 (в среднем $31102,8 \pm 13557,7$) в 1 мл. Это позволило за 3–5 процедур лейкафереза собрать $(2,37-5,21) \cdot 10^6$ клеток/кг, достаточное для трансплантации количество ГСК у 5 (71%) из 7 больных.

У 2 больных эффективность мобилизации можно признать недостаточной, поскольку содержание $\text{CD}34^+$ -клеток в крови на фоне введения Граногена® оставалось весьма низким (4240 и 7620 в 1 мл), что и обусловило неудовлетворительный сбор ГСК. Основной причиной недостаточной эффективности мобилизации у этих 2 больных являлась массивная индукционная ХТ, проводившаяся на предыдущих этапах лечения. Обе больные получили по 5–6 курсов, содержащих миелотоксические химиотерапевтические препараты (метотрексат, ифосфамид, митоксантрон, цитозин-арабинозид и др.). Такая терапия приводит к значительной миелосупрессии и трудностям мобилизации ГСК. Более того, непосредственно перед началом мобилизации в анализах крови этих больных определяли сниженные показатели тромбоцитов (105 и $136 \cdot 10^9/\text{л}$).

Результаты ежедневного исследования динамики числа $\text{CD}34^+$ -клеток в периферической крови у 5 больных на фоне введения Граногена® показали следующее: у 3 больных уже через 4 ч после 1-го введения препарата наблюдалось повышение содержания $\text{CD}34^+$ -клеток в крови с 450–9360 до 3200–13200 в 1 мл. Последующие исследования продемонстрировали дальнейший рост показателей с достижением пиковых значений на 5–6-й дни мобилизации. Мобилизация ГСК у этих больных завершилась успешным сбором $\text{CD}34^+$ -клеток в количестве $(4,74-9,9) \cdot 10^6/\text{кг}$. У 2 других больных после 1-го введения препарата прирост $\text{CD}34^+$ -клеток практически отсутствовал. При исходных значениях 1350–1540 клеток в 1 мл содержание $\text{CD}34^+$ -клеток составило всего 1250–1820 в 1 мл. Именно у этих больных удалось собрать минимальное количество гемопоэтических клеток за 3–4 процедуры

лейкафереза (1,0 и 2,94 CD34⁺-клеток/кг соответственно).

Возможно, отсутствие увеличения числа CD34⁺-клеток в периферической крови сразу же после 1-го введения Граногена® следует рассматривать в качестве неблагоприятного прогностического фактора, сопровождающего неудовлетворительные результаты мобилизации ГСК. Однако для подтверждения данного предположения необходимы исследования у большего числа больных.

Анализ параметров, характеризующих эффективность мобилизации ГСК после химиотерапии, показал высокие результаты. При исходном содержании CD34⁺-клеток в крови в пределах 500–8100 (в среднем 3652 ± 748,4) в 1 мл их максимальные значения на фоне введений Граногена® достигали уровня 51340–472320 (в среднем 198051,3 ± 50736,6) в 1 мл. Кратность увеличения числа CD34⁺-клеток в крови у большинства больных составила 19,4–88 раз, а у 1 больной превысила 500.

Столь высокие пики выхода CD34⁺-клеток в периферическую кровь доказали успешность мобилизации у 100% (у 10 из 10) больных и позволили за 1–2 процедуры лейкафереза собрать (7,9–82,7) • 10⁶ CD34⁺-клеток/кг. При этом у большинства больных проведено 5–7 введений Граногена® и лишь у 3 больных – 8–12 введений.

На рисунке показано увеличение CD34⁺-клеток в периферической крови на фоне введения Граногена®.

Сопоставив результаты двух применявшихся схем мобилизации, мы отметили, что исходное содержание CD34⁺-клеток в крови (в среднем 2247,1 ± 1195,5 против 3652 ± 748,4 в 1 мл) и продолжительность применения Граногена® (в среднем 5,6 ± 0,3 дня против 7,3 ± 0,6 дня) отличались весьма незначительно у больных обеих групп. Тем не менее по-

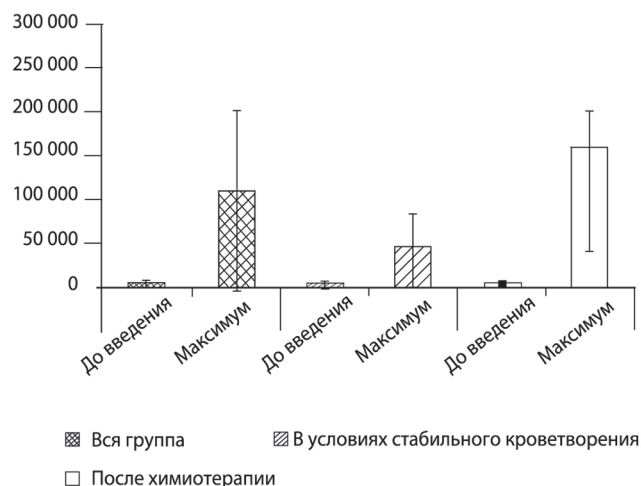
следовательное назначение химиотерапевтических препаратов и Г-КСФ (схема ХТ + Граноген®) способствовало тому, что пик выхода CD34⁺-клеток в периферическую кровь практически 5-кратно превышал таковой у больных с мобилизацией Граногеном® в монорежиме (в среднем 198051,3 ± 50736,6 против 31302,8 ± 13557,7 в 1 мл).

Большое внимание уделяется поиску факторов, которые оказывают влияние на эффективность мобилизации и могли бы использоваться для прогнозирования ее результатов. По мнению некоторых исследователей [6], наиболее важным фактором, влияющим на содержание CD34⁺-клеток в периферической крови, является общее число курсов миелосупрессивной терапии (как ХТ, так и локальной лучевой терапии). Особое внимание уделялось назначению мустаргена, прокарбазина, мелфалана, кармустина, оказывающих токсическое воздействие на ранние клетки-предшественники. Их применение значительно ухудшало результаты мобилизации. Кроме того, интервал менее 65 дней между последним курсом ХТ и мобилизацией также считался неблагоприятным прогностическим фактором.

В отдельных публикациях [10] уделялось внимание влиянию возраста больного на результаты мобилизации. Было отмечено, что чем старше больной, тем меньше ГСК удавалось собрать, но не обнаружено фиксированных возрастных границ, после которых невозможно было заготовить стволовые клетки. В других работах [11] статистически значимыми факторами, предсказывающими недостаточную эффективность мобилизации, были названы поражение КМ в дебюте заболевания и сниженное количество тромбоцитов непосредственно перед мобилизацией. Показано также [7], что успешная мобилизация была возможна, если до начала введения Г-КСФ в крови определялось не менее 500 CD34⁺-клеток/мл, а площадь миелокариоцитов в трепанобиоптате составляла не менее 40%. Основным критерием, позволявшим прогнозировать успешный сбор ГСК, являлось содержание CD34⁺-клеток в крови в день проведения процедуры лейкафереза. При уровне CD34⁺-клеток в крови 40000 в 1 мл и более необходимое для трансплантации количество ГСК удавалось собрать за 1 сеанс лейкафереза.

В нашем исследовании, включавшем больных, различавшихся по возрасту, диагнозам и интенсивности предшествовавшей ХТ, применение отечественного Г-КСФ (препарата Граноген®) позволило обеспечить успешную мобилизацию и адекватный сбор CD34⁺-клеток у подавляющего большинства (88%) больных. При подсчете числа CD34⁺-клеток в крови на фоне введений Граногена®, применявшего-

Количество CD34⁺-клеток



Содержание CD34⁺-клеток в крови больных перед включением в исследование и на фоне введения Граногена®.

Таблиця

Сравнительная оценка эффективности мобилизации ГСК с использованием Граногена® по двум различным схемам

Параметр	Мобилизация			
	Граногеном® на фоне стабильного кроветворения		по схеме: ХТ + Граноген®	
	разброс значений	$M \pm m$	разброс значений	$M \pm m$
Количество введенных Граногена®	5–7	5,6 ± 0,3	5–12	7,3 ± 0,6
Количество процедур лейкофереза	3–5	3,6 ± 0,3	1–3	1,7 ± 0,2
Исходное содержание CD34 ⁺ -клеток в 1 мл крови	450–9360	2247,1 ± 1195,5	500–8100	3652 ± 748,4
Максимальное содержание CD34 ⁺ -клеток в 1 мл крови	4240–107200	31102,8 ± 13557,7	51340–472320	198051,3 ± 50736,6
Кратность увеличения содержания CD34 ⁺ -клеток в крови	2,4–74,9	27,5 ± 11,3	19,4–523,7	121,7 ± 60,9
Суммарное количество CD34 ⁺ -клеток в лейкоконцентратах, • 10 ⁶ /кг	1,0–5,21	2,96 ± 0,6	7,9–82,7	25,1 ± 8,1
Количество успешных мобилизаций	5 (71%) из 7		10 (100%) из 10	

ся как в виде режима монотерапии, так и в сочетании с химиотерапевтическими препаратами, были отмечены высокие пики выхода этих клеток в периферическое русло. В качестве основных причин неудачной мобилизации гемопоэтических клеток у 2-х наблюдавшихся нами больных могут рассматриваться длительная предшествовавшая многокомпонентная ХТ и сниженное количество тромбоцитов непосредственно перед мобилизацией.

Таким образом, применение Граногена® с целью мобилизации ГСК крови у больных онкогематологическими заболеваниями является безопасным и эффективным. Мобилизующий эффект Граногена® соответствует таковому при использовании других препаратов Г-КСФ.

Сравнительная оценка эффективности мобилизации ГСК с использованием Граногена® по двум различным схемам

ЛИТЕРАТУРА

1. Покровская О.С. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор: механизмы мобилизации гемопоэтических стволовых клеток периферической крови и системные эффекты применения. Тер. арх. 2007; 7: 83–87.
2. Менделеева Л.П., Покровская О.С. Протокол мобилизации гемопоэтических стволовых клеток крови. В кн.: Савченко В.Г. (ред.). Программное лечение лейкозов. М.; 2008. 343–357.
3. Siena S., Schiavo R., Pedrazzali P. et al. Therapeutic relevance of CD34⁺ cell dose in blood cell transplantation for cancer therapy. J. Clin. Oncol. 2000; 18: 1360–1377.
4. Менделеева Л.П., Митиш Н.Е., Клясова Г.А. и др. Инфекционные осложнения после трансплантации ау-

тологических гемопоэтических клеток при гемобластозах. Тер. арх. 2005; 7: 33–39.

5. Bensinger W.I., Weaver C.H., Appelbaum F.R. et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Blood 1995; 85: 1655–1658.

6. Cottler-Fox M.H., Lapidot T., Petit I. et al. Stem cell mobilization. In: 45-th Annual Meeting of American Society of Hematology. Education Program Book: San-Diego; 2003; Hematology 2003. 419–437.

7. Менделеева Л.П., Савченко В.Г., Павлова О.А. и др. Мобилизация гранулоцитарным колониестимулирующим фактором аутологических гемопоэтических клеток крови у больных лимфомами и раком молочной железы. Пробл. гематол. 1999; 4: 5–12.

8. Horowitz M.M., Confer D.L. Evaluation of hemopoietic stem cell donors. Hematology 2005. 469–475.

9. Menekay S., Ozsan G., Demirkan F. et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on serum lactate dehydrogenase

levels and isoenzymes in a rabbit model. Acta Hematol. 2002; 107: 18–22.

10. Morris C., Siegel E., Barlogie B. et al. Mobilization of CD34⁺ cells in elderly patients with multiple myeloma: influence of age, prior therapy, platelet count and mobilization regimen. Br. J. Haematol. 2003; 120: 413–423.

11. Kuittinen T., Nousiainen T., Halonen P. et al. Prediction of mobilization failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Bone Marrow Transplant 2004; 33: 907–912.

ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ ФІЛГРАСТИМА (ГРАНОГЕН®) ЗАДЛЯ МОБІЛІЗАЦІЇ АУТОЛОГІЧНИХ ГЕМОПОЕТИЧНИХ СТОБУРОВИХ КЛІТИН У ХВОРИХ З ОНКОГЕМАТОЛОГІЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ

Менделеева Л. П., Покровська О. С., Урнова О.С., Грецов Є.М., Пантелєєв І.В., Калінін Н.Н., Штирєва Е.М.

Резюме. Доказана ефективність та безпечність російського препарату гранулоцитарного колониестимулюючого фактора (Г-КСФ) Граноген® (МНН філграс-тим, виробник «Фармапарк» (ГК «Біопроект», Москва), який застосовували задля мобілізації аутологічних стовбурових гемопоетичних клітин (ГКС) крові у пацієнтів з онкогематологічними захворюваннями. В дослідженні прийняли участь 17 пацієнтів віком 19–26 років з діагнозом множинної мієломи, гострий лейкоз, лімфома, лімфогранулематоз. Мобілізацію ГКС проводили по двох схемах. У першій схемі застосовували курс інтенсивної хіміотерапії (ДехаВЕАМ) у сполученні з послідовним призначенням філграс-тиму, друга схема

включала тільки філграстим, який призначали на фоні стабільного кровотворення. При терапії Граногеном® не спостерігалось жодного випадку тяжких небажаних ефектів, спостерігалось підвищення рівня лактатдегідрогенази (у 70% пацієнтів) й лужної фосфатази (у 59% пацієнтів). Застосування Граногену® у вигляді монотерапії забезпечувало підвищення вмісту CD34+ -клітин в середньому у 27,5 рази, що дозволило за 3–5 процедур лейкофезу зібрати достатню задля трансплантації кількість ГСК у 71% пацієнтів з гемобластозами. Мобілізація CD34+ -клітин після хіміотерапії забезпечила успішний збір ГСК у 100% пацієнтів. Мобілізуючий ефект та безпечність Граногену® не відрізнялася от аналогічного ефекту при застосуванні ліпших імпортованих препаратів.

Ключові слова: *філграстим, Граноген®, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор, мобілізація гемопоетичних стовбурових клітин*

FILGRASTIM (GRANOGEN®) THERAPY FOR MOBILIZING AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES.

Mendeleva L.P., Pokrovskaya O.S., Urnova E.S., Gretsov E.M., Panteleev I.V., Kalinin N.N., Shtyryeva E.M.

Summary. Efficacy and safety of Granogen®, a granulocyte colony-stimulating factor drug (INN – filgrastim, manufactured by PHARMAPARK LLC (The Bioprocess

Group), Moscow), used for mobilizing autologous hematopoietic stem cells (HSC) in patients with hematological malignancies was demonstrated in a study in 17 patients (19 to 26 years old) with multiple myeloma, acute leukemia, lymphoma, and lymphogranulomatosis. Two regimens were used to mobilize HSC. In the first regimen filgrastim was administered following a course of DexaBEAM chemotherapy; the second regimen consisted in filgrastim monotherapy in the context of stable hemopoiesis. No severe adverse effects were observed during Granogen® therapy, while lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase levels increased in 70% and 59% of patients, respectively. Granogen® monotherapy was associated with a 27.5-fold average increase of CD34+ cell count enabling enough HSC for transplantation to be harvested in 3 to 5 procedures in 71% of patients with hematological malignancies. HSC mobilization following chemotherapy ensured successful HSC harvesting in 100% of patients. The mobilizing effect and safety of Granogen® did not differ from those of recognized imported analogs.

Key words: *filgrastim, Granogen®, granulocyte colony-stimulating factor, hematopoietic stem cell mobilization.*

Адреса для листування:

Менделєєва Лариса Павлівна
Відділ хіміотерапії гемобластозів та
трансплантації кісткового мозку
ДУ «Гематологічний науковий центр» РАМН
125167 Москва, Новозиковський прїзд, 4А
тел.(495) 6132625

Надійшла 12.07.2011 р.

Виговська Я.І., Євстахевич І.Й.,
Бужерак Н.Ф., Шевченко Л.В.,
Книш О.В., Євстахевич Ю.Л.,
Інденко В.Ф., Логінський В.Є.

ДУ «Інститут патології крові
та трансфузійної медицини АМН
України», Львів

Ключові слова: імунна тромбоцитопенічна пурпура, спленектомія, агоністи рецептора тромбопоетину.

РЕФРАКТЕРНА ІМУННА ТРОМБОЦИТОПЕНІЧНА ПУРПУРА (ПАТОГЕНЕЗ, ПЕРСПЕКТИВИ ЛІКУВАННЯ)

Резюме: Представлено сучасні погляди на патогенез та лікування ІТП. Виділено форму рефрактерної ІТП, критерії її діагностики. Приведено результати спостереження за 54 хворими на рефракторну ІТП, а також наслідки спленектомії у 45 із них. Висвітлено повідомлення літератури щодо перспективності застосування анти-В терапії та агоністів рецептора тромбопоетину у хворих на рефрактерну ІТП.

ВСТУП

Хронічна імунна тромбоцитопенічна пурпура (ІТП) – це гетерогенна хвороба, як з огляду на патогенез та перебіг, так і щодо відповіді на лікування. Середня захворюваність в Європі складає 2,6 випадків на 100000 населення, зростає з віком – у осіб >60 років становить 4,5 випадків на 100000 населення. Середній вік на час діагностики – 56 років [9]. Ризик смерті цих хворих внаслідок кровотечі також залежить від віку: 0,4% для хворих віком <40 років; 1,2% для хворих віком 40 – 60 років і 13% у осіб >60 років [8].

Незважаючи на значну кількість публікацій, патогенез ІТП неповністю вивчений. Донедавна вважали, що основна причина тромбоцитопенії при ІТП полягає у посиленій деструкції тромбоцитів антитромбоцитарними антитілами (АТ), продукція яких здійснюється переважно у селезінці [16]. У більшості хворих на ІТП спостерігається не тільки підвищене руйнування тромбоцитів, але й їхня неадекватна продукція, зумовлена гальмуванням мегакаріоцитопоезу та тромбоцитопоезу антитромбоцитарними АТ, розладами продукції тромбопоетину (ТРО) [11, 20, 25].

При ІТП кількість мегакаріоцитів у кістковому мозку (КМ) нормальна або збільшена, спостерігається більший відсоток молодих форм з незрілою цитоплазмою. При ультраструктурному дослідженні виявлено розлади в дозрілих мегакаріюцитах, конденсацію ядерного хроматину, явища пара-апоптозу [13]. Продукція тромбоцитів регулюється ТРО, який, в основному, синтезується у печінці. ТРО впливає на розвиток, дозрівання мегакаріоцитів, їх клітинний цикл і апоптоз [10]. У хворих на ІТП концентрація ТРО нормальна або підвищена і не залежить від числа тромбоцитів. Концентрація ТРО нижча у хворих із збільшеною кількістю мегакаріоцитів, і нормальна або збільшена при меншій кількості мегакаріоцитів [3].

Сучасна лікувальна тактика хворих на ІТП ґрунтується на патогенетичних засадах і включає

застосування кортикостероїдних препаратів (КС), спленектомію (СЕ), імуносупресивну терапію. Незважаючи на широкий діапазон лікувальних заходів при ІТП, у частини хворих не вдається досягнути позитивної відповіді. Так, СЕ як найбільш дієвий метод лікування, неефективна у 30 – 40% хворих на ІТП. Ці випадки окреслено як «рефрактерна» ІТП, проте окремі автори вкладають різний зміст у таке поняття.

Хронічна рефрактерна ІТП характеризується високим ризиком кровотеч або ускладнень терапії з летальним наслідком. В літературі подано частку летальності при такій формі від 4,2% протягом 2 років до 15,7% при більш тривалому спостереженні. Лікування рефрактерної ІТП, як признають у літературі, вимагає від гематолога значної винахідливості, оскільки досі відсутні апробовані програми терапії.

Метою роботи було представити аналіз клінічних спостережень, результатів і перспектив лікування хворих на рефрактерну ІТП.

ХВОРИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням знаходилося 54 хворих на рефрактерну ІТП, з них 45 пацієнтів після перенесеної СЕ і 9 осіб, у яких операція з різних причин не була виконана. Серед хворих 16 осіб чоловічої та 38 жіночої статі, віком від 17 до 72 років. Діагноз ІТП встановлено на основі анамнезу, клінічного обстеження, перебігу хвороби та результатів лабораторного дослідження. Останнє включало загальний аналіз крові, визначення кількості та функціонального стану тромбоцитів, дослідження пунктів КМ.

Анамнестично встановити причину хвороби у пацієнтів не вдалося.

Дослідження показників гемограми всіх хворих при первинному обстеженні виявило, що концентрація гемоглобіну (Hb) в середньому складала (112,9±3,77) г/л. Кількість лейкоцитів знаходилась на верхній межі норми. У всіх хворих виявлено різку тромбоцитопенію, кількість тромбоцитів ста-

новила від $2 - 5 \times 10^9/\text{л}$ до $30,0 \times 10^9/\text{л}$, в середньому $(10,6 \pm 1,4) \times 10^9/\text{л}$. Кількість мегакаріоцитів у КМ хворих була різною – у більшості хворих відсоток мегакаріоцитів підвищений ($>0,5\%$) або виявлено нормальні показники, а у 14% хворих рівень мегакаріоцитів у КМ знижений ($<0,1\%$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У всіх аналізованих хворих як терапію першої лінії застосовували препарати КС: в основному, преднізолон у добовій дозі 1,0–2,0 мг/кг маси з поступовим зниженням дози до повної відміни, рідше проводилась блокова терапія дексаметазоном. У більшості хворих в процесі лікування КС препаратами кількість тромбоцитів зростала, однак із зниженням дози зменшувалась, а при відміні КС поверталась до низьких вихідних показників.

Враховуючи неефективність консервативного лікування 45 хворим проведено спленектомію. Основним показанням до СЕ були резистентна форма ІТП, яка перебігала з вираженим геморагічним синдромом, відсутністю постійного ефекту від терапії КС, кількістю тромбоцитів $\leq 20,0 \times 10^9/\text{л}$ і тривалістю ІТП більше за 6 міс., виникнення ускладнень після терапії КС препаратами (стероїдний діабет, гіперкортицизм з ожирінням).

Усім хворим, які раніше одержували КС, для профілактики надниркової недостатності операцію проводили під захистом КС препаратів, дозу яких після операції поступово знижували. Безпосередню ефективність СЕ оцінювали на 12–14 день після операції. У 15 хворих з відсутньою відповіддю на СЕ на 12–14 день після видалення селезінки кількість тромбоцитів $< 30,0 \times 10^9/\text{л}$ (в середньому $19,1 \pm 3,5 \times 10^9/\text{л}$). Серед цих хворих було 6 чоловіків та 9 жінок, середній вік яких складав $28,1 \pm 2,9$ років, середня тривалість хвороби 5,6 років. У 11 хворих (4 чоловіки та 7 жінок) безпосередній ефект СЕ оцінено також як незадовільний. Середня кількість тромбоцитів у цих хворих на 12–14 день після операції становила $(94,9 \pm 10,5) \times 10^9/\text{л}$, середній вік $28,1 \pm 3,9$ років, а середня тривалість хвороби 4,8 роки. Через 1–2 міс. після СЕ рівень тромбоцитів у цих хворих знизився до попередніх низьких величин. Тобто, у 26 прооперованих хворих безпосередній результат СЕ був незадовільний.

У хворих з незадовільним безпосереднім результатом СЕ відзначено доволі тяжкий перебіг ІТП після операції. З 26 осіб один пацієнт помер від геморагічного інсульту через 16 днів після видалення селезінки. У віддалені терміни нам вдалось простежити за 17 хворими. У 14 пацієнтів зберігався стійкий активний перебіг хвороби з частими геморагіями з декількох джерел. КС препарати давали короточасний ефект, а у 3 хворих були не-

ефективні. Проведені курси імуносупресивної терапії (вінкрестин, імуран) не дали позитивних наслідків. Кількість тромбоцитів у всіх хворих утримувалась $< 30,0 \times 10^9/\text{л}$. Одна хвора через 14 років після СЕ перенесла операцію з приводу апоплексії яєчника. Загалом, в групі хворих з незадовільним безпосереднім результатом спленектомії 3 хворих померли в різний час після операції в результаті геморагічного інсульту.

Ще у 19 хворих на ІТП з добрим безпосереднім ефектом СЕ (кількість тромбоцитів на 12–14 день після операції $> 250,0 \times 10^9/\text{л}$) через різний час після видалення селезінки наступив рецидив хвороби. Серед цих хворих 3 чоловіків і 16 жінок (15 хворих віком 17–28 років та 4 хворих віком 47–65 років). Час виникнення рецидиву був різний. У 9 хворих рецидив тромбоцитопенії наступив протягом першого року після СЕ, у 3 хворих – через 4–6 років, у 4 хворих – через 7–9 років і у 3 хворих через 14–18 років. Лише 3 хворих вказали на імовірну причину рецидиву. В однієї хворої рецидив виник через 6 міс. після СЕ після перенесеного грипу, в інших – через 9 років після операції під час вагітності та через 7 років під час гострого панкреатиту.

Клінічна картина у цих хворих була різною. У 10 з 19 хворих з пізнім рецидивом тромбоцитопенії, хвороба після СЕ перебігала більш лагідно, з незначними проявами кровоточивості або без них. Кількість тромбоцитів під час останнього обстеження у цих хворих становила від $42,0 \times 10^9/\text{л}$ до $85,0 \times 10^9/\text{л}$. Потреби у терапії КС препаратами у цих хворих не було. В інших 9 хворих з пізнім рецидивом, геморагічний синдром перебігав значно тяжче, з повторними кровотечами з декількох джерел. Кількість тромбоцитів у цих хворих була $< 30,0 \times 10^9/\text{л}$. Терапія КС у цих хворих давала короткотривалий ефект або була неефективною.

Як приклад тяжкої рефрактерної ІТП наводимо витяг з медичної картки хворої.

Хвора Б. В. А. (медична карта стаціонарного хворого № 9817), 17 років, знаходилась на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні комунальної 5-ї міської клінічної лікарні м. Львова з 07.10.2008 р. Діагноз: імунна тромбоцитопенічна пурпура, рефрактерна форма.

З анамнезу відомо, що вперше геморагічний синдром виник у березні 2007 р., діагностовано ІТП. У Сумській обласній дитячій лікарні отримала курс лікування преднізолоном у дозі 2,5 мг/кг маси/добу. Кількість тромбоцитів у периферичній крові зросла до $100,0 \times 10^9/\text{л}$, однак при зниженні дози преднізолону їх кількість повернулась до вихідних величин ($< 20,0 \times 10^9/\text{л}$). У подальшому одержувала пульс-терапію дексаметазоном без належного ефекту, у зв'язку з чим 27.11.2007 р. прове-

дено СЕ. Безпосередня відповідь на операцію була позитивною, кількість тромбоцитів утримувалася $>200 \times 10^9/\text{л}$. На початку 2008 р. наступив рецидив хвороби, у зв'язку з чим періодично лікувалася у гематологічному відділенні дитячої лікарні м. Суми без ефекту. Спрямована на консультацію в ДУ ІПКТМ АМНУ для вирішення подальшої тактики лікування.

При поступленні в хірургічне відділення виражений геморагічний синдром – на шкірі дрібноточкові петехії, невеликі синяки, кровоточивість з ясен. Аналіз крові: Hb – 105 г/л, лейкоцити – $11,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцити – $5 \times 10^9/\text{л}$. При обстеженні (УЗД) в лівому підребер'ї виявлено додаткову селезінку, розміром $37 \times 23 \times 24$ мм.

15.10.2008 р. під загальним знеболенням проведено операцію – видалення додаткової селезінки. Під час операції була різко виражена кровоточивість з операційної рани; з метою гемостазу введено 800 мл свіжозамороженої плазми та 2,4 мг НовоСевен. Кровотеча припинилась. До операції та в післяопераційному періоді одержувала КС.

