

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты определения антител к кардиолипину класса IgG и IgM и β 2-гликопротеину 1 класса IgG и IgM у здоровых людей ($n = 40$) соответствуют опубликованным в литературе данным [3–5].

Количество антител к кардиолипину класса IgG составило $3,52 \pm 0,22$ Ед/мл (от 1,75 до 9,10 Ед/мл), а антител класса IgM — $3,42 \pm 0,27$ Ед/мл (от 1,09 до 7,9 Ед/мл). Уровень антител класса IgG к β 2-гликопротеину 1 составил $3,87 \pm 0,24$ Ед/мл (от 1,76 до 7,31 ед/мл), а антител класса IgM — $1,93 \pm 0,12$ Ед/мл (от 0,71 до 3,19 Ед/мл).

В группе пациенток с СКВ ($n = 27$) повышенный уровень антифосфолипидных антител был обнаружен у 18 (67 %) человек. Чаще наблюдали повышение уровней аутоантител класса IgG: у 12 человек повышение уровня антител к кардиолипину и у 13 человек — к β 2-гликопротеину 1. Увеличение содержания антител класса IgM к кардиолипину было выявлено у 4-х пациентов, а к β 2-гликопротеину 1 — у 7 человек и сопровождалось повышением СОЭ и наличием АФС у половины пациентов. У 2-х пациенток обнаружен повышенный уровень всех 4-х видов аутоантител, что ассоциировалось с активностью СКВ.

Диагноз вторичного АФС был выставлен у 9 пациенток основной группы. Из клинических проявлений синдрома превалировал флеботромбоз — у 7 пациенток, у 2-х — рецидивирующий флеботромбоз и ТЭЛА мелких ветвей, у 1-й — асептический некроз головок бедренных костей, у 5 пациенток преобладали различные формы акушерской патологии (в виде неразвивающейся беременности — у 3-х человек, бесплодия — у 1-го человека, внутриутробная гибель плода — у 1-го человека). Повышенные уровни антифосфолипидных антител были выявлены у 8 пациенток с клиническими проявлениями тромбозов, у 1-й — уровни антифосфолипидных антител были в пределах нормы, однако пациентка постоянно принимала варфарин. Среди пациенток данной группы уровни антител к

кардиолипину и β 2-гликопротеину 1-го класса IgG были повышены у 7 человек, у 2-х человек были также повышены уровни антител класса IgM. У 1-го человека было выявлено повышение уровня антифосфолипидных антител только класса IgM — у пациентки развился с острый флеботромбоз, у 6 пациенток были выявлены лабораторные признаки активности СКВ (повышение СОЭ). Постоянную терапию непрямыми антикоагулянтами получало 7 пациенток, 2 — получали антиагреганты.

У пациенток, не имеющих клинических признаков тромбозов ($n = 18$), повышение уровней антифосфолипидных антител отмечалось у 10 (55 %) человек. Преимущественного образования аутоантител какого-либо субкласса или антигенной специфичности не обнаружено.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о диагностической значимости лабораторных маркеров антифосфолипидного синдрома при СКВ, поскольку повышенный уровень антител к кардиолипину и (или) β 2-гликопротеину 1 обнаруживается у 67 % пациенток с СКВ. Чаще выявляются антитела класса IgG.

Клинические проявления тромбозов различных локализаций чаще развиваются у пациенток с повышенным уровнем аутоантител к кардиолипину и β 2-гликопротеину 1 класса IgG.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Клоквина, Н. Г. Системная красная волчанка у мужчин / Н. Г. Клоквина, А. Е. Ильина // Русский медицинский журнал. — 2005. — № 8. — С. 513–518.
2. Антитела к β 2-гликопротеину 1 при системной красной волчанке: новый лабораторный маркер антифосфолипидного синдрома / Т. М. Решетняк [и др.] // Клиническая медицина. — 1998. — № 3. — С. 36–41.
3. Pathogenetic anti- β 2-glycoprotein I antibodies recognize domain I of beta2-glycoprotein I only after a conformational change / B. de Laat [et al.] // Blood. — 2006. — Vol. 107, № 5. — P. 1916–1924.
4. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) / S. Miyakis [et al.] // J Thromb Haemost. — 2006. — Vol. 4, № 2. — P. 295–306.
5. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of international workshop / W. A. Wilson [et al.] // Arthritis Rheum. — 1999. — Vol. 42. — P. 1309–1311.

УДК 616.155.294-07-08

**НАСЛЕДСТВЕННАЯ МИКРОТРОМБОЦИТАРНАЯ ТРОМБОЦИТОПАТИЯ:
ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ**

**С. А. Васильев, В. Л. Виноградов, Е. Б. Орел, А. Л. Берковский,
Е. В. Сергеева, А. В. Мазуров, З. К. Карабудагова**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр
Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации», г. Москва**

Исследована группа пациентов с наследственной микротромбоцитарной тромбоцитопатией. Определены диагностические критерии этой формы патологии тромбоцитов, показаны эффективные методы ее лечения.

