

Родіонова І.О.,
Скрипниченко С.В.,
Скрипниченко Т.С.

ГЕМОРАГІЧНИЙ СИНДРОМ У ВІЛ ІНФІКОВАНИХ ПАЦІЄНТІВ

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

Резюме. У роботі наведений аналіз літератури та власний досвід проведення диференційної діагностики вперше виявленої тромбоцитопенії та у пацієнтів з ВІЛ інфекцією, яка проявляється геморагічним синдромом.

Ключові слова: тромбоцитопенія, геморагічний синдром, ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура, мегакаріоцити.

Віл інфекція пов'язана з множинними порушеннями гемопоезу, впливає, як на лімфоїдні так і мієлоїдні паростки кровотворення на рівні стовбурових клітин. У 70-80% ВІЛ інфікованих хворих розвивається анемія, а нейтропенія у більше ніж 50% пацієнтів. Тромбоцитопенія також зустрічається часто – приблизно у 40% пацієнтів, а у 10% хворих на ВІЛ вона є першим симптомом[1].

Причини цих порушень різноманітні. Існує ствердження, що гемопоетичні стовбурові клітини або CD 34+ клітини попередниці, резистентні до інфікування ВІЛ. Однак, клітини, що відносяться до мієлоїдних попередників, можуть бути інфіковані і стають функціонально неповноцінними. Крім того, порушується мікросередовище кісткового мозку яке необхідне для росту та розвитку нормальних клітин крові. Т-клітини та макрофаги які складають це мікрооточення (stroma) можуть заражатися ВІЛ і при цьому знижується продукція різних гемопоетичних росткових факторів, що призводить до порушення росту клітин-попередниць. Все це призводить до частого розвитку цитопенії, зокрема тромбоцитопенії, анемії та нейтропенії[2].

Значення кісткомозкового мікрооточення полягає у здатності до продукування різних гемопоетичних росткових факторів (ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор, Г-КСФ гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор, М-КСФ – макрофагальний колонієстимулюючий фактор), які необхідні до проліферації, диференціювання та функціонування зрілих гранулоцитів, моноцитів, базофілів та еозинофілів. Еритропоетин, що синтезується інтерстиціальними клітинами нирок, має важливе значення у продукції еритроцитів.

Тромбопоетин, який виробляється печінкою, стимулює продукцію тромбоцитів Flt3 і фактор стовбурових клітин (kit-ліганд) є ранніми актива-

торами гемопоетичних стовбурових факторів, що допомагають зростанню усіх ліній гемопоезу (еритроцитів, гранулоцитів та мегакаріоцитів/моноцитів)[3].

Характерним для ВІЛ інфекції є зменшення числа CD 4 лімфоцитів, що закінчується імунодефіцитом. Schittman зі співавторами [4] вважають, що ВІЛ може інфікувати усі клітини крові, які мають CD4 рецептор. Також думки дотримуються Р.М.Хаитов та Г.А.Ігнат'єв[5], які виділяють прямі клітини-мішені для ВІЛ в організмі людини.

Досить частим та єдиним проявом гематологічних змін у ВІЛ інфікованих і на стадії СНІДу і при асимптомному перебігу інфекції є тромбоцитопенія. Як відомо на тромбоцитах відсутні рецептори CD 4, що викликає прямий вплив ВІЛ на ці клітини. Але R.S.Busch та співавтори [6] встановили, що мегакаріоцити становлять близько 0,4% усіх ядромістких клітин кісткового мозку і на 25% цих клітин експресований антиген CD 4. Приблизно в тій же кількості як і на Т-лімфоцитах. Наявність CD 4 антигена на цих клітинах дає можливість говорити про ураження ВІЛ мегакаріоцитів і пояснює причину тромбоцитопенії при ВІЛ інфекції[6]. Крім цього, тромбоцитопенія у таких хворих може бути обумовлена аутоімунною агресією.