22.10.2008 р. кількість тромбоцитів периферичної крові $6,6 \times 10^9/\text{л}$ (відсутня відповідь на видалення додаткової селезінки). У післяопераційному періоді спостерігали внутрішньочеревні кровотечі з ложа додаткової селезінки та апоплексію яєчника. Хворій призначено препарат внутрішньовенний імуноглобулін 5% у дозі 25 г/добу протягом 5 днів; на 7-ий день лікування кількість тромбоцитів зросла до $151,0 \times 10^9/\text{л}$, проте через тиждень знизилась до $20,0 \times 10^9/\text{л}$.

Незважаючи на активне лікування (КС, введення рекомбінантного фактора VIIa), у хворої тричі наступав крововилив до мозку. Клінічно діагностовано панкреонекроз кукси хвоста підшлункової залози. Хвора отримувала окреостатин, соматулін, інгібітори протеаз, антибактеріальну та інфузійну терапію, гемостатичні препарати. Після верифікації лівобічної плевропневмонії (31.10.2008 р.) посилено антибактеріальну терапію з частою зміною антибіотиків. Стабільно тяжкий стан хворої, зумовлений основною хворобою та післяопераційними ускладненнями (панкреатит, пневмонія), ще більше ускладнився маніфестацією (17.11.2008 р.) гострого гепатиту С, який перебігав торпідно з клінічною картиною переходу в гостру дистрофію печінки, що сумарно призвело до поліорганної недостатності, від якої хвора в 05.01.2009 р. померла.

Інші 9 хворих на рефрактерну ІТП знаходяться під спостереженням в консультативній поліклініці ДУ ІПКТМ АМНУ, періодично отримують лікування КС з короткотривалим ефектом. Одна хвора прооперована з приводу апоплексії яєчника, ще один хворий переніс геморагічний інсульт. Життя

цього хворого вдалось врятувати завдяки введенню рекомбінантного фактора VIIa та імуноглобулінів для внутрішньовенного застосування. Від СЕ ці хворі покищо утримуються з різних причин.

Сучасна лікувальна тактика хворих на ІТП опрацьована досить ґрунтовно. Перша лінія лікування – препарати КС, зокрема, преднізолон у дозі 1–2 мг/кг маси. У більшості хворих під час прийому преднізолону кількість тромбоцитів зростає, однак при його відміні у 70% хворих кількість тромбоцитів повертає до початкових показників [24]. Більш ефективним вважають застосування коротких курсів лікування високими дозами дексаметазону (40 мг/добу протягом 4 днів) [19]. До терапії першої лінії відносять також повторні введення препаратів внутрішньовенного імуноглобуліну (IVIg) або анти-D імуноглобуліну.

Хворим, які не відповіли на лікування КС, показана СЕ. Спленектомія є методом вибору для хворих на ІТП, у яких аутоімунний процес має активний перебіг, кількість тромбоцитів залишається $\leq 20,0 \times 10^9/\text{л}$, наявна анемія та відсутня стійка стабілізація хвороби після консервативного лікування протягом 6 – 12 міс.

За повідомленнями літератури, ремісія ІТП після СЕ настає у 64–66% хворих [2, 14]. Як показали наші спостереження за 121 хворим на ІТП, прооперованим у хірургічній клініці ДУ ІПКТМ АМНУ [2], у 26 хворих безпосередньо після операції число тромбоцитів не зросло або після підвищення протягом 1 - 2 міс. знижувалося до рівня $< 50,0 \times 10^9/\text{л}$. Надалі у цих пацієнтів тромбоцитопенія з вираженим геморагічним синдромом утримувалась протягом усього часу спостереження. Ще у 19 хворих безпосередньо після СЕ наступила ремісія, однак через різний час після операції розвинувся рецидив хвороби.

Лікування хворих, які не дали відповіді на СЕ, – найсерйозніша проблема терапії ІТП. У зв'язку з тим був введений термін «рефрактерної» ІТП, однак консенсус щодо цього поняття відсутній. Міжнародний комітет Європейської асоціації гематологів (ЕНА) запропонував визначення рефрактерної ІТП, яке включає [22]:

наявність стійкої та тяжкої тромбоцитопенії (кількість тромбоцитів $\leq 20 \times 10^9/\text{л}$);

постійна необхідність у лікуванні для підвищення і підтримання кількості тромбоцитів, хоча хворі можуть давати або не давати добру відповідь на лікування;

відсутність відповіді на спленектомію, якщо вона була виконана.

При діагностиці рефрактерної ІТП дослідники наголошують на необхідності диференціації ІТП з тромбоцитопенією, зумовленою іншими причина-

ми [22]. До уваги треба брати фактори, які можуть викликати вторинну тромбоцитопенію або провокувати загострення тромбоцитопенії при ІТП (деякі ліки, зокрема естрогени, інфекції, викликані вірусами імунodefіциту людини, гепатиту С, цитомегаловірусом, парвовірусом, вірусом Епштейна – Барр, вірусами герпесу типу 6 і 8, інфікування *Helicobacter pylori* [17], а також вторинну ІТП при аутоімунних хворобах (системний червоний вовчак, тощо), при В-клітинних лімфоїдних неоплазіях, негематологічних пухлинах, тромботичній тромбоцитопенічній пурпурі, неімунній тромбоцитопенії.

У світовій гематологічній практиці відсутній консенсус щодо стратегії лікування рефрактерної ІТП. Справа ускладнюється тим, що щораз більша кількість гематологів перед призначенням СЕ віддають перевагу альтернативним режимам лікування ІТП, виділяючи при цьому пре- і постспленектомічну рефрактерну ІТП [22].

Як лікування другої лінії у хворих на рефрактерну ІТП рекомендують даназол, імуносупресивну (азатиоприн, мікофенолат мофетилу, вінкристин, циклоспорин А) та цитостатичну терапію (циклофосфамід), а останнім часом – моноклональні анти-CD20 антитіла (ритуксимаб). Вказані методи лікування спрямовані на пригнічення імунної відповіді і продукції антитромбоцитарних АТ у хворих на ІТП.

У теперішній час у другій лінії лікування ІТП віддають перевагу застосуванню ритуксимабу як анти-В терапії. У значних групах хворих на ІТП показано, що ритуксимаб ефективний (тромбоцити $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$) у 62,5% хворих на ІТП, причому повна відповідь (тромбоцити $> 150 \times 10^9/\text{л}$) настає у 46,3% пацієнтів [4]. Встановлено, що ритуксимаб можна застосовувати у менших дозах ніж стандартні. Так, ритуксимаб у дозі 100 мг 1 раз в тиждень протягом 4 тижнів такий же ефективний, як і у стандартних дозах [21]. У 33% хворих, пролікованих ритуксимабом, спостерігається ремісія тривалістю до 2 років [12].

Як другу лінію терапії ІТП при рефрактерності до КС препаратів та внутрішньовенних імунoglobulinів рекомендують також «мультиагентну» терапію. Вона включає ІVІG+метилпреднізолон у високих дозах+вінкристин. В результаті такої терапії у 66% хворих кількість тромбоцитів зростала $> 50,0 \times 10^9/\text{л}$ [5].

За необхідності швидкого збільшення числа тромбоцитів у хворих на ІТП (пологи, операційне втручання, загроза крововиливу до мозку) застосовують «терапію порятунку». З цією метою вводять ІVІG в дозі 1г/кг маси/добу в тривалій інфузії 2 дні підряд [23, 26]. Кількість тромбоцитів у більшості

хворих зростає швидко, але через 2 тижні повертає до попередніх величин. Як терапію порятунку застосовують також метилпреднізолон внутрішньовенно у дозі 1 г/добу 3 дні підряд. За відсутності ефекту або при кровотечі, що загрожує життю хворого (наприклад, крововилив до мозку), вводять рекомбінантний активований фактор VII (VIIa) у дозі 0,09 мг/кг маси швидко внутрішньовенно кожні 2 год. до зупинки кровотечі [1, 26].

На основі результатів найновіших досліджень про роль порушення мегакаріоцитопоезу і продукції тромбоцитів у патогенезі ІТП розпочато розробку нових методів лікування для стимуляції тромбоцитопоезу при цій хворобі. Застосування немодифікованого і пегільованого рекомбінантного ТРО, як показала початкова фаза дослідження, прискорювало зростання кількості тромбоцитів, однак виявилось, що препарат викликає утворення антитіл проти ендогенного ТРО і, як наслідок, тривалу тяжку тромбоцитопенію [18].

Наступне покоління тромбопоетичних ростових факторів, які можуть суттєво змінити лікування ІТП, – це агоністи рецептора ТРО (ТРО-R), а саме пептидний агоніст роміпlostим (romiplostym, AMG 531) та непептидний низькомолекулярний агоніст елтромбопаг (eltrombopag, SB 497115), які останнім часом уже пройшли клінічну апробацію. Вони не мають структурної подібності до ендогенного ТРО і не індукують утворення АТ [24]. Роміпlostим зв'язується з ТРО-R – с-mp1 у тому самому місці, що й ТРО, активує фосфориліацію JAK2-кінази і білка STAT5, що зумовлює диференціацію гемопоетичних клітин до прекурсорів мегакаріоцитів, їх диференціацію і дозрівання, підвищення продукції тромбоцитів [24]. Елтромбопаг зв'язується з рецептором с-mp1 в іншому місці, ніж ендогенний ТРО та роміпlostим. Зараз вивчається ефективність ще двох препаратів – агоністів ТРО-R.

Обидва тромбопоетичні препарати (роміпlostим і елтромбопаг), як показали клінічні випробування, викликають швидке дозозалежне зростання кількості тромбоцитів як у здорових людей, так і у хворих на ІТП.

Після однократної підшкірної ін'єкції роміпlostиму зростання кількості тромбоцитів настає з 4-го дня, максимальний ефект виникає на 12–16 день, а зниження числа тромбоцитів до початкових значень спостерігається після 4 тижнів. Багатоцентрові рандомізовані дослідження показали, що при застосуванні роміпlostиму в початковій дозі 1 мг/кг маси, (яку пізніше відкоригували відповідно до кількості тромбоцитів) підшкірно один раз в тиждень протягом 24 тижнів, зростання кількості тромбоцитів $> 50,0 \times 10^9/\text{л}$ настає у 88% хворих на

ІТП без спленектомії та у 79% хворих після спленектомії. Тривалу відповідь на лікування спостерігали у 16 із 42 хворих, у яких виконано СЕ [15]. При тривалому застосуванні роміпlostиму у більшості хворих рівень тромбоцитів перевищував $50,0 \times 10^9/\text{л}$ і утримувався стабільно не менше, ніж протягом 2 перших років спостереження [22].

Елтромбопаг, який застосовували щоденно у таблетках *per os*, призводив до дозозалежного зростання кількості тромбоцитів після 8 днів, максимальний ефект наступав на 16-й день, а з припиненням лікування після 12 днів кількість тромбоцитів повертала до початкових значень [24]. В багатоцентровому рандомізованому дослідженні показано, що у хворих на рефрактерну ІТП після застосування елтромбопагу в дозі 50 мг/добу протягом 6 тижнів досягнуто збільшення рівня тромбоцитів $>50,0 \times 10^9/\text{л}$ у 70% пацієнтів, а при дозі 75 мг/добу – у 81%. У відповіді на лікування не було різниці між хворими, які перенесли спленектомію, і хворими із збереженою селезінкою. Через 2 тижні після припинення лікування кількість тромбоцитів повертала до попередніх показників [6].

Вважають, що новий клас тромбопоетичних препаратів – агоністи рецептора ТРО відкриває нові перспективи у лікуванні рефрактерних форм ІТП. Відповідь на таке лікування можна буде очікувати у 60–80% хворих, зокрема, за необхідності збільшення рівня тромбоцитів перед операційним втручанням. Віддалені результати застосування цих препаратів вивчаються.

ВИСНОВКИ

Рефрактерна ІТП виникає у 35% хворих після перенесеної спленектомії. Летальність від геморагічного синдрому при рефрактерній ІТП складає 12% при тривалому спостереженні.

Лікування пацієнтів з рефрактерною ІТП залишається складною проблемою. Застосування кортикостероїдних препаратів, імуносупресивної та цитостатичної терапії, «мультиагентної» терапії, «терапії порятунку» переважно дає короточасний ефект, після чого кількість тромбоцитів повертається до попередніх низьких величин ($\leq 20 \times 10^9/\text{л}$), або взагалі неефективне.

Нові перспективи лікування рефрактерної ІТП відкриваються з застосуванням анти-В-клітинної терапії (ритуксимаб) і, особливо, тромбопоетичної терапії агоністами рецептора тромбопоетину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виговська Я.І., Кароль Ю.С., Федак Л.М., Цицик О.І. Застосування рекомбінантного активованого фактора VII (Novoseven) у хворого з ідіопатичною тромбоцитопенічною пурпурою, ускладненою судархноідально-паренхіматозним крововиливом. Лік. справа 2004; 7: 77–80.

2. Євстахевич І.Й. Патогенетичні аспекти, хірургічна тактика і клінічні наслідки операцій на селезінці у гематологічних хворих. Автореферат докт. дис. Київ, 2009: 40 с.

3. Aledort L.M., Hayward C.P.M., Chen M.-G., et al. Prospective screening of 205 patients with ITP, including diagnosis serological markers, and the relationship between platelet count, endogenous thrombopoietin, and circulating antithrombopoietin antibodies. Am. J. Hematol. 2004; 76: 205–213.

4. Arnold D., Dentali F., Crowther M., et al. Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. Ann. Intern. Med. 2007; 146: 25–33.

5. Boruchov D.M., Gururangan S., Driscoll M.C., Bussel J.B. Multiagent induction and maintenance therapy for patients with refractory immune thrombocytopenic purpura (ITP). Blood 2007; 110: 3526–3531.

6. Bussel J., Provan D., Shamsi T., et al. Effect of eltrombopag on platelet counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2009; 373: 641–648.

7. Chojnowski K. Postępy w leczeniu przewlekłej małopłytkowości samoistnej (ITP). Romiplostym – nowa era leczenia ITP. Acta Haematol. Pol. 2009, 40, Nr 4, 851–858.

8. Cohen Y.C., Djulbegovic B., Shamai-Lubowitz O., Mozes B. The bleeding risk and natural history of idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with persistent low platelet counts. Arch. Intern. Med. 2000; 160: 1630–1638.

9. Fredriksen H., Schmidt K. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. Blood 1999; 94: 909–913.

10. Geddis A.E., Linden H.M., Kaushansky K. Thrombopoietin: a pan-hematopoietic cytokine. Cytokine Growth Factor Rev. 2002; 13: 61–73.

11. Gernsheimer T. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: mechanisms of pathogenesis. Oncologist 2009; 14: 12–21.

12. Godeau B., Porsher R., Fain O., et al. Rituximab efficacy and safety in adult splenectomy candidates with chronic immune thrombocytopenic purpura: results of prospective multicenter phase 2 study. Blood 2008; 112: 999–1004.

13. Houwerzijl E.J., Blom N.R., van der Want J.J., et al. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood, 2004; 103: 500–506.

14. Kojouri K., Vesely S., Terrel D., George J. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a schematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. Blood 2004; 104: 2623–2634.

15. Kuter D., Bussel J., Lyons R., et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomized controlled trial. Lancet 2008; 371: 395–403.

16. Kuwana M., Okazaki Y., Kaburaki J., et al. Spleen is the primary for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. J. Immunol. 2002; 168: 3675–3682.

17. Kuwana M., Ikeda Y. Helicobacter pylori and immune thrombocytopenic purpura: unsolved questions and controversies. *Int. J. Hematol.* 2006; 84: 309–315.

18. Li J., Yang C., Xia Y., et al. Thrombocytopenia caused by development of antibodies to thrombopoietin. *Blood* 2001; 98: 3241–3248.

19. Mazzucconi M., Fazi P., Bernasconi S., et al. Therapy with high-dose dexamethasone (HD-DXM) in previously untreated patients affected by idiopathic thrombocytopenic purpura: a GIMEMA experience. *Blood* 2007; 109: 1401–1407.

20. Nugent D., McMillan R., Nichol J.L., Slichter S.J. Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenia: increased platelet destruction and/or decreased platelet production. *Br. J. Haematol.* 2009

21. Prowan D., Butler T., Evangelista M.L., Amadori S., et al. Activity and safety profile of low-dose rituximab for treatment of autoimmune cytopenias in adults. *Haematologica* 2007; 92: 1695–1698.

22. Psaila B., Bussel J.B. Refractory immune thrombocytopenic purpura: current strategies for investigation and management. *Br. J. Haematol.* 2008; 143, 16–26.

23. Robak T., Salama A., Kovaleva L., Vyhovska Y. et al. Efficacy and safety of privitygen, a novel liquid intravenous immunoglobulin formulation, in adolescent and adult patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Hematology* 2009; 14(4): 1–10.

24. Stasi R., Evangelista M.L., Amadori S. Novel thrombopoietic agents. A review of their use in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Drugs* 2008; 68: 901–912.

25. Stasi R., Evangelista M.L., Stipa E., et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: current concepts in pathophysiology and management. *Tromb Haemost* 2008; 99: 4–13.

26. Stasi R. Immune thrombocytopenic purpura: the treatment paradigm. *Eur. J. Haematol.* 2009; 82 (Suppl 71): 13–19.

РЕФРАКТЕРНАЯ ИММУННАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА (ПАТОГЕНЕЗ, ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ)

Резюме: В статье представлены современные представления о патогенезе и лечении ИТП. Выделены форму рефрактерной ИТП, критерии её диагностики. Приведены результаты наблюдений за 54 больными рефрактерной ИТП, а также последствия спленектомии у 45 из них. Проанализированы литературные сообщения относительно перспективы применения анти-B терапии и агонистов рецептора тромбопоэтина у больных рефрактерной ИТП.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопеническая пурпура, спленектомия, агонисты рецептора тромбопоэтина.

REFRACTORY IMMUNE THROMBOCYTOPENIC PURPURA (PATHOGENESIS, PERSPECTIVES FOR MANAGEMENT)

Summary: the article discusses the modern approaches to pathogenesis and treatment of ITP. The type of refractory ITP was defined and its diagnostic criteria were described. The article presents results of the follow-up of 54 patients with refractory ITP as well as consequences of splenectomy performed in 45 of these patients. Publications were discussed concerning efficiency of anti-B treatment as well as application of platelet receptor agonists in patients with refractory ITP.

Key words: immune thrombocytopenic purpura, splenectomy, platelet receptor agonists.

Адреса для листування:

Виговська Ярослава Іллівна
ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМНУ
79044 Львів, вул. Генерала Чупринки 45

Надійшла 02.06.2011

УДК: 612.13+611-0.18.74:616-005.6

Вознюк В.П.

ДУ “Інститут гематології та трансфузіології НАМН України”

Ключові слова: гемостаз, ендотелій, вазорегуляція, тромбофілія, гіпергомоцистеїнемія, синдром “липких” тромбоцитів.

Клітини ендотелію (КЕ) відіграють ключову роль у регуляції гемостатичного балансу в організмі людини. Ендотелій є частиною первинного (судинно-тромбоцитарного) гемостазу, до якого крім КЕ та субендотеліальних структур належать тромбоцити, протеїни адгезії (насамперед, фактор Віллебранда (ФВ), інші клітинні компоненти крові. Завдяки здатності КЕ сприймати механічний вплив течії крові (механочутливість КЕ), ендотелій відіграє важливу роль у регуляції судинного тонуусу [11]. Речовини, що синтезуються КЕ, приймають участь у підтримці архітектоники та тромборезистентності судинної стінки, у регуляції току крові завдяки здатності цих речовин збільшувати або зменшувати просвіт судини під впливом певних стимулів.

Основним фізіологічним фактором, що стимулює синтез оксиду азоту (NO) є напруження зсуву (НЗ)[9] – механічний притискуючий вплив току крові на поверхню ендотелію [3].

Велике НЗ (ламінарний ток крові) стимулює секрецію субстанцій, котрі збільшують вазодилатацію і синтез антикоагулянтів. Гемодинамічні сили змінюють форму тромбоцитів, що крім інших факторів є стимулом до початку процесів адгезії [13]. В умовах низьких значень НЗ (турбулентний ток крові) відбувається підсилення проліферації ендотелію й апоптозу, збільшення секреції субстанцій, що стимулюють вазоконстрикцію, коагуляцію, агрегацію тромбоцитів [14]. Збільшення НЗ повинно, у фізіологічних умовах, призводити до дилатації кровоносної судини. Така дилатація носить назву ендотелій-залежної вазодилатації (ЕЗВД), вона є важливим ауторегуляторним механізмом підтримки судинного тонуусу. Між гемостатичними факторами, КЕ, гемодинамічними факторами у фізіологічних, непертурбованих умовах існують досить чіткі залежності, котрі забезпечують збереження гемостатичного балансу. Зміни в будь-якій ланці первинного гемостазу можуть приводити до дисбалансу всієї системи згортання крові, що в

ГЕМОСТАТИЧНІ ПРЕДИКТОРИ ЗАЛЕЖНИХ ВІД ЕНДОТЕЛІЮ ПАРАМЕТРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ ВАЗОРЕГУЛЯЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ТРОМБОТИЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ

Резюме. Проведене визначення гемостатичних предикторів залежних від клітин ендотелію параметрів периферичної вазорегуляції у пацієнтів із тромботичними захворюваннями. Показано, що ендотелій-залежні судинорухові реакції опосередковані, насамперед, великомолекулярними протеїнами плазми (вмістом фібриногену, активністю фактора Віллебранда), а також кількістю тромбоцитів у периферичній крові.

свою чергу, формує та підтримує гіперкоагуляцію. Ці процеси лежать у основі формування тромбофілічного стану.

Термін “тромбофілія” був запропонований норвезьким клініцистом О. Edeberg, під яким він розумів спадковий або набутий стан схильності до розвитку тромбозів [7]. У 2000 році Р.Мануссі [11] визначив спадкову тромбофілію як генетично детерміновану тенденцію до венозного тромбоутворення, реалізація котрої, як правило, здійснюється вже у молодому віці, при цьому тромботичні ускладнення виникають без очевидної причини та мають схильність до рецидивів [8]. Одна із форм тромбофілії розвивається внаслідок збільшення активності ФВ і фактора VIII згортання крові.

Одним із факторів виникнення гіперкоагуляції та розвитку тромботичних ускладнень є збільшення концентрації гомоцистеїну – гіпергомоцистеїнемія (ГГц). ГГц є незалежним фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань – інфаркту міокарда, інсульту, венозної тромбоемболії [12].

В основі синдрому “липких” тромбоцитів (ЛТ), який вперше був описаний Е.Ф. Маттен та співавторами [10], лежить збільшення агрегаційних властивостей тромбоцитів під впливом АДФ та адреналіну. Клінічними проявами цього синдрому є артеріальні та венозні тромбози різних локалізацій. Синдром ЛТ є причиною 14% венозних і до 33% артеріальних тромбозів, виникнення котрих не мало пояснення [4].

У попередніх дослідженнях [2], показана наявність ендотеліальної дисфункції та порушень гемодинаміки у пацієнтів із тромботичними захворюваннями. У хворих із тромбофілією, ГГц, синдромом ЛТ поряд із дисбалансом системи гемостазу мають місце і розлади ендотелій-залежних вазорегуляторних реакцій. Дотепер залишаються остаточно не з'ясованими особливості взаємодії факторів гемостазу та опосередкованих КЕ судинорухових реакцій. Вивчення взаємозв'язків

між факторами гемостазу та вазорегуляторними чинниками буде сприяти встановленню нових даних щодо механізмів формування гіперкоагуляції і виникнення тромботичних ускладнень.

МЕТА РОБОТИ

Визначити гемостатичні предиктори ендотелій-залежних факторів периферичної вазорегуляції у пацієнтів із тромботичними захворюваннями.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

25 пацієнтів із гематогенною тромбофілією віком від 21 до 54 років (7 жінок і 18 чоловіків) склали I групу. Середній вік хворих I групи становив 37,3 роки. 25 пацієнтів (6 жінок, 19 чоловіків) у віці від 23 до 52 років (середній вік 37,8 років) із гіпергомоцистеїнемією склали II групу. У всіх хворих мала місце легка форма ГГц (рівень гомоцистеїну коливався у межах від 12,6 до 27,8 мкмоль/л). До III групи увійшли 20 хворих (8 жінок і 12 чоловіків) у віці від 22 до 44 років, середній вік – 34 роки) із синдромом “липких” тромбоцитів.

Діагноз встановлений на підставі серії коагулологічних досліджень у відділенні хірургічної гематології та гемостазиології ДУ “Інститут гематології та трансфузіології АМН України”. Дослідження проводились поза періодом загострення захворювання (відсутність тромботичного синдрому), лікарські засоби були відмінені не менше ніж за 10 діб до проведення тестів. Всі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб, які за віком та статтю сумісні з пацієнтами, що увійшли у дослідження.

У ході дослідження проводились скринінгові коагулологічні тести, а також базисні коагулологічні тести із визначенням активності факторів згортання та функціональної активності тромбоцитів. Також проводилось визначення кількості ендотеліоцитів у периферичній крові.

Оцінка агрегаційних властивостей тромбоцитів проводилась за допомогою оптичного агрегометра “Tromlite” (Польща). Принцип методу – реєстрація агрегації тромбоцитів у збагаченій тромбоцитами плазмі по зміні її оптичної щільності за Born G.V.R. [5]. Дослідження коагулограми, визначення активності факторів згортання крові проводилось із використанням коагулометра “Behnk Elektronik” (Німеччина).

Визначення рівня гомоцистеїну в крові проводилось імунохемілюмінесцентним методом на аналізаторі Immulite 2000 (DPC, США) на базі лабораторії “Eurolab”.

Для визначення гемодинамічних факторів току крові, судинорухової функції ендотелію проводилось дослідження плечової артерії (ПА) на апараті

Technos “Esaote S.p.a.” (Італія). Апарат мав лінійний датчик із частотою 10,5-13,0 МГц. Проводилось дослідження ПА методом дуплексного сканування. У спектральному доплеровському режимі визначали наступні параметри: максимальна систолічна швидкість току крові (Vps), максимальна кінцева діастолічна швидкість току крові (Ved), об’ємна швидкість току крові (Vvol).

Стан ЕЗВД вивчали в пробах із реактивною гіперемією (РГ) за методом, який був описаний D.S. Celermajer [6]. Спочатку проводили визначення параметрів (D, Vps) у вихідному стані. Для отримання підвищеного кровотоку на верхню третину плеча накладали манжету сфігмоманометру та доводили тиск у манжеті до рівня, що перевищує систолічний артеріальний тиск на 50 мм.рт.ст. Тривалість компресії - 5 хвилин. Потім швидко випускали повітря із манжети (декомпресія) та реєстрували діаметр ПА та швидкість току крові у ній. Зміну діаметру ПА та швидкості току крові у ній оцінювали у процентному відношенні до вихідної величини. ЕЗВД є реакцією на збільшення току крові внаслідок реактивної гіперемії. Нормальною ЕЗВД вважалась у тому випадку, коли діаметр артерії збільшувався на 10% і більше від початкової величини. Менша ступінь дилатації вважається патологічною реакцією [1].

Напруження зсуву (τ) на ендотелії розраховували за формулою:

$$\tau = 4 \times h \times Vps / D, \text{ де}$$

h - в’язкість крові, Vps – максимальна систолічна швидкість току крові, D – діаметр ПА.

Механочутливість ендотелію (K) або чутливість ендотелію кровоносної судини до напруження зсуву, тобто її здатність до дилатації, розраховували за формулою:

$$K = (\Delta D / D_0) / (\Delta \tau / \tau_0), \text{ де}$$

ΔD - різниця діаметру ПА при реактивній гіперемії і діаметром ПА в стані спокою, D_0 – діаметр ПА у стані спокою, $\Delta \tau$ – різниця між τ після проведення проби із реактивною гіперемією і початковим НЗ (τ_0).