Ключевые слова: тромбоциты, наследственные тромбоцитопатии, микротромбоцитарная тромбоцитопатия, геморрагический диатез, диагностика тромбоцитопатий, лечение тромбоцитопатий.

**HEREDITARY MICROTHROMBOCYTE THROMBOCYTOPATHY:
DIAGNOSIS AND TREATMENT****S. A. Vasiliev, V. L. Vinogradov, E. B. Oriol, A. L. Berkovskiy,
E. V. Sergeeva, A. V. Mazurov, Z. K. Karabudagova****Federal State Budget Institution Hematological Research Centre
Ministry of Public Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow**

The group of patients with hereditary microthrombocyte thrombocytopathy has been studied. The diagnostic criteria for this form of thrombocyte pathology have been determined, the effective methods of the treatment have been shown.

Key words: thrombocytes, hereditary thrombocytopathy, microthrombocyte thrombocytopathy, hemorrhagic diathesis, diagnosis of thrombocytopathy, treatment for thrombocytopathy.

Введение

Наследственные тромбоцитопатии относятся к часто встречаемой патологии гемостаза человека [1, 2]. Несмотря на то, что отдельные формы наследственных тромбоцитопатий встречаются достаточно редко, в совокупности эти виды патологии составляют до 25–30 % от всех вариантов геморрагических коагулопатий [2, 3, 4]. По классификации С. А. Васильева, А. В. Мазурова (1997 г.) [5] наследственные тромбоцитопатии подразделяются на:

— мембранозные формы (патология мембранных рецепторов тромбоцитов);

— формы с патологией специфических гранул тромбоцитов (дефицит и аномалии α -гранул, δ -гранул, лизосом);

— формы с нарушением процесса активации тромбоцитов (дефицит циклооксигеназы, фосфолипазы и др.);

— смешанные или трудноклассифицируемые формы.

В 2001 г. нами впервые была описана форма патологии тромбоцитов — наследственная микротромбоцитарная тромбоцитопатия [6].

Цель исследования

Разработка схемы диагностики и оценка эффективности лечения геморрагического синдрома у пациентов с наследственной микротромбоцитарной тромбоцитопатией.

Материалы и методы исследования

Нами исследованы 6 пациентов (2 мальчика и 4 девочки в возрасте от 7 до 15 лет). Исследование гемостаза включало в себя: стандартизованные тесты (АЧТВ, протромбиновый индекс, тромбиновое время, фибриноген, XIIIa-зависимый фибринолиз); определение факторов VIII и IX, фактора Виллебранда; оценка агрегационной активности тромбоцитов с агонистами — АДФ, ристоцетином, коллагеном, адреналином, арахидоновой кислотой. У всех пациентов проводилось морфологическое исследование показателей крови (тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов) с обязательной морфометрией тромбоцитов при помощи световой микроскопии (оп-

ределялись размер тромбоцитов, содержание α -гранул; подсчитывалось количество D-форм тромбоцитов, C1 форм (сферы 1 — активированные тромбоциты), C2 формы (сферы 2 — ретикулотромбоциты, протромбоциты).

Результаты исследования

Обследование пациентов показало, что геморрагический синдром у них характеризовался преимущественно, петехиально-синячковым типом, особенно на местах давления (от ручек школьного портфеля, резинок носков и др.), отмечались повышенные меноррагии, редко — носовые кровотечения, необычная локализация кровотечения (ушная раковина, поры щек). Исследования коагуляционного и тромбоцитарного гемостаза не выявило существенных отклонений от нормы; агрегация тромбоцитов с АДФ, ристоцетином, коллагеном, адреналином, арахидоновой кислотой была в пределах нормальных величин. Микроскопическая морфометрия тромбоцитов показала существенное снижение размеров тромбоцитов до 1 мкр. — 1,5 мкр., содержание α -гранул обычно носило умеренный или диффузный характер. На основании полученных данных исследования всем 6 пациентам был установлен диагноз: наследственная микротромбоцитарная тромбоцитопатия. При лечении геморрагического синдрома у пациентов с наследственной микротромбоцитарной тромбоцитопатией эффективными оказались: отвар крапивы; дицинон, аскорутин, транексам, эмосинт. Ни в одном случае не пришлось прибегать к трансфузиям концентратов тромбоцитов. Наблюдение за пациентами в течение 5–8 лет показало, что у 2-х больных со временем размер тромбоцитов в крови стал нормальным и составил 2 мкр. — 2,5 мкр. У остальных больных существенное преобладание микротромбоцитов в крови остается до настоящего времени с сохранением небольших признаков геморрагического диатеза.

