

*Федеральная целевая программа «Культура России»
(подпрограмма «Поддержка полиграфии и книгоиздания России»)*

Алексеев Н.А.

47 **Анемии / Н.А.Алексеев. — СПб.: Гиппократ, 2004. — 512 с.
ISBN 5-8232-0243-1**

Изложены новейшие сведения о нормальном кроветворении в антенатальном и постнатальном периодах, структуре и функции эритроцитов, мембране, синтезе гемоглобина, метаболизме, кинетике, антигенном составе и апоптозе в норме и при патологических состояниях. С позиции современных данных, достижений в области биохимии, иммунологии, молекулярной биологии, генетики и др. изложены этиология и патогенез различных форм анемий врожденного, наследственного и приобретенного характера, их клинические и гематологические проявления, течение, лечение и прогноз, медико-генетическое консультирование и профилактика этих болезней. Даны подробные сведения об этиологии, патогенезе, диагностике и лечении различных форм гемохроматоза, гемофагоцитарного синдрома, гемолитических анемий, порфирий, гемоглобинопатий и др. Представлены нормативные данные ряда гематологических параметров (морфологических, культуральных, биохимических, иммунологических и др.), имеющих важное значение при постановке различных форм анемий.

Для практических врачей различных специальностей (педиатров, терапевтов, хирургов, эндокринологов, нефрологов, лаборантов и др.), а также для профессорско-преподавательского состава при обучении врачей, интернов и студентов.

УДК 616.155.194-07-085(035)

ББК 54.11

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----|
| Предисловие | 7 |
| Общая часть | |
| ФИЗИОЛОГИЯ ЭРИТРОПОЭЗА | |
| ГЕМОПОЭЗ | 11 |
| Гемopoэтическая стволовая клетка | 12 |
| Полипотентные гемopoэтические клетки-предшественницы | 16 |
| Олигопотентные и монопотентные гемopoэтические клетки-предшественницы эритро- и грануломоноцитопоэза | 17 |
| Гемopoэтические колониестимулирующие факторы и их рецепторы | 19 |
| Линейно-специфические цитокины | 20 |
| Многолинейные цитокины | 31 |
| Синергические цитокины | 37 |
| Индуктивные цитокины | 43 |
| Гомеостаз гемopoэза | 47 |
| Ингибиторы пролиферации и дифференциации гемopoэтических клеток | 56 |
| КРОВЕТВОРЕНИЕ В ПЕРИОД ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ | 64 |
| КОСТНЫЙ МОЗГ | 82 |
| АПОПТОЗ | 87 |
| ЭРИТРОЦИТЫ | 93 |
| Морфология и кинетика эритроцитов | 94 |
| Структура и свойства мембраны, скелета мембраны и цитоскелета эритроцитов | 97 |
| Гемоглобин | 108 |
| Биосинтез гема и его регуляция | 108 |
| Биосинтез глобина и его регуляция | 112 |
| Свойства различных типов гемоглобина | 121 |
| Метаболизм в эритроцитах | 119 |
| Гемолиз | 127 |
| Антигены эритроцитов, их структура и функция | 134 |
| Система АВ0 | 130 |
| Система Н | 137 |
| Система резус (Rh) | 137 |
| Система Lewis | 140 |

| | |
|----------------------------|-----|
| Система P | 140 |
| Система Kell | 141 |
| Система Duffy | 142 |
| Система Kidd | 142 |
| Система MNH | 143 |
| Другие системы групп крови | 143 |

Специальная часть

ПАТОЛОГИЯ ЭРИТРОПОЭЗА

| | |
|--|-----|
| ОБМЕН ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ И ПОСЛЕДСТВИЯ ЕГО НАРУШЕНИЯ | 153 |
| Обмен железа в организме | 153 |
| Баланс железа в организме в физиологических условиях | 164 |
| ✓ Железодефицитная анемия | 169 |
| Анемия при воспалении | 178 |
| Гемохроматоз и гемосидероз | 180 |
| Наследственные формы гемохроматоза | 181 |
| Гемохроматоз новорожденных | 192 |
| Наследственный перинатальный (неонатальный) гемохроматоз | 193 |
| Наследственная атрансферринемия | 194 |
| Ненаследственные формы аккумуляции железа в организме | 195 |
| Африканский тип перегрузки организма железом | 196 |
| АНЕМИЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ | 196 |
| АНЕМИЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ МЕДИ | 200 |
| АНЕМИИ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ СИНТЕЗА ДНК И РНК (МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ) | 203 |
| ✓ Витамины B ₁₂ -дефицитные анемии | 206 |
| Метаболизм витамина B ₁₂ в организме | 206 |
| Наследственные формы витамин B ₁₂ -дефицитной анемии | 210 |
| Приобретенные формы витамин B ₁₂ -дефицитной анемии | 215 |
| <i>Мегалобластная анемия, связанная с дефицитом фолиевой кислоты</i> | 219 |
| Метаболизм фолатов в организме | 220 |
| Функция фолатов | 221 |
| Врожденная мальабсорбция фолатов | 224 |
| Наследственная мегалобластная анемия вследствие дефицита активности дигидрофолатредуктазы | 225 |
| Наследственный дефицит активности 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы | 226 |
| Наследственный дефицит метионинсинтазы | 226 |
| Наследственная мегалобластная анемия вследствие дефицита активности формиминотрансферазы — циклодезаминазы | 227 |
| Врожденные мегалобластные и макроцитарные анемии, не связанные с фолатами и витамином B ₁₂ | 228 |
| Врожденные мегалобластные анемии, связанные с нарушениями биосинтеза нуклеиновых кислот | 228 |
| Тиаминзависимая мегалобластная анемия | 231 |
| Синдром Pearson | 232 |

| | |
|---|------------|
| Другие мегалобластные анемии | 233 |
| Тесты, используемые для диагностики мегалобластных анемий | 233 |
| НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДИЗЭРИТРОПОЭТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ | 236 |
| Врожденная дизэритропоэтическая анемия I типа | 236 |
| Врожденная дизэритропоэтическая анемия II типа (HEMPAS) | 238 |
| Врожденная дизэритропоэтическая анемия III типа | 240 |
| ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ | 243 |
| Наследственные гемолитические анемии, связанные с изменениями мембраны эритроцитов | 243 |
| Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушениями белков мембраны эритроцитов | 243 |
| Наследственные гемолитические анемии, обусловленные нарушениями структуры липидов мембраны эритроцитов | 266 |
| Детский (инфантильный) пикноцитоз | 275 |
| Наследственные гемолитические анемии, обусловленные изменениями активности ферментов в эритроцитах | 275 |
| Наследственные гемолитические анемии, обусловленные изменениями активности ферментов эритроцитов гликолитического цикла | 277 |
| Наследственные гемолитические анемии, обусловленные изменениями активности ферментов глутатионового цикла в эритроцитах | 299 |
| Наследственные гемолитические анемии, обусловленные изменениями активности ферментов, участвующих в метаболизме нуклеотидов в эритроцитах | 303 |
| ✓ Врожденные гемолитические анемии вследствие аномалий гемоглобина | 307 |
| Заболевания, связанные с аномалией структуры гемоглобина | 308 |
| Наследственное персистирование HbF | 318 |
| Синдромы талассемии | 319 |
| ✓ Приобретенные гемолитические анемии | 329 |
| Иммунные гемолитические анемии | 331 |
| Гемолитические анемии («механические») с фрагментацией эритроцитов | 355 |
| Пароксизмальная ночная гемоглобинурия | 366 |
| Приобретенная пароксизмальная ночная гемоглобинурия | 367 |
| Врожденная пароксизмальная ночная гемоглобинурия | 373 |
| Гемолитическая анемия, связанная с дефицитом витамина E | 373 |
| ЖЕЛТУХИ, СВЯЗАННЫЕ С УВЕЛИЧЕНИЕМ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОНЬЮГИРОВАННОГО БИЛИРУБИНА | 374 |
| Синдром Криглера — Найяра | 375 |
| Синдром Жильбера | 377 |
| НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И ПРИОБРЕТЕННЫЕ ПОРФИРИИ | 378 |
| Эритропоэтические порфирии | 387 |
| Врожденная эритропоэтическая порфирия | 387 |
| Эритропоэтическая протопорфирия | 389 |
| Печеночные порфирии | 391 |
| Острая перемежающаяся порфирия | 391 |
| Вариантная порфирия | 393 |
| Наследственная копропорфирия | 394 |

| | |
|---|-----|
| Лечение и профилактика клинико-лабораторных проявлений порфирий | 396 |
| Порфирия DOSS | 393 |
| Поздняя кожная порфирия | 398 |
| Гепатоэритропоэтическая порфирия | 401 |
| Приобретенные порфирии | 401 |
| Анемия при отравлении свинцом | 401 |
| СИДЕРОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ | 403 |
| Врожденная сидеробластная анемия | 404 |
| Приобретенные сидеробластные анемии | 406 |
| АПЛАЗИЯ КОСТНОГО МОЗГА | 406 |
| Конституциональные анемии | 408 |
| Анемия Фанкони | 408 |
| Врожденная эритробластопения | 414 |
| Синдром Швахмана — Даймонда | 419 |
| Врожденный дискератоз | 426 |
| Аплазии костного мозга, сопровождающие другие генетические синдромы | 431 |
| Приобретенные аплазии костного мозга | 431 |
| Апластическая анемия | 432 |
| Эритробластопении | 439 |
| Физиологическая (анемия) эритробластопения у младенцев | 440 |
| Приобретенные транзиторные эритробластопении | 441 |
| ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗ | 448 |
| Семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз | 449 |
| Реактивный, инфекционно-ассоциированный гемофагоцитарный синдром | 454 |
| АНЕМИИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ | 466 |
| Анемии при эндокринных заболеваниях | 466 |
| Анемия при болезнях печени | 468 |
| Анемия при почечной недостаточности | 469 |
| Анемия при хронических системных заболеваниях | 470 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ | |
| НОРМАЛЬНЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ | 475 |
| Библиографический список | 492 |
| Список сокращений | 509 |

ПРЕДИСЛОВИЕ

Термин «анемия» происходит от греческого слова и переводится как «бескровие». Однако жизнедеятельность человека (и других млекопитающих) невозможна при отсутствии крови. Хотя термин и не состоятелен по смыслу, тем не менее он продолжает фигурировать в медицине. Под анемией понимают патологические состояния организма, вызванные разными причинами, имеющие различные патогенетические механизмы развития, характеризующиеся снижением содержания гемоглобина в единице объема крови.

Причины развития анемий разнообразны; они могут быть врожденными, приобретенными и наследственными. Общее для всех анемий, вне зависимости от их этиологии и патогенеза,— это снижение содержания гемоглобина в единице объема крови и как следствие этого — кислород-переносающей функции Эр с развитием гипоксемии и гипоксии.

Достижения в области изучения гемопоэза и его регуляции, полученные с помощью методов культивирования клеток, биохимических, иммунологических, молекулярно-генетических и др., позволили существенно обогатить наши знания в этом направлении. Благодаря полученным данным стали понятны этиология и патогенез некоторых заболеваний, разработаны новые подходы к их лечению, установлены патогномоничные признаки различных форм анемий. Достаточно привести пример в отношении врожденного дискератоза и анемии Фанкони, которые по клинико-гематологическим признакам практически невозможно отдифференцировать друг от друга. Но благодаря тому, что выявлен ген врожденного дискератоза, исчезли трудности в дифференциальной диагностике этих двух состояний. Более того, на основе молекулярно-генетических и биохимических исследований удается выделить 7 вариантов анемии Фанкони, отличающихся по клинико-гематологическим проявлениям и прогнозу.

На основе успехов в изучении регуляции гемопоэза получены рекомбинантные препараты с активирующей и ингибирующей активностью, которые нашли широкое применение в клинической практике. Локализация генов, регулирующих гемопоэз, позволила не только более точно диагностировать заболевания, но и разработать новые подходы к лечению, методы генной инженерии.

Успехи в изучении гемопоэза у эмбрионов и плодов человека позволили внедрить в практику методы антенатальной диагностики наследственных

ряда приобретенных заболеваний, получения эмбриональных гемопоэтических стволовых клеток как для трансплантации в постнатальном периоде, так и для генной терапии, при некоторых анемиях, заболеваниях, связанных с функциональной недостаточностью нейтрофилов, метаболических заболеваниях, иммунодефицитных состояниях (талассемия, Х-связанный тяжелый комбинированный иммунодефицит, болезнь Ниманна — Пика и др.).

Истоки многих болезней взрослых лежат в детском возрасте. Молекулярно-генетические методы принципиально изменили подходы к диагностике и профилактике многих наследственных болезней. Наличие сети медико-генетических учреждений, генетическая грамотность медработников и населения являются залогом предупреждения врожденных и наследственных болезней. Однако многие врачи различных специальностей мало знакомы с состоянием молекулярно-генетической диагностики наследственных заболеваний. Специфической особенностью наследственных заболеваний является то, что причиной большинства из них являются изменения ДНК. Использование ДНК-диагностики позволяет подтвердить клинический диагноз или же установить его при отсутствии или слабой выраженности симптомов, провести пренатальную диагностику с использованием ворсинок хориона, клеток амниотической жидкости или крови плода. Пренатальная диагностика позволяет предотвратить рождение ребенка с тяжелыми наследственными заболеваниями, является эффективным методом их профилактики.

Однако до настоящего времени классические методы цитоморфологического и гистоморфологического исследования не утратили своего значения и занимают ведущее место при диагностике патологических состояний. Обычные методы исследования периферической крови и пунктата костного мозга остаются незаменимыми.

В работе обобщены опубликованные данные и собственный опыт работы в гематологии. Мы постарались свести до минимума библиографические сведения о тех или иных положениях, поскольку в противном случае книга превратилась бы и по объему, и по цитированным авторам в справочник. Мы стремились цитировать авторов работ последних лет, но это не значит, что ранние работы утратили свое значение — многие положения стали аксиомой.

Безусловно, книга не лишена недостатков, и мы с благодарностью примем замечания, высказанные в наш адрес.

Профессор доктор медицинских наук

Н.А.АЛЕКСЕЕВ

Общая часть

**ФИЗИОЛОГИЯ
ЭРИТРОПОЭЗА**

REPRODUCTION
OF PHOTOGRAPHS

ГЕМОПОЭЗ

В данном разделе мы, ограничиваемся в основном описанием эритропоэза, поскольку руководство посвящено анемиям.

Гемопоэз можно определить как систему механизмов, обеспечивающую постоянное замещение и регуляцию различных клеток крови. Гемопоэз действует как комплексная система, которая способствует образованию клеток крови для восполнения убывающих клеток как в норме, так и при патологических состояниях. Гемопоэз — это процесс, при котором форменные элементы крови приобретают определенные фенотипы, и это является следствием координированной, клеточно-специфической экспрессии генов. Экспрессия генов в клетке осуществляется клеточно-специфическими транскрипционными факторами, которые опосредуют полученные через рецепторы сигналы клеткой, вызывая ее пролиферацию или дифференциацию, поэтому для понимания процесса дифференциации клеток важное значение имеет знание функций транскрипционных факторов. У детей старшего возраста и у взрослых гемопоэз происходит в плоских костях, в гемопоэтической ткани. Последняя состоит из полутвердой экстрацеллюлярной матрицы (костной ткани, различных адгезивных молекул, ИЛ), негемопоэтических клеток и гемопоэтических клеток, находящихся на различных стадиях дифференцировки.