Достовірність розбіжностей оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Значущими вважали розбіжності при $p < 0,05$. Кореляційний аналіз виконаний із використанням коефіцієнта лінійної кореляції Спірмена за допомогою пакету статистичних програм Statistica 7,0.

Для встановлення механізмів, які складають основу порушення залежних від ендотелію факторів вазорегуляції та гемодинаміки, проведений багатофакторний регресійний аналіз. В якості залежної величини були вибрані показники зміни діаметру ПА та механочутливості судинної стінки у процесі виконання проби із РГ. Розраховували

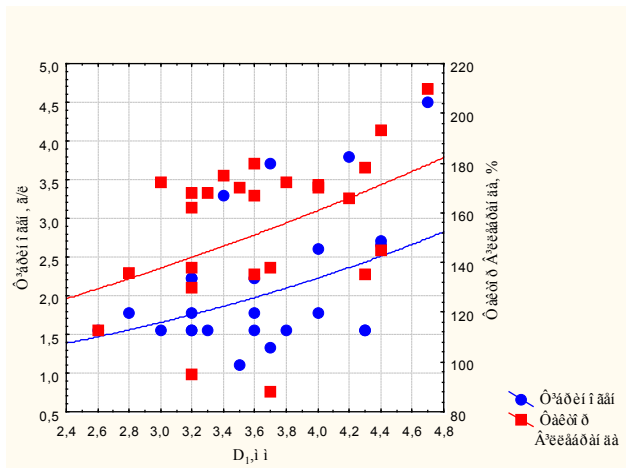


Рис. 1. Предиктори ЕЗВД у пацієнтів із гематогенною тромбофілією (III група): концентрація фібриногену (42,3%) і активність ФВ (38,4%).

коєфіцієнти множинної детермінації (R^2), які визначають загальну узгодженість змін показників і сумарну інформативність тих перемінних, які були використані у процесі розрахунку (пакет статистичних програм SPSS 13,0).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Проведено статистичне дослідження наявності гемостатичних предикторів залежних від КЕ гемодинамічних факторів, а також механочутливості ендотелію у пацієнтів із тромботичними захворюваннями. Встановлено, що у хворих на гематогенну тромбофілію (III група) коєфіцієнт множинної детермінації дорівнював 71,1,0%, а характер ЕЗВД визначався на 42,3% рівнем фібриногену та на 38,4% - активністю ФВ (рис.1).

У хворих на ГГц (IV група) залежна від КЕ вазодилатація на 20,1% визначалась вмістом фібриногену і на 43,5% – кількістю тромбоцитів у периферичній крові (рис.2).

На рис.3 наведено предиктори ЕЗВД у пацієнтів із синдромом ЛТ (V група). ЕЗВД у пацієнтів цієї групи на 40,0% визначається кількістю тромбоцитів і на 22,2% – вмістом КЕ у периферичній крові.

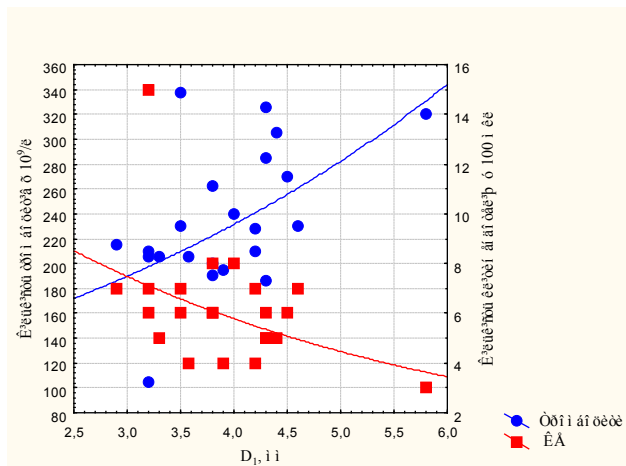


Рис. 2. Предиктори ЕЗВД у пацієнтів із гіпергомоцистеїнемією (IV група): концентрація фібриногену (20,1%), кількість тромбоцитів у периферичній крові (43,5%).

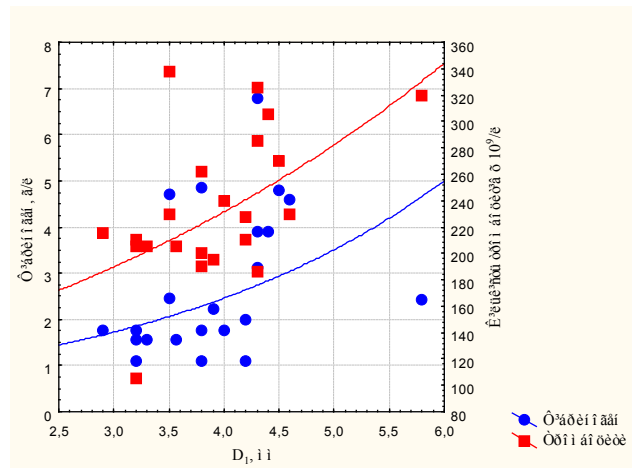


Рис. 3. Предиктори ЕЗВД у пацієнтів із синдромом ЛТ (V група): кількість тромбоцитів (40,0%) і КЕ (22,2%) у периферичній крові.

Проведено визначення гемостатичних предикторів механочутливості ендотелію у пацієнтів із тромботичними захворюваннями. У хворих на тромбофілію такими предикторами на 36,0% виявилась кількість тромбоцитів і на 52,0% – час рекальцифікації (рис.4).

На рис. 5 представлено предиктори механочутливості КЕ у хворих із ГГц. Таким предиктором виявився на 46,1% час Хагеман-залежного фібринолізу.

Великомолекулярні протеїни, а саме фібриноген, ФВ зумовлюють розвиток депресії залежної від КЕ дилатації кровоносної судини у хворих на гематогенну тромбофілію. У цих хворих механочутливість ендотелію, в першу чергу, залежить від кількості тромбоцитів та від показника, який характеризує інтенсивність першої фази згортання крові, а саме – часу рекальцифікації. Таким чином, ФВ, фібриноген, тромбоцити у хворих на тромбофілію впливають на ендотелій і призводять до порушення його здатності брати участь у процесах підтримання тромборезистентності

У хворих на ГГц дисфункція ендотелію також опосередкована фібриногеном плазми та кількістю тромбоцитів в циркуляції. Механочутливість КЕ у

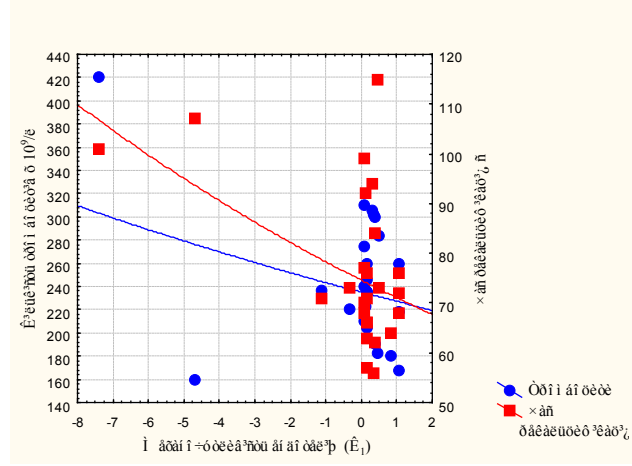


Рис.4. Предиктори механочутливості КЕ (К) у пацієнтів із гематогенною тромбофілією (III група): кількість тромбоцитів (36,0%) та час рекальцифікації (52,0%).

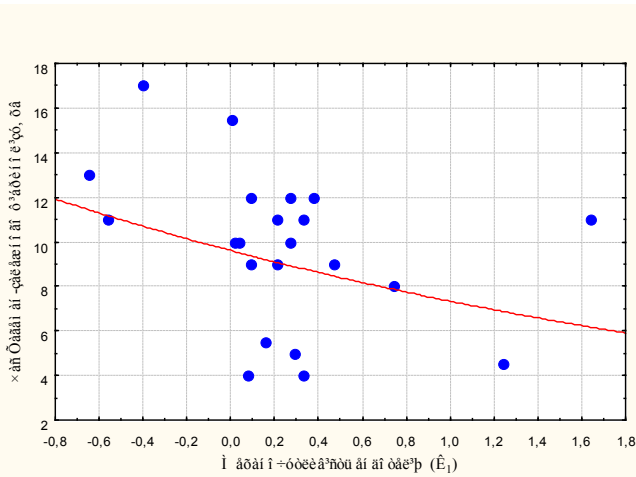


Рис.5. Предиктори механочутливості КЕ (К_с) у пацієнтів із гіпергомоцистеїнемією (IV група): час Хагеман-залежного фібринолізу (46,1%).

цих хворих опосередкована активністю фібринолітичної системи крові. Важливу роль у формуванні гіперкоагуляції відіграє наявність тісних кореляційних зв'язків між функціональною активністю тромбоцитів і лінійними параметрами течії крові. Таким чином, тромботичні ускладнення у хворих на ГГц розвиваються в умовах дисфункції ендотелію а також активації тромбоцитів, яка відбувається переважно у систолічну фазу серцевого циклу.

У хворих із синдромом ЛТ депресія ЕЗВД опосередкована тромбоцитами периферичної крові. Гемостатичних факторів, які б впливали на механочутливі властивості КЕ у цих хворих, не було встановлено. Тромботичні ускладнення у пацієнтів із синдромом ЛТ виникають в умовах значної активації локальної гемодинаміки – зростання систолічної швидкості течії крові, значного підвищення напруження зрушення на ендотелії. Це призводить до зростання міжтромбоцитарних взаємодій, а також взаємодії між тромбоцитами та КЕ, що підтримує та стимулює активацію первинної ланки гемостазу.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів із тромботичними захворюваннями окремі гемостатичні фактори відіграють негативну роль у процесі формування та підтримки тромбофілічного стану.

2. Гемостатичними предикторами залежних від клітин ендотелію факторів периферичної вазорегуляції є великомолекулярні протеїни плазми (вміст фібриногену, активність фактора Віллебранда), кількість тромбоцитів у периферичній крові.

3. Механочутливі властивості ендотелію у хворих із синдромом “липких” тромбоцитів опосередковані активністю фібринолітичної системи крові (час Хагеман-залежного фібринолізу).

ЛІТЕРАТУРА

1. Балахонова Т.В. Ультразвуковое исследование артерий у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Автореф. дисс. д.м.н. – Москва, 2002: 39с.
2. Вознюк В.П. Особенности периферичної гемодинаміки та вазорегуляції у пацієнтів із тромботичними захворюваннями. Гематологія та трансфузіологія 2010; 4: 13 – 21.
3. Лупинская З.А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока. Вестник КРСУ 2003; 7: 1 – 6.
4. Bick R.L. Hereditary and acquired thrombophilic disorders. Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2006; 12(2): 125 – 135.
5. Born G.V.R. Quantitative investigation into the aggregation of blood platelets. J. Physiol 1963; 168: 178 – 195.
6. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk atherosclerosis. Lancet 1992; 340: 1111 – 1115.
7. Edeberg O. Proceedings: Inherited antithrombin III deficiency and thrombo-embolism. Thromb. Diath. Haemorrh. 1975; 34: 366р.
8. Hassouna H.I. Thrombophilia and hypercoagulability. Princ. Pract. 2009; 18(6): 429 – 440.
9. Kolluru G.K., Sinha S., Majumder S. et al. Shear stress promotes nitric oxide production in endothelial cells by subcellular delocalization of eNOS: A basis for shear stress mediated angiogenesis. Nitric Oxide 2010; 22(4): 304 – 315.
10. Mammen E.F., M.I. Bamhart M.I., Selik N.R. et al. “Sticky Platelet Syndrome”: A congenital platelet abnormality predisposing to thrombosis. Folia Haematol. 1988; 115: 361р.
11. Manucci P.M. The molecular basis of inherited thrombophilia. Vox. Sang. 2000;78: 39 – 45.
12. Naess A., Christiansen S.C., Romundstad P.R. et al. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population – results from the HUNT 2 study. Br. J. Haematol. 2008; 141: 529 – 535.
13. Ueki Y., Sakamoto N., Sato M. Direct measurement of shear strain in adherent vascular endothelial cells exposed to fluid shear stress. Biochem. Biophys. Res. Commun 2010; 394(1): 94 – 99.
14. Zhu C., Yago T., Lou J. et al. Mechanisms for flow-enhanced cell adhesion. Ann. Biomed. Eng. 2008; 36(4): 604 – 621.

ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ЗАВИСИМЫХ ОТ ЭНДОТЕЛИЯ ПАРАМЕТРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ВАЗОРЕГУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ТРОМБОТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

В.П.Вознюк

Резюме. Проведено исследование гемостатических предикторов зависимых от клеток эндотелия параметров периферической вазорегуляции у пациентов с тромботическими заболеваниями. Показано, что эндотелий-зависимые сосудодвигательные реакции опосредованы, прежде всего, высокомолекулярными протеинами плазмы (содержанием фибриногена, активностью фактора Виллебранда), а также количеством тромбоцитов в периферической крови.

Ключевые слова: гемостаз, ендотелій, вазорегуляція, тромбофілія, гіпергомоцистеїнемія, синдром “липких” тромбоцитів.

HEMOSTATIC PREDICTORS OF ENDOTHELIUM-DEPENDENT PARAMETERS OF PERIPHERAL VASOREGULATION IN PATIENTS WITH TROMBOTIC DISEASES

V.P. Voznyuk

Summary. Hemostatic predictors of the endothelial cell-dependent peripheral parameters of vasoregulation in patients with thrombotic diseases are determined. It was shown that endothelium-dependent vasomotor reactions are

mediated primarily by high molecular weight plasma proteins (fibrinogen content, von Willebrand factor activity) and the number of platelets in the peripheral blood.

Key words: hemostasis, endothelium, vasoregulation, thrombophilia, hyperhomocysteinemia, sticky platelet syndrome.

Адреса для листування:

Вознюк Валерій Петрович

ДУ “Інститут гематології та трансфузіології НАМН України”

м. Київ, вул. М.Берлінського, 12

Тел.: (044)-440-75-66

Надійшла 14.06.2011

УДК 616.153.915-39:615.387+014.41

*Перехрестенко П.М., Гащук Г.П.,
Калиниченко Т.О., Аношина М.Ю.,
Глухенька Г.Т., Скачкова Н.К.,
Шорон Є.В.*

*ДУ “Інститут гематології та
трансфузіології НАМН України”*

ЗВ'ЯЗОК ПОКАЗНИКІВ ОКИСНО-ВІДНОВЛЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ЯКОСТІ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН ПУПОВИННОЇ КРОВІ ПІД ЧАС КРІОКОНСЕРВУВАННЯ

Резюме. Проведено аналіз зв'язку активації процесів перекисного окислення ліпідів та морфо-функціональних властивостей ядровісних клітин пуповинної крові на етапах процесу кріоконсервування.

Ключові слова: пуповинна кров, ядровісні клітини, кріоконсервування, перекисне окислення ліпідів.

ВСТУП

Сьогодні є актуальним застосування ультранизьких температур при довгостроковому зберіганні гемопоетичної тканини (ГТ), в тому числі – пуповинної крові (ПК) з метою подальшої трансплантації реципієнтам з онкогематологічною патологією. На жаль, незважаючи на вагомі досягнення в створенні таких технологій, кількість загиблих клітин у результаті впливу факторів кріоконсервування все ще лишається значною. Тому, ключовою тенденцією кріобіології на даний період є поглиблене вивчення механізмів кріопшкоджень і кризахисту [1].

Однією з причин втрати клітин при кріоконсервуванні є запуск процесів апоптозу, який пов'язують із початком структурно-функціональних змін клітинних мембран під впливом надлишкового утворення активних форм кисню (АФК). Проявами токсичної дії останніх є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окислення білків, перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) тощо. Це спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах [2, 3]. Протидіє розвитку цих процесів антиоксидантна система захисту (АОЗ) [4]. Порушення під час кріоконсервування – деконсервації рівноваги ПОЛ-АОС у бік ПОЛ може сигналізувати про небезпеку істотного зниження резистентності

клітин до впливу несприятливих факторів. Саме з цих причин вивчення активності процесів ПОЛ у системі “клітина – середовище для кріоконсервування” є необхідним для розуміння шляхів удосконалення технологій зберігання.

З точки зору важливості отримання позитивного результату в процесі заморожування ядровісних клітин (ЯВК) ПК є доцільним проведення комплексного дослідження зв'язку їх морфологічних і функціональних показників та активації процесів ПОЛ, що відбувається під впливом цілої низки чинників на етапах процесу кріоконсервування [5].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчити взаємозв'язок морфо-функціональних показників ЯВК і продуктів ПОЛ у зразках ПК під час зберігання до заморожування, а також на етапах процесу кріоконсервування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом досліджень була суспензія ЯВК ПК. Заготівлю ПК здійснювали за інформованою згодою при фізіологічних пологах у “замкненій” системі пласти-катних мішків для крові та її компонентів (стабілізуючий розчин – CPDA-1). Матеріал зберігали в термоізоляційному контейнері при температурі (21,5±3,5) °С терміном до двох діб. Зразки

ПК досліджували у різних станах: нативному - I група (n=22); після підготовки клітинної суспензії до кріоконсервування шляхом фракціонування та додавання кріопротектора диметилсульфоксид (ДМСО) у кінцевій концентрації 5 % – II група (n=24); у деконсервованому (розморожені зразки) - III група (n=26). Дослідження проводили паралельно на матеріалі, що зберігався з моменту заготівлі до початку процесу кріоконсервування протягом однієї та двох діб. Кріоконсервування ЯВК ПК здійснювали за технологією ДУ “ІГТ НАМНУ” [6] під захистом кріоконсервуючого середовища з кріопротектором ДМСО в концентрації 5 %.

Оцінку зразків клітин ПК проводили морфологічними, функціональними, цитохімічними, біохімічними методами під час зберігання до початку процедури заморожування та на етапах процесу кріоконсервування. Життєздатність клітин визначали за методом Шрека шляхом суправітального забарвлення клітин. Вміст мононуклеарів (МНК) підраховували в мазках крові, забарвлених за Папенгеймом. Оцінку функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів (НГ) проводили за основними показниками фагоцитозу (фагоцитарна активність (ФА), завершеність фагоцитозу (ЗФ), фагоцитарне число (ФЧ). Цитоензиматичне дослідження, що дає можливість виявити в клітинах ПК активність ферменту сукцинатдегідрогеназа (СДГ) на етапах процесу кріоконсервування, проводили за методом [7]. Активність ферменту виражали за середнім цитохімічним коефіцієнтом (СЦК) – середньою кількістю гранул формазану.

Для вивчення загального окислювально-відновлювального потенціалу фагоцитів крові використовували адаптовану до матеріалу модифікацію методу постановки спонтанного тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) [8]. Функціональну активність НГ виражали у відсотках позитивних клітин та шляхом підрахунку СЦК.

Активність процесів перекисного окислення нейтральних ліпідів і фосфоліпідів визначали за методом І.А. Волчегорського в нашій модифікації. Вимірювали вміст ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ), кон'югатів – дієнових (ДК), триєнових (ТК), оксодієнових (ОДК) та кінцевих продуктів ПОЛ типу шифових основ (ШО).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel XP (визначення достовірності різниці вибірових середньоарифметичних значень із використанням t-критерію Стьюдента, кореляційний аналіз).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Раніше було показано, що на всіх етапах кріоконсервування в ПК відбувається активація про-

цесів перекисного окислення нейтральних ліпідів і фосфоліпідів [5]. Проведений кореляційний аналіз взаємозв'язків досліджених показників свідчить про вплив терміну зберігання зразків нативної ПК при кімнатній температурі на вміст ДК у разі перекисного окислення фосфоліпідів на етапі фракціонування та додавання ДМСО ($r = 0,645$; $p < 0,001$), а також на ІПЗ у розморожених зразках ПК, які були кріоконсервовані під час 2-ої доби з моменту заготівлі ($r = -0,593$; $p < 0,001$). У зразках, що заморожені у перші 24 години, такої кореляції не виявлено.

Показана негативна кореляція між часом від моменту заготівлі до моменту заморожування у нативній ПК як з відносними, так і з абсолютними результатами НСТ-тесту ($r = -0,549$, $p < 0,01$; $r = -0,662$, $p < 0,01$, відповідно). Збільшення часу зберігання при позитивній температурі впливає на життєздатність ЯВК у суспензії для кріоконсервування ($r = -0,749$, $p < 0,001$), на вміст ДК ($r = 0,645$; $p < 0,001$) та на індекс первинних продуктів окислення ($r = 0,648$; $p < 0,01$) у разі пероксидації фосфоліпідів. Також на цьому етапі відмічено вплив терміну зберігання при позитивній температурі на ФА ($r = -0,407$; $p < 0,05$).

У нативній ПК 1-ої доби зберігання при позитивній температурі виявлено кореляцію життєздатності ЯВК ПК зі співвідношенням ДК/ШО у разі пероксидації нейтральних ліпідів ($r = -0,567$, $p < 0,01$), а також з показниками НСТ-тесту – вмістом позитивних клітин і СЦК ($r = -0,418$, $p < 0,05$; $r = -0,590$, $p < 0,001$, відповідно). В зразках ПК 2-ої доби зберігання встановлено кореляційну залежність життєздатності від вмісту ШО ($r = -0,530$, $p < 0,05$) та співвідношення ТК/ОДК ($r = 0,528$, $p < 0,05$) у разі пероксидації фосфоліпідів.

У II-й групі зразків (кріоконсервування на другу добу після збору з використанням 5 % ДМСО) зафіксовано кореляційні зв'язки показників життєздатності клітин і співвідношення ДК/ШО ($r = -0,521$, $p < 0,05$) у разі пероксидації нейтральних ліпідів. У відповідній фракції ЯВК 1-ої доби заготівлі ПК знайдено кореляцію життєздатності клітин із вмістом ІПЗ ($r = -0,484$, $p < 0,01$), ДК ($r = -0,479$, $p < 0,01$), ТК ($r = -0,409$, $p < 0,05$), ОДК ($r = -0,416$, $p < 0,05$), а також ІПЗ ($r = -0,650$, $p < 0,001$) і ДК ($r = -0,523$, $p < 0,01$) – у разі пероксидації фосфоліпідів. На цьому ж етапі кріоконсервування виявлено зв'язок показників фагоцитозу і ПОЛ, а саме: ЗФ і ОДК ($r = -0,570$, $p < 0,01$).

Показано вплив терміну зберігання ПК на досліджувані показники у відталих клітинах. Так, у розмороженій суспензії, що була кріоконсервована на першу добу після заготівлі, встановлена кореляція вмісту мононуклеарів і показників пероксидації нейтральних ліпідів, а саме: ШО, ДК/ТК, ДК/

ОДК, ТК/ОДК ($r = -0,406$, $p < 0,05$; $r = 0,402$, $p < 0,05$; $r = 0,406$, $p < 0,05$; $r = -0,526$, $p < 0,01$, відповідно). Відсоток НСТ-позитивних клітин корелює з вмістом ІІЗ ($r = 0,396$,

$p < 0,05$), ТК ($r = 0,419$, $p < 0,05$), ОДК ($r = 0,475$, $p < 0,01$) у разі пероксидації фосфоліпідів та з відносним показником ФА ($r = -0,411$, $p < 0,05$). СЦК НСТ-тесту має взаємозв'язок із показниками ОДК та індексу окислення вторинних продуктів пероксидації фосфоліпідів ($r = 0,447$, $p < 0,05$; $r = 0,383$, $p < 0,05$, відповідно). При пероксидації нейтральних ліпідів встановлена кореляція ЗФ із вмістом ТК ($r = -0,454$, $p < 0,01$), ОДК ($r = -0,458$, $p < 0,01$), з індексом окислення вторинних продуктів ($r = -0,440$, $p < 0,05$). Відмічено взаємозв'язок ФЧ з ДК/ШО ($r = 0,405$, $p < 0,05$), з індексом окислення первинних продуктів ($r = 0,378$, $p < 0,05$). У разі пероксидації фосфоліпідів знайдена кореляція ФЧ із ШО ($r = 0,410$, $p < 0,05$), з індексом окислення кінцевих продуктів ($r = 0,409$, $p < 0,05$), а також ФЧ і ТК/ОДК ($r = -0,533$, $p < 0,01$). Показник ФА корелює зі співвідношенням ДК/ШО ($r = 0,381$, $p < 0,05$), з індексом окислення кінцевих продуктів ($r = 0,378$, $p < 0,05$).

У розморожених зразках ПК, що була кріоконсервована під час другої доби з моменту заготівлі, встановлено кореляційні зв'язки терміну зберігання крові зі співвідношеннями дієнових і триєнових кон'югатів ($r = 0,813$, $p < 0,001$); триєнових та оксодієнових ($r = -0,561$, $p < 0,05$), а також дієнових і оксодієнових кон'югатів ($r = 0,818$, $p < 0,001$) – у випадку окислення нейтральних ліпідів. У разі пероксидації фосфоліпідів, окрім зв'язку терміну зберігання ПК із вмістом ІІЗ

($r = -0,593$, $p < 0,05$) і співвідношенням дієнових і оксодієнових кон'югатів ($r = 0,557$, $p < 0,05$), також виявлено кореляцію між кількістю ЯВК та співвідношенням дієнових кон'югатів і кінцевих молекулярних продуктів ПОЛ ($r = 0,573$,

$p < 0,05$); зв'язку активності СДГ із вмістом ТК ($r = 0,694$; $p < 0,01$), ОДК ($r = 0,628$, $p < 0,01$), а також з індексом окислення вторинних продуктів ПОЛ ($r = 0,615$, $p < 0,01$).

Отже, представлені результати кореляційного аналізу ілюструють взаємозв'язки досліджених у роботі біохімічних, цитохімічних і морфо-функціональних показників ПК на всіх етапах процесу кріоконсервування – розморожування. Доведено існування взаємозв'язку між термінами зберігання зразків ПК до заморожування і показниками активності процесів перекисного окислення нейтральних ліпідів та фосфоліпідів. Враховуючи раніше встановлений факт активації процесів ПОЛ як на етапі підготовки до заморожування (фракціонування та додавання ДМСО), так і у відталій суспензії клітин [5], співставлення всьо-

го комплексу визначених показників ПК засвідчує, що з подовженням часу її зберігання при позитивній температурі прискорюється розвиток процесів оксидативного стресу. Це в подальшому негативно впливає на якість розмороженого матеріалу.

Виходячи з того, що інтенсифікація процесів вільнорадикального окислення під дією АФК на сьогодні вважається однією з основних причин пошкодження і загибелі клітин [9], встановлений кореляційний зв'язок активації процесів ПОЛ і морфо-функціональних властивостей ЯВК ПК на етапах процесу кріоконсервування дає підстави для пошуку можливих шляхів корекції негативних наслідків цього процесу.

ВИСНОВКИ

Показано, що існує прямий взаємозв'язок між показниками активності процесів перекисного окислення нейтральних ліпідів та фосфоліпідів і терміном зберігання зразків ПК до заморожування.

Виявлено прямий зв'язок активації процесів ПОЛ у цільній ПК та в суспензії клітин для кріоконсервування з якісними характеристиками складових деконсервованого зразка.