Причини розвитку тромбоцитопенії у ВІЛ позитивних хворих наступні. По-перше, ВІЛ інфікує мегакаріоцити і це означає, що ВІЛ сам може викликати недостатність тромбоцитів.

По-друге, імунна система може виробляти антитіла які направлені проти здорових тромбоцитів організму. Такі стани називаються тромбоцитопенічна пурпура або геморагічна пурпура, а антитіла називаються ауто-антитілами, а стан аутоімунним. Аутоантитіла дають сигнал селезінці, яка знищує і видаляє тромбоцити з організму[7].

Коли кількість тромбоцитів стає нижче 30 000 в мікролітрі це означає високий ризик неконтро-

льованої кровотечі.

Багато людей з тромбоцитопенією, особливо помірною, не мають ніяких специфічних симптомів. У більш важких випадках тромбоцитопенії, з частими і великими носовими кровотечами, появою на тілі синців, великі кровотечі при пораненні, у жінок масивні кровотечі під час менструацій[8].

Ідіопатична (імунна) тромбоцитопенічна пурпура – ІТП – захворювання при якому надмірно руйнуються покриті аутоантитілами тромбоцити макрофагами селезінки, кісткового мозку і печінки. ІТП у хворих уражених ВІЛ, виявляють у 10-15% і її частота росте при зменшенні кількості CD 4+ лімфоцитів. Вона не є маркером СНІДу, бо зустрічається на всіх стадіях ВІЛ-інфекції. У більшості пацієнтів кількість тромбоцитів перевищує $10 \times 10^9/\text{л}$, проявів підвищеної кровоточивості немає, або вони незначні [9]. Однак, завжди існує потенціальний ризик загрозливої для життя кровотечі, зокрема крововилив у ЦНС. Іноді кількість тромбоцитів самостійно нормалізується, але в більшості випадків без патогенетичного лікування, ІТП рецидивує і прогресує. Підтвердженням є наші спостереження.

Матеріали та методи.

Дослідження кісткового мозку і проведення імуноцитохімічних досліджень кісткового мозку та периферичній крові пацієнтів, проводилось у імуноцитохімічному відділі НДІ експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України. Стандартні клініко-лабораторні дослідження такі, як загальний аналіз крові, підрахунок мієлограми та мегакаріоцитограма, рентгенографія органів грудної порожнини, УЗД органів черевної порожнини, біохімічне дослідження крові виконані на базі клініко-діагностичної лабораторії МКЛ N 9.

Результати та їх обговорення.

У вересні 2012р., поступила в гематологічне відділення N 1 МКЛ N 9 пацієнтка 26 років зі скаргами на сильну кровотечу з ясен та зниженням кількості тромбоцитів до $8,0 \times 10^9/\text{л}$. Вперше кровотечі виникли 2 роки тому, коли була госпіталізована і прооперована з приводу гемоторакса в одній з клінік м. Києва. Причини гемоторакса встановлені не були. Протягом 2-х років спостерігались незначні носові кровотечі і поступове зниження кількості тромбоцитів в межах $40-50 \times 10^9/\text{л}$. Інші показники аналізу крові були нормальні. При обстеженні в гематологічному відділенні в аналізі крові (лейкоцити – $2,8 \times 10^9/\text{л}$,

еритроцити – $3,9 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобін – 110 г/л) при підрахунку лейкоцитарної формули звертав на себе увагу відносний лімфоцитоз – 48% лімфоцитів, наявність плазматичних клітин 4% та 3% атипових мононуклеарів або віроцитів. При дослідженні кісткового мозку з імуноцитохімічними дослідженнями препаратів кісткового мозку та периферичної крові, захворювань системи крові не виявлено. Враховуючи низький вміст тромбоцитів з геморагічним синдромом, були призначені додаткові обстеження: імунологічні дослідження для виключення вірусних гепатитів, вірусів герпеса, ВІЛ-інфекції, а також проводилась симптоматична гемостатична терапія (е-АКК, дицинон), гормонотерапія (медрол 1 мг/кг/добу) з позитивною динамікою (кількість тромбоцитів через тиждень лікування дорівнювала $200 \times 10^9/\text{л}$). Отриман позитивний результат ВІЛ тесту та подальше лікування хворої проводилося в спеціалізованій лікарні.