Все клетки организма имеют свой срок жизни, исчисляемый от момента их рождения до гибели. Это относится и к клеткам крови — нейтрофилам, Эр, тромбоцитам, эозинофилам и др., которые еще называют терминально-дифференцированными клетками. Чтобы поддержать стабильным состояние численность клеток в периферической крови интенсивность их образования должна соответствовать количеству погибающих клеток. Математически доказано, что костный мозг ежедневно должен продуцировать около 10^{10} клеток. Но с другой стороны, человеческий организм не является застывшей системой, на него постоянно воздействуют различные экзо- и эндогенные факторы, на которые организм должен реагировать увеличением или уменьшением числа определенных клеток крови. Например, внедрение инфекции в организм требует увеличения образования нейтрофилов, но не Эр; при гипоксии требуется увеличение числа Эр, но не лейкоцитов. Эта ростково-специфическая гемопоэтическая реакция управляется тремя определенными видами классами компетенции клеток, в задачи которых входят:

- 1) дать возможность гемопоэтическим стволовым клеткам увеличить число клеток-предшественниц определенного роста;

- 2) способствовать гемопоэтическим клеткам-предшественницам оп-

деленного роста дифференцироваться в соответствующем направлении;

3) способствовать организму воспринимать соответствующие сигналы путем их экстрра- или интрацеллюлярного накопления с последующей их реализацией как ингибиторов или стимуляторов процесса дифференциации гемопоэтических клеток.

Популяция гемопоэтических клеток костного мозга состоит из четырех функциональных компартментов:

1) стволовых клеток, составляющих 0,05—0,2% от всей популяции гемопоэтических клеток; для них характерны 2 признака — способность к длительному самоподдерживанию собственной популяции и способность к дифференциации в различные гемопоэтические ростковые направления; однако последний признак, полипотентность, присущ и клеткам-предшественницам; морфологически стволовая клетка не идентифицируется;

2) клеток-предшественниц гемопоэза, составляющих около 1% от всей популяции; они не способны к самоподдерживанию, но обладают высоким пролиферативным потенциалом, чувствительны к ростковым факторам; коммитированные клетки-предшественницы не идентифицируются;

3) пула пролиферирующих, дифференцирующихся клеток гемопоэза; он составляет 2—10% от числа всех клеток гемопоэза; эти клетки морфологически распознаваемы, и после нескольких делений образуются зрелые клетки, которые быстро элиминируются в кровь;

4) зрелых клеток, составляющих около 90% от всей популяции гемопоэтических клеток; они морфологически распознаваемы, не способны к делению.

Образование клеток крови в течение жизни индивидуума зависит от ГСК, которая необходима как для самоподдержания, так и для образования достаточного количества полипотентных и коммитированных

клеток-предшественниц. Пул ГСК находится в состоянии «покоя» и ГСК делится периодически, тогда как пул клеток-предшественниц очень динамичен. В ответ на сигналы окружающей среды, гемопоэтических цитокинов клетки-предшественницы пролиферируют, дифференцируются или погибают.

ГСК морфологически нельзя отличить от клеток-предшественниц, но их можно отличить и количественно определить при клонировании в полутвердых средах (агар, метилцеллюлоза, сгусток плазмы крови, коллагеновый гель). Изучение клеток в образовавшихся колониях с помощью методов изучения морфологии, цитохимии, моноклональных антител, цитогенетических, биохимических исследований и др. дали возможность более четко отделить ГСК от гемопоэтических клеток-предшественниц.

За последние 30 лет достигнуты также успехи в области открытия и изучения свойств большого числа ростовых факторов и ингибиторов, принимающих участие в регуляции процессов пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток. В развитии этого направления способствовали исследования гемопоэза в условиях *in vitro*, трансплантационная биология, изучение химизма белков, молекулярная биология. Роль последней в изучении регуляции гемопоэза у человека резко возросла в последнее десятилетие.

ГЕМОПОЭТИЧЕСКАЯ СТВОЛОВАЯ КЛЕТКА

Фундаментальной основой обоснования наличия и характеристики ГСК явилась работа J. Till и E. McCulloch (1961). Авторы установили, что если летально облученным мышам ввести внутривенно взвесь костномозговых клеток, то последние мигрировали в селезенку и в ней происходила пролиферация клеток с об-

разованием дискретных колоний гемопоэтических клеток. Эти колонии, образованные из одной стволовой клетки (КОЕ-С), состояли из чистой популяции эритроидных или миелоидных клеток, мегакариоцитов, или же были представлены смешанной 2—3-ростковой популяцией клеток. Использование в качестве маркера хромосомы Y, определение изоферментов Г-6-ФД в клетках этих колоний подтвердило, что каждая колония или клон происходит из единственной ГСК.

Проведенные эксперименты подтвердили, что образование колоний клеток происходит из ГСК. В пользу этого свидетельствуют следующие факты:

1) большинство колоний содержат ГСК, которые способны к самоподдерживанию;

2) ГСК в любой колонии является полипотентной и способна образовывать колонии, состоящие из различных типов кроветворных клеток;

3) при длительном росте в долгосрочных культурах большинство колоний содержат эритроидные, миелоидные и мегакариоцитарные клетки, тем самым лишняя раз свидетельствуя о полипотентности стволовой клетки.

Исследованиями по изучению хромосомных маркеров при ТКМ установлено, что существует единая ГСК для клеток миелоидного (Эр, гранулоциты, моноциты, мегакариоциты) и лимфоидного (Т- и В-лимфоциты) ростков.

Морфологически ГСК неидентифицируема. Существенный прогресс в ее изучении наступил в эру появления МА, позволивших охарактеризовать ее антигенный профиль.

С помощью характеристики поверхностных АГ примитивных клеток (CD34) и других поверхностных АГ коммитированных клеток различных ростков гемопоэза удалось выделить гемопоэтическую стволовую клетку

у мышей. Для идентификации и селекции клеток, которые экспрессируют ростково-специфические маркеры (lineage — Lin⁺), используют целый набор МА, количество которых с каждым годом увеличивается. Работами N.Uchida и соавт. (1992), I.Weissman и соавт. (1991, 1992) было установлено, что мышьяная ГСК имеет низкий уровень экспрессии Thy-1.1-АГ, не обладает липейно-специфическими АГ, и имеет следующую антигенную характеристику: Thy-1.11°/Lin-/Sca 1⁺. На сегодняшний день невозможно утверждать, что мышьяная ГСК по своей антигенной характеристике идентична таковой человека. Сделать заключение о фенотипе человеческой ГСК возможно лишь при изучении КОЕ в культуре — в колониях обнаруживается большое число бластных элементов, и последние отбираются и многократно культивируются.

Используя эти методы и МА, L.Terstappen и соавт. (1991) определили фенотип этих бластов КОЕ как CD34⁺/CD38⁻. Содержание этих клеток больше в крови из пуповины (14,72%), чем в костном мозге (8,28%) и периферической крови (0,67%) [Maurillo L. et al., 1998]. АГ CD34 — это гликопротеин с молекулярной массой 110 килодальтон и его ген располагается на 1-й паре хромосом (1q32-) [Molgaard H. et al., 1989]. АГ CD38 также является гликопротеином с молекулярной массой 45 килодальтон и он экспрессируется на клетках всех гемопоэтических ростков. По данным L.Healy и соавт. (1995), молекула CD34⁺, определяемая на ГСК и клетках-предшественниках миелопоэза, играет важную роль в адгезии этих элементов к стромальным клеткам костного мозга.

L.Terstappen и соавт. (1991) установили, что при культивировании из одной гемопоэтической клетки CD34⁺/CD38⁻ костного мозга человека через 28—34 дня образуются

колони, состоящие из примитивных клеточек. Если культивировать эти клеточки в течение 4 мес, то после пересадки этих примитивных клеток образуются до 5 последовательных поколений клонов. Для полной характеристики человеческих ГСК для положительной селекции можно использовать AT c-kit, а для негативной селекции — CD33.CD34⁺, являясь АГ и специфическим маркером ГСК и клеток-предшественниц, также экспрессируется на эмбриональных фибробластах. Плотность этого АГ прогрессивно уменьшается по мере дифференцировки и созревания клеток, и полностью дифференцированные клетки являются CD34⁻ [Krause D. et al., 1996]. В свою очередь, компартмент CD34⁺-клеток представляет собой гетерогенную популяцию, и на некоторых из них наблюдается экспрессия дополнительных антигенных маркеров, которые позволяют выделить некоммутированные ГСК от коммутированных клеток-предшественниц [Olweys J. et al., 1995]. Было установлено, что CD34⁺/CD38⁻ клетки экспрессируют CD71 (рецептор Тф) на низком уровне, но по мере дифференциации гемопоэтических клеток-предшественниц экспрессия CD71 увеличивается [Gross S. et al., 1997].

Среди CD34⁺-клеток можно также выделить две популяции — CD34^{bright} и CD34^{dim}. Популяция CD34^{bright} обладает активностью примитивных ГСК, и она способна поддерживать в долгосрочных культурах *in vitro* миелопоэз и В-клеточный лимфоцитопоэз. *In vivo* эта популяция клеток опосредует репопуляцию миеломоноцитарных клеток, мегакариоцитов, Т- и В-лимфоцитов [Murga L. et al., 1995]. Поскольку популяция клеток CD34^{bright} обладает активностью примитивных гемопоэтических стволовых клеток, то она является мишенью для изучения способности этих элементов к самопод-

держиванию. По мнению J.Olweys и соавт. (1996), примитивные ГСК могут быть охарактеризованы как CD34^{bright}/CD38^{dim/-}/HLA-DR^{dim/-}/CD90⁺/CD117⁺/родословность⁻/Rhodamine 123^{lo}.

А.Yin и соавт. (1997) выделили новый AC133-АГ, который является трансмембранным АГ стволовых клеток, селективно экспрессирующимся на CD34^{bright} стволовых клетках и на клетках-предшественниках. Используя МА к AC133-АГ, можно произвести селекцию ГСК из крови и костного мозга для трансплантации [Yin A. et al., 1997]. Как указывают авторы, в культуре клетки CD34⁺AC133⁺ дают рост большого числа разнообразных колоний — КОЕ-ГМ, частично смешанные КОЕ и небольшое количество БОЕ-Э. По данным R.Pettengel и соавт. (1998), популяция AC133⁺-клеток более обогащена ранними клетками-предшественниками, чем популяция CD34⁺. АГ AC133 экспрессируется только на клетках CD34⁺, но не на клетках CD34⁻ [Miraglia C. et al., 1997]. По мнению Н.-J.Buhring и соавт. (1998), экспрессия АГ AC133⁺ отмечается на 99,3—99,8% CD34⁺-клетках костного мозга, менее, чем на 10% CD10⁺-клетках-предшественниках В-лимфоцитов, и почти на 90% клеток, экспрессирующих рецептор фактора стволовых клеток (CD117). В то же время среди CD34⁺ клеток только 30—45% были CD10⁺ и 55—75% были CD117⁺. AC133⁺-клетки обогащены в популяции клеток CD38^{low}, CD71^{low} и CD135⁺. Около 0,2—0,7% AC133⁺-клеток являются CD34⁻, и эти клетки имеют следующую фенотипическую характеристику: CD117-HLA-DR⁺CD71-CD38^{low} [Buhring H.-J. et al., 1998].

Около 40% CD34⁺ костномозговых клеток экспрессируют CXCR-4, рецептор для фактора 1, выделяемого стромальными клетками (SDF-1). При культивировании чистой попу-

ляции клеток CD34⁺CXCR-4⁺ и CD34⁺CXCR-4⁻ в среде, в которую добавлены ИЛ-3, ИЛ-6, КСФ-Г, ФСК и Эпо, то популяция последних клеток образовывала разнообразные колонии — КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ, КОЕ-Г, КОЕ-Мф, КОЕ-Мер, БОЕ-Э, тогда как при культивировании CD34⁺CXCR-4⁺ образования этих колоний не происходило. Большинство клеток этой популяции были c-kit-отрицательными, а клетки CD34⁺CXCR-4⁻ были c-kit-положительными. Приобретение CD34⁺ клетками экспрессии CXCR-4 приводит к потере способности этих клеток к образованию миелоидных, эритроидных, мегакариоцитарных и смешанных колоний, и это заставляет полагать, что клетки CD34⁺CXCR-4⁻ являются полипотентными гемопоэтическими стволовыми клетками [Ishii T. et al., 1998].

Белок CXCR-4 определяется на CD34⁺ БОЕ-Э⁻. По мере созревания эритроидных клеток содержание белка снижается, хотя mРНК CXCR-4 определяется в дифференцированных клетках эритроидных колоний. SDF-1, лиганда для CXCR-4, индуцирует приток Ca²⁺ в костномозговые CD34⁺KIT⁺ клетки проявляет хемотаксическую активность против CD34⁺БОЕ-Э предшественниц. Эта реакция SDF-1 уменьшается по мере дифференциации эритроидных клеток и появления на них эритроидноспецифического маркера — гликофорина А. М.Майка и соавт. (1998) полагают, что белок CXCR-4 способствует сохранению ранних клеток-предшественниц в костномозговом гемопоэтическом пуле.

Клетки CD34⁺, выделенные из различных тканей (костного мозга, пуповинной и периферической крови взрослого человека), различаются фенотипически, гемопоэтической активностью, способностью к колониеобразованию, пролиферативной активностью и др. Эти различия, по

данным Н.Шеп и соавт. (1998), возможно, обусловлены различной экспрессией рецепторов хемокинов. Так, рецептор CXCR-4 чаще выявляется на поверхности клеток CD34⁺ и CD34⁺CD38⁻, выделенных из периферической крови взрослых людей (81,7% и 47,2%, соответственно), несколько реже — из пуповинной крови (57,8% и 33,8%), относительно редко — в костном мозге (41,8% и 37,9%). Напротив, клетки CD34⁺, экспрессирующие CCR-5 и CCR-3, рецепторы для ингибиторного хемокина стволовой клетки MIP-1α, определяются в небольшом количестве на костномозговых клетках CD34⁺ и не обнаруживаются на этих элементах, выделенных из пуповинной и периферической крови.