Отримані результати свідчать про можливість корекції метаболічних порушень у суспензії клітин ПК на етапах кріоконсервування шляхом удосконалення технології довгострокового зберігання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бауст Дж.Г., Бауст Дж.М., Шнайдер К., Баскирк Р.Ван. Биосохранение – уменьшение отрицательных последствий криоконсервирования на молекулярном уровне. Проблемы криобиологии 2008; 18(2): 163.
2. Гончарук Є.Г., Коршун М.М. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля. Журнал АМН України 2004; 10(1): 131 – 150.
3. Flora S.J. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. Cell. Mol. Biol. (Noisyle-grand) 2007; 53(1): 1 – 2.
4. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях (лекция). Клиническая лабораторная диагностика 2010; 6: 28 – 44.
5. Аношина М.Ю., Калиниченко Т.О. Характеристика процесів перекисного окислення ліпідів в зразках пуповинної крові на етапах кріоконсервування. Гематологія і переливання крові. Міжвідомчий збірник. К.: Атіка-Н, 2010; 35: 139–147.
6. Пат. UA №56992 МПК (2011.01) A01N 1/02 A 61K 35/14 Спосіб кріоконсервування ядровмісних клітин пуповинної/плацентарної крові. Перехрестенко П.М., Калиниченко Т.О., Глухенька Г.Т. (ДУ “ІГТ АМНУ”) З. u201006071, Заявл. 19.05.2010. Опубл. 10.02.2011; Бюл. № 3.
7. Петров С.А., Чернадрук С.С., Захаричева З.Е. и др. Влияние витамина В₆ на активность некоторых ферментов цикла трикарбоновых кислот. Вісник Харківського

нац. університету ім. В.Н. Каразіна. Серія: біологія 2007; 5(768): 35–39.

8. Клименко Т.М. Тест восстановления нейтрофилами нитросиногетразолия в диагностике некротизирующего энтероколита у недоношенных новорожденных. Здоровье ребенка 2008; 12(3): 10–15.

9. Луцзяк В.І., Багнюкова Т.В., Лужна Л.І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів. Український біохімічний журнал 2006; 78(5): 113–119.

СВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНО - ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА И КАЧЕСТВА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ВО ВРЕМЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

Перехрестенко П.М., Калиниченко Т.А., Аношина М.Ю., Глухенькая Г.Т., Гащук А.П., Скачкова Н.К., Шороп Е.В.

Резюме. Проведен анализ связи активации процессов перекисного окисления липидов и морфофункциональных свойств ядросодержащих клеток пуповинной крови на этапах процесса криоконсервирования.

Ключевые слова: пуповинная кровь, ядросодержащие клетки, криоконсервирование, перекисное окисление липидов.

THE OXIDATION AND RECOVERY METABOLIC FIGURES AND UMBILICAL CORD BLOOD NUCLEAR CELL QUALITY'S CONNECTION DURING THEIR CRYOPRESERVATION

Perekhrestenko P.M., Kalynychenko T.O., Anoshina M.U., Glukhen'ka G.T., Gashchuk G.P., Skachkova N.K., Shorop E.V.

Summary. The connection analysis of the lipid peroxide oxidation process activation and the morphology and functional property of the umbilical cord blood nuclear cells has been made during their cryopreservation stages.

Key words: umbilical cord blood, nuclear cells, cryopreservation, lipid peroxide oxidation.

АДРЕСА ДЛЯ ЛИСТУВАННЯ:

Калиниченко Тетяна Олексіївна,
ДУ „ІГТ НАМНУ”,
04060, м. Київ, вул. М. Берлінського, 12
Тел. (044) 440-31-55

Надійшла 19.05.2011

УДК

Гусева С.А.¹, Гончаров Я.П.²¹ Национальная академия последипломного образования им. П.Л.Шупика,² Главный военно-медицинский клинический центр «Главный военный клинический госпиталь» МО Украины**ДЕФИЦИТ ВИТАМИНА В₁₂ (Лекция, 1 часть)**

Резюме. Представлены современные знания о распространенности, причинах, клинической картине и диагностики дефицита витамина В₁₂.
Ключевые слова: дефицит витамина В₁₂, причины, клиническая картина, диагноз.

Дефицит витамина В₁₂ (ДвВ₁₂) – патологическое состояние, характеризующееся недостаточным содержанием метаболически активных форм витамина В₁₂ (вВ₁₂) в организме, которое развивается вследствие его неадекватного поступления с пищей, нарушения всасывания или транспорта в организме [4, 10]. В развитии ДвВ₁₂ выделяют несколько этапов: истощение запасов вВ₁₂, функционально-метаболические нарушения и клинические проявления ДвВ₁₂ [17]. Наиболее характерным клиническим проявлением ДвВ₁₂ является витамин-В₁₂-дефицитная анемия (В₁₂ДА), которая относится к мегалобластным анемия (МА), связанным с нарушением синтеза ДНК. Это большая группа приобретенных и наследственных заболеваний, общим признаком которых является наличие в костном мозге (КМ) характерных клеток – мегалобластов. Вследствие происходящего при ДвВ₁₂ нарушения нормального кроветворения в крови появляются эритроциты большего, чем в норме размера (макроциты) [3, 11, 14, 17].

Эпидемиология. ДвВ₁₂ распространен среди лиц пожилого возраста, вегетарианцев, беременных женщин и пациентов терапевтических, неврологических и психиатрических стационаров.

Витамин В₁₂ (**кобаламин**) – водорастворимый кобальт-содержащий витамин, играет важное значение в нормальном функционировании КМ и нервной системы. Кобаламины (КБ) – группа молекул, имеющих структурное сходство и различающихся структурой лиганда, соединенного с атомом кобальта. Различают цианкобаламин (ЦКБ), гидроксикобаламин (ГКБ), метилкобаламин (МКБ) и аденозилкобаламин (АКБ) [9]. В организме человека КБ существует в виде двух активных форм: АКБ (кофактор метилмалонил-КоА мутаза (ММ-КоАМ) и МКБ (кофактор метионин синтетазы). ЦКБ и ГКБ превращаются в эти формы в результате метаболической конверсии *in vivo* [9, 21].

Источниками вВ₁₂ в природе являются КБ-продуцирующие микроорганизмы (бактерии, грибы и водоросли). В организме человека отсутству-

ют ферментные системы для синтеза этого витамина. Человек получает вВ₁₂ исключительно с пищей животного происхождения. В толстом кишечнике человека, происходит синтез вВ₁₂ микроорганизмами. Пищевой КБ устойчив к высокой температуре, однако может инактивироваться под действием аскорбиновой кислоты. В среднем, за сутки в организм человека поступает 5 – 7 мкг вВ₁₂. В организме взрослого человека содержится 2 – 5 мг КБ в виде коэнзимных форм (МКБ и АКБ), причем около 1 – 1,5 мг хранится в печени (депо). Суточные потери этого витамина составляют около 0,1% запасов. Таким образом, при нарушении всасывания вВ₁₂ запасы его могут истощиться в течение 3 – 4 лет. Однако, при недостатке вВ₁₂ в пище это происходит несколько позднее вследствие существования энтеро-печеночной циркуляции КБ, благодаря которой повторно всасывается из кишечника около 5 – 10 мкг вВ₁₂ в сутки.

Всасывание и транспорт витамина В₁₂. В норме вВ₁₂ поступает в организм с животной пищей в виде АКБ или МКБ (рис 1) и в желудке под действием пепсина и HCl освобождается от пищевых белков и соединяется с R-белком слюны и желудочного сока [9, 18]. R-белок (рис. 1) в кислой и нейтральной средах имеет значительно большую аффинность к вВ₁₂, чем внутренний фактор (ВФ), который вырабатывается париетальными клетками желудка (ПКЖ). ВФ имеет два связывающих сайта: один с вВ₁₂, другой – со специфическим рецептором кишечника. ВФ секретируется в количествах, значительно превышающих потребность для абсорбции КБ, и его выработка регулируется, аналогично выработке HCl (т.е. при участии вагуса и гормональной стимуляции). Секреция ВФ ингибируется длительным приемом H₂-блокаторов и не зависит от приема блокаторов протонной помпы, но длительный прием ингибиторов протонной помпы может приводить к ахлоргидрии и снижению всасывания КБ [9]. Количество ВФ, содержащегося в 2 – 4 мл желудочного сока, достаточно для компенсации ДвВ₁₂ при его недостатке. При отсутствии ВФ всасывается менее 2% вВ₁₂, а при его наличии – око-

ло 70%. Далее комплекс V_{12} -R-белок поступает в 12-перстную кишку, где под действием панкреатических протеаз R-белок подвергаются деградации, а высвободившийся из комплекса vV_{12} связывается в течение 10 минут с ВФ (рис. 1), (энтеро-печеночный кругооборот vV_{12}). Примерно у 30% пациентов с недостаточностью поджелудочной железы развивается нарушение всасывания vV_{12} [9]. Щелочная среда в 12-перстной кишке укрепляет связь ВФ с vV_{12} в результате чего комплекс ВФ- vV_{12} в форме олигомеров или димеров пассивно продвигается к подвздошной кишке, где расположена группа специфических рецепторов к этому комплексу: кубулин (*cubilin*, *CUBN*), *amnionless* (*AMN*), *receptor-associated protein* (*RAP*) и *megalin* (*LRP-2*).

Рецептором комплекса ВФ- vV_{12} является комплекс *cubilin-amnionless* (*CUBAM*) (рис 1) [6]. Максимальное количество кубулина располагается в микроворсинках слизистой терминального отдела подвздошной кишки, а также на щеточной кайме проксимального отдела почечных канальцев. Аналоги КБ, поступившие с пищей или с желчью в 12-перстную кишку и связанные с R-белком, не переходят к ВФ и выделяются с калом [9]. Незначительная часть vV_{12} (в свободном или кристаллическом виде) – около 1 – 5 % – может всосаться пассивной диффузией по ходу всего кишечника без участия ВФ. Этот механизм срабатывает при приеме vV_{12} в больших дозах (более 1000 мг). Этим же объясняется терапевтический эффект перорального приема vV_{12} , при отсутствии секреции ВФ [4, 15]. Механизм переноса vV_{12} энтероцитом в кровоток точно не изучен. После связывания со специфическим рецептором комплекс ВФ- vV_{12} путем эндоцитоза проникает внутрь энтероцита, при этом ВФ распадается и деградирует, а КБ поступает в интрацеллюлярное пространство энтероцита [4, 15]. Внутри или на базальной поверхности энтероцита КБ связывается с белком переносчиком транскобаламином II (ТКБII) и поступает в воротный кровоток печени. Этот комплекс иначе называется холотранскобаламином (ХТКБ) (*holotranscobalamin*) (рис. 1) и является основной формой переноса метаболически активного vV_{12} в организме. ТКБII в течение 6 – 8 минут исчезает с кровотока, связываясь со специфическими рецепторами в различных тканях. Около 10 – 30% циркулирующего vV_{12} связано с ТКБII. Большая же часть vV_{12} , находящегося в крови, связана с ТКБI (гаптокоррин), меньшая часть – с ТКБIII. ТКБI не является транспортным белком и связанный с ним КБ находится в циркуляции в течение 9 – 12 дней, но вероятно, является плазменным депо vV_{12} . ТКБIII функционирует как транспортный белок и удаляется из крови в течение 3 минут, связываясь

со специфическими рецепторами в печени. При этом КБ экскретируется с желчью в кишечник. Функционально ТКБIII связывает большой спектр аналогов vV_{12} (псевдовитамины V_{12}) и экскретируют их с желчью для удаления из организма с фекалиями. В то же время 0,5 – 9 мкг КБ связываются с ТКБ II, который, в свою очередь, образует связь со специфическими рецепторами гепатоцитов и поступает с желчью в кишечник. В результате существующего энтеро-печеночного кругооборота КБ около 65 – 75% выделившегося с желчью vV_{12} повторно всасывается. Печень является основным органом для хранения vV_{12} , а почки – органом, регулирующим запасы vV_{12} в организме и его уровень в крови [7, 9].

Поглощение тканями комплекса ТКБII- vV_{12} осуществляется при участии «*megalin-TKII* рецептора». Опосредованный этим рецептором эндоцитоз играет ключевую роль в гомеостазе КБ. ТКБII отвечает за клеточное поглощение vV_{12} в большинстве тканей, и дефицит ТКБII (ДТКБ II) приводит к развитию тяжелой МА. Следует отметить, что мегалин и кубулин являются рецепторами специфическими не только для абсорбции и поглощения тканями КБ но и для альбумина, трансферрина и других белков [15, 17]

Участие витамина V_{12} во внутриклеточном метаболизме. После поглощения клеткой комплекс ТКБ II- vV_{12} находится внутри лизосомы, где в кислой среде происходит диссоциация комплекса (рис. 2). ВФ в дальнейшем деградирует, а КБ поступает во внутриклеточное пространство и превращается в коэнзимные формы. Более 95% внутриклеточного КБ связывается с двумя внутриклеточными ферментами: ММ-КоАМ и метионин синтетазой, имеющими критическое значение для синтеза ДНК, РНК и биосинтеза белков. Витамин V_{12} поступает внутрь клетки в неактивной форме в виде КБ(III). В дальнейшем под действием редуктаз он превращается в КБ (II) и далее в КБ (I) [7, 9]. В митохондриях КБ (I) превращается в коэнзимную форму – аденозилкобаламин (рис 2). ММ-КоАМ в присутствии АКБ превращает ММ-КоА в сукцинил-Коа. Эта реакция играет важную роль в метаболизме пропионата и синтезе жирных кислот [23, 26]. В цитоплазме КБ в виде МКБ функционирует как коэнзим в реакциях метионин синтетазы, которая катализирует перенос метильной группы от МКБ к гомоцистеину с образованием метионина (рис 2). При этом МКБ превращается в КБ (I). Метил группа 5-метилтетрагидрофолиевой кислоты (5-метилТГФК), в свою очередь, является донором метильной группы для КБ (I) с регенерацией МКБ. 5-метилТГФК при этом превращается в тетрагидрофолиевую кислоту (ТГФК). Метионин

синтетаза также катализирует конверсию S-аденозил-метионина в S-аденозилгомоцистеин. Это обусловлено структурной особенностью метионин синтетазы, которая имеет четыре связывающих участка: с гомоцистеином, 5-метилТГФК, кобаламином и S-аденозил-метионином [8, 9].

Патогенез развития мегалобластных изменений в клетках. Механизмы, по которым развиваются мегалобластные изменения в клетках при ДвВ₁₂, до конца не исследованы. Известно, что ДвВ₁₂ приводит к развитию функционального внутриклеточного дефицита 5,10-метилентетрагидрофоловой кислоты (5,10-метилентГГФК) (рис 3), которая во внутриклеточных реакциях может использоваться по двум направлениям. В цикле тимидилата при участии тимидилат синтазы (2 на рис 3) из дезоксиуридинмонофосфата (dUMF) образуется дезокситимидинмонофосфат (dTMF), используемый в синтезе ДНК. При участии метилентетрагидрофолат редуктазы (1 на рис 3) образуется 5-метилТГФК, используемая в метилатном цикле. Оба эти пути являются крайне необходимыми особенно для синтеза ДНК [3, 9].

Основной формой хранения фолиевой кислоты (ФК) внутри клетки является полиглутаминированная ТГФК, образующаяся из ТГФГ при участии фолиполиглутамат синтазы. Именно полиглутаминированная ТГФК является источником образования активных внутриклеточных форм ФК. Согласно гипотезе «метилфолатной ловушки» (пункт А на рис 3), в результате нарушения функционирования метионин синтетазы образуется избыточное количество 5-метилТГФК. В связи с тем, что 5-метилТГФК может проникать через клеточную мембрану, возникает потеря клеткой этой формы ФК (пункт Б на рис 3) и таким образом прекращается образование ТГФГ, ее полиглутаминированной формы и развивается внутриклеточный дефицит метаболитов ФК. Согласно гипотезе «форматного голода», недостаточное образование метионина при ДвВ₁₂ приводит к уменьшению образования формата, необходимого для нормального метаболизма активных форм ФК (пункт В на рис 3). В первую очередь нарушается синтез 5-формилТГФК и 10-формилТГК. В конечном итоге возникает внутриклеточный дефицит 5,10-метилентТГФК, играющей ключевую роль в синтезе ДНК (рис. 3) [9].

Витамин В₁₂ в виде МКБ является необходимым коферментом метионин синтетазы, и при его отсутствии 5-метилТГФК не может превратиться в ТГФК и ее производные, полиглутамироваться и сохраняться внутри клетки. В результате этого возникает дефицит 5,10-метилент-ТГФК (рис 3), необходимой для синтеза ДНК. Недостаток синте-

за пуриновых нуклеотидов может быть частично компенсирован уменьшением их распада [3, 9, 17].

Патогенез развития неврологических дисфункций. В связи с тем, что и дефицит вВ₁₂ и ФК приводят в конечном итоге к развитию функционального внутриклеточного дефицита коэнзимных форм ФК, возникающие при этих двух состояниях мегалобластные изменения в клетках являются идентичными. Однако, только для ДвВ₁₂ характерна пятнистая демиелинизация серого вещества в головном и спинном мозге (СМ) и периферических нервах, приводящая к различным церебральным аномалиям и подострой комбинированной дегенерации СМ (фуникулярный миелоз) [3, 4]. Патогенез этих изменений окончательно не установлен. Большинство исследователей связывают их с нарушением превращения в митохондриях метилмалонил-КоА (ММКоА) в сукцинил-КоА при участии ММКоА-мутаза, коферментом которой является АКБ (рис 2). ММ-КоА является конечным метаболитом при распаде жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. При ДвВ₁₂ ММ-КоА накапливается в избыточном количестве в клетках (является токсичным) и включается в синтез жирных кислот (которые становятся аномальными). Миелин оболочки нервных клеток является структурным элементом, который состоит на $\frac{3}{4}$ из липидов (во всех остальных структурных элементах клеток организма доля липидов меньше), и поэтому нарушение метаболизма жирных кислот в первую очередь возникает в нем [3, 9]. Другим важным фактором развития неврологической симптоматики при ДвВ₁₂ является недостаток метионина вследствие нарушения функционирования метионин синтетазы (рис 2) [9].

Этиология и патогенез развития дефицита витамина В₁₂

Этиопатогенетическая классификация дефицита витамина В₁₂

I. Дефицит вВ₁₂ в пище: вегетарианцы, беременные, пациенты с неадекватным питанием.

II. Неадекватное высвобождение вВ₁₂ из пищевых белков: атрофический гастрит, гипохлоргидрия, длительное использование блокаторов протонной помпы и H₂-блокаторов.

III. Дефицит ВФ: наследственный дефицит и аномалии ВФ, гастрэктомия, пернициозная анемия, химическое повреждение слизистой желудка.

IV. Внутрикишечные нарушения всасывания вВ₁₂: недостаточное образование или инактивация панкреатических протеаз и конкурентное потребление вВ₁₂ в кишечнике бактериями или паразитами.

V. Патология кишечной стенки и рецепторов к комплексу ВФ-В₁₂: уменьшение или отсутствие рецепторов к комплексу ВФ-вВ₁₂ (кишечные ана-

стомозы, резекция кишечника, фистулы); дефекты рецепторов к комплексу ВФ-вВ₁₂ (синдром Иммерслунд – Гресбека, дефицит ТКБ II); патологические изменения в стенке кишечника (спру, целиакия (нетропическое спру), болезнь Крона, туберкулезный илеит, лимфома с поражением стенки кишечника, амилоидоз, медикаментозное нарушение всасывания вВ₁₂ в кишечнике.

VI. Нарушение транспорта вВ₁₂ в плазме: наследственный ДТКБ II; нарушение образования комплекса ТКП-вВ₁₂.

VII. Изолированное нарушение внутриклеточного метаболизма витамина В₁₂: врожденные дефекты ферментных систем и приобретенные нарушения.

Недостаточное поступление вВ₁₂ с пищей является редкой причиной развития клинически значимого ДвВ₁₂ (у 2 % пожилых пациентов развитых странах) [15]. Дефицит КБ (ДКБ) при нарушении диеты развивается обычно у вегетарианцев, которые полностью избегают употребления продуктов животного происхождения (даже яиц и творога) [10,17]. Невегетарианцы в развивающихся странах, потребляющие продукты животного происхождения не регулярно и в недостаточном количестве из-за дороговизны, также, относятся к группе риска развития ДвВ₁₂ [10]. Высокий риск возникновения ДвВ₁₂ наблюдается у беременных и кормящих грудью женщин, пациентов с аутоиммунными расстройствами, лиц с ВИЧ-инфекцией [17]. ДвВ₁₂ часто выявляется у пациентов психиатрических стационаров (пациенты с анорексией, строгие вегетарианцы) и пожилых пациентов, длительно пребывающих в закрытых учреждениях [15].

Неадекватное высвобождение вВ₁₂ из пищевых белков. В развитых странах и Украине причиной ДвВ₁₂ чаще является нарушение его всасывания, а не недостаточное его содержание в пище. Установлено, что нарушение всасывания КБ является причиной развития дефицита у 87 % пожилых пациентов, причем у 53 – 60 % вследствие «синдрома мальабсорбции пищевого кобаламина» [15, 17]. Этот синдром, описанный Кармелем в 1995 году, характеризуется неспособностью организма освободить КБ из пищи при нормальном всасывании не связанного (кристаллического) КБ.

Синдром мальабсорбции пищевого КБ характеризуется более мягкой клинической картиной, однако встречаются и случаи с серьезной классической картиной, в том числе полинейропатией, спутанностью сознания, слабоумием, подострым дегенеративным склерозом, анемией и панцитопенией. Частичный характер мальабсорбции при этом синдроме приводит к более медленно прогрессирующему истощению КБ, чем при полной

мальабсорбции, обусловленной отсутствием ВФ [15]. Этот синдром обусловлен прежде всего атрофическим гастритом, который наблюдается более чем у 40% лиц старше 80 лет. Атрофия желудка, сопровождается ахлоргидрией, при которой значительно снижается протеолитическая активность пепсина и нарушается высвобождение вВ₁₂ из пищевых белков. К нарушению всасывания вВ₁₂ у пожилых людей может приводить хроническое носительство *H. pylori* и повышенный бактериальный рост в кишечнике. Инфицирование *H. pylori* выявляется у 56 % больных с ДвВ₁₂. У 40% этих пациентов ДвВ₁₂ купируется антибактериальной терапией, Установлено, что лечение инфицирования *H. pylori* в течение 1 года приводит к значительному росту средней концентрации вВ₁₂ (от 146 мкмоль/л до 271 мкмоль/л) и снижению средней концентрации общего гомоцистеина (ГЦ) (от 41 мкмоль/л до 13 мкмоль/л) [17]. Длительный прием антацидов (Н₂-блокаторов, ингибиторов протонной помпы), особенно у пациентов с синдромом Золлингера – Эллисона и употребление бигуанидов (метформин) приводят к развитию ДвВ₁₂ у 20 % пациентов. К развитию ДвВ₁₂ может приводить хронический алкоголизм, сопровождающийся атрофическим гастритом и ахлоргидрией [15].

Дефицит внутреннего фактора.

Наследственный дефицит и аномалии ВФ характеризуется дефицитом отсутствием секреции ВФ клетками желудка. В течение первых 6 месяцев жизни у детей показатели крови нормальны за счет вВ₁₂, поступившего от матери. Заболевание обычно проявляется в возрасте от 6 месяцев до 5 лет с потери веса, появления восковой бледности, часто с иктеричностью склер и кожи, геморрагических проявлений на коже и слизистых, частых рецидивирующих инфекций. Появляется характерная для ДвВ₁₂ неврологическая симптоматика. Иногда резко снижаются спинальные рефлексы, вплоть до атаксии. При обследовании выявляется картина МА, уровень сывороточного КБ (СКБ) резко снижен, отсутствуют антитела (АТ) к ПКЖ и ВФ. Употребление желудочного сока или ВФ нормализует всасывание [3, 4, 22, 23]. Описаны случаи ДвВ₁₂ при которых содержание ВФ нормально, но структура его нарушена, что приводит к ухудшению всасывания вВ₁₂. В редких случаях (у 1 % пациентов) причиной заболевания являются резекция желудка или реконструктивные операции на желудке. ДвВ₁₂ в этих случаях развивается вследствие утраты значительного количества ПКЖ и значительного снижения или полной потерей образования ВФ [15].

Пернициозная анемия (ПА) (болезнь Аддисона – Бирмера) является наиболее частой причиной

ДвВ₁₂ и выявляется в среднем у 33% пациентов [15, 22]. Анемия развивается вследствие ДвВ₁₂, обусловленного недостаточным образованием и секрецией ВФ на фоне атрофического гастрита типа А, который характеризуется разрушением слизистой оболочки дна и тела желудка с потерей ПКЖ, которые обычно вырабатывают НСІ и ВФ [19]. Ранее считалась, что ПА особенно распространена среди лиц скандинавского, английского или ирландского происхождения, и гораздо реже встречается у лиц кавказского, итальянского или греческого происхождения [19]. Тем не менее, в последнее время болезнь была зарегистрирована у чернокожих и латиноамериканцев [19, 22] и часто выявляется у пациентов в США, Турции, Италии и даже Японии. Причина неоднородного распределения ПА между различными этническими группами пока не известна, но, вероятно, заключается в различном генетическом фоне. Ежегодно ПА возникает у 25 лиц на 100 000 населения старше 40 лет [10]. Недавно проведенные исследования показали, что у 1,9 % лиц старше 60 лет имеется не диагностированная ПА [19]. Имеются сообщения о более частом развитии ПА у женщин старше 60 лет: распространенность ПА среди женщин составляет 2,7%, а среди мужчин – 1,4%. Однако по другим исследованиям это преобладание не было выявлено [31].

Средний возраст больных ПА в момент диагностики больных колеблется от 59 до 62 лет. Однако установлено [19], что среди пациентов с ДвВ₁₂ около 50% составляют лица моложе 60 лет, причем 4% больных – моложе 30 лет, а 10 % – лица в возрасте от 30 до 40 лет. Эти данные оспаривают общее понятие, что ПА является эксклюзивно болезнью пожилых людей и предполагают, что в клинической практике ПА может развиваться и у более молодых пациентов [19].

ПА считается аутоиммунным заболеванием из-за частого присутствия аутоАТ против ВФ и ПКЖ. ПА является заключительным этапом хронического атрофического аутоиммунного гастрита, который приводит к потере ПКЖ. Как правило, от начала развития хронического атрофического гастрита типа А до появления ПА проходит от 20 до 30 лет [19, 22]. В сыворотке крови и желудочном соке появляются аутоАТ к ПКЖ и продуктам их секреции, в частности к ВФ. В последнее время доказано, что аутоАТ против ПКЖ, распознают расположенную на их поверхности Н⁺/К⁺-АТФазу. В тоже время пока не доказано, что выявляемые в крови АТ против Н⁺/К⁺-АТФазы являются патогенными в естественных условиях, так как желудочные Н⁺/К⁺-АТФазы не доступны для циркулирующих АТ. Аутоиммунный гастрит характеризуется

также утратой и зимогенных клеток желудка, вырабатывающих пепсин, но их утрата является вторичной по отношению к потере ПКЖ [22].

Мальабсорбция вВ₁₂ у больных ПА связана с двумя механизмами нарушением всасывания, опосредованного ВФ: первый связан с уничтожением и окончательной утратой ПКЖ, что приводит к снижению и прекращению выработки ВФ, а второй механизм обусловлен блокированием аутоАТ вВ₁₂-связывающего участка ВФ или всего комплекса ВФ-вВ₁₂ [22].

Аутоиммунный генез заболевания подтверждается и наличием инфильтрации мононуклеарными клетками (лимфоцитами и плазматическими клетками) слизистой оболочки желудка с потерей париетальных и зимогенных клеток, восстановлением количества этих клеток после лечения кортикостероидами или иммунодепрессантами, семейной предрасположенностью и ассоциацией с аутоиммунными заболеваниями [9, 22]: с хроническим аутоиммунным тиреоидитом (тиреоидитом Хашимото), диффузным токсическим зобом (болезнью Грейвса) (3 – 41%), инсулин-зависимым сахарным диабетом (3 – 4%), болезнью Аддисона, первичной недостаточностью яичников, первичным гипопаратиреозом, витилиго (2 – 8%), миастенией, синдромом Ламберт-Итона, гипогаммаглобулинемией взрослых и аутоиммунным полиэндокринным синдромом типа II.