Інший випадок наявності тромбоцитопенії та геморагічного синдрому (періодичні носові кровотечі) у пацієнта 40 років, який був направлений на дообстеження та лікування у гематологічне відділення N 1 МКЛ N 9. Кількість тромбоцитів на момент поступлення була $20 \times 10^9/\text{л}$. Після проведення необхідних клініко-лабораторних досліджень, зокрема аналіза крові (лейкоцити – $4 \times 10^9/\text{л}$, еритроцити – $3,7 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобін – 118 г/л, патологічних змін в лейкоцитарній формулі не виявлено), мієлограми (нормальний вміст мегакаріоцитів, більша частина яких недієва), імуноцитохімічних досліджень кісткового мозку та периферичної крові, був встановлений діагноз ІТП і призначене стандартне лікування. Пацієнт отримував преднізолон в дозі 1 мг/кг/добу, симптоматичну терапію. Через 1,5 місяця від початку лікування геморагічний синдром повністю зник, а кількість тромбоцитів нормалізувалась ($220 \times 10^9/\text{л}$) і пацієнт був виписаний з рекомендацією про поступове зниження дози преднізолону до повної відміни. Через 1 місяць від початку зниження дози преднізолону 30 мг/добу у хворого відновились носові кровотечі, а рівень тромбоцитів знизився до $30 \times 10^9/\text{л}$. Пацієнт був повторно госпіталізований у гематологічне відділення МКЛ N9 для дообстеження та лікування. Проведення досліджень на наявність вірусних інфекцій зокрема ВІЛ, підтвердило інфікованість пацієнта ВІЛ і подальше лікування пацієнта у спеціалізованій клініці.

Звертає на себе увагу третій клінічний випадок у пацієнтки 28 років, яка у березні 2013р. була

направлена на обстеження та лікування у терапевтичне відділення МКЛ №9 з приводу нез'ясованих причин панцитопенії (еритроцити – $3,5 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобін – 100 г/л , лейкоцити – $2,6 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцити – $49 \times 10^9/\text{л}$, у лейкоцитарній формулі – відносний лімфоцитоз – 52% лімфоцитів). Клінічних ознак інфекції не було встановлено, хоча температура тіла у вечірні години піднімалась до $37,2\text{--}37,4^\circ \text{C}$. Імуноцитохімічне дослідження кісткового мозку ознак ураження системи крові не підтвердило. Проведення імунологічних досліджень для виключення вірусної інфекції виявило у пацієнтки ВІЛ і подальше лікування відбувалось у спеціалізованому стаціонарі.

З наведених прикладів видно, що одним з факторів, які призводять до прогресування ВІЛ-інфекції є порушення в системі кровотворення у таких хворих. Спектр цих змін доволі різноманітний і стосується усіх ланок гемопоєзу – як периферичної крові так і кістковомозкового кровотворення. Зміни периферичної крові у хворих з ВІЛ інфекцією характеризувались тромбоцитопенією, нейтропенією та анемією. В усіх випадках приходилось проводити диференційну діагностику з захворюваннями системи крові, а саме ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура, при якій тромбоцити з антитілами на їх мембрані знищуються макрофагами селезінки. На відміну від ВІЛ інфікованих пацієнтів, у яких немає крововтрати або вона була незначною, істинна ІТП супроводжується значним по кількості та розповсюдженості кровотечами. До того ж ймовірність кровотеч мала у пацієнтів з ВІЛ та поки кількість тромбоцитів не знизиться до $10 \times 10^9/\text{л}$ та нижче, на відміну від ІТП, де потенційно ризик загрозливого крововиливу у головний мозок потребує уважного спостереження та невідкладного лікування у повному обсязі.

Висновки.