По мнению А.И.Воробьева и соавт. (1995), нет прямых доказательств как на наличие в кроветворной системе самоподдерживающихся стволовых клеток, так и беспорных доказательств отсутствия способности к самоподдерживанию у них. По мнению авторов, родоначальные клетки-предшественницы, находящиеся на верхних этажах иерархии кроветворения, отличаются от более зрелых клеток по пролиферативному потенциалу только количественно. Поэтому условно к компартменту стволовых клеток могут быть отнесены все мультипотентные клетки-предшественницы, способные дифференцироваться по всем гемопоэтическим направлениям — в сторону миело- и лимфоцитопозза. К этому компартменту гемопоэтических стволовых клеток А.И.Воробьев и соавт. (1995) относят:

- 1) лСКК;
- 2) LTCIC; колонии, возникающие из этих клеток, состоят из примитивных клеток, большинство из которых напоминают гемопоэтические стволовые клетки; поскольку нет клональных методов исследований для долговременной репопуляции клеток,

то трудно высказать мнение относительно идентичности LTCIC и ГСК [Eaves C. et al, 1991]; F. Trimorgeau и соавт. (1998) высказывают мнение, что LTCIC являются либо действительными родоначальными клетками гемопоэза, либо промежуточными элементами между компартментом родоначальных клеток и клетками-предшественницами;

3) CAFC (Cell-stone Area Forming Cell); по своим свойствам эти клетки напоминают LTCIC, но их пролиферативная активность выше;

4) CFU-S12 и S8 (Colony Forming Cell); эти клетки способны образовывать колонии в селезенке через 12—14 и 7—8 дней соответственно после трансплантации облученным мышам.

Общее содержание клеток CD34⁺ в костном мозге составляет 1—4%, но в число этих элементов включены как ГСК, так и клетки-предшественницы. По мере дифференциации плотность антигенных молекул CD34⁺ снижается, и появляются новые специфические маркеры. Костномозговые клетки CD34⁺/HLA-DR⁻/CD38⁻ составляют 0,01% от популяции всех клеток костного мозга, и клеточные элементы с этим маркером являются родоначальными клетками клеток-предшественниц миело- и лимфоцитопоэза, а также стромальных элементов костного мозга [Blanchet O. et al., 1995].

На основе математической модели M. Vickers и соавт. (1998) установили, что:

1) у человека в костном мозге общее число гемопоэтических стволовых клеток составляет $(0,5...2) \times 10^6$;

2) каждая гемопоэтическая стволовая клетка делится 1 раз в 2—4 года;

3) ежедневно делятся около 1000 гемопоэтических стволовых клеток.

Таким образом, исследованиями *in vitro* и *in vivo* доказано, что в костном мозге человека существует ГСК.

ПОЛИПОТЕНТНЫЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИЦЫ

В результате собственной репродукции ГСК образуют дочерние клетки, которые сохраняют полипотентность. Итогом этого может быть следующее:

1) либо обе дочерние клетки становятся коммитированными в сторону одного ростка кроветворения;

2) либо происходит «асимметрия» деления, вследствие чего образуется одна коммитированная клетка-предшественница, а вторая полипотентная клетка-предшественница гемопоэза.

Этот феномен назван «квантовым митозом» [Ogawa M., 1989].

Образовавшиеся клетки, являющиеся потомками ГСК, *in vitro* способны образовывать колонии, состоящие из клеток одного или нескольких гемопоэтических ростков. Можно выделить по крайней мере 3 типа полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц, способных образовывать колонии *in vitro*:

1) КОЕ-ГЭММ (син. полипотентная миелоидная клетка-предшественница); она образует смешанно-клеточные колонии, содержащие эритроидные, гранулоцитарные, мегакариоцитарные и моноцито-макрофагальные клетки; иначе говоря, КОЕ-ГЭММ представляет собой коммитированную полипотентную клетку-предшественницу; количество КОЕ-ГЭММ в костном мозге составляет 0—4 клетки на 10^5 мононуклеарных клеток, а процент «тимидинового самоубийства» КОЕ-ГЭММ — около 10%;

2) КОЕ-бласт; эта клетка очень примитивная, в отсутствие определенных гемопоэтических КСФ может длительно существовать, не удваиваясь; КОЕ-бласты в условиях *in vitro* способны образовывать смешанно-

клеточные колонии при добавлении в кондиционную среду Эпо, ИЛ-3, КСФ-Г или ИЛ-6; большинство образующихся колоний состоят из этих же примитивных клеток, но около 20% колоний являются смешанно-клеточными; это заставляет полагать, что *in vitro* гемопоэтические клетки-предшественницы в течение одного транзитного клеточного цикла могут коммитироваться в сторону двух различных ростков гемопоэза [Rowley S. et al., 1997];

3) КОК-ВПП₁; у человека около 70% костномозговых клеток CD34⁺CD38⁻ экспрессируют *c-mpl*; по данным G.Solar и соавт. (1998), при трансплантации приживляемость клеток с фенотипической характеристикой CD34⁺CD38⁻*c-mpl*⁺ лучше, чем клеток CD34⁺CD38⁻*c-mpl*⁻; среди всех клеток CD34⁺ костного мозга человека субпопуляция *c-mpl*⁺ составляет 14% [Hagiwara T. et al., 1998]; различают 2 вида клеток КОК-ВПП — КОК-ВПП₁ и КОК-ВПП₂.

Клетки КОК-ВПП₁ относительно резистентны к 5-флюоурацилу, обладают высокой репродуктивной способностью с образованием *in vitro* гигантских, видимых невооруженным глазом, колоний, содержащих в одной колонии до 50 000 клеток и более. Некоторые клетки КОК-ВПП₁ реагируют на ИЛ-1, у других эта реакция отсутствует [Bertoncello I. et al., 1991].

Клетки КОК-ВПП₂ также обладают высокой пролиферативной активностью и являются клетками-предшественницами макрофагов. Не исключается, что КОК-ВПП₂ являются КОК-ВПП₁, но при создании специфических условий для их роста они коммитированы в сторону образования макрофагальных колоний [Bagby G., 1994]. Добавление в кондиционную среду КСФ-Г + КСФ-ГМ и КСФ-ГМ + ИЛ-3 способствует резкому увеличению колониеобразования КОК-ВПП [McNiece I. et al., 1988].

Считается, что КОЕ-ГЭММ является более коммитированной клеткой, чем КОЕ-бласт и КОК-ВПП, однако полной ясности о взаимоотношении между двумя последними клетками нет. Из всех полипотентных клеток-предшественниц более зрелыми и более дифференцированными в иерархической системе кроветворения являются КОЕ-ГЭММ, чем КОЕ-бласт и КОК-ВПП.

По мере дифференциации ГСК изменяется антигенная структура гемопоэтических коммитированных клеток-предшественниц. Среди клеток CD34⁺CD38⁻ увеличивается доля элементов с экспрессией АГ CD71 (рецептор Тф), появляются клетки с экспрессией CD33⁺ [Gross S. et al., 1997]. Если на гемопоэтических стволовых клетках отсутствуют АГ Ia и DR, то на коммитированных гемопоэтических клетках-предшественницах (КОЕ-ГЭММ) появляются детерминанты гистосовместимости — HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-DR (Ia-подобный). На 5% КОЕ-ГЭММ определяются АГ группы крови А и В.

ОЛИГОПОТЕНТНЫЕ И МОНОПОТЕНТНЫЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИЦЫ ЭРИТРО- И ГРАНУЛОМОНОЦИТОПОЭЗА

Последующие этапы дифференциации КОЕ-ГЭММ в костном мозге приводят к образованию олигопотентных (КОЕ-ГМ и КОЕ-Э-Мег) и монопотентных (КОЕ-Г, КОЕ-М, КОЕ-Мег и БОЕ-Э) гемопоэтических клеток-предшественниц. Количество КОЕ-ГМ в костном мозге колеблется в пределах 10—100 на 10⁵ миелокарицитов. Линейно-коммитированные гемопоэтические клетки-предшественницы содержат популяцию CD34^{dim}, которая не обладает долго-

срочной гемопозитической активностью *in vitro* и *in vivo* [Muggay L. et al., 1995].

КОЕ-ГМ обладает бипотентной дифференцировочной потенцией, которая ограничена двумя гемопозитическими ростками с образованием КОЕ-Г и КОЕ-М. Большая часть КОЕ-ГМ активно пролиферирует и 30—50% этих элементов подвержены «тимициновому самоубийству». После 2—3 делений КОЕ-ГМ наступает необратимая фаза коммитирования, и результатом этого является появление КОЕ-Г и (или) КОЕ-М. КОЕ-ГМ имеет следующий фенотип: CD13⁺CD15⁺CD33⁺CD38⁺ [Blanchet O. et al., 1995].

В процессе дифференциации КОЕ-ГЭММ в культуре костного мозга *in vitro* образуются колонии трех типов: БОЕ-Э, КОЕ-Э и БОЭ-Э-Мег.

БОЕ-Э является наиболее ранней клеткой-предшественницей эритробластов. Среди БОЕ-Э различают ранние и поздние. Ранние БОЕ-Э *in vitro* образуют большие колонии клеток с максимумом их гемоглобинизации к 14—21-му дню культивирования. Эти колонии мультицентричные и их еще называют «бурстами». БОЕ-Э обладают высоким пролиферативным потенциалом, они нечувствительны к Эпо или очень слабо реагируют на него, но реагируют на другие факторы роста, в прошлом называемые «бурстестимулирующей активностью» (Burst Promoting Factor): ФСК, ИЛ-3, КСФ-ГМ, ИЛ-9, ИЛ-11. Большая часть этих клеток находится в периоде G₀ клеточного цикла деления; они способны дифференцироваться в сторону клеток эритроидного ростка и иногда мегакариоцитарного [Sébahon G., 1998].

Экспериментально установлено, что существует бипотентная клетка-предшественница мегакариоцитарного и эритроидного ростков. С помощью специфических поверхностных маркеров 4A5 (мегакариоцитов) и Ter-119 (эритроидные клетки) *in vitro*

выявлено, что бипотенциальность БОЕ-Э исчезает в промежутке стадий БОЕ-Э — КОЕ-Э. В опытах *in vivo* на мышах A.Vannucchi и соавт. (1998) установили, что после стимуляции Эпо или ТПО в костном мозге и селезенке животных определялись бипотентные клетки с blastopodобной морфологией, экспрессирующие как β-глобин, так и GPIIb (клетки 4A5⁺Ter11⁺). Поскольку не все ранние БОЕ-Э детерминированы в сторону эритроидного ростка, то их еще называют «примитивными» БОЕ-Э. БОЕ-Э обнаруживаются как в костном мозге, так и в периферической крови.

Поздние («зрелые») БОЕ-Э образуют *in vitro* более мелкие колонии, содержащие только эритробласты. Они обладают низкой пролиферативной активностью, способностью только к дифференцировке, чувствительностью к Эпо, в них определяется mРНК Эпо [Stopka T. et al., 1997].

Из БОЕ-Э образуются КОЕ-Э. Колонии клеток появляются *in vitro* через 7 дней после начала культивирования. Они небольшого размера, содержат менее 50 клеток, дифференцируются в сторону эритробласта, обладают низкой пролиферативной активностью. Их жизнеспособность и дифференциация зависят от наличия в культуральной среде Эпо. Эти клетки обнаруживаются в основном в костном мозге; их содержание составляет 5 на 10 000 ядерных элементов. Индекс «тимицинового самоубийства» составляет около 75%.

БОЕ-Э имеют фенотип CD34⁺CD117⁺(c-kit) CD33⁺. По мере созревания БОЕ-Э теряют маркеры сначала CD33, а затем CD34; CD117 определяется вплоть до стадии базофильного нормоцита. На клонах эритроидных клеток-предшественниц определяются интегрин, играющие важную роль в адгезии клеток Так, на БОЕ-Э определяется интегрин α2/β2 (CD11a / CD18), сохраняющий-

ев до стадии КОЕ-Э. Также определяется ICAM (CD54), экспрессия которого постепенно исчезает по мере дифференциации эритроидных клеток. На эритроидных клетках-предшественницах определяется адгезивная молекула VLA4 (CD49d), контролирующая адгезию этих клеток к фибронектину, а CD44 определяется вплоть до эритробласта. Также выявляются АГ системы HLA классов I и II; HLA-DR выявляется на стадии БОЕ-Э и исчезает на стадии КОЕ-Э. АГ системы Rh определяются на КОЕ-Э и их плотность увеличивается по мере созревания клеток эритроидного ряда, достигая максимума на зрелых Эр.

В приложении 1 представлены данные о содержании некоторых гемопозитических клеток-предшественниц в онтогенезе.

ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ

Образование колоний и выживание *in vitro* гемопозитических клеток-предшественниц во многом зависит от наличия в кондиционной среде гемопозитических факторов роста, КСФ. Некоторые из этих КСФ действуют непосредственно на клетку, другие — косвенно, однако большая часть КСФ действует обоими путями. Так, некоторые цитокины с гемопозитической активностью стимулируют пролиферацию и дифференциацию не один тип клеток, а несколько, но при этом на одни элементы они действуют непосредственно, а на другие — косвенно. Например, КСФ-ГМ стимулирует пролиферацию КОЕ-ГМ и в то же время он индуцирует экспрессию ИЛ-1, т. е. из этого примера видно, что очень трудно оценить вклад любого цитокина с точки зрения его биологической активности.

Исходя из биологической активности, все КСФ (с долей условности) можно разделить на 4 категории:

- 1) линейно-специфические;
- 2) многолинейные;
- 3) синергические;
- 4) индуктивные.

Безусловно, такое деление условно, так как активность некоторых цитокинов укладывается более чем в одну категорию, но главный критерий отнесения того или иного цитокина в ту или иную категорию — это его преимущественное влияние. Факторы, которые синтезируются клетками, называются цитокинами. По своему действию они могут быть:

- эндокринными, когда цитокины секретируются в плазму крови;
- паракринными, когда цитокины действуют путем контакта с мембраной клетки-мишени;
- аутокринными, когда цитокин секретируется той же клеткой, на которую он действует.

Каждый фактор имеет свой специфический рецептор на клетке-мишени. Эти рецепторы характеризуются следующими признаками:

- наличием трансмембранных белков; на одной клетке определяется от 500 до 2000 рецепторов и более;
- множественностью для разных факторов на поверхности клетки;
- они являются продуктом одного гена.

В свою очередь, все рецепторы к цитокинам можно разделить следующим образом:

1-й класс — рецепторы с активностью тирозинкиназы:

— 1-й подкласс — рецепторы neu/HER2 протоонкогена и эпидермального фактора роста (EGF);

— 2-й подкласс — рецепторы инсулина и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1);

— 3-й подкласс включает в себя рецепторы для макрофагального КСФ (КСФ-М), ФСК и для фактора роста, выделяемого тромбоцитами;

лигандами для ФСК и КСФ-М являются гены *e-kit* и *e-fms* соответственно. Рецептор КСФ-М — это протеин с молекулярной массой 165 килодальтон, экспрессирован на моноцитах и макрофагах с плотностью 3000—15 000 на клетку;

2-й класс — рецепторы для цитокинов [Blanchet O. et al., 1995; Teysier M. et al., 1998].

ЛИНЕЙНО-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЦИТОКИНЫ

К линейно-специфическим цитокинам относятся Эпо, КСФ-Г, КСФ-М, ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-7.

Эритропоэтин. Более 100 лет назад было отмечено, что у жителей высокогорья наблюдается эритроцитоз. В 1906 г. P.Carnot и O.De Flandre высказали предположение, что сниженное атмосферное давление вызывает увеличение и(или) образование гуморального фактора, оказывающего воздействие на эритропоэз. Эта гипотеза была подтверждена T.Miyake и соавт. в 1977 г., которые выделили и получили очищенный Эпо из мочи больных ЛА. Эпо был первым гемopoэтическим ростовым фактором, идентифицированным экспериментально. Ген Эпо расположен на хромосомах 7-й пары (7q11-22) [Law M. et al., 1986].