Заключение

Таким образом, диагноз наследственной микротромбоцитарной тромбоцитопатии устанавливается на основании выявления существенного

преобладания микроформ тромбоцитов в мазке периферической крови (размер тромбоцитов 1 мкр. — 1,5 мкр.). Для купирования геморрагического синдрома эффективны терапевтические средства, улучшающие тромбоцитарно-сосудистый гемостаз. В классификации наследственных тромбоцитопатий мы отнесли наследственную микро-тромбоцитарную тромбоцитопатию к смешанным или трудноклассифицируемым формам.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тромбоцитопении: патогенез, дифференциальная диагностика и основы терапии / С. А. Васильев [и др.] // Тромбоз, Гемостаз и Реология, 2000. — № 4. — С. 5–15.

2. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов / А. Л. Берковский [и др.] / НПО Ренам. — М., 1999. — 29 с.

3. Васильев, С. А. Наследственные дефекты мембранных гликопротеинов тромбоцитов / С. А. Васильев, Л. В. Жердева, А. В. Мазуров // Гематология и трансфузиология. — 1994. — № 1. — С. 34–39.

4. Мазуров, А. В. Структура и функции мембранных гликопротеинов тромбоцитов / А. В. Мазуров, С. А. Васильев // Гематология и трансфузиология. — 1994. — № 1. — С. 29–34.

5. Васильев, С. А. Классификация, основы диагностики и терапии наследственных тромбоцитопатий / С. А. Васильев, А. В. Мазуров // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1997. — № 3. — С. 29–38.

6. Наследственная микротромбоцитарная тромбоцитопатия / С. А. Васильев [и др.] // Атеротромбоз и артериальная гипертензия: VI Нац. конф., Москва, 21–23 мая 2001 г. — 2001. — С. 78–79 (прил. Тромбоз, гемостаз и реология).

УДК 616.155.32-07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА CD107A ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЛИМФОЦИТОВ

Е. П. Вашкевич, Т. В. Шман

¹Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, г. Минск

Оценка противоопухолевой активности цитотоксических клеток является важным показателем их функционального статуса при проведении клеточной иммунотерапии. В последнее время для этих целей широко используется определение экспрессии маркера CD107a методом проточной цитофлуориметрии.

Проведенные нами исследования по определению противоопухолевой активности мононуклеарных клеток периферической крови (МНК), в т. ч. стимулированных интерлейкином-2, показали, что инкубация МНК в присутствии опухолевой линии К-562 способствовала достоверному повышению процента естественных киллерных (ЕК) и ЕК-подобных Т-клеток, экспрессирующих CD107a. Также была выявлена прямая корреляция между процентом CD107a+ ЕК-клеток в присутствии К-562 и количеством погибших мишеней в тесте с использованием окраски флуоресцентной метки CFSE.

Метод оценки экспрессии CD107a позволяет измерять цитотоксическую активность на уровне клетки в конкретной популяции эффекторных клеток и может использоваться наряду со стандартными методами определения лизиса клеток-мишеней.

Ключевые слова: мононуклеарные клетки, цитотоксичность, проточная цитофлуориметрия, естественные киллеры.

TESTING OF CD107A MARKER EXPRESSION FOR THE ASSESSMENT OF ANTITUMOR ACTIVITY OF CYTOTOXIC LYMPHOCYTES

E. P. Vashkevich, T. V. Shman

Republican Research Center for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk

The assessment of antitumor activity of cytotoxic lymphocytes is an important indicator of their functional status in cellular immunotherapy. Testing of CD107a marker expression by the method of flow cytofluorimetry has been widely lately used for these purposes.

The research that we carried out to determine the antitumor activity of mononuclear lymphocytes in peripheral blood including those stimulated by interleukine-2 showed that incubation of mononuclear lymphocytes in peripheral blood in the presence of K-562 tumor line was conducive to the reliable increase in rates of natural killer and killer-like cells expressing CD107a. A straight correlation between CD107a+killer cells percentage and the number of the dead targets in the test with the use of CFSE fluorescent label was detected.

The assessment method of CD107a expression makes it possible to measure the cytotoxic activity in a cell in a concrete population of effector cells and may be used alongside with standard methods for target-cell lysis.

Key words: mononuclear cells, cytotoxicity, flow cytofluorimetry, natural killers.

Введение

Определение цитотоксической активности (ЕК) и Т-клеток проводится при исследованиях иммунологического статуса пациентов с раз-

личными гематологическими и другими заболеваниями, для оценки качества клеточного продукта при проведении иммунотерапии цитотоксическими клетками, для оценки иммунного от-