1. Як правило “de novo” тромбоцитопенія виникає у людей не інфікованих ВІЛ, внаслідок вироблення специфічних антитіл проти власних антигенів тромбоцитів (ІІb/ІІІa рецептори). З током крові тромбоцити потрапляють у синусоїди селезінки, де контактують з макрофагами. Макрофаг захоплює комплекс тромбоцита з антитілом і переробляє його шляхом фагоцитозу. У відповідь на тромбоцитопенію компенсаторно збільшується продукція тромбоцитів, а також збільшується кількість мегакаріоцитів кісткового мозку.

Однак, це не компенсує підвищення руйнування тромбоцитів, тромбоцитопенія нарастає. Незважаючи на низький рівень тромбоцитів при ідіопатичній тромбоцитопенічній пурпурі (ІТП), кровотечі виникають зрідка. Це обумовлено тим, що молоді тромбоцити більші за розмірами і функціонально більш активні[9].

2. Як і при ІТП, тромбоцитопенія у ВІЛ інфікованих хворих обумовлена підвищеним руйнуванням тромбоцитів при фагоцитозі макрофагами селезінки. Однак цей механізм дещо інший. Так, виявлені у ВІЛ інфікованих пацієнтів з тромбоцитопенією специфічні антитіла до тромбоцитів імунохімічно характеризуються, як анти-глікопротеїн gr ІІb та/або gr ІІІa схожий з описаним при ІТП “de novo”. Однак, також представлена прекрестна реакція між антитілами до антигенів структур ВІЛ-gr 160/120 і антигенами тромбоцитів ІІb/ІІІa. Бетайб с соавт. (1992р.) встановили, що сироваткові антитіла проти ВІЛ-gr 160/120 активні і проти антигенів тромбоцитів пацієнтів, які мають ВІЛ інфіковану ІТП і що ці ВІЛ-специфічні антитіла перекрестно реагують з антигенними детермінантами тромбоцитів gr ІІb/ІІІa. Ця молекулярна мімікрія між ВІЛ 160/120 та тромбоцитарними gr антитілами може обумовити імунну деструкцію тромбоцитів у ВІЛ-інфікованих пацієнтів з ІТП. Подальший механізм руйнування тромбоцитів полягає у зв'язуванні імунних комплексів проти ВІЛ на тромбоцитарних Fc рецепторах та подальшим зв'язуванням з макрофагом та фагоцитозом[10].
3. Були проведені дослідження продукції та деструкції тромбоцитів у ВІЛ інфікованих пацієнтів з ІТП і результати порівнювань з пацієнтами без патології і з тими, хто мав вперше виявлену ІТП. Середня тривалість життя тромбоцитів значно скорочена у хворих з ВІЛ-ІТП незалежно від того, приймали вони специфічну антиретровірусну терапію, чи ні. Цікаво, середня тривалість життя тромбоцитів була значно знижена у ВІЛ інфікованих осіб з нормальним рівнем тромбоцитів. Крім підвищеної деструкції тромбоцитів встановлено зниження продукції тромбоцитів у пацієнтів з ВІЛ-ІТП. Однак пацієнти, що отримували специфічну терапію незалежно від наявності тром-

боцитопенії демонстрували значне підвищення продукції тромбоцитів.

- Зниження продукції тромбоцитів при ВІЛ інфекції може бути пов'язано інфікуванням мегакаріоцитів ВІЛ. Коурі з співавт. (1998р.) першими продемонстрували, що людські мегакаріоцити, що несуть CD4+рецептори, здатні зв'язуватися з ВІЛ-1. Зукер-Франклін з співавт. (1999р.) довели, що ВІЛ-1 може засвоюватися людськими мегакаріоцитами. Ванг з колегами продемонстрували присутність CXCR4-хемокінового рецептора, відомого як важливий корецептор до ВІЛ, на попередниках мегакаріоцитів, мегакаріоцитах та тромбоцитах. Експресія вірусної РНК була доведена методом FISH в мегакаріоцитах 10 з 10 пацієнтів. Відомі специфічні ультраструктурні порушення у ВІЛ інфікованих мегакаріоцитах, що проявляються у вакуолізації поверхневої мембрани[8;9;10].