Эпо является главным фактором, влияющим на эритропоэз. Он способствует выживаемости, пролиферации и конечной дифференциации эритроидных клеток-предшественниц, хотя известно, что на эти процессы влияют и ряд других не-эритропоэтиновых факторов.

Человеческий Эпо является гликопротеином с молекулярной массой 34—39 килодальтон. Белок состоит из 166 аминокислотных остатков. В зависимости от количества углеводов в нем различают две формы: α -форму, содержащую около 30% углеводов, и β -форму, в

составе которой определяется около 24% углеводов. Обе формы имеют одинаковые биологические и антигенные свойства. Сиаловые кислоты, составляющие около 30% углеводов, являются важнейшим компонентом последних, так как они обеспечивают биологический эффект Эпо *in vivo*. Установлено, что потеря Эпо сиаловых кислот сопровождается утратой эффективного взаимодействия Эпо с гемopoэтическими клетками-предшественницами для образования клеток эритроидного ряда и быстрой элиминацией Эпо без сиаловых кислот из кровотока печенью [Fukuda M. et al., 1989].

У здоровых людей содержание Эпо в плазме составляет $(13,9 \pm 3,9)$ МЕ/мл [Mursito S. et al., 1998]. При содержании Hb в крови не менее 105 г/л содержание Эпо в крови сохраняется в пределах нормы [Sprivak J., 2000].

Содержание Эпо в сыворотке крови первично зависит от уровня его продукции почками. Фундаментальным стимулом образования Эпо является гипоксия. Содержание Эпо в сыворотке крови увеличивается экспоненциально по мере снижения гематокрита. По мнению Y.Beguín и соавт. (1998), общая масса клеток-предшественниц эритропоэза в костном мозге также может влиять на содержание Эпо в сыворотке крови путем изменения клиренса Эпо.

Фармакокинетические исследования, проведенные на животных, показали, что при внутривенном введении Эпо наблюдается двухфазное его распределение в сыворотке крови. В начальную фазу период полужизни ($T_{1/2}$) Эпо составляет 0,16 ч, а $T_{1/2}$ фазы элиминации — 4,4 ч. При внутримышечном введении Эпо пик концентрации в крови ниже, чем при внутривенном введении препарата, но Эпо сохраняется в крови на относительно высоком уровне в течение 24 ч.

При подкожном введении здоровым лицам рекомбинантного человеческого Эпо (гHuEPO) в дозах 600 МЕ/(кг·нед) или по 150 МЕ/кг 3 раза в неделю установлено, что:

1) интенсивность абсорбции гHuEPO не зависит от вводимой дозы;

2) с увеличением дозы уменьшается клиренс гHuEPO;

3) начиная с 3—4-го дня после инъекции препарата содержание ретикулоцитов увеличивается, достигая максимума к 9-му дню, а затем снижается, достигая нормальных значений к 12—14-му дням;

4) оба режима введения гHuEPO стимулируют ретикулоцитоз умеренно, в пределах 2—3%;

5) при обоих режимах введения гHuEPO повышение содержания гемоглобина было одинаковым [Cheung W. et al., 1997].

Как было отмечено, образование Эпо регулируется степенью развития гипоксии: при ее наличии увеличивается, а при гипероксии — подавляется образование Эпо. Основным местом образования Эпо являются почки, но при тяжелой анемии до 10—15% он образуется костномозговыми макрофагами, гепатоцитами [Erslev A. et al., 1989]. По мнению C. Vogt и соавт. (1989), костномозговые макрофаги могут продуцировать Эпо в количестве, достаточном для нормального эритропоэза.

Способность печени продуцировать Эпо в ответ на физиологические стимулы, вероятно, обусловлена ее ролью в эритропоэзе и в образовании Эпо в антенатальном и раннем постнатальном периодах. Образование Эпо в печени плода и у новорожденных детей регулируется теми же механизмами, что и образование Эпо почками у взрослых, т. е. главным стимулом является гипоксия.

Количественное изучение экспрессии mPHE Эпо в различных тканях плодов и новорожденных детей показало, что экспрессия гена

Эпо обнаружена в 97% образцах печени плодов 16—40 нед гестации, и в 1 г ткани печени экспрессия mPHE была выше, чем в почках, костном мозге, селезенке. Содержание mPHE Эпо было выше в левой доле печени, чем в правой. Экспрессия гена Эпо выявлялась в 93% образцах ткани почек у плодов и новорожденных детей (возраст от 17 нед гестации до 18 мес после рождения ребенка); экспрессия mPHE Эпо в 1 г почечной ткани значительно увеличивалась у плодов после 30 нед гестации. Тем не менее количество mPHE Эпо в 1 г почечной ткани у плодов и новорожденных детей составляло 9% от его содержания в печени. Ген Эпо также экспрессирован в клетках селезенки (в 96% образцах) и костном мозге (в 81%) у плодов и новорожденных детей. В большинстве образцов этих тканей уровень транскрипции Эпо был низкий [Fandrey J. et al., 1997].

К моменту рождения ребенка на долю печени приходится около 80% тотального mPHE Эпо в организме, т. е. у новорожденных детей печень является главным местом экспрессии гена Эпо, а переключение образования Эпо с печени на почки происходит через несколько месяцев после рождения ребенка [Dame C. et al., 1998].

В течение последнего триместра гестационного возраста образование Эпо у плода переключается с печени на почки, которые к 40-му дню после рождения ребенка становятся основным источником образования Эпо [Dessypris E. et al., 1984]. Однако даже у взрослых людей печень способна вырабатывать Эпо, но стимулом для его образования должна быть более тяжелая гипоксия, чем это наблюдается при стимуляции образования Эпо почками [Zanjani E. et al., 1989].

Переключение места образования Эпо с печени на почки обусловлено

генетически детерминированными механизмами. Источником образования Эпо в почках являются эндотелиальные клетки перитубулярных капилляров, тогда как гломерулярный участок почек лишен мРНК Эпо [Tarumoto T. et al., 1998]. Клетки, содержащие мРНК Эпо, локализируются в интерстиции базальной мембраны трубочек в корковом слое почек.

Высказывается предположение, что на процесс синтеза Эпо влияет содержание простаглина и цАМФ. В опытах на животных было установлено, что гипоксия (или ишемия) в почках вызывает освобождение простагландина Е, который увеличивает содержание цАМФ и синтез Эпо. Эта вновь образованная цАМФ стимулирует синтез Эпо [Kurtz A. et al., 1988].

Эпо стимулирует пролиферацию и дифференциацию коммитированных клеток-предшественниц эритропоэза, пролиферацию морфологически распознаваемых эритроидных клеток и синтез в них РНК, регулирует экспрессию гена *Line-1* на пролиферирующих эритроидных клетках-предшественницах, играющего важную роль в процессе эритропоэза [Cui K. et al., 1998]. Эпо оказывает митогенное действие на БОЕ-Э, проэритробласты и базофильные эритробласты, способствует элиминации ретикулоцитов из костного мозга [Erslev A. et al., 1989]. В сочетании с так называемой бурстстимулирующей активностью Эпо способствует дифференциации БОЕ-Э. Для максимального роста ранних БОЕ-Э *in vitro* требуется присутствие в культуральной среде не только Эпо, но и ИЛ-3, КСФ-ГМ и КСФ-Г. Однако вопрос о степени зависимости пролиферации ранних БОЕ-Э от Эпо остается открытым. Эпо увеличивает число и выживаемость ранних БОЕ-Э, находящихся в клеточном цикле деления. В культуре тканей БОЕ-Э образуют кластеры эритробластов, включаю-

щие в себя от нескольких сотен до нескольких тысяч клеток (бурстов), и для их образования требуется наличие в среде больших концентраций Эпо (от 1 до 15 МЕ); максимальное число кластеров появляется на 15-й день культивирования [Eaves C. et al., 1986; Graber S. et al., 1989].

In vitro ранние БОЕ-Э могут пролиферировать при отсутствии Эпо в культуральной среде, но только если в последней определяется бурстстимулирующая активность. Этой активностью обладают ИЛ-3, КСФ-ГМ, но эти цитокины действуют и на другие гемопоэтические клетки-предшественницы. Сравнительный анализ БОЕ-Э, выделенных из костного мозга и периферической крови взрослых людей, показал, что костномозговые БОЕ-Э менее чувствительны к Эпо, чем БОЕ-Э периферической крови. Введение рекомбинантного Эпо больным с ХПН вызывает у них увеличение содержания БОЕ-Э в костном мозге [Stone W. et al., 1988].

В. Miller и соавт. (1989), изучая влияние Эпо на колониеобразование БОЕ-Э, выделенных из крови взрослых людей, установили, что на 7-й день культивирования клеток в метилцеллюлозе образуются колонии больших размеров, состоящие из негемоглобинизированных или слабо гемоглобинизированных бластов с высоким пролиферативным потенциалом; на 10-й день культивирования появляются колонии, состоящие из большого количества зрелых, гемоглобинизированных клеток, но обладающих низкой пролиферативной активностью. При добавлении к среде, содержащей Эпо, ИЛ-1 α или ИЛ-1 β , пролиферация клеток-предшественниц эритропоэза ингибируется [Schooley J. et al., 1987].

^{59}Fe стимулирует рост КОЕ-ГЭММ, индуцирует включение ^{59}Fe в БОЕ-Э и КОЕ-Э. При концентрации

Эпо 5 МЕ/мл рост КОЕ-ГМ ингибируется на 40% [Ganzer A. et al., 1989].

Для созревания человеческих КОЕ-Э в эритробласты *in vitro* требуется Эпо и инсулиноподобный фактор I. Если в культуральной среде отсутствует Эпо, то КОЕ-Э погибают. В культуре тканей КОЕ-Э образуют маленькие колонии, состоящие из 8—50 эритробластов, но для их роста требуется внесение в культуральную среду Эпо, но в меньшей дозе (от 0,01 до 1 МЕ), чем это требуется для роста БОЕ-Э [Sawada K. et al., 1989].

Эпо не только регулирует эритропоэз, но также стимулирует мегакариопоэз. Введение больным с ХПН рекомбинантного Эпо вызывало у них увеличение в костном мозге содержания КОЕ-Э, БОЕ-Э, КОЕ-Мег и КОЕ-ГМ [Stone W. et al., 1988]. *In vitro* Эпо стимулирует мегакариопоэз. Введение животным рекомбинантного Эпо вызывало у них увеличение числа тромбоцитов. Эпо вызывает дифференциацию бипотентной клетки-предшественницы мегакариоцитов и Эр (UT-7) в эритроидном направлении: в 4,5 раза увеличивается число клеток, экспрессирующих гликофорин А, происходит повышение синтеза β - и γ -глобинов в несколько раз [McHale C. et al., 1998].

Каков механизм действия Эпо, благодаря которому происходит увеличение образования клеток эритроидного ряда? Изучением гемопозитических клеток-предшественниц в культуре тканей установлено, что:

1) ключевым моментом действия Эпо на молекулярном уровне является стимуляция синтеза РНК с последующим увеличением синтеза ДНК, клеточного деления и созревания (образование гемоглобина) клеток, чувствительных к Эпо;

2) через 30 мин после введения мышам Эпо в эритроидных клетках селезенки увеличивается активность

РНК-полимеразы II; через 3 ч после введения препарата повышаются активность РНК-полимеразы I и синтез негистоновых белков, а через 18 ч увеличивается синтез гистонов;

3) через 4 ч после введения Эпо отмечается увеличение интенсивности синтеза РНК в ранних эритроидных клетках, находящихся на стадии между КОЕ-Э и пронормобластом; через 4—6 ч происходит транскрипция гена β -глобина, и через 12 ч интенсивность транскрипции увеличивается в 20 раз [Bondurant M. et al., 1985];

4) Эпо оказывает значительное, но переменное действие на синтез белков мембраны; так, аккумуляция протеина 3 может быть обнаружена в эритроидных клетках лишь после воздействия на них Эпо, тогда как синтез спектрина и рецепторов Тф, которые отмечались в клетках еще до внесения в культуральную среду Эпо, резко увеличивается под действием Эпо;

5) Эпо регулирует экспрессию гена *Line-1* на пролиферирующих клетках-предшественниках эритроидного ряда, играющего важную роль в эритропоэзе [Cui K. et al., 1998].

Эпо регулирует также субклеточную локализацию *Bcl-3*, протоонкогена, участвующего в пролиферации (но не дифференциации) эритроидных клеток-предшественниц. М.-Y. Zhang и соавт. (1998) установили, что под влиянием Эпо происходит экспрессия *Bcl-3*, который образует комплекс с ядерными НК-кб-белками, включая p52; этот комплекс индуцирует экспрессию специфических генов, вовлеченных в процесс пролиферации эритроидных клеток, в том числе и *c-myc*, играющего важную роль в эритропоэзе.

Как уже отмечалось, экспрессия гена Эпо, как и других важных генов, индуцируется гипоксией. На транскрипционном уровне эти гены регулируются гипоксия-индуцирующим

фактором 1 (HIF-1). HIF-1 — это $\alpha\beta$ -гетеродимерный транскрипционный фактор, состоящий из 826 аминокислот, и регуляция его активности первично определяется стабильностью α -субъединицы [Huang L. et al., 1997]. В гене Эпо имеется участок 8-бр, к которому прикрепляется HIF-1. В период гипоксии активация HIF-1 первоначально происходит в виде увеличения насыщения его субъединиц без изменения содержания мРНК HIF-1 α и HIF-1 β [Gu J. et al., 1997].

На поверхности одной эритроидной клетки-предшественницы имеются от 800 до 1800 рецепторов [Pegoraro L. et al., 1988]. По мнению S.Krautz и соавт. (1984), биологический эффект от Эпо наступает при связывании Эпо с 1% рецепторов на клетке.

ЭпоР обнаруживается не только на клетках, коммитированных в сторону эритропоэза, но и на стромальных и мегакариоцитарных клетках [Bagby G., 1994], на гемопоэтических стволовых клетках эмбриона, клетках эндотелия сосудов [Agnastou A et al., 1990; Heberlein C. et al., 1992]. Из незритропоэтических тканей (печень, головной мозг, легкие, скелетные мышцы, плацента) только клетки плаценты содержат ЭпоР, и благодаря им Эпо от матери может быть перенесен плоду.

Среди ЭпоР выделены два вида: высокоаффинные и низкоаффинные. Высокоаффинные рецепторы играют важную роль в процессе дифференциации эритроидных клеток-предшественниц, тогда как низкоаффинные рецепторы могут быть вовлечены только в процесс преобразования незритроидных промотеров роста. ЭпоР плаценты относятся к низкоаффинному типу, и их роль сводится в основном к трансплацентарному транспорту Эпо. В других клетках, относящихся к эритроидному ростку, которые могут дифференцироваться

в отсутствие Эпо или же не реагируют на Эпо, или же могут пролиферировать, но не дифференцироваться под действием Эпо — в них обнаруживаются только низкоаффинные рецепторы. Не отмечено структурных различий между низко- и высокоаффинными рецепторами, хотя между ними имеются функциональные различия. По мнению S.Sawyer и соавт. (1990), низкоаффинные ЭпоР вовлечены в процесс пролиферации эритроидных клеток *in vitro* и трансплацентарный транспорт Эпо, тогда как высокоаффинные ЭпоР участвуют в процессе дифференциации КОЕ-Э человека.