Экспериментальные и клинические данные убедительно свидетельствуют об участии *H. pylori* в патогенезе хронического атрофического гастрита типа А и ПА. Однако, в настоящее время до сих пор обсуждается вопрос о возможности включения ПА в число долгосрочных последствий гастрита, обусловленного *H. pylori*. В качестве основного механизма индукции аутоиммунных заболеваний желудка, обусловленных *H. Pylori* (гипотеза «молекулярной мимикрии») считается, что инфицирование *H. pylori* может играть важную роль в развитии аутоиммунных процессов у генетически предрасположенных пациентов с ПА. При длительном существовании инфицирования *H. Pylori* активный воспалительный процесс заменяется аутоиммунным, опосредованным аутореактивными CD4⁺ Т-клетками в слизистой желудка, которые распознают Н⁺/К⁺-АТФазы, как антигены *H. pylori*. В конечном итоге развивающийся аутоиммунный процесс приводит к необратимому разрушению слизистой желудка. Для пациентов с ПА и наличием АТ к ВФ характерно повышение соотношения Тх/Тс. Отсутствие *H. pylori* у части пациентов с ПА скорее всего означает, что для уже развившегося аутоиммунного процесса наличие возбудителя уже является необязательным [16, 19].

Установлено, что за много лет до возникновения ПА развивается ахлоргидрия и атрофия слизистой желудка, связанные с *H. pylori*, сопровождающиеся ЖДА. Кроме того дефицит железа (Fe) может присутствовать одновременно с ПА [16, 19].

Химическое повреждение слизистой дна и тела желудка. К развитию ДвВ₁₂ может привести химическое повреждение слизистой желудка со значительным повреждением слизистой в области дна и тела желудка и, как следствие, нарушением выработки ВФ [9].

Внутрикишечные нарушения всасывания витамина В₁₂

Недостаточность панкреатических протеаз. Примерно у 30% пациентов с выраженной внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы нарушается расщепление в 12-перстной кишке комплекса R-белок-вВ₁₂. Вследствие этого не происходит связывания вВ₁₂ и ВФ и нарушается всасывание вВ₁₂ в кишечнике посредством рецептора CUBAM [9, 17].

Инактивация панкреатических протеаз. Панкреатические протеазы могут инактивироваться вследствие желудочной гиперсекреции, наблюдаемой при синдроме Золингера – Эллисона: сочетании гиперпаратиреоза, множественных язв в желудке и 12-перстной кишке, аденом островков поджелудочной железы. Кроме того, отмечаемое при этом заболевании продолжительное снижение рН кишечного содержимого приводит к нарушению связывания комплекса ВФ-вВ₁₂ с CUBAM рецептором, и опосредованным этим всасыванием вВ₁₂ (оптимальная рН этого процесса 5,4) [9]. Длительное использование антацитов (ингибиторов Н₂-рецепторов и протонной помпы) может быть еще одной причиной развития ДвВ₁₂ при этом заболевании. Клиническая картина характеризуется болями с локализацией в подложечной области и сопровождается изжогой, тошнотой, рвотой и диареей. Определяется резко повышенная секреция желудочного сока и высокое содержание в нем НСІ. Обычно сочетается с язвенными поражениями желудка или 12-перстной кишки, склонными к кровотечениям [2, 9].

Конкурентное потребление вВ₁₂ в кишечник/ Относительно стерильное состояние в тонком кишечнике поддерживается сочетанием механических (нормальная перистальтика) и химических (НСІ) факторов. Их нарушение предрасполагает к колонизации кишечника бактериями. Многие из которых потребляют вВ₁₂, высвобождаемый в кишечнике от R-белка, и не позволяют ему связываться с ВФ, таким образом приводя к ДвВ₁₂. Кроме того, многие из этих бактерий продуцируют аналоги КБ, конкурирующие с вВ₁₂, и имеющие

антикобаламиновый эффект. Недостаточность вВ₁₂, развивающаяся по этой причине, может быть устранена кратковременным (7 – 10 дней) приемом антибиотиков. В некоторых ситуациях это патологическое состояние устраняется после проведения реконструктивных оперативных вмешательств. Избыточный бактериальный рост в кишечнике, связанный с атрофией желудка и гипохлоргидрией, также может быть купирован после приема антибиотиков [9].

Конкурентный расход вВ₁₂ наблюдается иногда при инвазии широким лентецом (*Diphyllobothrium latum*). Заражение человека дифиллоботриозом происходит при употреблении в пищу инвазированной рыбы в виде «строганины», обжаренной на костре, слабо соленой, а также сырой и мало соленой икры [4]. Дифиллоботриозы распространены в умеренных и субарктических широтах. Для своей жизни широкий лентец нуждается в значительном количестве вВ₁₂. Для того, чтобы развилась В₁₂ДА требуется 4 – 5 лет пребывания широкого лентеца в кишечнике [4, 9].

Патология кишечной стенки и рецепторов к комплексу ВФ-В₁₂

Уменьшение или отсутствие рецепторов к комплексу ВФ-вВ₁₂/ Дистальные отделы подвздошной кишки имеют наибольшую плотность рецепторов CUBAM. Отсутствие только 30 – 60 см терминального отдела подвздошной кишки вследствие резекции, кишечных анастомозов или наличия фистул приводит к значимому уменьшению количества CUBAM рецепторов и развитию Дв В₁₂ [9].

Дефекты рецепторов CUBAM или пострецепторные дефекты. Синдром Имерслунд-Гресбека/ Группа относительно редких наследственных аутосомно-рецессивных заболеваний, приводящих к селективному нарушению всасывания вВ₁₂ у детей, сопровождаемых небольшой, персистирующей и неселективной протеинурией, объединена в синдром Имерслунд – Гресбека. Характеризуется нарушением роста и развития, склонностью к инфекционным заболеваниям и неврологическими нарушениями. Мягкая протеинурия (без признаков заболевания почек) присутствует у большинства пациентов. Тесты поглощения вВ₁₂ показывают низкое поглощение витамина, не устраняемое после введения экзогенного ВФ. Симптомы появляются в возрасте 2 – 10 лет. Этот синдром был впервые описан в Финляндии и Норвегии, где показатель распространенности составляет около 1:200000 населения. Причиной этого является дефект рецептора к комплексу ВФ-вВ₁₂, находящегося на поверхности энтероцитов. В большинстве случаев, молекулярной основой избирательной мальабсорбции и протеинурии является мутация

в одном из двух генов, cubilin (*CUBN*) на хромосоме 10 и amnionless (*AMN*) на хромосоме 14. Оба белка являются компонентами кишечного рецептора CUBAM энтероцитов и почечных канальцев. Болеют дети обоего пола. В клинической картине характерными жалобами являются общая слабость, отсутствие аппетита, рвота, отставание в развитии. При объективном обследовании выявляется сухость и шелушение кожи, атрофический глоссит. Характерны частые пневмонии с десквамацией эпителия бронхов и альвеол. Диагностика основана на наличии МА, протеинурии, устойчивой к терапии vB_{12} , нормальной или субнормальной желудочной секреции, нормальном содержании в желудочном соке ВФ, отсутствии АТ к ПКЖ и ВФ, нарушением кишечного всасывания vB_{12} без нарушения всасывания других веществ и в большинстве случаев протеинурией (90% пациентов). Протеинурия обусловлена отсутствием вышеуказанных рецепторов в почечных канальцах [4, 9].

Патологические изменения в стенке кишечника. К нарушению всасывания vB_{12} приводят заболевания кишечника, сопровождающиеся синдромом мальабсорбции: спру и целиакии. Тропическое спру является эндемическим заболеванием неизвестной этиологии, характеризующимся генерализованным, неспецифическим нарушением тонкокишечного всасывания жиров, углеводов, альбумина, кальция, фолатов и в поздних стадиях — vB_{12} . Клинически характеризуется наличием перемежающейся или постоянной диарей, вздутием и болями в животе, анорексией, рвотой и высокой лихорадкой. Стул жидкий или полуоформленный, часто содержит слизь и кровь. Первоначально развивается клиническая картина дефицита ФК, а при длительном существовании стеатореи в клинической картине могут появиться симптомы Дв vB_{12} [9].

Целиакия (нетропическое спру) является наследственным заболеванием с неизвестным типом наследования. Характерным диагностическим признаком синдрома является непереносимость продуктов, содержащих белок клейковины пшеницы, ржи, ячменя. Клинические проявления: доминирует синдром нарушенного всасывания, который проявляется диареей, стеатореей, потерей массы тела. Характерна выраженная раздражительность. Могут наблюдаться отеки, глоссит, хейлоз, периферическая нейропатия, анемические симптомы. Костный возраст отстает от паспортного. Характерной гистологической находкой при исследовании слизистой подвздошной кишки является уплощение эпителия с отсутствием ворсинок и углублением крипт. Кровь: МА, лейко-, тромбоцитопения, макроцитоз и гиперхромия эритроци-

тов. Характерно частое сочетание с дефицитом ФК (ДФК) и Fe [9].

К развитию нарушения всасывания vB_{12} , обусловленного нарушением нормальной архитектуры слизистой кишечника, кроме спру и целиакии, относятся болезнь Крона, туберкулезный илеит, неходжкинская лимфома и амилоидоз [9].

Лекарственно-обусловленные нарушения. H_2 -антагонисты, но не ингибиторы протонной помпы, ингибируют секрецию ВФ. При длительном приеме ингибиторов протонной помпы также может развиваться Дв vB_{12} вследствие гипохлоргидрии. Бигуаниды (в т.ч. метформин) приводят к снижению секреции ВФ и НС1 ПКЖ. Они, также, ингибируют трансэнтероцитарный транспорт КБ у 7%. К нарушению трансэпителиального транспорта в кишечнике может приводить прием холестирамина, колхицина и неомицина [9].

Нарушение транспорта витамина B_{12} в плазме

Наследственный дефицит ТКБ I (ДТК I). К нарушению трансэнтероцитарного транспорта КБ приводит ДТКБ(II). Связано это с нарушением транспорта vB_{12} из энтероцита в кровь [9]. Описано более 30 семей с этой редкой формой патологии. Наследуется по аутосомно-рецессивному типу и характеризуется отсутствием ТКБII, основного транспортного белка vB_{12} . В возрасте нескольких недель развивается МА и, не часто, неврологическая симптоматика. Содержание ВФ в желудочном соке нормально. Всасывание vB_{12} у большинства больных несколько снижено, у некоторых — нормально. Уровень СКБ нормален (что обусловлено КБ, связанным с ТКБ(I) и ТКБ(III)), но уровень ХТКБ часто резко снижен или не определяется. Наблюдается тяжелый ДКБ в тканях (КБ, связанный с ТКБ(I) является метаболически инертным). Вследствие ДТКБ(II) нарушается также всасывание vB_{12} в кишечнике. Диагностика заболевания основана на наличии резкого снижения или отсутствия ТКБ(I) в сыворотке (ХТКБ). Антитела к рецептору ТКII также могут приводить к его функциональной инактивации, нарушению поглощения vB_{12} тканями и развитию внутриклеточного Дв vB_{12} , к развитию которого может приводить не только отсутствие и снижение содержания в крови ТКБ(II), но и синтез его аномальных форм [4, 9, 23].

Изолированное нарушение внутриклеточного метаболизма витамина B_{12} . Наличие МА с нормальным уровнем сывороточного КБ и ХТКБ, ФК, повышением уровня общего ГЦ и/или метилмалоновой кислоты (ММК) позволяет заподозрить наличие врожденного дефекта внутриклеточного метаболизма КБ. Наследственные дефекты внутриклеточного метаболизма КБ являются гетерогенной группой врожденных заболеваний, обозна-

чаемых как мутации: cblA, cblB, cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblH. Мутации cblA, cblB, cblH приводят к нарушению внутриклеточного синтеза АКБ. В клинической картине у младенцев доминирует ацидоз и кетоацидоз, ассоциированный с летаргией, нарушением развития, рвотой, дегидратацией, респираторным дистресс-синдромом, гепатомегалией и комой. Вследствие этих мутаций повышается уровень ММК, кетонемия, кетонурия без мегалобластных изменений. Так, как многие из этих дефектов являются не полными, применение высоких доз vB_{12} может смягчить клинические проявления этих дефектов [9, 23]. Мутации cblE, cblG приводят к нарушению функционирования метионин синтетазы. При наличии мутаций cblC, cblD, cblF нарушения нарушается функция обоих внутриклеточных ферментов. При этих мутациях развиваются выраженные нервно-психические нарушения: сниженное умственное развитие, микроцефалия, психоз, делирий. При этих мутациях развиваются мегалобластные изменения в клетках. Хотя обычно эти заболевания выявляются у младенцев, возможна их диагностика и у детей более старшего возраста [9, 23].

Приобретенные нарушения внутриклеточного метаболизма vB_{12} чаще всего возникают при вдыхании закиси азота (N_2O), которая приводит к инактивации внутриклеточных коэнзимов vB_{12} , вследствие окисления КБ (I) с образованием КБ(III). Таким образом развивается функциональный внутриклеточный Дв v_{12} . Впервые развитие МА было описано у больных столбняком, которым назначали N_2O для снятия судорожного синдрома. Мегалобластная анемия, связанная с N_2O , может развиваться, также, при проведении длительных и неоднократных операций (чаще на открытом сердце). При однократном воздействии мегалобластные изменения возникают обычно в пределах 24 часов и длятся менее недели. Неврологическая симптоматика возникает обычно при хроническом интермиттирующем воздействии. Однако у пациентов с недиагностированным Дв v_{12} при воздействии N_2O возможно появление неврологической симптоматики в более ранние сроки. Из-за небольшого срока развития МА при вдыхании N_2O чаще описывается, как острая МА. Этот синдром характеризуется быстрым развитием тромбоцитопении и/или лейкопении с небольшими изменениями уровня Hb. Костный мозг переключается на мегалобластическое кроветворение через 12 – 24 часа, а гиперсегментированные нейтрофилы появляются через 5 дней. Маркерами развития Дв v_{12} при вдыхании N_2O являются повышение уровня общего гомоцистенина и, в меньшей степени, повышение уровня ММК (N_2O ингибирует метионин синтетазу более существенно, чем ММ-КоАМ). Эффект воздействия

N_2O исчезает через несколько дней. При назначении ФК и v_{12} происходит более быстрое восстановление нормального кроветворения [9].

Клиническая картина

Начало v_{12} -ДА постепенное. Часто за медицинской помощью больные обращаются спустя несколько месяцев с момента появления начальных симптомов заболевания. Обычно степень анемии не соответствует тяжести симптомов. ПА часто может наблюдаться у пациентов, с уже диагностированными аутоиммунными заболеваниями [3, 19].

В клинической картине v_{12} ДА доминируют анемический, неврологический и диспепсический синдромы. Выраженность клинических симптомов может варьировать в широких пределах: от полного их отсутствия (проявляется только повышением MCV и/или гиперсегментацией нейтрофилов) до их крайней степени выраженности (тяжелая анемия с наличием нестабильной стенокардии либо тяжелых неврологических проявлений с психозом и/или плегией). При медленном развитии анемии сердечно-легочные симптомы не появляются до тех пор, пока уровень Hb не снизится более, чем на половину от нормы. Только при снижении уровня Hb ниже 50 г/л появляются клинически значимые жалобы [9].

При осмотре кожные покровы часто лимонно-желтого цвета, что обусловлено комбинацией бледности (у 96 %) и иктеричности (у 56 %). Может наблюдаться диффузная или ограниченная гиперпигментация кожи, вследствие повышенного накопления меланина, исчезающая на фоне заместительной терапии. Наблюдается иктеричность склер. Примерно у 30 % больных отмечаются отеки на нижних конечностях (преимущественно на стопах), у половины из них отеки исчезают при компенсации анемии [1, 3].

Выраженность клинических симптомов при Дв v_{12} зависит не только от тяжести анемии, но и от степени адаптации организма к гипоксическому состоянию (пожилые люди и мужчины адаптируются хуже) [3]. Гипоксия приводит к развитию различных сердечно-сосудистых расстройств, патогенез которых связан с развивающимся кардиоренальным синдромом. Тканевая гипоксия и повышение уровня окиси азота приводят к периферической вазодилатации и снижению АД и как следствие к повышению активности симпатoadреналовой системы. В результате этого снижается ренальный кровоток и клубочковая фильтрация. При длительном течении анемии это приводит к активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, задержке жидкости в организме, повышению объема циркулирующей плазмы (ОЦП), развитию гипертрофии левого желудочка и застойной сер-

дечной недостаточности. Для V_{12} ДА характерна тенденция к гипотонии. При перкуссии отмечается расширение границ сердца. Аускультативно определяется приглушение первого тона, систолический (анемический) шум на верхушке сердца (у 80 %) и легочной артерии (при тяжелой анемии и у пожилых пациентов может выслушиваться над всеми аускультативными точками). В связи со снижением онкотического давления крови и повышения ОЦП при тяжелой анемии у части пациентов с застойной СН развиваются гидроторакс и периферические отеки [3]. Вследствие застойной СН и/или гемолиза эритроидных предшественников у части пациентов отмечается небольшая гепатомегалия [9].

Симптомы поражения нервной системы отмечаются у большинства пациентов, однако, выраженные неврологические нарушения отмечаются лишь у 18 – 30 % больных с МА. Иногда они появляются раньше и маскируют симптомы анемии. Неврологические симптомы могут появляться и в отсутствие анемии, также, могут быть первыми и зачастую единственными проявлениями $DвV_{12}$. Выраженность неврологических проявлений часто обратно коррелирует с тяжестью гематологических нарушений. Неврологический синдром обусловлен поражением белого вещества задних и боковых, реже, передних столбов СМ (подострая комбинированная дегенерация, фуникулярный миелоз) и церебральными нарушениями, иногда дегенерацией периферических нервов. Вначале поражаются задние столбы в шейном и верхнегрудном отделах СМ, а затем поражение распространяется на боковые и при далеко зашедшем поражении – на передние столбы СМ [1, 19]. Поражение периферической нервной системы при $DвV_{12}$ клинически проявляется парестезиями и нарушением чувствительности с постоянными легкими болевыми ощущениями: пощипыванием или покалыванием в кончиках пальцев, ощущением холода, чувством «ползания мурашек» и онемением в нижних конечностях (у 12 % пациентов с МА) [3].

В задних столбах проходят восходящие пути Голля и Бурдаха, которые несут чувствительность дифференцированного типа: чувство давления, вибрации, положения, оценки веса, дискриминации двух одновременных раздражителей, частично тактильную чувствительность. При поражении задних столбов вследствие $DвV_{12}$ нарушается определение положения конечности в пространстве, чувство вибрации, чувство давления, узнавание предметов на ощупь, узнавание написанных на коже цифр и букв, возможность различать два раздражителя, одновременно наносимые на кожу. С нарушением полноценного ощущения давления и опоры стоп на землю появляются жалобы на чувство «ватных ног», ощу-

щение того, что они ходят «по песку». Вследствие утраты глубокой чувствительности возникает сенситивная атаксия (проба Реберга), которая усиливается при снятии контроля зрения. Для $DвV_{12}$ характерно симметричное нарушение чувствительности. Так как поражение задних столбов начинается от периферии к центру СМ вначале поражается путь Голля (от нижних конечностей до Th6), а затем путь Бурдаха (с Th6 и выше). С этим связан тот факт, что при $DвV_{12}$ нарушения отмечаются, как правило, в нижних конечностях, и лишь при усугублении $DвV_{12}$ неврологическая симптоматика развивается в верхних конечностях [5].

В боковых столбах проходят в восходящем направлении спино-таламический тракт, спино-церебральные пути Флексига и Говерса, спино-ретикулярный, спино-тектальный, спино-оливарный и спино-вестибулярный пути. При поражении спино-таламического пути нарушается болевая и температурная чувствительность по проводниковому типу. Спино-таламический тракт имеет анатомо-топографическую особенность своего хода, которая заключается в том, что волокна, начинающиеся в нижних отделах СМ, то есть являющиеся более длинными, расположены по периферии СМ (дальше от центра – эксцентрично), а волокна, которые начинаются от верхних сегментов, расположены медиально (закон Ауэрбаха – Флатау). Поэтому появление расстройств указанных видов чувствительности вначале возникают в стопах, а затем распространяются снизу вверх, что свидетельствует о преимущественно экстрамедуллярном процессе при $DвV_{12}$ [5]. Посредством спиноцеребральных трактов Флексига и Говерса проводятся проприоцептивные импульсы, которые участвуют в осуществлении произвольных движений. Поражение этих путей при $DвV_{12}$ приводит к расстройству статики и координации движений. При их повреждении может возникать и наиболее длительно сохраняться нарушение оценки веса [5].

Вследствие поражения спино-ретикулярного, спино-тектального, спино-оливарного и спино-вестибулярного трактов при $DвV_{12}$ могут возникать симптомы экстрапирамидной недостаточности. Описаны поражения рубро-спинального пути Монакова и латерального кортикоспинального путей (боковые столбы) и восходящих путей, проходящих в передних столбах СМ. Развиваются пирамидные нарушения а в тяжелых случаях может развиться центральный паралич. При этом возникает нарушение произвольных движений мышц, снижение силы в мышцах различной выраженности от легкого пареза до плегии, мышечный гипертонус, гиперрефлексия сухожильных и периостальных рефлексов, появлением патологических рефлексов

и синкинезий [5]. При ДвВ₁₂ дегенерация отмечается также в дорзальных и внутрибрюшных ганглиях, сплетениях Мейснера и Ауэрбаха [9].

Церебральные проявления при ДвВ₁₂ варьируются от мягкого снижения памяти до выраженного психоза («мегалобластическое слабоумие»). Иногда развивается атония мочевого пузыря, извращение вкуса и запаха, ретроульбарные невриты. Оптическая нейропатия при ДвВ₁₂ характеризуется ухудшением зрения, атрофией зрительного нерва, офтальмоплегией, центроцекальными скотомами. При тяжелом дефиците могут наблюдаться слуховые и зрительные галлюцинации, развивается маниакально-депрессивный синдром, параноидный и шизофренический статус. Описан синдром Дейне, в клинической картине которого преобладают неврологические и психические расстройства [22].

Для ПА характерен синдром Меллера – Хантера: вторичный глоссит, при котором поверхность языка гладкая, блестящая («лакированный» язык) с атрофией сосочков. Нередко наблюдаются небольшие пузырьки или эрозии на боковых поверхностях или кончике языка. Характерен лейкокератоз языка и слизистой оболочки губ. Изменения со стороны слизистой языка могут появляться и в отсутствие анемии, что свидетельствует об обострении заболевания у лечившихся больных. Глоссит может приводить к невозможности носить зубные протезы, переносить горячие напитки или пряную пищу из-за чувства жжения и даже дисфагии. Интенсивность глоссита обычно убывает после начала терапии, но чувство жжения языка возобновляется через различные промежутки времени [1, 2, 9].

Хотя основной причиной ПА является хронический атрофический гастрит симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) редко являются ведущими в клинической картине заболевания. Причина кажущегося парадокса заключается в том, что желудочно-кишечные симптомы чаще связаны с наличием повышенной кислотности. Тем не менее, гипоацидность может приводить к замедлению опорожнения желудка и появлению диспепсических симптомов, таких, как дискомфорт в эпигастриальной области, вздутие живота и тяжесть в эпигастрии после приема пищи. Лишь 3% больных с ПА вначале попадают на консультацию к гастроэнтерологу. Во время диагностики ПА, диспепсические симптомы имеются лишь у 28 – 52% пациентов.

Мегалобластоз эпителиальных клеток тонкого кишечника и гипохлоридрия могут привести к диарее и мальабсорбции. Вследствие мальабсорбции кобаламина (КБ) ДвВ₁₂ может еще больше усугубиться, что приводит к замкнутому порочному кругу. Иногда у пациентов может возникнуть выраженный запор, связанный с нарушением функции

ЖКТ вследствие специфического поражения нервных сплетений Мейснера и Ауэрбаха. Появление болей в животе при ДвВ₁₂ может быть связано с развитием табетического криза. При этом осложнении, возникающем вследствие демиелинизации аксонов спиноталамического тракта, отмечается тошнота и рвота, ригидность мышц живота, при отсутствии диареи, лейкоцитоза и лихорадки. При ДвВ₁₂ в отсутствие желудочно-кишечных заболеваний снижение веса как правило незначительно [9].

У 20 % больных отмечается субфебрильная температура тела при отсутствии инфекционных очагов, исчезающая после адекватной заместительной терапии [1].

ДвВ₁₂ может привести к нарушению функционирования половых желез и развитию стерильности. При ДвВ₁₂ отмечается снижение иммунитета и склонность к развитию бактериальных инфекций, в т.ч. туберкулеза [9].

Кишечная метаплазия является фактором риска развития аденокарциномы. Ахлоридрия и повышенный бактериальный рост могут, также, способствовать образованию канцерогенных нитрозаминов. Популяционные исследования выявили повышенный риск рака (в 3 раза) и карциноидных опухолей желудка (в 13 раз) у больных ПА. Развитие карциноидных опухолей желудка, вероятнее всего, связано с наличием гипергастринемии. Распространенность рака желудка у пациентов с ПА составляет от 1 до 3 % . При раке желудка ПА выявляется у 2 % пациентов [9].

Субклинический дефицит витамина В₁₂

После введения в клиническую практику тестов, характеризующих метаболизм вВ₁₂, в зарубежной литературе появился новый термин – «субклинический дефицит витамина В₁₂» [17]. В эту группу включают пациентов с наличием явных метаболических признаков ДвВ₁₂ при отсутствии МА и неврологических симптомов. В настоящее время диагностические и лечебные подходы к этой группе пациентов однозначно не определены. В тоже время эта патология встречается намного чаще, чем клинически значимый ДвВ₁₂. Несмотря на отсутствие клинических симптомов у пациентов этой группы могут быть выявлены небольшие неврологические отклонения при проведении тонких электрофизиологических тестов. В отдельных случаях заболевания может со временем перейти в клинически значимый ДвВ₁₂. Сравнение клинически выраженного и субклинического ДвВ₁₂ представлено в табл. 2 [12, 20].

Изменения в периферической крови при дефиците витамина В₁₂

Характерными признаками наличия ДвВ₁₂ являются: макроцитоз, гиперсегментация нейтрофи-

лов, лейко- и тромбоцитопения, лейко-эритробластические изменения [3, 4, 9]. Макроцитоз характеризуется наличием в крови эритроцитов, больших чем в норме размеров. Макроцитоз можно выявить анализ мазков крови и/или оценке среднего корпускулярного объема эритроцитов ($MC-V > 100 \text{ мкм}^3$). Исследование мазков крови является более чувствительным методом, чем определение MCV , так, как последний представляет собой среднее кривой распределения и нечувствителен к присутствию небольшого числа макроцитов [11]. При использовании гематологических анализаторов макроцитоз выявляется в среднем у 3% людей в популяции [28], причем у 55 – 60% пациентов с повышенным MCV причиной макроцитоза не является $DвВ_{12}$ (основные причины развития макроцитоза представлены в табл. 3 [9, 11, 13]).

Ранним признаком наличия мегалобластного кроветворения при $DвВ_{12}$ является макроцитоз в сочетании с анизоцитозом и пойкилоцитозом различной степени выраженности. Для $DвВ_{12}$ ха-

рактерно появление в крови большого количества макроэритроцитов (больших эритроцитов овальной формы). Вследствие нарушения нормального кроветворения при тяжелом $DвВ_{12}$ эритроциты могут содержать различные патологические включения: тельца Жолли (остатки ДНК), кольца Кебота (остатки негемоглобинового железа). Развитие экстрамедуллярного гемопоэза при $DвВ_{12}$ приводит к появлению эритробластической картины крови, характеризующейся появлением в крови незрелых клеток эритроидного ряда (нормобластов), наличием в крови «каплевидных» эритроцитов (дакриоцитов). Вследствие неэффективного эритропоэза, сопровождающегося внутрикостномозговым гемолизом, в крови, как правило, снижается абсолютное количество ретикулоцитов и уменьшается продолжительность жизни эритроцитов [9, 11, 13].