Наприкінці хочеться підтвердити наведені дані експериментом, який провели Харкер з співавт. Вони описали трьох шимпанзе, інфікованих ВІЛ-1 у котрих розвинулася ІТП, пов'язана з підвищенням рівня антитіл до тромбоцитів гр Ша. Використання рекомбінантних пегілірованих (штучно пов'язаних з ПЕГ (поліетиленгліколем) для пролонгації всмоктування) людських факторів росту і розвитку мегакаріоцитів призвело до зниження протитромбоцитарних антитіл в плазмі крові, а також до підвищення рівня тромбоцитів в крові і рівня мегакаріоцитів та їх попередників у кістковому мозку. Ці зміни підкреслюють, що механізм ІТП у ВІЛ інфікованих мавп обумовлений недостатньою продукцією тромбоцитів так само, як це описано у людей.

HEMORRHAGIC SYNDROME FOR HIV INFECTED PATIENTS

Rodionova I.O., Skrypnichenko S.V., Skrypnichenko T.S.

Abstract. *The paper reviews literature and reports own findings dealing differential diagnosis of thrombocytopenia de novo and patients are HIV with haemorrhagic syndrome.*

Key words: *thrombocytopenia, haemorrhage syndrome, idiopathic thrombocytopenic purpura, megakaryocytes.*

Список использованной литературы

- Moses A, Nelson J, Bagby GC Jr. The influence of human immunodeficiency virus-1 on hematopoiesis. *Blood.* 1998;91:1479-1495.
- Bagnara GP, Zauli G, Giovanni M, Re MC, Furlini G, LaPlaca M. Early loss of circulating hematopoietic progenitors in HIV-1 infected subjects. *Exp Hematol.* 2010;18:426.
- Folks TM, Kessler SW, Orenstein JM, et al. Infection and replication of HIV-1 in purified progenitor cells of human bone marrow. *Science.* 1998;242:919-922.
- Shen H, Cheng T, Preffer FI, et al. Intrinsic human immunodeficiency virus type 1 resistance of hematopoietic stem cells despite coreceptor expression. *J Virol.* 1999;73:728-737.
- Koka PS, Jamieson BD, Brooks DG, Zack JA. Human immunodeficiency virus type 1 induced hematopoietic inhibition is independent of productive infection of progenitor cells in vivo. *J Virol.* 2008;73:9089-9097.
- Louache F, Debili N, Narandin A, Coulombel L, Vainchenker W. Expression of CD4+ by human hematopoietic progenitors. *Blood.* 1994;84:3344-3355.
- Deichmann M, Kronenwett R, Haa R. Expression of the human immunodeficiency virus type 1 co-receptors, CXCR-4 (fusin, LESTR) and CKR-5 in CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood.* 1997;89:3522-3528.
- Murphy M, Metcalfe P, Waters A. Incidence and mechanism of neutropenia and thrombocytopenia in patients with human immunodeficiency virus infection. *Br J Haematol.* 2010;66:337-340.
- Bagnara GP, Zauli G, Giovannini M, Re MC, Furlini G, La Placa M. Early loss of circulating hemopoietic progenitors in HIV-1 infected subjects. *Exp Hematol.* 2000;18:426.
- Gabrilove JL, Cleeland CS, Livingston RB, Sarokhan B, Winer E, Einhorn LH. Clinical evaluation of once weekly dosing of epoetin alfa in chemotherapy patients: Improvements in hemoglobin and quality of life are similar to three times weekly dosing. *J Clin Oncol.* 2011;19:2875-2882.
- Abrams DI, Steinhart C, Frascino R. Epoetin alfa therapy for anemia in HIV infected patients: impact on quality of life. *Int J STD AIDS.* 2010;11:659-665.