Экстрацеллюлярный участок ЭпоР прикрепляется к карбоксильному участку Эпо. Вслед за взаимодействием Эпо со специфическим рецептором происходит быстрая нейтрализация Эпо, активация сигнальных путей с последующей передачей сигналов от рецептора в ядро клетки, увеличение интенсивности синтеза РНК и свободного кальция внутри клетки, фосфорилиция цитозольных белков [Mason J. et al., 1998]. По мнению S.Graber и соавт. (1989), цАМФ может увеличивать чувствительность некоторых эритроидных клеток-предшественниц к Эпо.

На разных этапах дифференцировки эритроидных клеток-предшественниц в эритроидном направлении под действием Эпо происходит включение и выключение различных генов, влияющих на многие функции клеток. Из 268 известных генов в этих клетках 51 из них играет роль в процессе эритроидной дифференцировки, в том числе 5 из 7 мембранных протеинов [Gubin A. et al., 1998].

Активация ЭпоР является существенным моментом для регуляции выживаемости, пролиферации и дифференциации эритроидных клеток-предшественниц. В этом процессе активации рецептора важную роль иг-

рает активность комплекса, из которого наиболее важным является JAK2. Установлено, что протеинкиназа C, влияющая на активность JAK2-киназы, играет существенную роль в передаче сигнала от ЭпоР внутрь клетки [von Lindern M. et al., 1998]. Связывание Эпо с его рецептором на поверхности клетки приводит к активации, связанной с тирозинкиназой JAK2 (Januse kinase). Внутриклеточный участок ЭпоР содержит 8 тирозиновых остатков, которые фосфорилируются после активации рецептора в ответ на связывание лиганды [Klingmuller U. et al., 1997]. Эти фосфорилированные тирозиновые остатки являются местом стыковки белков, вовлеченных в активацию ряда внутриклеточных сигнальных путей. К числу этих тирозинных остатков ЭпоР относятся: STAT5, фосфатидилинозитол-3-киназа (PI 3-киназа), CIS, белки тирозинфосфатазы — PTP1C и PTP1D.

Активация PI 3-киназы является важным моментом в контроле пролиферации и жизнеспособности клеток-предшественниц. Эпо модулирует активацию PI 3-киназы, и, тем самым, она передает различные сигналы внутрь клетки [Sui X. et al., 1998].

Транскрипционные факторы — PI 3-киназа, MAP-киназы и STAT5 активируются путем их связывания с остатками тирозина ЭпоР. Фосфорилиция тирозина STAT5 сопровождается транслокацией активированного STAT5 в ядро клетки [Oda A. et al., 1998]. Однако эти сигнальные пути внутри клетки могут быть активированы другими механизмами, без участия тирозина рецептора Эпо. Так, активация PI 3-киназы может происходить через IRS-2. Установлено также, что ЭпоР может связывать не только положительные регуляторные белки, но и негативные — PTP1C и CIS; последний может быть отрицательным регулятором STAT5 [Mayeux P., 1997; Barber D. et al., 2001].

Эпо активирует STAT, которые являются активаторами транскрипции и участвуют в передаче сигнала от ЭпоР внутрь клетки. В процессе пролиферации эритроидных клеток-предшественниц, индуцированном Эпо, участвует STAT1 α , но не STAT3. K.Kiritto и соавт. (1997), изучая роль STAT1 α и STAT3 в процессе дифференциации эритроидных клеток-предшественниц, вызванной Эпо, установили, что и STAT1 α , и STAT3 ингибируют транскрипцию γ -глобина и эритроидно-специфическую δ -аминолевулиновую синтетазу, и это приводит к уменьшению числа гемоглобинизированных эритроидных клеток. Выявлено также, что STAT1 α укорачивают период G₀/G₁, т. е. и STAT1 α , и STAT3 действуют как негативные регуляторы в процессе дифференциации эритроидных клеток-предшественниц, вызванного Эпо.

В передаче сигналов с рецептора внутрь клетки важную роль играет GAB-1, белок, связанный с субстратом инсулинового рецептора — IRS^{1/2}. GAB-1 тесно связан с PI 3-киназой, SHC, SHP2 и SHIP, которые содержат сигнальные элементы. Под действием Эпо происходит активация GAB-1, которая действует как адаптерная молекула в передаче сигналов, вызывает активацию различных сигнальных молекул, в том числе PI 3-киназы [Lecoq-Lafon C. et al., 1998; Wickrema A. et al., 1998].

S.Mueller и соавт. (1998) установили, что экспрессия активного ЭпоР на поверхности примитивных клеток-предшественниц эритропоэза увеличивает их количество и жизнеспособность, и, возможно, это связано либо со стимуляцией пролиферативной активности этих клеток, либо с ингибированием апоптоза. T.Sato и соавт. (1998), изучая роль ЭпоР в эритропоэзе, установили, что дифференциация гемопоэтических стволовых клеток и полипотентных клеток- предше-

ствениц может проходить по внутренней программе, и ЭпоР могут заменить другие цитокиновые рецепторы, необходимые для пролиферации и дифференциации этих клеток. В отсутствие Эпо ФСК, ИЛ-6 и рекомбинантный растворимый рецептор ИЛ-6 вызывают в клетках экспрессию mPНК Эпо. Если в кондиционную среду добавляли нейтрализующие Эпо антитела, то эритропоэз при отсутствии Эпо прерывался. Гемопоэтические клетки-предшественницы секретируют *per se* Эпо, который связывается на их поверхности с ЭпоР для передачи эритроидных дифференцирующих сигналов в клетку [Sato T. et al., 1998].

Сигналы, передаваемые цитокинами через рецепторы, в конечном счете влияют на функцию транскрипционных факторов ядра или же на факторы, тесно с ними связанными. Вследствие этого клетки приобретают линейно-специфические маркеры, выполняющие программы экспрессии гена [Tsai F.-Y. et al., 1997; Scanduro A. et al., 1998].

Среди различных транскрипционных факторов в гемопоэтических клетках важная роль принадлежит факторам семейства GATA: GATA-1, GATA-2 и GATA-3. Факторы транскрипции GATA связываются с участками GATA в промотере гена Эпо на клетках [Tagumoto T. et al., 1998]. GATA-1 высоко экспрессирован на эритроидных и тучных клетках, мегакариоцитах, эозинофилах, а на полипотентных гемопоэтических клетках-предшественницах низко экспрессирован. GATA-1 способствует дифференциации полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц в эритроидном направлении, но при его сверхэкспрессии происходит блокада дифференцировки этих элементов в клетки эритроидного ряда [Gaines P. et al., 1997]. При отсутствии GATA-1 клетки эритроидного ростка после стадии эритробласта не способны дифференцироваться в усло-

виях *in vitro* и *in vivo* [Fujwara Y. et al., 1996]. Транскрипционный кофактор CBP (Creb-Binding Protein), прикрепляясь к GATA-1, значительно увеличивает его транскрипционную активность [Hung H.-L. et al., 1998].

GATA-1 и GATA-2 могут угнетать транскрипционную активность PU.1, фактора, необходимого для дифференциации клеток-предшественниц в миелоидном направлении, т. е. взаимодействие между GATA-1, GATA-2, PU.1 и другими белками играет важную роль в модуляции ГСК в период ее коммитирования в миелоидном или эритроидном направлении. В процессе коммитирования полипотентной гемопоэтической клетки-предшественницы происходит индукция экспрессии на ней специфических факторов транскрипции PU.1/Spi-1 и GATA-1, необходимых для дифференцировки этих клеток в миелоидном или эритроидном направлении соответственно [Zhang P. et al., 1998].

Транскрипционный фактор GATA-1 является также центральным регулятором дифференциации бипотентной клетки-предшественницы мегакариоцитарного и эритроидного ростков кроветворения. Транскрипционный кофактор GATA-1 — Fog (Friend of GATA-1) обеспечивает активность GATA-1 *in vivo*. Установлено, что Fog играет ключевую роль в терминальной дифференциации эритроидных клеток [Tsang A. et al., 1997]. Для нормального развития бипотентных эритроидных и мегакариоцитарных клеток-предшественниц необходимо наличие ядерных факторов GATA-1 и Fog. Fog, являясь кофактором GATA-1, взаимодействуя и кооперируя с GATA-1, способствует дифференцировке эритроидных и мегакариоцитарных клеток-предшественниц. При нарушении этого взаимодействия не происходит экспрессии эритроидного гена [Crispino J. et al., 1998].

Клетки с высокой экспрессией мРНК GATA-2 и большим содержанием протеина GATA-2 обладают низкой пролиферативной активностью, сниженной способностью синтезировать общий глобин в клетке [Konopni P. et al., 1998].

Прикрепление Эпо к соответствующему рецептору на поверхности клетки-мишени, передача сигналов с рецепторов во внутренние структуры клетки способствуют пролиферации гемopoэтических клеток-предшественниц, их дифференциации в эритроидном направлении. Это сопровождается изменениями внутреннего содержания в клетках. *In vitro* Эпо увеличивает экспрессию β - и γ -, но не α -глобинов в стимулированных эритроидных клетках, в 2—5% клетках увеличивается образование Hb. Добавление в кондиционную среду δ -АЛК или гемина увеличивает число гемоглобинсинтезирующих клеток до 40% и 70% соответственно с одновременной терминальной дифференциацией этих клеток [McHale C. et al., 1997]. Рекомбинантный Эпо индуцирует образование HbF в процессе созревания эритроидных клеток, способствует дифференциации БОЕ-Э и КОЕ-Э [Blau C. et al., 1993; Nagel R. et al., 1993].

К. Muta и соавт. (1994) отметили синергический эффект Эпо и ФСК на пролиферацию, дифференциацию и терминальное созревание клеток-предшественниц эритропоэза, однако внутриклеточные механизмы, с помощью которых ФСК и Эпо координируют свой синергический эффект, до конца не ясны. По мнению H. Wu и соавт. (1995), механизм синергического эффекта ФСК и Эпо на эритропоэз следующий: ФСК вызывает фосфорилиацию ЭпоР и c-kit (ген рецептора ФСК), c-kit вызывает фосфорилицию ЭпоР, следом за которой происходит индукция пролиферации и созревания клеток-предшественниц эритропоэза. X. Su и соавт. (1998)

указывают, что и ФСК, и Эпо каждый по отдельности активируют МАРК-киназу (МАРК, ERK), но при сочетанном действии этих двух стимуляторов степень активации МАРК резко возрастает. Синергичное действие ФСК и Эпо на эритропоэз связано с активацией МАРК-киназы, и этот синергизм опосредуется PI 3-киназой.

Таким образом, Эпо является важнейшим линейно-специфическим фактором в регуляции эритропоэза, который образуется в основном в почках, и степень его продукции, но не абсолютно, зависит от выраженности гипоксии в организме. Концентрация Эпо в плазме зависит не только от степени оксигенации тканей, но и от сопутствующих состояний и заболеваний (заболевания паренхимы почек, повышенная вязкость крови, инфекционные и хронические воспалительные заболевания, беременность, недоношенность и др.), которые угнетают образование эритропоэтина вне зависимости от степени гипоксии. Кроме того, при системных заболеваниях отмечается снижение функционального действия Эпо, и это связано с ингибированием транскрипции гена Эпо цитокинами воспаления (ИЛ-1, ФНО) [Spivak J., 2000].

Гранулоцитарный КСФ. Гранулоцитарный КСФ впервые был обнаружен у мышей в 1983 г., а его аналог у человека — в 1985 г. По данным S. Corbacioglu и соавт. (1998), содержание КСФ-Г в сыворотке крови здоровых людей составляет $(51,1 \pm 34,6)$ нг/л.

Человеческий КСФ-Г — это гликопротеин с молекулярной массой 19 килодальтон. Ген КСФ-Г располагается на 17-й паре хромосом (17q11.2-21). Источником цитокина являются клетки стромы, эндотелия, эпителия, макрофаги, которые под действием физиологических индукторов ИЛ-1 и ФНО α и липополисахаридов вырабатывают этот цитокин

[Ogawa Y et al., 1996]. На одном нейтрофиле экспрессируются от 50 до 500 рецепторов для КСФ-Г, и биологический эффект от КСФ-Г наступает при связывании этого цитокина с 5—10% рецепторов на клетке.

При отсутствии рецептора КСФ-Г на гемопоэтических клетках у мышей у них развивается хроническая нейтропения с уменьшением в костном мозге содержания клеток миелоидного ряда. Однако не наблюдается аккумуляции незрелых клеток гранулоцитарного ряда, и это заставляет полагать, что у мышей имеются клетки-предшественницы гранулоцитопоэза, которые способны дифференцироваться в нормальные зрелые нейтрофилы. Нейтрофилы мышей с дефицитом рецепторов КСФ-Г фенотипически нормальные, и это лишний раз подчеркивает важную роль этого рецептора в регуляции гранулоцитопоэза *in vivo*, и в то же время свидетельствует, что существует и независимый от рецептора КСФ-Г механизм регуляции гранулоцитопоэза [Liv F. et al., 1997].

КСФ-Г стимулирует образование нейтрофилов в условиях *in vitro* и *in vivo*. В условиях *in vitro* колонии, состоящие из нейтрофилов, образуются быстрее при добавлении в культуральную среду КСФ-Г, чем при добавлении КСФ-ГМ или ИЛ-3. КСФ-Г способствует пролиферации КОЕ-ГМ, но не способен длительно ее поддерживать и проявляет свою активность вплоть до промиелоцита [Blanchet O. et al., 1995]. Цитокин стимулирует покоящиеся гемопоэтические стволовые клетки к вхождению в фазу G₁—S клеточного цикла деления, индуцирует миграцию и пролиферацию клеток эндотелия сосудов *in vitro*. В сочетании с ИЛ-3 КСФ-Г стимулирует образование бластных и мегакариоцитарных колоний.

В настоящее время получен рекомбинантный человеческий КСФ-Г

(Filgrastim, Neupogen), который широко используют в клинической практике с 1987 г. при многих состояниях, протекающих с нейтропенией [Welte K. et al., 1997; Hermans M. et al., 1998]. Кроме того, цитокин используют для мобилизации стволовых клеток периферической крови для их использования при трансплантации. Так, подкожное введение препарата в течение 7 дней из расчета 100 мг/м² увеличивает число КОЕ-ГМ в крови в 11—104 раза (в среднем в 86 раз), а число клеток CD34⁺ — в 10—24 раза [Zarco M. et al., 1998]. Помимо того, что КСФ-Г стимулирует образование нейтрофилов, он также влияет и на функцию этих клеток. Этот цитокин в условиях *in vivo* и *in vitro* способствует выделению арахидоновой кислоты, повышает образование супероксиданиона, активность щелочной фосфатазы, увеличивает экспрессию адгезивных молекул (CD11b/CD18, L-селектина) и, в отличие от КСФ-ГМ, КСФ-Г, не ингибирует миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. КСФ-Г повышает фагоцитоз и бактерицидность нейтрофилов. Введение рекомбинантного КСФ-Г *in vivo* приводит к дегрануляции нейтрофилов путем мобилизации секреторных пузырьков (CD11b), специфических (лактоферрина, CD11b и CD66b) и азурофильных гранул [de Haas M. et al., 1994; Young K., 1996].