Гиперсегментация нейтрофилов является характерной и ранней гематологической патологией при МА, коррелирующей с макроэритроцитозом. Обычно в норме нейтрофилы имеют от 3- до 5-ти

Таблица 2

Клинически выраженный и субклинический варианты $DвВ_{12}$ [12]

	Клинически выраженный $DвВ_{12}$	Субклинический $DвВ_{12}$
Клинические симптомы	Присутствуют, но: - не у всех пациентов имеется развернутая клиническая картина (анемия и неврологические симптомы); - проявления заболевания могут быть мягкими.	Отсутствуют, но: - у некоторых пациентов могут присутствовать электрофизиологические неврологические изменения.
Уровень кобаламина	Низкий у 97% пациентов ($< 200 \text{ нг/л}$; $< 148 \text{ пмоль/л}$); и часто очень низкий ($< 100 \text{ нг/л}$; $< 74 \text{ пмоль/л}$).	Обычно низкий, но может быть пограничным ($250\text{--}350 \text{ нг/л}$; $185\text{--}258 \text{ пмоль/л}$).
Метаболические отклонения	Имеются у 99% пациентов. Часто выраженные (ММК $>1,0 \text{ мкмоль/л}$; ГЦ $> 50 \text{ мкмоль/л}$). Все тесты обычно отклонены от нормы (ММК у 98% и ГЦ у 96% пациентов).	Один тест отклоняется от нормы (ММК $0,3\text{--}0,8 \text{ мкмоль/л}$; ГЦ $15\text{--}25 \text{ мкмоль/л}$). Некоторые метаболические тесты могут быть нормальными.
Причины дефицита	Как правило, всегда определяются: - более чем в 90 % случаев – нарушение всасывания свободного КБ; - иногда диетические недостатки.	Не определяются, но: - нарушение всасывания КБ, связанного с пищей в 30 – 40 % случаев; - иногда диетические недостатки.
Течение	Прогрессирующее: - исподволь развивается в течение нескольких лет, но с появлением симптомов бурно прогрессирует.	Обычно прогрессирует медленно (годы): - у некоторых пациентов симптомы могут отсутствовать > 10 лет с момента выявления метаболических отклонений; - при нарушении всасывания свободного КБ прогрессирование может быть более быстрым.
Диагностика и лечение	Показано полное диагностическое обследование. Лечение обязательно. Дозы и пути введения $вВ_{12}$ зависят от причины (при нарушении всасывания свободного КБ показана терапия высокими дозами $вВ_{12}$ парентерально или внутрь).	Диагностическое обследование показано. Лечение необходимо. Доза $вВ_{12}$ может зависеть от причины развития $DвВ_{12}$ (иногда необходимы высокие дозы $вВ_{12}$ внутрь).
Распространенность	Неизвестна (даже у пожилых пациентов, имеющих самый высокий риск).	Выявляется у 10 – 20 % пожилых людей, с меньшей частотой - и в других возрастных группах.

долей; у здорового человека в крови может циркулировать до 2 % гиперсегментированных нейтрофилов (имеющих более 5-ти ядерных долей). У больных МА количество этих клеток превышает 5%. Гиперсегментированные нейтрофилы выявляются у 98% пациентов с ДвВ₁₂. Сочетание гиперсегментации нейтрофилов с макрооцитозом является чувствительным (96 – 98%) тестом диагностики ДвВ₁₂. Чувствительность этого теста снижается до 95% у лиц, злоупотребляющих алкоголем. Кроме гиперсегментации нейтрофилов при тяжелом ДвВ₁₂ часто развивается лейкопения различной степени выраженности [3, 4, 9, 13]. Характерным и частым проявлением ДвВ₁₂ является тромбоцитопения, степень выраженности которой может быть различной от легкой до тяжелой с геморрагическими проявлениями.

Костномозговое кроветворение при ДвВ₁₂ характеризуется специфическими изменениями, суммарно характеризующимися как мегалобластное кроветворение. Мегалобластные изменения при ДвВ₁₂ обусловлены нарушением синтеза ДНК, в меньшей степени РНК и синтеза белков. Мегалобласты – патологически измененные клетки, имеющие специфические морфологические изменения, характеризующиеся наличием ядерно-цитоплазматической диссоциации (асинхронии): незрелостью ядра с мелкосетчатым хроматином (нарушение синтеза ДНК) и относительной зрелостью цитоплазмы, увеличением размеров клеток (нарушение синтеза РНК и белков). Вследствие нарушения синтеза ДНК мегалобластные клетки содержат увеличенный набор ДНК (диплоидный, тетраплоидный), часто с остановкой клеточного цикла в S-фазе [9]. Мегалобластные изменения при ДвВ₁₂ происходят в костномозговых клетках, эпителиальных клетках слизистой ЖКТ (слизистой ротоглотки, языка, тонкого кишечника), шейки матки, влагалища, мочеточников. Однако, выраженные мегалобластные изменения отмечаются, как правило, в клетках КМ [9].

При исследовании КМ обнаруживают трехлинейную гиперплазию (эритроидного, миелоидного и мегакариоцитарного ростков). Характерной особенностью является эритроидная гиперплазия и наличие большого количества мегалобластов. Степень гемоглобинизации клеток КМ различна: у некоторых больных практически отсутствуют оксифильные формы мегалобластов, и поэтому при просмотре мазка КМ создается впечатление «синего КМ». Эритроидная гиперплазия приводит к снижению коэффициента «лейко/эритро» с 3:1 до 1:1. Прозеритробласты при ДвВ₁₂ страдают меньше, чем более зрелые эритроидные клетки, для них характерно лишь увеличение размера (промегалобласты). Мегалобластные изменения, как пра-

вило, затрагивают промежуточные и ортохромные стадии развития эритробластов. В результате этих изменений около 80 – 90% мегалобластных эритроидных клеток гибнут в КМ и поглощаются костномозговыми макрофагами, что и составляет сущность неэффективного эритропоэза и внутрикостномозгового гемолиза [3, 4, 9, 13].

Лейкопоэз при ДвВ₁₂ также нарушается. Обычно абсолютное количество миелоидных клеток увеличено и они имеют мегалобластные черты: увеличенные в размерах клетки имеют полисегментированные ядра. Характерной особенностью является появление гигантских метамиелоцитов. Мегалобластные изменения в миелоидных клетках характеризуются появлением ядер причудливой формы, в клетках появляются небольшие вакуоли. Далеко зашедшие мегалобластные изменения костномозгового кроветворения характеризуются снижением количества миелоидных клеток [3, 4, 9]. Количество мегакариоцитов обычно нормально, но при тяжелой анемии наблюдается уменьшение количества мегакариоцитов, в ядрах которых отмечаются мегалобластоидные изменения. Характерно появление псевдогиперплоидности ядер мегакариоцитов. Отмечается освобождение больших фрагментов цитоплазмы мегакариоцитов с последующим появлением в крови гигантских тромбоцитов. Эти изменения приводят к различным нарушениям функциональных свойств тромбоцитов [3,4,9].

До проведения стерильной пункции противопоказано введение вВ₁₂ и назначение ФК (даже одна инъекция вВ₁₂ приводит к полной трансформации мегалобластного типа эритропоэза на нормобластический в течение 12 – 48 часов; поэтому исследование пунктата КМ после введения вВ₁₂ будет малоинформативным) [3, 4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдукова С.М., Видиборець С.В., Гончаров Я.П. та співавт. Клінікогематологічна характеристика вітамін-В₁₂-дефіцитної анемії. Сімейна медицина 2000; №1-2(3): 58 – 64.
2. Гусева С.А., Вознюк В.П. Болезни системы крови. Москва: МЕДпресс-информ, 2004. – 488 с.
3. Гусева С. А., Гончаров Я. П. Анемии. Киев: Логос, 2010. – 404 с.
4. Идельсон Л.И. Анемии, обусловленные дефицитом витамина В₁₂/Руководство по гематологии 1-3 тт с приложением. Под ред. А.И. Вробьева. 4-е изд. М.: Ньюдиамед. 2007: 693 – 705.
5. Ткаченко Е. В. Анатомо-физиологические основы поражений спинного мозга. Серия «Увлекательная неврология». Киев, 1998: 80 с.
6. Andres E., Dali-Youcef N., Vogel T et al. Oral cobalamin (vitamin B12) treatment. An update. Int Jnl Lab Hem 2009; 31: 1–8.

7. *Andres E., Loukili N.H., Noel E. et al.* Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ*. 2004; 171: 251–259.
8. *Andrès E., Vogel T., Federici L. et al.* Cobalamin Deficiency in Elderly Patients: A Personal View. *Curr Gerontol Geriatr Res* 2008; Article ID 848267, 7 p.
9. *Antony A.C.* Megaloblastic anemias. In: *Hoffman R., Benz E.J. Jr, Shattil S.J., et al*, eds. *Hematology. Basic principles and practice*. 3rd ed. New York: Churchill-Livingstone, 2000: 446–485.
10. *Antony A.C.* Vegetarianism and vitamin B-12 (cobalamin) deficiency. *Am. J. of Clin. Nutrition* 2003; 78(1): 3 – 6.
11. *Aslinia F., Mazza J.J., Yale S.H.* Megaloblastic Anemia and Other Causes of Macrocytosis. *Clin. Med. Res* 2006; 4(13): 236–241.
12. *Carmel R., Green R., Rosenblatt D.S., Watkins D.* Update on Cobalamin, Folate, and Homocysteine. *Hematology* 2003; 62 – 80.
13. *Chan J.C.W., Liu H.S.Y., Kho B.C.S. et al.* Longitudinal study of Chinese patients with pernicious anaemia. *Postgrad Med. J* 2008; 84: 644 – 650.
14. *Chulilla J.A.M., Colás M.S.R., Martín M.G.* Classification of anemia for gastroenterologists. *World J Gastroenterol* 2009; 15(№37): 4627–4637.
15. *Dali-Youcef N., Andrès E.* An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009; 102: 17–28.
16. *Fernández-Bañares F., Monzón H., Forné M.* A short review of malabsorption and anemia. *World J. Gastroenterol*. 2009; 15(№37): 4644–4652.
17. *Herrmann W., Obeid R.* Causes and early diagnosis of vitamin B₁₂ deficiency. *Dtsch. Arztebl. Int* .2008; 105: 680–685.
18. *Jacob E., Baker S.J., Herbert V.* Vitamin B12-Binding Proteins. *Physiol. review* 1980; 60 (№3): 918 – 958.
19. *Klee G.G.* Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin. Chem*. 2000; 46(№8B): 1277–1283.

20. *Lahner E., Annibale B.* Pernicious anemia: New insights from a gastroenterological point of view. *World J. Gastroenterol*. 2009; 15(№41): 5121–5128.

21. *Osimani A., Berger A., Friedman J. et al.* Neuropsychology of vitamin B12 deficiency in elderly dementia patients and control subjects. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol*. 2005; 18: 33–8.

22. Revised review of vitamin B12. Expert group on vitamins and minerals. EVM/00/20.REVISED AUG2002.

23. *Toh B.H. van Driel I.R., Gleeson P.A.* Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997; 337: 1441–1448.

ДЕФИЦИТ ВІТАМІНУ В₁₂ (ЛЕКЦІЯ, 1 ЧАСТИНА)

Резюме. Надано сучасні знання про розповсюдженість, причини, клінічній картині та діагностиці дефіциту вітаміну В₁₂.

Ключові слова: дефіцит вітаміну В12, причини, клінічна картина, діагноз.

VITAMIN B12 DEFICIENCY

Guseva S.A. Goncharov Ya.P.

Resume. The lecture summarizes the current knowledge about wide-spread, causes, clinical feature and diagnosis of vitamin B12 deficiency.

Key words: vitamin B12 deficiency, causes, clinica feature, diagnosis.

Адреса для листування:

Гусєва Світлана Анатоліївна
Національна медична академія післядипломної
Освіти ім. П.Л.Шупика
М. Київ, вул. Дорогожицька 9
Тел. (044) 483-16-61

Надійшла 01.04.2011

Мироненко Г.А.

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», м.Київ

АСОЦІАТИВНИЙ ЗВ'ЯЗОК ЕРИТРОЦИТАРНОГО АНТИГЕНУ C^w СИСТЕМИ РЕЗУС З АУТОІМУННОЮ ГЕМОЛІТИЧНОЮ АНЕМІЄЮ

Ключові слова: система Резус, антиген C^w, аутоімунна гемолітична анемія, фенотип, ризик захворювання.

Резюме. Описується антиген C^w системи Резус, його розповсюдження та серологічні особливості експресії серед представників Центрально-Української географічної зони, а також у хворих на аутоімунну гемолітичну анемію (АІГА). Проведено статистичну оцінку асоційованості вказаного антигену з АІГА як вірогідного маркеру ризику даного захворювання.

ВСТУП

Історія відкриття антигенів системи Rhesus бере початок з 1940 р., коли Ландштейнер і Вінер імунізували кроликів і гвінейських свиней еритроцитами макаки резус і отримали антитіла, котрі аглютинували приблизно 85 % еритроцитів тестованих людей. Відповідна антигенна детермінанта була названа цими дослідниками Rh-фактором [1]. Роком раніше Левін і Стетсон описали алоантитіла з подібною специфічністю, виділені із сироватки крові жінки після абортів [2]. Ці результати виявили роль системи резус в патогенезі гемолітичної хвороби новонароджених і тяжких клінічних ускладнень при гемотрансфузіях. Відомо, що алоантитіла, відкриті Левінім і Стетсоном (анти-D антитіла), були направлені проти самого важливого антигену системи Rhesus – D-антигену. Немодифіковані позначення Rh⁺ або rh⁻, що використовуються в широкій лікарській практиці, відображають саме присутність чи відсутність антигену D на еритроцитах.

Згодом, після відкриття D-антигену, були описані найбільш важливі додаткові антигени системи Rhesus – C, c, E, e і відповідні їм антитіла, а також слабкі форми D-антигену. Клінічна значимість системи Rhesus визначається високою імуногенною активністю деяких її антигенів, навіть в дуже малих кількостях, що може призводити до гемолітичних ускладнень при проведенні гемокомпонентної терапії або під час вагітності.

На теперішній час ідентифіковано більше 50 Rh-антигенів, їх кількість постійно змінюється, оскільки біохімічні і генетичні дослідження вносять свої уточнення. Більшість антигенів системи Rhesus представляють науковий інтерес, тоді як для практичної медицини важливі 5 антигенів, котрі є сильними імуногенами: D, C, E, c, e. Саме відповідні їм антитіла призводять до клінічних проблем, пов'язаних з Rhesus-системою, більш ніж у 99 % випадків [3].

Комплекс антигенів Rhesus має вирішальне значення для стабільності структури мембрани еритроцитів. Так, Rh_{null} еритроцити, в яких немає резус-білків (характерно для стоматоцитів і сфероцитів), підлягають гемолізу і, як наслідок, провокують розвиток гемолітичної анемії. На Rh_{null}-клітинах відсутні LW-антигени, Fu5-антиген системи Duffy, і у них ослаблена експресія антигенів S, s і U. Rh білки є посередником ключових взаємодій з основними елементами цитоскелету завдяки білку 4,2 і анкірину. Останні дослідження в області функціонального і структурного моделювання показують, що еритроцитарні антигени Rh-групи є членами древнього сімейства білків, що беруть участь у транспорті аміаку [4].

Установлено, що антигени Rhesus системи контролюються двома високогомологічними структурними генами RHD і RHCE, що містяться в локусі RH між 1p34.3 та 1p36.1 на короткому плечі хромосоми 1 [5]. RH-локус резус-позитивних осіб містить два різних гена – RHD і RHCE, у резус-негативних осіб ген RHD відсутній на двох гомологічних хромосомах.

Значний поліморфізм антигенів еритроцитарної системи Резус є результатом мутацій відповідного генетичного локусу (в межах генів RHD і RHCE). Антиген C^w, відкритий Каллендером, Рейсом і Пейкосом у 1946 р. [6], є мутованим варіантом антигену C. В екзоні cDNA відбувається заміна аденіну в 122-й позиції на гуанін, що спричиняє амінокислотну заміну в 41-й позиції (глутаміну на аргінін) в першій петлі екстрацелюлярного поліпептиду Rh [4]. Антиген C^w має структурні відмінності від антигену C, і в той же час вони не є алелями, хоч і мають певну генетичну зчепленість. Згідно номенклатури ISBT (Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens) антиген C^w (rh^{w1}) позначений як RH8.

Існує кілька гіпотез щодо походження маловивченого C^w антигену. Якщо припустити, що антиген

C^w є серологічним продуктом алеля C/c гена RHCE, то в такому випадку еритроцити гетерозигот C^w/c не повинні містити антиген C . Проте C^w+ (позитивні) еритроцити часто несуть на собі одночасно антиген C і, нерідко, антиген c [5], тобто не два, а три антигени, що не є типовим для звичайного розподілу антигенів в фенотипі Rh-Hr.

При проведенні нами фенотипування зразків еритроцитів здорових осіб контрольної групи та хворих на автоімунну гемолітичну анемію встановлено, що більше половини осіб, носіїв C^w мали три антигени: CcC^w .

Інша гіпотеза, що всі гени RH, що кодують антиген C^w , продукують одночасно і антиген C , не підтвердилася фактичними результатами серологічних досліджень, котрі свідчать про те, що існують алелі, які продукують одночасно антигени C^w і c , але не C [5]. Антиген C^w частково домінує над c , а у простій дозі сам знаходиться під частковим домінуванням C [7].

В рамках системи Резус частота антигену C^w відносно низька: серед європеїдів вона становить 1–7 %, дещо вища серед населення Скандинавії (латишів, фінів та саамів) – від 7 до 9% [8]. Антиген C^w має виражені антигенні властивості і викликає утворення анти- C^w антитіл у осіб, що не мають цього антигену у своєму фенотипі, у тому числі й у осіб із CC фенотипом. За своїми імуногенними властивостями антиген C^w займає одну із провідних позицій серед мінорних трансфузійно небезпечних антигенів. Так, частота виявлення анти- C^w антитіл серед сенсibiliзованих осіб складає від 1 до 2% [9]. Як правило, анти- C^w антитіла мають гемотрансфузійне походження, але можуть бути наслідком несумісної за антигеном C^w вагітності. Слід зазначити, що антиген C^w ніде у природі не зустрічається, окрім як на еритроцитах людини, тому імунізація неалогенним шляхом виключається [5].

При АІГА відбувається поліклональна активація В-лімфоцитів із наступною продукцією антитіл як проти еритроцитарних антигенів певних систем, так і проти так званих «універсальних», тобто спільних для всіх людей, незалежно від фенотипу. Зміна антигенної структури клітинної мембрани еритроцитів і вивільнення прихованих антигенних епітопів, як наслідок впливу бактеріальних токсинів, вірусів, лікарських засобів, ядів тощо, також може призводити до формування автоантитіл і спричиняти розвиток АІГА. Аутоімунні антиеритроцитарні антитіла (неповні теплові аглютиніни, що зустрічаються в переважній більшості випадків) зазвичай направлені проти глікопротеїну, котрий присутній практично у всіх осіб, незалежно від резус-належності (винятком є фенотип Rh_{null}). Зазначений глікопротеїн (rh_m , Rh-total) є частиною

великого мембранного комплексу антигенів системи Resus, який необхідний для правильної презентації його складових. Такі антитіла називають анти-Rh29 (анти-Rh в цілому), бо вони взаємодіють зі всіма зразками типованої панелі еритроцитів. Іноді зустрічаються визначено реагуючі антитіла: анти- e , анти- C , анти- I , анти- P [10].

Вплив антигенів в межах системи резус на схильність до певних захворювань вивчено досить мало в порівнянні з антигенами системи АВ0. Частіше за все дослідження стосуються антигену $Rh_0(D)$, рідко – мінорних антигенів системи Resus. Даних про вивчення антигену C^w в аспекті його асоціації з гематологічними захворюваннями, зокрема, з АІГА, в доступній літературі ми не зустрічали.

МЕТА РОБОТИ

Вивчити частоту зустрічаємості еритроцитарного резус-антигену C^w у хворих на набуту АІГА в порівнянні з популяційним контролем для оцінки його асоційованості з АІГА.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 19 хворих на набуту АІГА. Ідіопатичні форми склали 13 випадків; симптоматичні, як гемолітичний компонент основного захворювання, спостерігали у 6 осіб, фоновими захворюваннями для яких були: МДС (рефрактерна анемія), неспецифічний виразковий коліт, гепатит С, аутоімунний гепатит, системний червоний вовчак, В-ХЛЛ, макроглобулінемія Вальденстрема.

Контрольну групу ($n=245$) становили практично здорові особи донороздатного віку (дані досліджень у межах виконання Міжгалузевої програми «Здоров'я нації»). Антиген C^w виявляли мікрометодом у гелевому тесті на ID-картках фірми DiaMed (Швейцарія), котрі містять антитіла, отримані із сироватки людини.

Неповні теплові аутоімунні антитіла до еритроцитів у хворих визначали в прямому та непрямому тестах Кумбса на ID-картках LISS/Coombs (IgG+C3d), що містять кролячу антиглобулінову сироватку та моноклональні анти-C3d антитіла. Для визначення холодних антитіл використовували ID-картки «NaCl, enzyme test and cold agglutinins». Специфічність антитіл визначали за допомоги типованої панелі еритроцитів ID-DiaPanel cells 1–11 (DiaMed, Швейцарія).

Для статистичної обробки отриманих даних було використано розрахунки за критерієм Пірсона χ^2 , з урахуванням поправки Йетса на безперервність варіації [11], за наступною формулою:

$$\chi^2 = \frac{N(|a \cdot d| - |b \cdot c| - N/2)^2}{(a + b)(a + c)(b + d)(c + d)}$$

де a – хворі на АІГА з носієм антигену C^w ,
 b – здорові носії антигену C^w ,

c – хворі на АІГА, що не несуть вказаного антигену, d – здорові, що не несуть антигену C^w .

Достовірність спостережуваної асоціації визначали за таблицями χ^2 з урахуванням одного ступеня свободи.

Відносний ризик розвитку захворювання визначали за критерієм R (метод Woolf) [12]:

$$R = \frac{f_n(1-f_k)}{f_k(1-f_n)}$$

де f_n – фракція носіїв антигену серед пацієнтів, f_k – фракція носіїв антигену в контрольній групі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед обстежених 19 хворих із діагнозом набута АІГА у 18 виявлено антиеритроцитарні антитіла. З них у 15 в прямій та непрямій пробах Кумбса виявлено неповні теплові аглютиніни, у двох хворих – холододі аглютиніни, в одному випадку – комбінація теплових та холододі антитіл. У одного хворого антиеритроцитарні антитіла не виявлено.

Виходячи з отриманих даних встановлено, що антиген C^w достовірно частіше зустрічався в фенотипі хворих (9 з 19), ніж в контрольній групі (17 з 245), що відповідно склало 47,4 і 6,97 %. Критерій Пірсона χ^2 з урахуванням поправки Йетса склав 28,07, статистична значимість різниці між частотою носіїв антигену в групі пацієнтів та в групі здорових осіб є достовірною ($p < 0,001$), що підтвердило асоційованість антигену C^w з АІГА (таблиця 1).

Критерій відносного ризику розвитку захворювання (R), визначений за методом Woolf, склав 12,07. Оскільки величина обчисленого показника становить більше 2, ризик розвитку АІГА у носіїв антигену C^w в порівнянні з індивідами, що не несуть даного антигену, є значимим.

Встановлення Rh-фенотипу хворих та пошук антигену C^w в даному серологічному дослідженні показав, що вказаний антиген у більшості випадків був присутній одночасно з антигеном C. У чверті хворих вказаний антиген був в асоціації тільки з антигеном c, причому тільки у резус-негативних хворих, відповідно формуючи фенотип $C^w c d e e$, який був відсутній в контрольній групі. У 2/3 хворих фенотип містив одночасно три антигени, відповідно формуючи комбінацію $CC^w c$. В групі донорів, позитивних за C^w -антигеном, 64,7 % осіб мали фенотип $CC^w c$, 29,4 % – фенотип CC^w та 5,9 % – $C^w c$. При обстеженні пацієнтів із гемолітичними анеміями іншого генезу частота зустрічаємості антигену C^w статистично не відрізнялася від популяційної.

Наводимо приклад АІГА в асоціації з антигеном C^w .

Пацієнтка Л., 19 років. Діагноз: набута АІГА, ідіопатична форма. Хвороба має хронічний перебіг (хворіє з 10 років), гемолітичні кризи спостерігаються 2–3 рази на рік. Пряма та непрямі проби

Кумбса різко позитивні (++++) як в період ремісії, так і під час гемолітичної кризи. Неповні теплові антиеритроцитарні антитіла поліспецифічні: реакція позитивна зі всіма зразками типованої панелі еритроцитів. Кров хворої відноситься до А(II) групи, резус-негативного типу, фенотип еритроцитів за системою резус $C^w c d e e$.

ВИСНОВКИ

Вперше в Україні визначено частоту антигену C^w (6,94 %) серед представників Центрально-Української гено-географічної зони.

У хворих на АІГА достовірно підвищена частота антигену C^w , що робить його вірогідним маркером ризику даного захворювання.

Встановлено серологічні особливості експресії C^w : у 2/3 хворих та представників контрольної групи, позитивних за C^w , Rh-фенотип містив одночасно три антигени, відповідно формуючи комбінацію $CC^w c$, а у 1/3 досліджених осіб антиген C^w експресується одночасно лише з c або C антигеном.

Оскільки комплекс антигенів Resus має вирішальне значення для стабільності структури мембрани еритроцитів, можна припустити: наявність антигену C^w у фенотипі індивіда особливим чином змінює стан клітинної мембрани, що може сприяти зриву імунологічної толерантності і спонукати до синтезу аутоантитіл, не виключаючи дії інших патогенетичних факторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Landsteiner K., Wiener A.S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1940; 43: 223–224.
2. Levine P., Stetson R. E. An unusual case of intragroup agglutination. JAMA. 1939; 113: 126–127.
3. Венгелен-Тайлер В. Техническое руководство американской ассоциации банков крови; пер. с англ. проф. Ю.Н.Токарева. Милан: ESTM, 2000: 1056 с.
4. Pourazar A. Red cell antigens: structure and function. Asian J. Transfus. Science. 2007; 1: 24–32.
5. Павлюк Р.П. Антиген C^w системи резус: теоретичні і практичні аспекти. Укр. Журн. гематології та трансфузіології. 2010; 3(10): 24–26.
6. Герасимова Н.Д. Частота распределения антигена C^w среди доноров г. Новомосковска. Вестник службы крови России. 2007; 2: 13–14.
7. Оловникова Н.И., Николаева Т.А. Антигены эритроцитов человека. Гематол. и трансфузиол. 2001; 5: 37 – 45.
8. Прокон О., Геллер В. Группы крови человека: пер. с нем. М.: Медицина, 1991: 512 с.
9. Филина Н.Г., Отто В.С., Нечваль Э.Р., Рябкова Т.Л. О необходимости фенотипирования эритроцитов в гемотрансфузиологии. Вестник службы крови России. 2007; 2: 5–8.
10. Алексеев Н.А. Анемии. СПб.: Гиппократ, 2004. 510 с.
11. Плавинский С.Л. Биостатистика. Планирование, обработка и представление результатов биомедицинских исследований при помощи системы SAS. СПб.: Издательский дом СПб МАПО, 2005: 559 с.

12. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М.: Медицина, 1983. 207 с.

**АССОЦИАТИВНАЯ СВЯЗЬ
ЭРИТРОЦИТАРНОГО АНТИГЕНА C^w
СИСТЕМЫ РЕЗУС С АУТОИММУННОЙ
ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ**

Мироненко Г.А.

Резюме. Описывается антиген C^w системы Резус, его распространение и серологические особенности экспрессии среди представителей Центрально-Украинской геногеографической зоны, а также у больных аутоиммунной гемолитической анемией. Проведена статистическая оценка ассоциированности указанного антигена с АИГА как вероятного маркера риска данного заболевания.

Ключевые слова: система Резус, антиген C^w, аутоиммунная гемолитическая анемия, фенотип, риск заболевания.

**ASSOCIATIVE CONNECTION OF
THE ERYTHROCYTE ANTIGEN C^w OF
THE RHESUS SYSTEM WITH
THE AUTOIMMUNE HAEMOLYTIC ANAEMIA**

Myronenko G.A.

Summary. The antigen C^w of the Rhesus system is described, its distribution and serological features of expression among the Central Ukrainian genogeographical zone and also in patients with autoimmune haemolytic anaemia are described. The statistical evaluation association of the specified antigen with AHA as a likely marker of risk of this disease is given.

Key words: the Rhesus system, antigen C^w, autoimmune haemolytic anaemia, phenotype, risk of disease.

Адреса для листування:

Мироненко Галина Анатоліївна
ДУ «ІГТ НАМНУ»
04060, м.Київ, вул.М.Берлінського, 12
Тел. 440-30-44

Надійшла 15.06.2011

УДК: 616.155.294-021.3-053

Дубей Л.Я.^{1,3}, Дубей Н.В.¹
Цимбалюк-Волошин І.П.^{2,3}¹Державна установа «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України», м. Львів²Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр, м. Львів³Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького**ІДІОПАТИЧНА ТРОМБОЦИТОПЕНІЧНА ПУРПУРА У ДІТЕЙ: ДІАГНОСТИКА І ЛІКУВАННЯ НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ****Резюме.** Представлено основні аспекти етіології та патофізіології ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП) у дітей, а також принципи клінічної та лабораторної діагностики і сучасного лікування цього захворювання.**Ключові слова:** ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура, діти, етіологія, патогенез, діагностика, лікування.

Ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура (ІТП) належить до того типу тромбоцитопенії, при якому відсутні етіологічні чинники її виникнення та виключені всі патологічні стани, асоційовані з виникненням вторинної тромбоцитопенії. Розрізняють гостру та хронічну форми ІТП. Вони принципово відрізняються частотою, прогнозом хвороби та підходами до лікування [1]. Донедавна вважалось, що при гострій формі ІТП кількість тромбоцитів у периферичній крові нормалізується протягом 6 місяців. Однак, більшість дитячих гематологів Західної Європи та Північної Америки не погоджуються з цим визначенням, оскільки у значній кількості дітей з ІТП відновлення тромбоцитів відбувається у проміжку від 6 до 12 місяців. Саме тому, за рекомендацією *International Childhood ITP Study Grup* для визначення хронічної форми ІТП приймається її тривалість понад 12 місяців [4, 7].

Найчастіше гостра ІТП трапляється у дітей віком від 2 до 6 років (табл. 1). Хлопчики та дівчатка хворіють з однаковою частотою. Пік розвитку хвороби припадає на зимово-весняний період, якому передують вірусні інфекції. У 20% випадків гострої ІТП у дітей розвивається хронічна форма, яка трапляється переважно у дівчат підліткового віку (дівчатка/хлопчики 2 – 3:1). Більш ніж у третини дітей з хронічною ІТП можуть виникати спонтанні ремісії, а у 5% з них – рецидиви хвороби з інтермітуючими епізодами тромбоцитопенії.

ПАТОФІЗІОЛОГІЯ ІДІОПАТИЧНОЇ ТРОМБОЦИТОПЕНІЇ

Harrington et al. (1957) уперше зауважили, що інфузія плазми від хворого з ІТП індукує тромбоцитопенію у здорових реципієнтів. Пізніше Shulman et. al продемонстрували, що основним фактором такого патологічного процесу був специфічний IgG, який зв'язувався з нормальними тромбоцитами. Leeuwen (1982) уперше ідентифікував на мембрані тромбоцитів глікопротеїн ІІb/ІІа (CD41) як домінуючий антиген. Згідно з його даними антитіла (АТ), виділені з тромбоцитів хворих на ІТП, зв'язуються з нормальними тромбоцитами через тромбоцитарний глікопротеїновий комплекс ІІb/ІІа (CD41), але цей феномен не відтворюється з тромбоцитами у хворих на тромбастенію *Glanzmann* [2, 8].

Підвищена кількість специфічного IgG на поверхні мембрани тромбоцитів пропорційна ступе-

Таблиця 1

Особливості гострої та хронічної ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури у дітей

Ознаки	Гостра ІТП	Хронічна ІТП
Вік	Діти 2 - 6 років	Підлітки 14 - 17 років
Залежність від статі	Немає	Дівчатка/хлопчики 3:1
Попередній інфекційний анамнез	Зазвичай 1-3 тижні до початку хвороби	Не характерно
Сезонність	Весняний період	Немає
Початок виникнення хвороби	Раптовий	Поступовий
Кількість тромбоцитів	Менше 20 Г/л	30 - 80 Г/л
Еозинофілія і лімфоцитоз	Часто	Рідко
Поєднання з автоімунними захворюваннями	Рідко	Часто
Тривалість перебігу хвороби	2 - 6 тижнів, рідко більш тривало	Місяці, роки
Прогноз	Спонтанні ремісії у 80% випадків	Хронічний рецидивуючий перебіг

ню деструкції тромбоцитів при ІТП. Аутоантитіла (аутоАТ) часто визначаються у плазмі крові чи виділяються із тромбоцитів у хворих на активну форму ІТП і рідко – у період ремісії. Зниження титру аутоАТ корелює зі зростанням кількості тромбоцитів у периферичній крові. Тромбоцит-асоційовані аутоАТ визначаються у 75% дітей, хворих на ІТП. Сироватковий антитромбоцитарний IgG виявляють у 50 – 85% пацієнтів, а IgA – у половини хворих. У незначній кількості хворих визначається IgM, однак у поєднанні з іншими імуноглобулінами.

Антитромбоцитарні аутоАТ зв'язуються з багатьма великими мембранними глікопротеїновими комплексами через Fab молекулярні субодиниці, а саме: gpIb/IIIa і Ib/IX, gpIV і Ia/IIa. Сироваткові аутоАТ до тромбоцитарного gpIb/IIIa комплексу з однаковою частотою наявні як при гострій (68% випадків), так і при хронічній (62% випадків) ІТП. Тромбоцитарні мембранні глікопротеїни мають різні антигенні епітопи, які розпізнаються аутоАТ. Наприклад, аутоАТ можуть реагувати з глікопротеїном Ib чи IIIa і бути інтактними до глікопротеїнового комплексу Ib/IIIa; тромбоцитарні аутоАТ можуть зв'язуватися з глікопротеїном Ib чи Iba, однак у більшості випадків – з глікопротеїновим комплексом Ib/IX. Сироваткові аутоАТ і аутоАТ, виділені з тромбоцитів, незначно різняться своєю антигенною специфічністю мембранного глікопротеїнового комплексу. Дані щодо впливу специфічних антигенних епітопів на перебіг ІТП у дітей є неоднозначними. Сироваткові аутоАТ при ІТП зв'язуються з глікофінголіпідами і кардіоліпіном. Відомо, що антифосфоліпіди, ідентифіковані вовчаковою коагуляційною активністю чи антикардіоліпіновою специфічністю, на час встановлення діагнозу ІТП виявляються у 38% випадків, однак їхня роль у розвитку та завершенні хвороби є невизначеною. Ці аутоАТ зв'язуються з тромбоцитами і спричиняють розвиток тромбоцитопенії за рахунок скорочення тривалості життя кров'яних пластинок. Окремі джерела свідчать, що аутоАТ можуть зв'язуватися з глікопротеїнами й активувати тромбоцити [3].

Роль клітинного імунітету при ІТП залишається невизначеною, хоча деякі вчені описують фенотипові та функціональні порушення, що частіше спостерігаються при хронічній її формі. У таких хворих спостерігається підвищення кількості CD8⁺-лімфоцитів та зниження вмісту CD4⁺-клітин у периферичній крові, а також порушення власної лімфоцитарної супресорної функції [7, 9].

Тривалість життя тромбоцитів при ІТП є скороченою і коливається від 2 – 3 днів до кількох хвилин. У дітей із легким і середнім ступенем тромбоцитопенії тривалість життя тромбоцитів є більшою порівняно з тими, в яких спостерігається тяжка її

форма. Селезінкова секвестрація пояснює скорочення тривалості життя тромбоцитів у більшості хворих дітей. Однак печінка і навіть ретикуло-ендотеліальні клітини кісткового мозку (КМ) можуть відігравати велику роль у секвестрації навантажених АТ тромбоцитів, особливо у хворих з дуже низьким рівнем тромбоцитів чи з тривалою тромбоцитопенією після спленектомії. У дітей з тяжкою тромбоцитопенією при ІТП спостерігається зростання рівня макрофагального колонієстимулюючого фактора і знижений рівень моноцитарно-тромбоцитарної формації, що впливає на співвідношення кількості тромбоцитів/тривалість життя тромбоцитів, а також на порушення функції системи мононуклеарних фагоцитів. Селезінка є також місцем утворення АТ. У дітей з ІТП, резистентних до гормонотерапії, спостерігається зменшення маси селезінки, вторинне збільшення кількості лімфоїдних фолікулів, пінистих макрофагів та екстремедулярного мегакаріоцитарного гемопоезу. Ці патологічні зміни відображають дві патогенетичні функції селезінки: продукцію антитромбоцитарних аутоАТ і макрофагальну деструкцію тромбоцитів. Питання чи мегакаріоцитопоез за таких умов є редукованим, залишається спірним. Однак відомо, що антитромбоцитарні аутоАТ можуть також зв'язуватися із попередниками мегакаріоцитів у КМ і таким чином обмежувати мегакаріоцитопоез і вторинно впливати на продукцію тромбоцитів. У хворих з наявністю аутоАТ до глікопротеїнового комплексу Ib/IX розмір мегакаріоцитів є зменшеним. Збільшення їхнього розміру за рахунок цитоплазми спостерігається при наявності аутоАТ до глікопротеїнового комплексу Ib/IIIa, що, очевидно, впливає на порушення продукції тромбоцитів. Збільшення кількості колонієутворюючих одиниць мегакаріоцитів спостерігається при гострій ІТП, зменшення – при хронічній [7, 11].

Щодо генотипу хворого з ІТП, точастіше трапляються лейкоцитарні антигени HLA B28, HLA B12. Діти з таким генотипом мають підвищений ризик розвитку ІТП [6, 9].

Таким чином, переконливим є те, що ІТП спричинена появою специфічних антитромбоцитарних аутоАТ, які зв'язуються із власними тромбоцитами, що пізніше виводяться з циркуляторного русла мононуклеарно-моноцитарною системою через макрофагальний Fc рецептор. АутоАТ при ІТП *in vitro* не фіксують комплемент, однак вони активують компоненти комплексу на поверхні тромбоцита. Імунні комплекси визначаються у дітей, хворих на хронічну ІТП, проте їхня роль в імунній деструкції тромбоцитів залишається спірною. Роль аутоАТ, що зв'язуються з подібними антигенами на мегакаріоцитах, у порушенні продукції тромбоцитів залишається невідомою.

Клінічна характеристика ІТП у дітей.**Гостра ІТП**

У хворих на гостру ІТП початок захворювання є раптовим. Приблизно у 84% випадків за 3 тижні до початку хвороби спостерігались інфекційні стани. Найбільш поширеними серед них є кір, краснуха, вітряна віспа, кашлюк, епідемічний паротит, респіраторні вірусні захворювання, герпетична інфекція (*herpes zoster*), *Epschtein-Bar*-вірусна інфекція. Гостра ІТП також може розвиватися після проведення вакцинації (наприклад, введення живої вакцини проти натуральної віспи чи кору). Необхідно зазначити, що маніфестація кровотеч при гострій ІТП у дітей зазвичай є незначною, а крововиливи у головний мозок спостерігаються менше, ніж у 1% хворих. Рідко трапляється гостра ІТП у дітей підліткового віку, проте у них можуть спостерігатися кровотечі, а перебіг хвороби набирає фульмінантний характер. Гостра ІТП у дітей зазвичай не є загрозливою для життя. Спонтанні ремісії спостерігаються у 90% хворих. Тривалість хвороби коливається від кількох днів до кількох місяців, у середньому 4 – 6 тижнів. Сприятливий прогноз гострої ІТП у дітей відображає перевагу гострої форми хвороби у цій віковій групі. У дітей, хворих на гостру ІТП, може бути незначний субфебрилітет, незначне збільшення селезінки спостерігається у 10% хворих.

Хронічна ІТП

Початок хронічної ІТП поступовий. Характерний тривалий анамнез геморагічних проявів легкого і середнього ступеня тяжкості. Попередній інфекційний анамнез, наявність гарячки чи збільшення селезінки відсутні. Діти, хворі на хронічну форму ІТП, зазвичай мають нестійкий характер перебігу захворювання. Епізоди кровотеч можуть тривати від кількох днів до кількох тижнів. Спонтанні ремісії є рідкісним явищем, а якщо і є, то неповні. У деяких випадках рецидиви хвороби асоціюються з проведенням вакцинації. Дуже рідко перебіг хвороби може бути неочікувано сприятливим. В окремих випадках хронічна ІТП може асоціюватися з деякими аутоімунними захворюваннями або фоновими станами, які призводять до розвитку аутоімунних розладів (табл. 2).

Геморагічні прояви ІТП

Геморагічні маніфестації ІТП у дітей мають пурпурний характер. Коли спостерігаються лише екхімозні та петехіальні висипання, таку пурпуру називають «сухою». «Вологою» пурпура вважається тоді, коли наявні кровотечі у поєднанні зі шкірними геморагічними проявами. При «вологій» формі ІТП зазвичай кількість тромбоцитів є зниженою, спостерігається висока частота ускладнень хвороби. У 82% хворих переважають шкірні прояви геморагічного синдрому, у 43% дівчаток підліткового віку – мено-

Таблиця 2

Стани, які часто пов'язані з хронічною ІТП у дітей

Імунодефіцит:
<ul style="list-style-type: none"> • гіпогамаглобулінемія; • загальний варіабельний імунодефіцит.
Лімфопроліферативні захворювання:
<ul style="list-style-type: none"> • аутоімунний лімфопроліферативний синдром; • лімфома Годжкіна; • негоджкінська лімфома; • гостра лімфобластна лейкемія
Системні васкуліти:
<ul style="list-style-type: none"> • системний червоний вовчак.
Інфекції:
<ul style="list-style-type: none"> • вірус імунодефіциту людини.

метрорагії. Кровотеча після травми за відсутності спонтанних кровотеч буває у дітей, які мають кількість тромбоцитів понад 50 Г/л. Тромбоцитопенія з кількістю кров'яних пластинок у периферичній крові 10 – 50 Г/л, спричиняє спонтанні кровотечі різного ступеня тяжкості. Пацієнти, які мають кількість тромбоцитів менше 10 Г/л, зазвичай належать до групи високого ризику щодо тяжкого перебігу і летального завершення хвороби. Спонтанні шкірні геморагічні висипання при ІТП проявляються у вигляді дрібноточкових петехій різних розмірів від червоного до пурпурного кольору, які при натисканні не зникають. Передусім петехіальні висипання спостерігаються на передній поверхні нижніх кінцівок та над кістковими виступами (ребра, лопатки, плечі, гомілки, ділянка лона), місцях стискання одягом. Геморагічні висипання на голові та шиї спостерігаються рідше. Великі пурпурні поверхневі екхімози можуть бути у ділянці стегон і спини. Екхімози можуть також виникати після венепункції, однак кровотечі з цих місць не є характерними. Екхімози при ІТП можуть з'являтися на будь-якій ділянці шкіри. Вони рідко поєднуються з підшкірними крововиливами та не поширюються у сусідні анатомічні структури, які лежать глибше. Слід відзначити, що при ІТП у дітей часто спостерігаються прояви геморагічного синдрому на слизових, особливо ротової та носової порожнин. Їхня наявність зазвичай свідчить про тяжку гостру тромбоцитопенію. У багатьох випадках місце кровотечі може не визначатися. Гематурія свідчить про кровотечу зі сечовидільної системи, а саме: нирок, сечового міхура, уретри. Кровотечі з паренхіми нирки трапляються рідко. Менорагія може бути єдиним симптомом при ІТП і вперше проявляється у пубертатному віці. Гастроінтестинальні кровотечі зазвичай маніфестують меленою або рідше блюванням кров'ю. Досить рідко бувають кровотечі у кон'юнктиву і сітківку ока.

Крововиливи у головний мозок (зазвичай субарахноїдальні) є найбільш серйозним ускладненням при ІТП у дітей різного віку. Вони трапляються рідко, приблизно від 0,5 до 1% випадків тяжкої тромбо-

цитопенії. Найбільший ризик виникнення інтракраніальних крововиливів у дітей з ІТП спостерігається при кількості тромбоцитів менше 20 Г/л у поєднанні з такими додатковими факторами ризику, як травма голови, вживання дезагрегантів, артеріовенозні мальформації. Отже, сама кількість тромбоцитів у периферичній крові не може виступати предиктором розвитку симптомів тяжкої кровотечі.

Епізоди геморагічного синдрому при ІТП можуть виникати після травматичних ушкоджень, екстракції зуба, тонзилектомії і т.п. Описані випадки спонтанного гемартрозу, який виник унаслідок коагулопатії у поєднанні з тромбоцитопенією.

Лабораторні ознаки ІТП у дітей.

Характеристика периферичної крові

При оцінці мазка периферичної крові найчастіше спостерігається анізоцитоз тромбоцитів. Можуть виявлятися як патологічно великі, 3 – 4 μm в діаметрі, так і патологічно малі форми кров'яних пластинок та їхні фрагменти, що еквівалентно мікросфероцитозу і шизоцитозу. Зазначимо, що у мазку периферичної крові в поодиноких випадках та у дуже незначній кількості можуть траплятися фрагменти мегакаріоцитів. Середній об'єм тромбоцитів і середній їх розмір за даними автоматичного гемоаналізатора можуть бути помітними для встановлення ІТП у дітей. Наявність великої кількості мегатромбоцитів у крові призводить до збільшення середнього об'єму тромбоцитів. Показник ширини розподілу тромбоцитів по об'єму також є високим, що свідчить про анізоцитоз кров'яних пластинок. Вважається, що присутність фрагментів мегакаріоцитів у периферичній крові зумовлена надмірною продукцією тромбоцитів у відповідь на їхню деструкцію при ІТП. Середній об'єм тромбоцитів при ІТП нелінійно та інверсійно корелює з кількістю тромбоцитів, однак його показники залишаються нормальними навіть при важкій тромбоцитопенії. Показник середнього об'єму тромбоцитів є значно нижчим при тромбоцитопенії, асоційованій зі синдромом збільшеної селезінки, деякими мієлопроліферативними захворюваннями, прийомом цитостатичних середників, септичними станами. Лабораторні прояви анемії, яка зазвичай має нормоцитарний нормохромний характер, відповідають ступеню вираженості геморагічного синдрому. Якщо кровотечі є масивними і тривалими, то внаслідок втрати заліза анемія матиме мікроцитарний гіпохромний характер. Після кровотечі може спостерігатися ретикулоцитоз. Загальна кількість лейкоцитів і лейкоцитарна формула зазвичай є нормальними. Ці показники можуть змінюватися внаслідок гострої кровотечі, що проявляється помірним нейтрофіліозом із незначним омолодженням нейтрофільного ряду. Описані випадки еозинофілії при ІТП. Лімфоцитоз і наявність інших клітин

лімфоїдно-моноцитарного походження свідчать про вірусну причину виникнення тромбоцитопенії, частото спричинену вірусом *Epschein-Bar* (інфекційний мононуклеоз) [10].

Характеристика гемостазу

При оцінці системи зсідання крові виявляються порушення тромбоцитарної ланки: здовжений час кровотечі, слабка чи відсутня ретракція кров'яного згустка. Показники коагуляційного гемостазу, включаючи протромбіновий час, парціальний тромбoplastиновий час і фібриноген, є в межах норми у дітей з неускладненою формою ІТП. У плазмі хворих може бути незначне зростання продуктів деградації фібриногену, підвищений рівень окремих субодиниць тромбоцитарного мембранного глікопротеїну Ib [7], нормальний або незначно підвищений рівень тромбopoетину [10].

Характеристика кісткового мозку

Зміни у КМ при ІТП у дітей зазвичай є мінімальними й обмежуються мегакаріоцитарним паростком. Кількість мегакаріоцитів може бути помірно збільшеною. Поряд із великими трапляються молоді форми мегакаріоцитів з однією нуклеолою, малою цитоплазмою і незначною кількістю гранул. Імовірно, такі морфологічні зміни характеризують надмірну продукцію тромбоцитів у відповідь на їхню підвищену деструкцію. Внаслідок кровотечі може бути нормобластна гіперплазія еритропоєзу. Гранулоцитарний паросток інтактний. В окремих випадках спостерігається еозинофілія, лімфоцитоз. Морфологічні зміни КМ при гострій і хронічній ІТП є ідентичними. За результатами дослідження КМ неможливо спрогнозувати перебіг хвороби.

Необхідно відзначити, що залишається дискусійним питання щодо доцільності виконання діагностичної пункції КМ у дітей з підозрою на ІТП у дітей перед початком глюкокортекоїдної терапії. Хоча діагноз лейкемії є малоімовірним у випадку, коли анамнез хвороби, фізикальне обстеження і дані оцінки мазка периферичної крові характерні для ІТП, переважна більшість клініцистів рутинно виконують аспірацію КМ перед ініціальною гормонотерапією. Численні ретроспективні дослідження наводять на думку, що така маніпуляція не є необхідною. Дослідження КМ виправдане у тому випадку, коли у дітей знижена кількість тромбоцитів поєднується з атиповими лабораторними ознаками і коли ініціальна терапія не дає бажаного терапевтичного ефекту. Оцінка мієлорами є більш помітною для встановлення інших форм тромбоцитопенії, які не можна класифікувати в ІТП [2, 5, 6, 11].

Оцінка антитромбоцитарних автоантитіл при ІТП

З року в рік вдосконалюються методи визначення різних типів антитромбоцитарних АТ. Однак

більшість із цих методів є громіздкими і у рутинній практиці не застосовуються. Переважно визначають різні типи Ig, включаючи сироваткові антитромбоцитарні АТ, поверхневий тромбоцит-асоційований Ig, загальний тромбоцитарний Ig. Визначення антитромбоцитарних АТ повинно здійснюватись у лабораторіях, в яких використовуються високочутливі імунологічні методи [4, 8, 9, 12].

Необхідно відзначити, що наявний позитивний результат антитромбоцитарних АТ не є специфічним для тромбоцитопенії при ІТП, тому що підвищена концентрація Ig у сироватці крові спостерігається у хворих з неімунною тромбоцитопенією і навіть у деяких здорових осіб. Нормальні тромбоцити містять у своїх α -гранулах Ig. Його кількість прямо пропорційна до Ig, який міститься у сироватці крові. При активації тромбоцита з його α -гранул вивільняється тромбоцитарний Ig, а також інші протеїни: тромбоцитарний фактор 4, тромбоблобулін. Деякі з цих протеїнів можуть зв'язуватися на тромбоцитарній поверхні, що утруднює правильну оцінку наявності як тромбоцит-асоційованого IgG, так і загального тромбоцитарного Ig, які мають діагностичне значення при ІТП у дітей.

Виявлення антитромбоцитарних АТ сучасними лабораторними методами (використання моноклональних АТ до специфічних тромбоцитарних мембранних глікопротеїнів) не дає можливості підтвердити ІТП. Ці тести є дуже специфічними для визначення мембран-асоційованих АТ, зв'язаних зі специфічними тромбоцитарними глікопротеїнами. Проте вони все ще не є достатньо чутливими, щоб визначити їхню присутність у більш ніж 85% хворих. Отже, ці тести ще довго не будуть використовуватись у рутинній імунологічній діагностиці ІТП у дітей [5, 12].

Диференційна діагностика ІТП у дітей.

Першим кроком у виявленні ІТП у дітей є дослідження периферичної крові з підтвердженням зниженого рівня тромбоцитів. Слід враховувати, що тромбоцитопенія може бути несправжньою за рахунок скупчення тромбоцитів при заборі периферичної крові, спричиненим наявністю тромбоцитарних аглютининів, або тромбоцити можуть зв'язуватись із деякими субстанціями на поверхні лейкоцитів при заборі крові з вени. ІТП у дітей зазвичай встановлюється на підставі тромбоцитопенії у периферичній крові, анамнезу, фізикальних даних, а також розширеного дослідження крові, яке заперечує інші причини виникнення тромбоцитопенії. У 10% дітей з ІТП може спостерігатись незначне збільшення селезінки. Однак виражена спленомегалія наводить на думку про тромбоцитопенію, спричинену гіперспленізмом, а також наявність інших хвороб, асоційованих зі збільшенням селезінки. Початкові прояви гострої лейкемії, мієлодиспластичного синдрому,

мієлофтиз, апластична анемія можуть імітувати ІТП. При таких захворюваннях спостерігається нормохромна анемія і зміни у лейкоцитарній формулі, що не відповідають ні крововтраті, ні інфекційним ускладненням. Для ІТП не характерні зміни у КМ. Однак його дослідження необхідно здійснювати для проведення диференційного пошуку причини виникнення тромбоцитопенії. Наявність шизоцитів при дослідженні мазка периферичної крові наводить на думку, що тромбоцитопенія може асоціюватись із мікроангіопатією. При тромботичній тромбоцитопенічній пурпурі (ТТП) чи гемолітико-уремічному синдромі (ГУС) тромбоцитопенія пов'язана із лабораторною маніфестацією гемолізу, включаючи підвищений рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ), непрямого білірубіну, ретикулоцитозу. Діти, хворі на ТТП, можуть мати транзиторні мультифокальні неврологічні симптоми, а при ГУС – нефропатію. Наявність мікросфероцитів та коагуляційних розладів може також бути результатом дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові.

Наступним кроком є диференційна діагностика між ІТП та вторинними формами аутоімунних тромбоцитопеній, наприклад, вірус імунодефіциту людини, гепатит С, інфекція *Helicobacter pylori*, системні васкуліти, лімфопроліферативні захворювання, отруєння медикаментозними чи іншими токсичними середниками. Важливою є ретельна ідентифікація токсичного агента, його доза та експозиція. Необхідно пам'ятати, що тромбоцитопенію може індукувати прийом гепарину. Описані випадки, коли тромбоцитопенія виникала внаслідок тривалого утримання венозного катетера з промиванням його гепарином. Ізольовані тромбоцитопенії виникають при синдромі антифосфоліпідних АТ, який може асоціюватись із проявами тромбоемболії, наявністю антикардіоліпінових АТ, інгібіторами зсідання крові (вовчаковий антикоагулянт).

Лікування гострої ІТП у дітей.

ІТП у дітей зазвичай має сприятливий прогноз і у частині випадків не потребує медикаментозної терапії. Лікування проводиться тільки у випадку тяжкої тромбоцитопенії (менше 20 Г/л) з проявами кровотеч. Найбільш небезпечними є інтракраніальні крововиливи, які спостерігаються приблизно у 0,5 – 1 % хворих із рівнем тромбоцитів менше 20 Г/л.

Кортикостероїди (КС) (оральний преднізолон чи внутрішньовенний метилпреднізолон) є препаратами вибору для ініціального лікування ІТП. Лікування КС може змінювати морфологію КМ, тому його забір повинен здійснюватись перед гормонотерапією. Внутрішньовенний імуноглобулін та anti-D внутрішньовенний Rho (D) імуноглобулін (застосовується лише у Rh-позитивних хворих) зазвичай є препаратами другої лінії після КС.