У здоровых людей после введения рекомбинантного КСФ-Г (по 7,5—10 мг/(кг/день), подкожно, 6 раз) отмечалось увеличение в плазме крови содержания лактоферрина в 8 раз, а нейтрофильного липолина (белок вторичных гранул с молекулярной массой 45 килодальтон) в 6 раз, и их содержание оставалось повышенным в плазме крови до 12-го дня. Увеличивалась также активность щелочной фосфатазы в плазматической мембране (максимум к 5-му дню); содержание ФНО α в плазме крови

увеличивался в 25 раз [Xu S. et al., 1997].

Макрофагальный колоннестимулирующий фактор. КСФ-М — это гликопротеин с молекулярной массой 40—90 килодальтон. Он стимулирует жизнеспособность, пролиферацию и дифференциацию клеток-предшественниц мононуклеарных фагоцитов. Ген КСФ-М расположен на 5-й паре хромосом (5q33.1), он контролирует образование двух видов гликопротеина (70—90 килодальтон и 40—50 килодальтон).

Источником образования этого цитокина являются большинство мезенхимных клеток, фибробласты, эндотелиальные клетки, моноциты и макрофаги. Физиологическими индукторами образования КСФ-М являются КСФ-ГМ, ИЛ-3, ИЛ-4 и ФНО α . Цитокин содержится в крови и выделяется с мочой; у здоровых людей содержание этого цитокина в сыворотке крови составляет (174 \pm 76) ед/мл [Watarik K. et al., 1989], хотя K. Shirono и соавт. (1995) приводят большие значения — (756 \pm 147) ед/мл. Человеческий КСФ-М был получен и очищен из клеток карциномы поджелудочной железы [Wu M. et al., 1979] и мочи [Votouyshi K. et al., 1982].

Рецептор для КСФ-М, продукт c-fms протоонкогена, обнаружен на макрофагах и некоторых клетках плацентарной ткани. Ген для рецептора этого цитокина (эквивалент c-протоонкогена) расположен на длинном плече 5-й пары хромосом (5q33.3). На одной клетке определяются от 30 000 до 50 000 рецепторов [Pegoraro L. et al., 1988].

КСФ-М индуцирует *in vitro* рост моноцитомacroфагальных колоний у мышей, способствует дифференциации КОЕ-М у мышей и человека. Он увеличивает образование ИФ и ФНО, ИЛ-1, КСФ-Г, а также медиаторов воспаления (простагландины, бактерицидные кислородные метаболиты).

Цитокин индуцирует фагоцитоз, повышает киллерность микроорганизмов и опухолевых клеток зрелыми мононуклеарными фагоцитами, увеличивает секреторную функцию моноцитов и макрофагов, активность тканевого тромбопластина и активатора плазминогена [Pimentel E., 1990; Bagby G., 1994]. Макрофаги, стимулированные КСФ-М, ингибируют пролиферативную активность лимфоцитов, т. е. цитокин, вероятно, играет роль в иммунорегуляторном механизме [Wing E. et al., 1986].

Интерлейкин-2. ИЛ-2 — это белок с молекулярной массой 23 килодальтона. Ген этого цитокина располагается на 4-й паре хромосом (4q26—28). ИЛ-2 образуется Т-лимфоцитами (клетками CD4⁺ и CD8⁺). Физиологическими индукторами его образования являются липополисахариды, митогены, АГ.

ИЛ-2 прикрепляется к гетеродимерному рецептору (p55, p75), экспрессированному на В- и Т-лимфоцитах, НК-клетках, и сигналы передаются, по крайней мере, через активацию тирозинспецифической и кальмодулинзависимой киназ. ИЛ-2 индуцирует пролиферацию и дифференциацию активированных Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, экспрессию ИЛ-1 и ФНО α на моноцитах и макрофагах. Большинство зрелых покоящихся клеток периферической крови не несут на своей поверхности рецептор ИЛ-2, в связи с чем они не способны пролиферировать в ответ на ИЛ-2. Однако антигенная или митогенная стимуляция Т-лимфоцитов приводит к экспрессии рецептора на поверхности клеток, и максимальная экспрессия наступает через 24—36 ч от начала стимуляции клеток, но через 72 ч происходит постепенное исчезновение рецептора ИЛ-2 с поверхности клеток. С момента начала экспрессии ИЛ-2-рецептора зрелые Т-лимфоциты активно пролиферируют в ответ на эндогенный или

экзогенный, синтезированный самими клетками ИЛ-2. Пролиферация Т-лимфоцитов в присутствии ИЛ-2 может поддерживаться длительно.

В отличие от зрелых Т-лимфоцитов, большая часть прегимфоцитов постоянно экспрессируют на своей поверхности рецептор ИЛ-2, и эти клетки способны пролиферировать при внесении в культуральную среду ИЛ-2 без предшествующей стимуляции этих клеток. ИЛ-2 также влияет на дифференциацию Т-лимфоцитов. Предшественники цитотоксических лимфоцитов под влиянием ИЛ-2 превращаются в зрелые эффекторные клетки. К действию ИЛ-2 чувствительны также НК-клетки, которые под его влиянием повышают свою пролиферативную и киллерную активность, способствуя лизису опухолевых клеток. При активации Т-лимфоцитов ИЛ-2 часть растворимой формы рецептора ИЛ-2 выделяется в кровь, поэтому определение концентрации растворимой формы ИЛ-2 в крови может служить маркером степени активации Т-лимфоцитов [Mathias C. et al., 1998].

Некроз и апоптоз таргетных клеток происходят через перфорин- и FAS-зависимые пути. ИЛ-2 индуцирует экспрессию перфорина на лимфоцитах и в сочетании с α -интерфероном стимулирует секрецию ФНО α и ИФ γ и значительно увеличивает экспрессию на лимфоцитах ФНО α - и ИФ γ -мРНК. Лимфоциты, активированные ИЛ-2 против опухолевых клеток, вызывают не только некроз, но и апоптоз клеток-мишеней [Li C. et al., 1998].

Пролиферация и дифференциация В-лимфоцитов в значительной степени регулируется ИЛ-2. Большая часть активированных В-лимфоцитов экспрессируют рецептор ИЛ-2. Введение ИЛ-2 обеспечивает способность В-лимфоцитов синтезировать и секретировать иммуноглобулины [Miller D. et al., 1990; Bagby G., 1994].

Использование цитокина при иммунотерапии приводит к резкому угнетению хемотаксиса нейтрофилов [Klempner M. et al., 1990].

Интерлейкин-5. ИЛ-5 — это белок с молекулярной массой 40 килодальтон. Ген цитокина расположен на длинном плече 5-й пары хромосом (5q31). ИЛ-5 секретируется Т-лимфоцитами под действием различных АГ, фторболоэстеров и митогенов. Рецепторы этого цитокина (ИЛ-5R α и КСФ-ГМ β) экспрессируются на В- и Т-лимфоцитах, эозинофилах. Растворимая форма рецептора ИЛ-5 была клонирована и охарактеризована J. Tavernier и соавт. (1991).

ИЛ-5 играет центральную роль в пролиферации, дифференциации и функциональной активности эозинофилов. Специфическое действие этого цитокина на эозинофилы и гемопозитически тесно связанными с ними базофилами регулируется высокоаффинным рецептором на этих клетках — ИЛ-5R α . Линейно-специфическая активность этих элементов обеспечивается *cis*-участком на этом рецепторе. A. Iwama и соавт. (1998) установили, что RFX1, RFX2 и RFX3, относящиеся к семейству RFX-ДНК-связывающих белков, *in vitro* и *in vivo* образуют гомо- и гетеродимеры, которые специфически связываются с *cis*-участком ИЛ-5R α , и эти RFX-белки играют важную роль в генной регуляции гранулоцитопоэза.

ИЛ-5 активировать цитотоксичность Т-лимфоцитов, индуцирует секрецию иммуноглобулинов, стимулирует образование эозинофилов и активировать последние *in vitro* и *in vivo*. Хотя цитокин дает синергический эффект на дифференциацию лимфоцитов, его влияние на рост и дифференциацию клеток эозинофильного ростка представляется специфичным.

Первоначально ИЛ-5 был идентифицирован как фактор, способствующий пролиферации и дифферен-

вания В-лимфоцитов мышей. Однако позднее C.Sanderson и соавт. (1986) установили, что цитокин действует на клетки-предшественницы эозинофилов костного мозга, стимулируя их колониюобразование. Человеческий и мышинный ИЛ-5 гомологичны с минимальным различием в числе цистеиновых остатков [Azuma S. et al., 1986].

Поскольку ИЛ-5, помимо своего влияния на функцию лимфоцитов способен стимулировать образование эозинофилов у человека в костномозговой культуре, активировать функции эозинофилов человека, то можно утверждать, что ИЛ-5 — это эозинофилопоэтин.

Интерлейкин-7. ИЛ-7 — это белок с молекулярной массой 17—25 килодальтон. Ген ИЛ-7 расположен на 8-й паре хромосом (8q). Цитокин образуется стромальными клетками. Рецептор ИЛ-7 (ИЛ-7Р) экспрессирован на мегакариоцитах, В- и Т-лимфоцитах, а также на миелоидных CD34+ клетках-предшественницах, но экспрессия ИЛ-7Р на этих клетках меньше, чем на В-клетках-предшественницах. Вместе с митогенами ИЛ-7 повышает активность Т-клеток, увеличивает число аллоспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов, клональный рост пре-В-лимфоцитов, индуцирует секрецию цитокинов макрофагами и периферическими моноцитами, хотя не исключается возможность, что эффект на моноциты опосредован другими факторами, индуцируемыми ИЛ-7 на лимфоидные клетки. По данным O.Blanchet и соавт. (1995), цитокин влияет на миелопоэз и частично на мегакариоцитопоэз. In vitro ИЛ-7 действует в синергизме с ИЛ-3. ИЛ-7 играет центральную роль в тимоцито- и лимфоцитопоэзе.

Рост и дифференциация гемопоэтических клеток обусловлены комплексным взаимодействием этих элементов с микроокружением костного

мозга. N.Perelman и соавт. (1998) установили, что цитокин регулирует стромальное микроокружение костного мозга путем уменьшения количества коллагена, однако неясно, каков механизм взаимодействия ИЛ-7 с коллагеном.

МНОГОЛИНЕЙНЫЕ ЦИТОКИНЫ

Эти цитокины либо индуцируют репопуляцию гемопоэтических полипотентных клеток-предшественниц, либо стимулируют пролиферацию коммитированных клеток-предшественниц с потенцией более одного роста (например, КОЕ-ГМ), либо оказывают совместное действие. Многолинейные цитокины увеличивают весь пролиферативный потенциал всех костномозговых гемопоэтических клеток, на которые они действуют. Однако поскольку полипотентные гемопоэтические клетки-предшественницы дифференцируются, то большинство возникших в результате этого процесса дочерних клеток теряют способность пролиферировать в ответ на эти цитокины.

К числу многолинейных цитокинов относятся КСФ-ГМ, ИЛ-3 и ИЛ-11, ТПО.

Грануломоноцитарный колониестимулирующий фактор. КСФ-ГМ является гликопротеином с молекулярной массой 22 килодальтон. Ген человеческого КСФ-ГМ локализован на 5-й паре хромосом (5q23—31). Высокоаффинные рецепторы цитокина с молекулярной массой 130 килодальтон обнаруживаются на нормальных и лейкозных клетках миелоидного роста.

Рецептор цитокина является гетеродимерным протеином, состоящим из α - и β -субъединиц. α -Субъединица контролируется геном, расположенным в области псевдоаутосомного региона хромосом X и Y [Gough N. et al., 1990]. β -Субъединица является

одновременно и β -субъединицей гетеродимерных рецепторов для ИЛ-3 и ИЛ-5. P21-gas, являясь лигандом, играет роль в передаче сигналов через этот рецептор. Передача КОЕ-ГМ-сигналов опосредуется цитоплазматическими тирозинкиназами [Al-Shami M. et al., 1997]. На одной клетке содержатся от 50 до 1000 рецепторов. Биологический эффект от цитокина наступает при его связывании с 5—10% рецепторов.

Источником КСФ-ГМ являются моноциты-макрофаги, фибробласты, Т-лимфоциты, эпителиальные клетки. Современными методами не удается определить содержание цитокина в сыворотке крови. Фагоцитоз и стимулятор воспаления индуцируют экспрессию mPНК КСФ-ГМ на макрофагах через регуляторные механизмы. В процессе регуляции синтеза КСФ-ГМ также вовлечены некоторые цитокины. Так, ИЛ-1 способствует выделению КСФ-ГМ из мононуклеарных фагоцитов, Т-лимфоциты, стимулированные ИЛ-1, секретируют КСФ-ГМ, и это происходит на уровне транскрипции гена [Nergman F. et al., 1988]. H.Quill и соавт. (1989) установили, что простагландин E_2 в синергизме с ИЛ-2 способствует секреции цитокина Т-лимфоцитами. ФНО α , как и ИЛ-1, увеличивает транскрипцию гена КСФ-ГМ [Andreoff M. et al., 1989].

КСФ-ГМ стимулирует пролиферацию незрелых гемопоэтических клеток и их дифференциацию с образованием зрелых гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов. При добавлении КСФ-ГМ в агаровую культуру гемопоэтических клеток образуются КОЕ-ГМ; если же удалить этот цитокин, то наблюдается накопление клеток-предшественниц КОЕ-ГМ в фазе G_1 , а если вновь добавить в среду КСФ-ГМ, то происходит прогрессивный переход клеток из фазы G_1 в фазу S с log-периодом 10 ч. КСФ-ГМ стимулирует образо-

вание колоний из КОЕ-ГЭММ, БОЕ-Э и КОЕ-Мег.

Рекомбинантный человеческий КСФ-ГМ *in vitro* может увеличивать образование колоний из КОЕ-Эо, а в комбинации с Эпо или ИЛ-3 — БОЕ-Э. В отличие от КСФ-Г КСФ-ГМ вызывает увеличение в периферической крови гранулоцитов и эозинофилов, увеличивает образование эозинофильных колоний из гемопоэтических клеток-предшественниц костного мозга, появление в крови эозинофилов с высокоаффинными рецепторами КСФ-ГМ, а также повышает антителозависимое убийство эозинофилами.

КСФ-ГМ не только способствует образованию моноцитомacroфагальных колоний, но также контролирует специфическую функцию моноцитов через индукцию транскрипции КСФ-М и стимуляцию Fe-зависимого фагоцитоза тканевых макрофагов. Однако КСФ-ГМ обладает очень слабой, почти никакой активностью в стимуляции КОЕ-Г и КОЕ-М. КСФ-ГМ оказывает физиологическое действие не только на гемопоэтические клетки, но и на другие нормальные и трансформированные негематологические клетки (клетки аденокарциномы, меланомы и др.). Стимулирующая активность КСФ-ГМ уравнивается действием ингибитора цитокина, выделяющегося из зрелых гранулоцитов [Pimentel E., 1990].

Рекомбинантный человеческий КСФ-ГМ был первым цитокином, внедренным в клиническую практику. При его подкожном введении период полужизни препарата был двухфазным с $T_{1/2}$ менее 5 мин и $T_{1/2}$ до 150 мин. После подкожного введения содержание цитокина в сыворотке крови (более 100 нг/л) наблюдается в течение 15—30 мин, но этот показатель вариабелен и зависит от введенной дозы. Так, при дозе 10 мкг/кг содержание цитокина в сыворотке крови более 1 мкг/л со-

хранялся более 12 ч, т. е. это тот уровень, который поддерживает пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественниц *in vitro* [Cebon J. et al., 1988].

Помимо эффекта на клетки-предшественницы гемопоэза, КСФ-ГМ влияет и на зрелые клетки. Так, цитокин увеличивает фагоцитоз бактерий и кислородный метаболизм нейтрофилов, стимулирует туморцидность моноцитов периферической крови. КСФ-ГМ непосредственно действует на зрелые нейтрофилы, образование последними ИЛ-1, увеличивает образование АТ В-лимфоцитами, вместе с ИЛ-2 стимулирует рост Т-лимфоцитов [Al-Shami A. et al., 1997].

В условиях *in vitro* под действием КСФ-ГМ активность нейтрофилов у больных СПИДом повышается. При введении этим больным рекомбинантного КСФ-ГМ у них увеличиваются цитотоксичность, секреция ФНО и ИФ моноцитами периферической крови [Wing E. et al., 1989]. Введение больным рекомбинантного цитокина может корректировать нарушение функционирования нейтрофилов (фагоцитоз и внутриклеточную киллерность) с одновременным повышением числа нейтрофилов в периферической крови, хотя и без клинического улучшения [Groopman J. et al., 1987]. Цитокин активирует экспрессию ВИЧ-1 провирусного гена в латентных инфицированных мононуклеарных фагоцитах [Bagby G., 1994].

БОЕ-Э имеют рецептор для КСФ-ГМ, который утрачивается на стадии зрелых БОЕ-Э и эритробласта. КСФ-ГМ стимулирует пролиферативную активность БОЕ-Э, способствует дифференциации этих клеток до стадии эритробласта, но действие КСФ-ГМ проявляется в меньшей степени, чем ИЛ-3. Сочетанное использование КСФ-ГМ, ИЛ-3 и ФСК вызывает выраженный синергизм действия на

эритропоэз [Zermati Y. et al., 1997]. На ранних БОЕ-Э наблюдается экспрессия Bcl-3 (протоонкогена), и по мере созревания этих клеток уровень экспрессии этого протоонкогена снижается. Bcl-3 вовлечен в процесс пролиферации, но не дифференциации эритроидных клеток, и КСФ-ГМ, как и Эпо модулирует локализацию Bcl-3. Ядерная Bcl-3 участвует в транскрипционной регуляции kb-содержащих генов, вовлеченных в гемопоэз, включая c-myc [Zhang M.-Y. et al., 1998].

Лечение рекомбинантным КСФ-ГМ больных со злокачественными новообразованиями (раковые заболевания, саркома, лейкозы и др.), МДС укорачивает у них период лейкопении в постхимиотерапевтический и пострадиационный периоды с одновременным увеличением в периферической крови содержания КОЕ-ГМ и БОЕ-Э. Рекомбинантный цитокин повышает кислородный метаболизм нейтрофилов и образование супероксидных анионов, число нейтрофилов и моноцитов в периферической крови, активирует моноциты с одновременным увеличением этими элементами ФНО α и ИФ [Jawson M. et al., 1990].

Лечение больных АА КСФ-ГМ (по 60—500 мкг/м², 2 раза в неделю) увеличивало число лейкоцитов в периферической крови в 1,6—10 раз, нейтрофилов — в 1,5—20 раз и моноцитов в 2—32 раза. Как правило, в костном мозге увеличивалось соотношение М : Э, но постоянного эффекта не наблюдалось [Vadhan-Raj. S. et al., 1988].

Цитокин способствует выделению из плазматической мембраны клеток арахидоновой кислоты в течение нескольких минут, по-видимому, за счет прямого действия на фосфолипазу С и (или) протеинкиназу С. Он увеличивает также адгезивные свойства нейтрофилов за счет увеличения экспрессии адгезивных

молекул CD11b и CD18, образование лейкотриена B₄, который является ингибитором процесса миграции нейтрофилов, и вследствие этого нарушается мобилизация нейтрофилов в очагах воспаления.

S. Devegeux и соавт. (1990) установили, что введение больным рекомбинантного цитокина увеличивает в плазме крови содержание лактоферрина, ТК I и III, при этом повышение концентрации этих веществ было дозозависимым. Поскольку лактоферрин и ТК содержатся во вторичных гранулах нейтрофилов, то введение препарата может приводить к гипофункции нейтрофилов в связи с истощением содержимого вторичных гранул.

Интерлейкин-3. ИЛ-3 является фактором, влияющим на пролиферацию, дифференциацию и активацию гемопоэтических клеток-предшественниц путем прямого или косвенного действия с образованием эритроидных, нейтрофильных, эозинофильных, макрофагальных, мегакариоцитарных и базофильно-тучноклеточных колоний. Поскольку главной функцией цитокина является воздействие на дифференциацию стволовых клеток, то ИЛ-3 еще называют полипотентным КСФ. Однако вопрос о роли ИЛ-3 в регуляции, самоподдерживании, пролиферации и дифференциации полипотентной ГСК остается неясным.

Источником образования ИЛ-3 являются Т-лимфоциты, тучные клетки и клетки глии. Транскрипция цитокина определяется в стромальных клетках. Физиологическим индуктивным активатором образования ИЛ-3 является активация IgE-рецептора на клетках. Рецепторами цитокина являются α - и β -цепочки, передающие сигналы внутрь клетки через активацию p21-gas, raf-1-киназу и тирозинкиназу. На одной клетке содержится от 100 до 1000 рецепторов для ИЛ-3. На ранних CD34⁺-клетках-

предшественниках миелопоэза наблюдается высокая экспрессия рецептора ИЛ-3, а экспрессия этого рецептора на CD34⁺-клетках-предшественниках В-лимфоцитопоэза выражена умеренно [Waele D. et al., 1998]. In vivo после внутривенного введения α T_{1/2} составляет 2,1 мин, а β T_{1/2} — 10 мин [Tomlinson J. et al., 1993].

Ген ИЛ-3 у человека располагается на длинном плече 5-й пары хромосом (5q23—31) на расстоянии 9 килобаз от гена КСФ-ГМ, но оба цитокина регулируются различно. Хотя и КСФ-ГМ, и ИЛ-3 вырабатываются различными клетками, но даже экспрессия генов на Т-лимфоцитах для ИЛ-3 и КСФ-ГМ регулируется независимо друг от друга.

ИЛ-3 является гликопротеином с молекулярной массой 14—28 килодальтон. ИЛ-3 воздействует на поли-, олиго- и монопотентные гемопоэтические клетки-предшественницы, на CD34⁺ — клетки костного мозга. Клетками-мишенями для цитокина являются КОК-ВПП, КОЕ-бласт, КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ, КОЕ-Г, КОЕ-М, КОЕ-Эо, КОЕ-Мер, КОЕ-Баз и БОЕ-Э; ИЛ-3 стимулирует рост пре-В-лимфоцитов и тучных клеток, увеличивает экспрессию КСФ-М на макрофагах. ИЛ-3 более эффективен в поддержании колониеобразования нормальных человеческих гемопоэтических бластов в 21-дневной культуре и для ретрансплантации клеток. Все это свидетельствует о том, что ИЛ-3 обладает широким диапазоном влияния на различные клетки [Casadevall N. et al., 1995].

Цитокин является потенциальным фактором роста колоний, содержащих базофильные и тучные клетки-предшественницы. Он действует как функциональный регулятор зрелых эозинофилов и моноцитов. При введении рекомбинантного ИЛ-3 мышам у последних увеличивается в крови число эозинофилов в 10 раз, а нейтрофилов и моноцитов — только в 2—3 раза.

БОЕ-Э на своей поверхности несут рецептор для ИЛ-3, который утрачивается на стадии КОЕ-Э и эритробласта. *In vitro* добавление в видку культуру ИЛ-3 увеличивает образование БОЕ-Э в 2—4 раза.

Эффект ИЛ-3 на ранние гемопоэтические клетки-предшественницы может быть усилен другими цитокинами — ИЛ-1 и ИЛ-6. Сочетанное использование ИЛ-3 и ИЛ-6 приводит к синергизму действия, вызывая нейтрофилез при миелосупрессии. Введение внутривенно ИЛ-3 и КСФ-Г крысам приводит к нейтрофилезу; через 12 ч после инъекции в костном мозге резко уменьшается содержание зрелых нейтрофилов, отмечаются «сдвиг» влево клеток нейтрофильного ряда и миелоидная гиперплазия. Одновременно наблюдается резкое уменьшение эритроидных, эозинофильных и лимфоидных клеток-предшественниц [Ulich T. et al., 1990].

Помимо влияния на кинетику пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток-предшественниц, ИЛ-3 может влиять на выживаемость и функцию зрелых клеток крови. При введении *in vivo* рекомбинантного человеческого ИЛ-3 в периферической крови увеличивается количество нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, тромбоцитов и ретикулоцитов, при этом, если последовательно назначать и рекомбинантный КСФ-ГМ, отмечается выраженный синергический эффект. При миелосупрессии, вызванной химиотерапией, назначение рекомбинантного цитокина не вызывает заметного восстановления числа нейтрофилов, но увеличивается абсолютное количество базофилов и эозинофилов в периферической крови.

Удаление ИЛ-3 из культуральной среды клеточных линий, выживаемость которых полностью зависит от этого цитокина, приводит к снижению метаболизма в этих клетках — уменьшается интенсивность транс-

порта гексозы, процесса гликолиза и содержания АТФ внутри клетки, но это процесс обратим, если в культуральную среду ввести ИЛ-3 до гибели клетки [Whetton A. et al., 1984].

Интерлейкин-11. Цитокин был впервые выделен в 1990 г. Он оказывает плеотропное действие на многие клетки тканей. Первоначально этот цитокин рассматривали как гемопоэтический цитокин с тромбоцитопоэтической активностью, но в настоящее время установлено, что он экспрессируется и проявляет свою активность на многие клетки тканей, включая гемопоэтические, головного мозга, нейроны спинного мозга, кишки и яичек. Однако физиологическая роль этого цитокина остается во многом неясной [Du X. et al., 1997]. Ген человеческого ИЛ-11 состоит из 5 экзонов и 4 интронов, и расположен он на хромосомах 19-й пары (19q13.3—19q13.4). Молекулярная масса цитокина равна 23 килодальтон.

В различных культуральных системах ИЛ-11 стимулирует пролиферацию стволовых клеток, полипотентных и коммитированных клеток-предшественниц гемопоэза, полученных из различных источников, в том числе и из пуповинной крови и костного мозга [van den Ven C. et al., 1995], периферической крови [Sato N. et al., 1993]. Для стимуляции пролиферации различных ростков кроветворения он действует синергично с другими цитокинами: с ИЛ-3, ИЛ-4 и лигандом FLT3, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-13, ФСК и КСФ-ГМ [Jacobsen S. et al., 1995].

В комбинации с ИЛ-3 или ФСК ИЛ-11 стимулирует пролиферацию и дифференциацию примитивных полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц, а также эритроидные клетки-предшественницы на различных стадиях дифференциации. В отличие от ФСК и ИЛ-6 ИЛ-11 стимулирует пролиферацию БОЕ-Э даже в отсутствие Эпо и способствует росту различных эритроидных коло-

ний, включая клетки-предшественницы с высокой пролиферативной способностью, образующие макрокопические колонии эритробластов. Сам по себе ИЛ-11 поддерживает созревание КОЕ-Э [Quesniaux V. et al., 1992; Sébahoun G., 1998]. ИЛ-11 является синергическим фактором для ИЛ-3- или ИЛ-4-зависимой пролиферации примитивных гемопоэтических клеток-предшественниц. A. Leary и соавт. (1992) высказывают предположение о том, что усиление пролиферации гемопоэтических клеток-предшественниц связано с вхождением G₀-клеток в активный клеточный цикл и укорочением транзитного времени цикла деления [Tanaka R. et al., 1995]. ИЛ-11 увеличивает тимидиновое самоуничтожение человеческих фетальных, но не взрослого человека КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ и БОЕ-Э. Он увеличивает содержание полипотентных и коммитированных гемопоэтических клеток-предшественниц в стромально-ассоциированных культурах *in vitro* [Du X. et al., 1994; Yang Y.-C., 1995].

ИЛ-11 модулирует дифференциацию и созревание миелоидных клеток-предшественниц. В комбинации с ФСК он стимулирует образование в культуре миелоидных колоний, преимущественно содержащих миелобласты и гранулоциты. При добавлении в кондиционную среду ИЛ-4 или ИЛ-13 число миелобластов и гранулоцитов может уменьшиться с одновременным увеличением в колониях макрофагов. M. Cairo и соавт. (1994) указывают, что при введении новорожденным мышам ИЛ-11 + ФСК и КСФ-Г у них в периферической крови значительно повышается число нейтрофилов. Цитокин индуцирует дифференциацию В-лимфоцитов (Т-лимфоцитозависимую активность) и вместе с ИЛ-3 колониеобразование мегакарицитов. В синергизме с ИЛ-3 ИЛ-11 действует на очень ранние клетки-предшественни-

цы мегакариоцитопоэза [Paul S. et al., 1990; Blanchet O. et al., 1995].

Первоначально ИЛ-11 был выделен из клеток гемопоэтического микроокружения. Он может действовать в этом гемопоэтическом микроокружении либо как аутокринный (цитокин действует на ту клетку, которая его секретирует), либо как паракринный (цитокин действует путем контакта с мембранной клетки) фактор роста [Du X. et al., 1997]. При длительном культивировании клеток костного мозга добавление в кондиционную среду ИЛ-11 значительно повышает число адгезивных клеток и увеличивает интенсивность гемопоэза [Keller D. et al., 1993]. При культивировании клеток костного мозга больных с АА добавление в культуру ИЛ-11 и ФСК резко увеличивает образование адгезивных стромальных клеток. Это обстоятельство заставляет предполагать, что, возможно, использование ИЛ-11 может быть полезным в лечении больных АА, у которых имеется дефект в микроокружении [Krieger M. et al., 1995]. В. Schmitz и соавт. (1995) установили, что ИЛ-11 модулирует мегакариоцитарно-зависимую стимуляцию фибробластов. Возможно, следует использовать этот цитокин у больных с миелофиброзом, имеющих аномальный мегакариоцитопоэз. Введение рекомбинантного ИЛ-11 после миелосупрессивной терапии предупреждает развитие тяжелой тромбоцитопении, а в сочетании с КСФ-Г улучшает кинетику нейтрофилов [Grupp S. et al., 1998].