На сьогоднішній день дискутується питання, який із зазначених медикаментозних середників повинен застосовуватися для ініціального лікування ІТП у дітей. Рандомізовані багатоцентрові дослідження свідчать, що у дітей з тяжкою тромбоцитопенією або загрозою інтракраніального крововиливу найкращий терапевтичний ефект має комбіноване лікування КС та імуноглобулінами для внутрішньовенного введення (ІГВВ) [4, 7, 9, 13].

Анти-D внутрішньовенний Rho (D) імуноглобулін є альтернативою нормального ІГВВ та застосовується у дітей із гострою формою ІТП. Він є ефективним у Rh (+) дітей зі збереженою функцією селезінки та застосовується у дозі 50 мкг/кг один раз на добу (якщо гемоглобін понад 80 г/л, дозу можна збільшити до 75 мкг/кг). Далі його застосовують у дозі 20 – 40 мкг/кг. Діти молодшого віку краще реагують на лікування Rho (D) імуноглобуліном. Необхідно зазначити, що при застосуванні Rho (D) імуноглобуліну рівень тромбоцитів зростає не так швидко (через 48 – 72 год), тому при кровотечах, загрозливих для життя, перевагу надають нормальному ІГВВ. Механізм дії анти-D внутрішньовенного Rho (D) імуноглобуліну не вивчений [15]. Подібно до нормальних імуноглобулінів, ефект від Rh (D) імуноглобуліну є транзиторним і триває декілька тижнів.

Зазвичай КС призначають із розрахунку 2 мг/кг/день (максимально 60 – 80 мг) упродовж 7 днів з поступовою відміною до 21-го дня лікування. Такий режим є найбільш ефективним, а небажані ефекти гормонотерапії є мінімальними. Інший режим лікування КС, – пероральне введення преднізолону у дозі 4 мг/кг/день упродовж 4 днів із різкою відміною – є також ефективним. Альтернативою до цих режимів є мегадозова пульс-терапія (метилпреднізолон у дозі 30 мг/кг/день внутрішньовенно або перорально упродовж 3 днів).

У тяжких випадках дозу стероїдів можна збільшити до 8 мг/кг/добу за преднізолоном. Інколи при неефективності одного виду КС його замінюють

Таблиця 3

Рекомендації щодо лікування гострої форми ІТП у дітей з рівнем тромбоцитів менше 20 Г/л

Клінічні прояви ІТП у дітей	Тактика лікування ІТП у дітей
Асимптомний перебіг	Спостереження ¹
Мінімальні прояви пурпури	ІГВВ (1г/кг 1 день) оральні КС (преднізолон 1-2 мг/кг/добу)
Кровотечі зі слизових, які потребують негайної допомоги	ІГВВ (1г/кг 1 день) оральні КС (преднізолон 1-2 мг/кг/добу) або ІГВВ (2 г/кг за 2-5 днів) Високі дози оральних КС
тяжкі кровотечі, загрозливі для життя	ІГВВ (1г/кг 1 день) Високі дози парентеральних КС або ІГВВ (2 г/кг за 2-5 днів) Високі дози оральних КС

іншим, який вираховується у дозі, еквівалентній преднізолону (наприклад, преднізолон замінюють на дексаметазон чи метилпреднізолон). Коли відповіді на лікування немає або кількість тромбоцитів спочатку зросла, а після відміни КС знизилася, необхідно повторити курс гормонотерапії через місяць. Комбінація КС та ІГВВ піднімає рівень тромбоцитів швидше і до більш високих показників, ніж кожен середник окремо. Така терапія є зручною при потребі швидко збільшити кількість тромбоцитів, а також при підготовці до операції.

Рекомендації щодо терапевтичної тактики при гострій ІТП у дітей представлені у таблиці 3.

Побічна дія КС полягає у розвитку кушингоїдного синдрому, збільшення ваги тіла, затримки рідини, гіперглікемії, гіпертензії, емоційної лабільності, акне, церебральних псевдопухлин, катаракти, аваскулярних некротів, остеопорозу.

У 15 – 75% дітей з ІТП виникають ускладнення, пов'язані із застосуванням ІГВВ. Найчастіше спостерігається грипоподібний стан, який супроводжується головним болем, нудотою, маренням, гарячкою. Деякі із цих симптомів можна ослабити прийомом анальгетиків чи антигістамінних середників. Приблизно у 10% дітей, які лікуються ІГВВ, виникають маніфестації асептичного менінгіту з розвитком затяжного головного болю і фотофобії. Ці симптоми викликають серйозне занепокоєння у дитини, батьків, лікарів і спонукають до додаткового діагностичного пошуку (виконання комп'ютерної томографії, магнітно-резонансного дослідження) та зумовлюють тривалу госпіталізацію. Рідкісною, проте серйозною побічною дією ІГВВ, є анафілактична реакція, яка переважно виникає у дітей з тотальним дефіцитом IgA. Більшість препаратів ІГВВ містять незначну кількість IgA та IgE, однак при їх введенні у дитини розвивається алергічна реакція негайної дії у вигляді анафілаксії.

Несприятливі реакції у вигляді головного болю, нудоти, загальної слабості та гарячки з остудом спостерігаються у 3% дітей, які лікуються анти-D імуноглобуліном. Різного ступеня гемоліз як основна побічна дія анти-D імуноглобуліну, є невідворотним, тому що відбувається зв'язування анти-D антитіл з Rh₀ (D)-позитивними еритроцитами. У 0,1–1,5% дітей з ІТП, яким застосувалась анти-D терапія, виникає внутрішньосудинний гемоліз, патогенез якого залишається невідомим. Вважається, що тяжкі гемолітичні реакції виникають рідше при підшкірному введенні анти-D імуноглобуліну, ніж при внутрішньовенному його застосуванні.

Патофізіологічна дія кортикостероїдів. Проведено багато досліджень стосовно впливу стероїдних гормонів на зростання числа тромбоцитів при ІТП. Вивчено декілька патофізіологічних механізмів дії КС при ІТП, а саме: зниження зуживання тромбо-

цитів селезінкою чи КС; зменшення продукції АТ селезінкою і КС; підвищення продукції тромбоцитів у КС; підвищення щільності судинної стінки. Описано опосередкований вплив стероїдної терапії на підвищення кількості кров'яних пластинок при ІТП, тобто за рахунок зменшення дії антитромбоцитарного Ig на тромбоцити, редукації інтрамедулярної деструкції тромбоцитів перед їх потраплянням у циркуляторне русло або зниження синтезу АТ лімфоцитами КМ [13, 14].

Патофізіологічна дія внутрішньовенного імуноглобуліну. Механізм дії ІГВВ до кінця не з'ясовано. Деякі дослідження вказують на те, що він блокує Fc рецептори на ретикулоендотеліальних клітинах, що забезпечує циркулювання тромбоцитів із АТ, а також пригнічує продукцію АТ і зв'язує їх. Останнє може відбуватись за рахунок антиідіопатичних АТ, які зв'язують антитромбоцитарні АТ і таким чином моделюють імунну відповідь. Активно вивчається можливість ІГВВ моделювати протизапальну активність через інгібіторний Fc-RII рецептор. Необхідно зазначити, що терапія ІГВВ залишається на сьогоднішній день висококартисною. Швидкий лікувальний ефект робить його ідеальним засобом для ліквідації загрозливих для життя кровотеч, а також при оперативних втручаннях [6].

Лікування хронічної ІТП у дітей.

Терапевтична тактика при хронічній ІТП у дітей полягає в тому, щоб запобігти кровотечі, а не лікувати хворобу, тобто базується на її клінічних проявах, а не на кількості тромбоцитів. Отже, «золотим» правилом лікування хронічної ІТП у дітей є: збереження кількості тромбоцитів; відмова від намагання нормалізувати їх рівень; позиція спостереження, особливо стосовно тих дітей, у яких симптоми ІТП є мінімальними.

Оскільки селезінка є первинним місцем продукції АТ та елімінації тромбоцитів із циркуляторного русла, то логічною є необхідність її видалення. Спленектомія виконується відносно рідко, оскільки широко використовують стероїдні середники, ІГВВ та anti-D імуноглобулін. Необхідність у спленектомії (СЕ) може виникнути у перші два роки після встановлення діагнозу, оскільки у цей період тромбоцитопенія зазвичай легко контролюється. Через 4 – 5 років хвороби можливе самостійне одужання, тому СЕ при ІТП у дітей повинна розглядатись як остання лінія терапії. Загалом СЕ виконують у тому випадку, коли спостерігається персистування ІТП щонайменше 12 місяців, наявність симптомів кровотечі та кількості тромбоцитів менше 10 Г/л при неефективності консервативних методів лікування. При травмах може бути проведена рання СЕ. У дітей із хронічною ІТП видалення селезінки виконують традиційним лапароскопічним методом.

Його перевагою є менший післяопераційний біль, швидке відновлення гастроінтестинальної функції, зменшення кількості днів перебування у стаціонарі, швидше відновлення активності дитини, незначна імовірність втручання. Для забезпечення адекватного гемостазу кількість тромбоцитів до операції піднімають КС, ІГВВ або anti-D імуноглобулінами. Значимо, що профілактичні трансфузії тромбоцитів не виправдані. Натомість їхнє застосування виправдано під час виникнення інтраопераційних кровотеч. Бажано видаляти селезінку при кількості тромбоцитів 50 – 100 Г/л. Іноді здійснюється відкрита лапаротомія з обов'язковою ревізією черевної порожнини на предмет додаткових дольок селезінки, які підлягають обов'язковому видаленню. Періоперативна смертність становить менше 1%. Тривала ремісія після спленектомії спостерігається у 70 – 80% хворих. Після операційного лікування кількість тромбоцитів у периферичній крові може зростати швидко, зазвичай упродовж 24 – 48 годин, гіпертромбоцитоз може сягати 1 Т/л і утримуватись до 10 днів. Необхідно пам'ятати, що селезінка є потужним імунокомпетентним органом і що її видалення може спричинити розвиток тяжких постспленектомічних інфекційних ускладнень. Саме тому за 2 тижні до планової СЕ слід провести вакцинацію кон'югованою вакциною *Haemophilus influenzae type B*, полівалентною пневмококовою вакциною та чотиривалентною менінгококовою полісахаридною вакциною, а також вакцинацію проти гепатиту В у попередньо невакцинованих дітей. У післяопераційному періоді застосовують довготривалу антибіотикопрофілактику (пероральний пеніцилін або парентеральний β-лактамний пеніцилін типу G пролонгованої дії – ретарпен) упродовж 3 – 5 років. Небажано проводити СЕ у дітей до 5 років у зв'язку з розвитком тяжких гіпоімунних станів. Смертність після оперативного видалення селезінки становить менше 1%, періоперативні кровотечі спостерігаються рідко. Якщо видалення селезінки не дало суттєвого ефекту, або виник рецидив хвороби після первинної відповіді на СЕ, можна запідозрити наявність додаткової дольки селезінки, яка спостерігається у 15 – 20% хворих дітей.

Існують й інші альтернативні методи лікування хронічної форми ІТП у дітей (табл. 4).

Неонатальна ІТП

У вагітних жінок з ІТП є велика (50%) імовірність народження дитини з тромбоцитопенією. Це відбувається внаслідок трансплацентарного переходу IgG матері у кровотік плоду та деструкції тромбоцитів. За таких умов у новонародженої дитини виникає *неонатальна аутоімунна тромбоцитопенія* (НАІТ). Незважаючи на те, що НАІТ схильна до самовилікування, вона може тривати декілька

Альтернативні методи лікування хронічної ІТП у дітей

Імуносупресивні метаболіти: <ul style="list-style-type: none"> – азатиоприн у дозі 50-200 мг/м²/добу перорально чи внутрішньовенно упродовж 4 - 6 місяців; – циклоспорин А у дозі 5 мг/кг/добу перорально, у разі відсутності відповіді на лікування через 4 тижні відміняється; – такролімус із розрахунку 0,15-0,3 мг/кг/добу перорально.
Природні та синтетичні протипухлинні препарати: <ul style="list-style-type: none"> – циклофосамід у дозі 2 мг/кг/добу перорально або 1-1,5 г/м² внутрішньовенно 2-4 рази на місяць; – вінкристин у дозі 1,5 мг/м² (максимум 2 мг) внутрішньовенно один раз на тиждень упродовж 1 місяця; – вінбластин у дозі 6 мг/м² (максимум 10 мг) внутрішньовенно один раз на тиждень упродовж 1 місяця.
Імуномодулятори: <ul style="list-style-type: none"> – інтерферон α у дозі 3 мільйони Од/м² підшкірно тричі на тиждень упродовж 4 тижнів; – мікофенолату мофетил у дозі 250 мг перорально двічі на день з поступовим зростанням дози до 1 г двічі на день за три тижні.
Статеві стероїди: <ul style="list-style-type: none"> – даназол у дозі 300-400 мг/м²/добу перорально упродовж 2 місяців.
Моноклональні антитіла: <ul style="list-style-type: none"> – ритуксімаб у дозі 375 мг/м²/тиждень внутрішньовенно 4 рази.
Стимулятори тромбопоєзу: <ul style="list-style-type: none"> – AMG 531 (рекомбінантний протеїн) призначається підшкірно з розрахунку 1-3 μг/кг один раз на тиждень; – ельтромбопаг дається у дозі 50-75 мг перорально один раз на добу.

тижнів після народження. При тяжкій тромбоцитопенії (менше 50 Г/л) в 1% випадків виникають інтракраніальні крововиливи. Однак необхідно розрізняти істинну ІТП у матері та «тромбоцитопенію вагітності». При такій патології тромбоцитопенія зазвичай не є тяжкою (кількість кров'яних тілець становить ≥ 100 Г/л), а також відсутня ймовірність передачі її дитині. Найважливішим завданням при виявленні ІТП у вагітних є визначення жінок з високим ризиком народження дитини з важкою тромбоцитопенією. Особливої уваги потребують особи, які відповідають таким критеріям: в анамнезі народження дитини, яка була хворою НАІТ; в анамнезі у матері спленектомія з приводу ІТП; активний перебіг ІТП під час вагітності (кількість тромбоцитів менше 100 Г/л). Найнижчий рівень тромбоцитів у новонароджених з НАІТ часто спостерігається через декілька днів після народження. Отже, необхідно регулярно здійснювати моніторинг показників гемограми протягом усього періоду найбільшого ризику виникнення тромбоцитопенії, а саме, у перший тиждень життя. Для виключення інтракраніального крововиливу проводять нейросонографічне дослідження [3, 9].

Пренатальне лікування НАІТ: під час вагітності матері призначають високі дози ІГВВ (1г/кг/день) щоденно (дані стосовно ефективності корекції тромбоцитопенії у плода високими дозами ІГВВ суперечливі). До моменту пологів слід визначити вміст тромбоцитів у плоду. Для цього отримують кров із судин пуповини або шкіри го-

лови плоду. За основу беруть кількість кров'яних пластинок у плоду 50 Г/л. Якщо їхній вміст виявляється меншим 50 Г/л, негайно застосовують цісарський розтин [3].

Постнатальне лікування НАІТ: методом вибору у лікуванні новонароджених дітей з аутоімунною тромбоцитопенією є ІГВВ із розрахунку 1 г/кг/день протягом двох днів при кількості тромбоцитів у периферичній крові менше 50 Г/л. Критерієм позитивної відповіді на терапію є зростання кількості тромбоцитів у периферичній крові протягом 48 годин після дводенного курсу лікування понад 50 Г/л, або збільшення їхньої кількості щонайменше удвічі у порівнянні з початковим рівнем. Можна застосовувати преднізолон або метилпреднізолон у дозі 1 – 3 мг/кг/день. Однак гормонотерапія показана у випадку неефективності лікування ІГВВ. Якщо у новонародженої дитини спостерігаються виражені геморагічні ускладнення, гормонотерапію комбінують із ІГВВ. Слід наголосити, що замініні переливання крові та трансфузії тромбоконцентрату від різних донорів не дають бажаного результату [9].

Невідкладна допомога при гострих кровотечах, спричинених ІТП у дітей.

Інтракраніальні крововиливи або інші форми кровотеч, загрозливі для життя, потребують проведення негайних терапевтичних заходів, включаючи ІГВВ (1г/кг), anti-D (50 – 75 μ г/кг), високі дози КС (метилпреднізолон 30 мг/кг внутрішньовенно), трансфузії тромбоцитів або комбінацію середни-

ків. Оскільки і ІГВВ, і anti-D пригнічують фагоцитоз хоча й різними, проте потенційно синергічними механізмами, то вони можуть застосовуватись поєднано у разі виникнення тяжкого геморагічно-го синдрому.

Активованій рекомбінантний фактор VII (rFVIIa) (Ново-Сеვენ) також застосовується при загрозованих для життя кровотечах у дітей, особливо при інтракраніальних крововиливах на фоні тромбоцитопенії, рефрактерної до середників першої та другої лінії терапії. При тромбоцитопенії внаслідок застосування супрафізіологічних доз rFVIIa на тромбоцитах підвищується тромбіноутворення, а також відбувається швидка їхня активація. Відкладання тромбіну і фібриногену на тромбоциті більш помітне у хворих, які отримують високі дози rFVIIa. Потужне відкладання фібриногену на тромбоциті призводить до сильної взаємодії між тромбоцитами. Супрафізіологічні дози rFVIIa також сприяють прямій активації фактора X на верхні тромбоцитів з вибухоподібним утворенням тромбіну. Зазвичай у критичній ситуації його призначають з розрахунку від 30 до 90 мкг/кг кожні 1,5 – 2 год до зупинки кровотечі, можливе поєднання із тромбоконтратом [1, 2, 7, 9, 11, 15].

ЛІТЕРАТУРА

1. *Виговська Я.І.* Геморагічні захворювання. Львів: ВАТ «Бібльос», 1999. – 240 с.
2. *Петч Б., Мадленер К., Сушко Е.* Гемостазиология. Рациональная диагностика и терапия. К.: «Здоров'я», 2006. – 288 с.
3. *Arnold D.M., Kelton J.G.* Current options for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Haematol.* 2007; 44: 12–23.
4. *Bennet C.M., Rogers Z.P., Kinnamon D.D. et al.* Prospective phase I/II study of rituximab in children and adolescent chronic immune thrombocytic purpura. *Blood.* 2006; 107: 2639–2642.
5. *Minkov M.* Critical issue concerning splenectomy for children idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Pediatr. Blood Cancer.* 2006; 47: 734–736.
6. *Monteagudo M., Amengual M., Muñoz L. et al.* Reticulated platelets as a screening test to identify thrombocytopenia aetiology. *QJM.* 2008; 101: 549.
7. *Newland A.* Emerging strategies to treat chronic immune thrombocytopenic purpura. *Eur. J. Haematol. Suppl.* 2008; 27–33.
8. *Ojima H., Kato T., Araki K.* Factors predicting long-term responses to splenectomy in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *World J. Surg.* 2006; 30 (4): 553–559.
9. *Parsons S.K., Bennet C., Mahoney D. et al.* The impact of rituximab on health-related quality of life (HRQL) in children with severe chronic immune thrombocytopenia (cITP) over 52 weeks. *Pediatr. Blood Cancer.* 2006; 46: 693.
10. *Pasa S., Altintas A., Cil T. et al.* The efficacy of rituximab in patients with splenectomized refractory chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2008; 3: 156–162.
11. *Sukenik-Halevy R., Ellis M.H., Fejgin M.D.* Management of immune thrombocytopenic purpura in pregnancy. *Obstet Gynecol. Surv.* 2008; 63: 82–88.
12. *Szoid A., Schwartz J., Abu-Abeid S. et al.* Laparoscopic splenectomies for idiopathic thrombocytopenic purpura: experience of 60 cases. *Am. J. Haematol.* 2000; 63: 7–10.
13. *Vranou M., Platokouki H., Pergantou H. et al.* Recurrent ITP in childhood. *Pediatr. Blood. Cancer.* 2008; 17: 89–97.
14. *Wang J., Wiley J., Luddy R. et al.* Chronic immune thrombocytic purpura in children: assessment of rituximab treatment. *J. Pediatr.* 2005; 146: 217–221.
15. *Wang T., Xu M., Ji L. et al.* Splenectomy for chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children: a single center study in China. *Acta Haematol.* 2006; 115: 39–45.

ИДИОПАТИЧЕСКАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА У ДЕТЕЙ: ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Дубей Л.Я., Цымбалюк-Волошын И.П., Дубей Н.В.

Резюме. Представлены основные аспекты этиологии и патфизиологии идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у детей, а также принципы клинической и лабораторной диагностики и современного лечения этой болезни.

Ключевые слова: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, дети, этиология, патогенез, диагностика, лечение.

IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA IN CHILDREN: CURRENT DIAGNOSTIC AND TREATMENT

Dubey L.Ya., Tsymbaluk-Voloshyn I.P., Dubey N.V.

Summary. The main aspects of aethiology and pathogenesis of idiopathic thrombocytopenic purpura in children as well as principles of clinical and laboratory diagnostic and current treatment of its has been presented.

Key words: idiopathic thrombocytopenic purpura, aethiology, pathogenesis, diagnostic, treatment.

Адреса для листування:

Дубей Леонід Ярославович,
ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України»,
вул. Генерала Чупринки, 45, м. Львів, 79044.
Тел.: 8 (032) 238 32 47
e-mail: dubey@ukr.net

Надійшла 02.07.2011

«ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ» 16-17 НОЯБРЯ 2011 Г., САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Уважаемые коллеги,

Приглашаем Вас принять участие в работе научной конференции «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и службе крови», которая пройдет в Санкт-Петербурге с 16 по 17 ноября 2011 г.

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации.
Федеральное медико-биологическое агентство России
Северо-западное отделение РАМН
ФГУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России

Программа конференции включает в себя лекции и доклады ведущих российских специалистов, и устные доклады участников, посвященные вопросам лабораторной диагностики.

ТЕМАТИКА КОНФЕРЕНЦИИ:

1. Требования к проведению иммуногематологических исследований доноров и реципиентов.
2. Вопросы контроля качества иммуногематологических исследований.
3. Обеспечение иммунологической и инфекционной безопасности гемотрансфузий.
4. Диагностика посттрансфузионных осложнений
5. Клиническое значение антител к форменным элементам крови и методы их выявления.
6. Подбор крови доноров сенсibilизированным реципиентам.
7. Молекулярно генетические методы типирования антигенов тромбоцитов.
8. Диагностика гемобластозов, анемий и депрессий гемопоэза
9. Цитогенетические и молекулярно-биологические методы исследования в гематологии.
10. Диагностика осложнений, возникающих в процессе лечения заболеваний системы крови.

ОРГКОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ:

Председатель оргкомитета: чл.-корр. РАМН, д.м.н., профессор Е.А. Селиванов

Заместители председателя оргкомитета:

д.м.н., профессор С.С. Бессмельцев
д.б.н., профессор Н.В.Минеева
д.м.н., профессор Чеботкевич

Члены оргкомитета:

Гавровская С. В.
Сысоева Е. А.
Бодрова Н.Н.
Кайтанджан Е.И.
Глазанова Т.В.
Бурылев В.В.
Иванова М.П.
Соколова Ю.В.
Цыбакова Н.Ю.
Семенова Н.Ю.
Коновалова А.И.
Григорьян М.Ш.

Телефон/факс Оргкомитета:

Тел. (812) 717 44 66 или (812) 7172958, факс. (812) 717-25-15

Место проведения – актовый зал. Рос. НИИГТ (С-Пб, ул.2-я Советская, д.16. Метро «Площадь Восстания»). Регистрация участников с 9 до 17 час 16 ноября и с 9 до 13 час 17 ноября, начало конференции в 10 час. 16 ноября и 17 ноября 2011.

✉ 191024, Санкт-Петербург, 2-я Советская ул., д.16. Российский НИИ гематологии и трансфузиологии.

☎ Телефоны для справок: (812) 717 44 66; (812) 7172958

Факс (812)717-25-50;

e-mail: RNIIGT@mail.ru

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ БУДУТ ОПУБЛИКОВАНЫ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ».

Тезисы оформляются в редакторе Word любой версии Microsoft Office в формате doc. Лист формата А4, шрифт Times New Roman, 12 pt. Межстрочный интервал 1,5, поля – 2,5 см со всех сторон. Максимальный объем тезисов - 2 страницы. В первой строке указываются инициалы и фамилии авторов, через 1,5 интервала ПРОПИСНЫМИ БУКВАМИ – название работы, через 1,5 интервала официальное название учреждения, город (точка после написания указанных строк не ставится), через два одинарных интервала от предыдущей строки – текст. Аббревиатура расшифровывается при первом упоминании. Библиографический список не приводится. Количество материалов от одного участника не ограничено. Публикация бесплатная. Материалы для публикации направляются в оргкомитет конференции не позднее 10 октября 2011 г. по электронному адресу rniiht@mail.ru. После получения тезисов, оргкомитетом будет выслано подтверждение их получения.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТЕЗИСОВ:

Иванов А.А.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

Далее должен следовать пробел в объеме одной строки, затем текст.

НАЗВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ ДОЛЖНО ОБЯЗАТЕЛЬНО СООТВЕТСТВОВАТЬ ОФИЦИАЛЬНОМУ И ПРИВОДИТЬСЯ БЕЗ СОКРАЩЕНИЙ.

По вопросам формирования программы конференции, участия в виде докладов (в случае необходимости) обращаться к зам. председателя оргкомитета Наталье Витальевне Минеевой по тел. (812) 717 44 66 или Виталию Николаевичу Чеботкевич (812) 7172958.

Авторы работ, отобранных организационным комитетом для устного доклада, будут дополнительно информированы и получают приглашение.

Оргкомитет оставляет за собой право не публиковать материалы, оформленные без учета рекомендаций, присланные с опозданием, а также не отвечающие тематике конференции.

Оргкомитет просит лекторов и докладчиков подготовить материалы для сопровождения выступлений в формате ppt презентаций и представить их для демонстрации на диске или flash-cart до начала заседания.

ВЫСТАВКА

В период проведения научной конференции будет организована выставка современных образцов медицинского оборудования, диагностических методов. По вопросам участия в выставке представителям компаний обращаться к зам. председателя оргкомитета С.С. Бессмельцеву по тел. +7 (812) 717 67 80 или моб. +7 911 2281801.

По вопросам приема и порядку опубликования материалов, иным вопросам обращаться к зам. председателя оргкомитета Наталье Витальевне Минеевой по тел. (812) 717 44 66 или Виталию Николаевичу Чеботкевич (812) 7172958 (с 10.00 до 16.00).

По вопросам размещения в гостинице можно воспользоваться: **Служба бронирования «ОТЕЛИ СЕВЕРО-ЗАПАДА» Адрес:** 190005, Санкт-Петербург, 13-ая Красноармейская улица, д. 22 пом. 1Н
Тел.(812)575 39 67; (812)575 39 37; **Тел./Факс:** (812)575 39 67; (812)575 39 37

E-mail: res@nwhotel.ru; **Web:** www.nwhotel.ru; www.hotel-ru.com

Программа конференции будет опубликована на Web – сайте: www.bloodscience.ru после 20 октября 2011 г.

Образец заявки на участие в конференции (отправить по электронной почте по адресу rniiht@mail.ru):

ФИО полностью

Место работы и занимаемая должность, адрес и наименование организации.

Ученая степень

Контактный телефон (с кодом города), факс, электронный адрес

Нуждаетесь ли в гостинице. **Для бронирования гостиничного размещения иногородним участникам рекомендуется заранее прислать заявку с указанием даты заезда и отъезда.**

Форма участия:

- доклад и публикация тезисов
- доклад
- публикация тезисов
- другая (указать)