Тромбопоэтин. Первоначально считали, что ТПО является главным линейно-специфическим фактором мегакариоцитопоэза. Последующие исследования показали, что он обладает плеотропной активностью и действует на гемопоэтические клетки разных стадий развития. Хотя установлено, что ТПО синтезируется в печени, почках, селезенке и легких,

тем не менее нет корреляции между уровнем экспрессии mPNC ТПО в этих тканях и концентрацией цитокина в сыворотке крови или же числом тромбоцитов в периферической крови [Lok N. et al., 1994; Stoffel R. et al., 1996]. S.Sakamaki и соавт. (1999) установили, что ТПО образуется стромальными клетками костного мозга и играет важную роль в мегакариоцитопоэзе здоровых людей и больных с ТП. Экспрессия mPNC ТПО определяется в стромальных клетках культуры [Guittiero A. et al., 1997], и она значительно увеличена на этих клетках больных с АА [Sungaran R. et al., 1997]. У здоровых людей содержание ТПО в плазме крови составляет $(22,1 \pm 8,2)$ нг/л, а в костном мозге — $(32,8 \pm 6,8)$ нг/л [Hirayama Y. et al., 1998].

Исследования, проведенные в последние годы, показали, что ТПО является не только линейно-специфическим ростовым фактором мегакариоцитопоэза, но и обладает широким диапазоном стимулирующей активности на многие гемопоэтические клетки-предшественницы. Установлено, что экспрессия рецептора ТПО (c-mpl) очень важна в раннем гемопоэзе. У человека около 70% костномозговых клеток $CD34^+CD38^-$ экспрессируют c-mpl. Это указывает на то, что ТПО и его рецептор c-mpl играют важную роль в регуляции ранних этапов гемопоэза. ТПО увеличивает пролиферацию и жизнеспособность клеток $CD34^+CD38^-$ в культуре [Solar G. et al., 1998]. ТПО в изолированном виде или в комбинации с c-kit лигандом, ИЛ-3 или Flt-3 лигандом стимулирует пролиферацию ранних гемопоэтических клеток-предшественниц [Borge O. et al., 1997; Piacibello W. et al., 1997].

Среди клеток $CD34^+$ костного мозга существуют 2 фракции — $CD34^+c-mpl^+$ и $CD34^+c-mpl^{lo/-}$. Фракция $CD34^+c-mpl^+$ содержит в большом количестве БОЕ-Э, КОЕ-Э и

КОЕ-Мег. Эти КОЕ-Мег в культуре тканей к 7-му дню культивирования образуют колонии, состоящие из зрелых мегакариоцитов, тогда как фракция $CD34^+c-mpl^{lo/-}$ не образует колонии даже к 14-му дню культивирования [Hagawara T. et al., 1998]. По данным А. Grossi и соавт. (1997), клетки $CD34^+$ костного мозга и пуповинной крови отличаются различным ответом на стимуляцию ТПО. Это может быть связано с различным уровнем дифференциации и экспрессии рецептора ТПО.

В культуре костного мозга добавление ТПО вызывает образование вторичных колоний КОЕ-ГМ и БОЕ-Э, и количество образующихся колоний значительно больше, чем при использовании только КСФ-Г или Эпо [Shlebak A. et al., 1998]. По мнению С. Feldman и соавт. (1998), ТПО взаимодействует непосредственно с ЭпоР на клетках-предшественницах эритропоэза, поскольку гликофорин А положительные клетки не экспрессировали c-mpl. Это способствует увеличению выживаемости и росту этих клеток в культуре костного мозга. Действие ТПО на эритропоэз частично происходит через JAK-2-опосредованную активацию ЭпоР [Takatoku M. et al., 1998]. ТПО вызывает не только пролиферацию эритроидных клеток-предшественниц, но и их дифференциацию, вплоть до конечной стадии, до Эр [Liu W. et al., 1998]. После введения in vivo животным (мышам, обезьянам) у них происходит экспансия КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ и БОЕ-Э [Solar G. et al., 1998].

СИНЕРГИЧЕСКИЕ ЦИТОКИНЫ

Некоторые КСФ не способны сами по себе вызывать рост гемопоэтических колоний, но их внесение в кондиционную среду, содержащую другие цитокины, резко увеличивает потенциал клонального роста гемопоэтических клеток-предшественниц.

К числу синергических цитокинов относятся ФСК, ИЛ-4, ИЛ-6 и ингибиторный фактор лейкемии.

Фактор роста стволовых клеток. ФСК (фактор роста тучных клеток, Steel factor, c-kit-лиганд) проявляет свое действие при связывании с его рецептором c-kit. Источником образования ФСК являются эндотелиальные клетки и фибробласты, кератиноциты нормальной кожи, эпителиальные клетки кишки [Lipenberger M. et al., 1995; Klimbel G. et al., 1996]. ИЛ-1 и ФНО могут резко увеличить образование протеина ФСК стромальными клетками костного мозга.

Ген ФСК расположен на 12-й паре хромосом (12q22—12q24). У здорового человека этот цитокин обнаруживается в сыворотке крови в виде растворимой и трансмембранной форм. Обе формы являются биологически активными. В нормальных условиях у человека концентрация ФСК в сыворотке крови составляет в среднем 3,3 мкг/л. Мембранно-связанная форма играет более важное значение в условиях *in vivo*, но растворимая форма используется для исследований *in vivo* и *in vitro* [Langley K. et al., 1993].

c-kit-лиганд является лигандой для рецептора тирозинкиназного белка, кодируемого c-kit-протоонкогеном. Рецепторы ФСК экспрессируются на стромальных клетках, БОЕ-Э, КОК-ВПП. Рецептор цитокина c-kit обладает тирозинкиназной активностью. У мышей и человека на примитивных гемопоэтических клетках тирозинкиназного типа обнаружен еще один рецептор — flk-2 (Foetal liver kinase-2) либо его еще называют flt-3 (Foetal liver tyrosine-3) и его лиганд [Small D. et al., 1994; Casadevall N. et al., 1995]. БОЕ-Э несут рецептор для ФСК, но по мере дифференциации эритроидных клеток этот рецептор утрачивается на уровне эритробластов. Более высокая экспрессия c-kit отмечается на позд-

них миелоидных CD34⁺-клетках-предшественницах, чем на ранних, а экспрессия этого рецептора на CD34⁺-клетках-предшественницах В-лимфоцитов более низкая [Walle D. et al., 1998].

Цитокин действует на гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественницы; он может действовать непосредственно на стволовые клетки, ускоряя их вхождение в клеточный цикл [Ranzanbock B. et al., 1998]. Но в основном ФСК действует на клетки как ко-стимулятор других цитокинов. Так, в сочетании с ИЛ-3 и другими факторами роста он увеличивает в жидкой культуре число колоний из БОЕ-Э, КОЕ-ГМ, КОЕ-Г и КОЕ-ГЭММ в 20 раз [Bernstein I. et al., 1991], а при других сочетаниях (ФСК + Эпо + ИЛ-1 + ИЛ-3) — в 200 раз [Brugger W. et al., 1993]. В сочетании с Эпо, КСФ-ГМ и КСФ-Г ФСК поддерживает рост колоний в полутвердых средах (КОЕ-ГМ, КОЕ-Г, БОЕ-Э) [Broudy V., 1997]. Внесение в кондиционную среду ФСК, ИЛ-7 и ИЛ-9 способствует росту БОЕ-Э и КОЕ-ГМ, клоногенному росту пре-В-лимфоцитов. Колонии, возникшие из костномозговых клеток-предшественниц под действием ФСК в сочетании с другими цитокинами, происходят из менее зрелой популяции, чем колонии, возникшие только под действием одного ФСК [Broxmeyer H., 1993].

Прямое ко-стимулирующее действие ФСК на гемопоэтические клетки-предшественницы человека было доказано в опытах с использованием чистой популяции гемопоэтических клеток-предшественниц, изолированной с помощью АТ к поверхностному АГ CD34.

Биологическая роль ФСК ограничивается не только гемопоэзом, но он влияет и на оогенез. Существует порода мышей, у которых наблюдается мутация локусов Стиля (локус Sl) и локуса W. Локус Sl ответствен

за синтез белка фактора Стиля, а локус *W* — за *c-kit*-рецептор. Мутация локуса *Sl* приводит к отсутствию белка фактора Стиля, а мутация локуса *W* — к отсутствию на поверхности клеток *c-kit*-рецепторов. При мутации локусов *Sl* и *W* у мышей отмечаются два генетических нарушения: гемопоэз — наблюдается аномальный гемопоэз, гипопигментация кожи и дисгенез половых желез. При гомозиготной форме мутации этих генов мыши нежизнеспособны и погибают внутриутробно или вскоре после рождения с проявлениями тяжелой макроцитарной анемии. Если же мыши являются гетерозиготами, то они доживают до зрелого возраста, несмотря на наличие недостаточности костномозгового кроветворения. У мышей линии *SL / Sl^d* (у них образуется растворимая форма ФСК, но нет трансмембранной) имеется тяжелая макроцитарная анемия, уменьшено количество тучных клеток в тканях, мыши стерильны и белой окраски. При мутации локуса *Sl* у мышей наблюдается дисфункция костномозговых стромальных клеток. Мембранная форма ФСК имеет большее значение в поддержании гемопоэза, чем растворимая. Эти данные свидетельствуют о том, что ФСК играет важную роль в течении внутриутробного развития плода и гемопоэза [Broudy V., 1997].

Интерлейкин-4. Цитокин известен как стимулятор В-клеток фактор 1. Первоначально он был идентифицирован на основе ко-стимулирующей его способности повышать пролиферацию В-лимфоцитов в сочетании с анти-IgM-АТ [Oliver R. et al., 1985]. ИЛ-4 является высокоплеотропным цитокином, действует на различные типы клеток как гемопоэтического, так и негемопоэтического происхождения, включая В- и Т-лимфоциты, НК-клетки, моноциты и макрофаги, тучные клетки, базофилы, фибробласты и др. [Puri R., 1995].

Источником синтеза ИЛ-4 являются Т-лимфоциты, базофилы, тучные клетки. ИЛ-4 — это белок с молекулярной массой 15—19 килодальтон. Ген цитокина располагается на 5-й паре хромосом (5q23—31). Физиологическими индуктивными факторами образования ИЛ-4 являются IgE и митогены. Рецептор цитокина экспрессирован на моноцитах, макрофагах, базофилах, Т- и В-лимфоцитах. Число рецепторов на одной клетке колеблется от 100 до 3000. ИЛ-4 отнесен к синергическим факторам на том основании, что лимфоциты становятся более чувствительными к ИЛ-4 после предварительного воздействия на них других факторов.

ИЛ-4 способствует пролиферации покоящихся В-лимфоцитов, повышению на них экспрессии Ia-АГ и более быстрому вступлению в фазу S клеточного цикла деления Т-лимфоцитов и фибробластов, индуцирует секрецию иммуноглобулинов и экспрессию рецептора ИЛ-2 на Т-лимфоцитах. Под влиянием цитокина происходит экспрессия генов КСФ-М и КСФ-Г на моноцитах, ФНО α , АГ гистосовместимости II класса (МНС II) на В-лимфоцитах и моноцитах. ИЛ-4 потенцирует действие Эпо на клетках эритроидного и мегакариоцитарного ростков [Blanchet O. et al., 1995]. Хотя изолированно цитокин не обладает способностью воздействовать на колониеобразование гемопоэтических клеток человека, однако в сочетании с КСФ-Г он усиливает образование колоний.

При исследовании колониеобразующей способности клеток костного мозга мышей установлено, что ИЛ-4 в синергизме с другими КСФ (Эпо, КСФ-Г, КСФ-М, ИЛ-1 и ИЛ-3) увеличивает образование эритроидных, мегакариоцитарных, гранулоцитарных, тучноклеточных и макрофагальных колоний. Помимо синергического стимулирующего влияния, ИЛ-4

обладает и ингибиторными свойствами. Цитокин действует как ингибитор гемопоэза в смешанной культуре стромальных клеток костного мозга мышей. Он ингибирует пролиферацию В-лимфоцитов, стимулированных ИЛ-2, тормозит индукцию цитокиноактивированных НК-клеток и ингибирует синтез ИЛ-1. Как и ИЛ-13, ИЛ-4 в присутствии стромальных клеток задерживает образование остеокластов [Ikeda T. et al., 1998]. ИЛ-4 задерживает экспрессию таких индуктивных факторов, как ИЛ-1 и ФНО α . Он непосредственно тормозит пролиферативный ответ лимфоцитов в ответ на митогены. ИЛ-4 действует как антагонист ИЛ-3 на КОЕ-ГЭММ и КОЕ-ГМ, задерживая рост моноцитарных и макрофагальных колоний в культуре костномозговых клеток человека, но в то же время он не задерживает рост КОЕ-Г, БОЕ-Э и КОЕ-Э.

Таким образом, *in vivo* ИЛ-4 проявляет себя как ингибитор образования макрофагов и лимфоцитов.

ИЛ-4 действует как фактор, способствующий дифференциации моноцитов и клеток-предшественниц моноцитопоэза, усиливая их аксессуарную активность и экспрессию CD14. Однако в культуре тканей клетки-предшественницы моноцитопоэза дифференцируются лишь в присутствии КСФ-ГМ и ИЛ-6. Под влиянием ИЛ-4 на клетках Лангерганса, происходящих из моноцитов, увеличивается экспрессия CD1a и уменьшается экспрессия АГ CD14 [Rossi L. et al., 1995]. Т. Ikeda и соавт. (1998) установили, что в присутствии КСФ-М ИЛ-4 и ИЛ-13 индуцируют образование гигантских многоядерных клеток из моноцитов периферической крови человека с последующей дифференциацией этих клеток в функционально зрелые остеокласты. Таким образом, ИЛ-4 и ИЛ-13 влияют на ранние стадии остеогенеза из моноцитов.

Интерлейкин-6. ИЛ-6 является гликопротеином с молекулярной массой 21—26 килодалтон. Цитокин играет важную роль в координации системной защиты организма от повреждений. Он регулирует иммунный и воспалительный процессы [Lotz M., 1995].

ИЛ-6 был впервые выделен из фибробластов человека. С помощью технологии молекулярного клонирования было установлено, что ИЛ-6 идентичен факторам, прежде описанным как: ИФ β 2 [Seghal B. et al., 1980], фактор дифференциации В-клеток [Hirano T. van et al., 1986], фактор роста гибридомы-плазматомы [Danme J. et al., 1987], фактор активации Т-лимфоцитов [Garman R. et al., 1987], цитолитический клеточный дифференцировочный фактор [Takahai Y. et al., 1988], фактор роста В-лимфоцитов человека, выделяемый моноцитами [Tosato G. et al., 1988] и др. Источником образования ИЛ-6 являются фибробласты, моноциты и активированные Т-лимфоциты. Ген ИЛ-6 расположен на 7-й паре хромосом (7p21—24). Ген цитокина экспрессирован на различных типах клеток и индуцируется различными веществами, включая ИЛ-1, ФНО α , ФНО β , митогены и эндотоксин.

Рецепторами для этого цитокина являются ИЛ-6Р α и gp-130, которые экспрессируются на стромальных клетках, В- и Т-лимфоцитах, гепатоцитах. Ген α -цепи рецептора ИЛ-6 расположен на хромосомах 1-й пары, а β -субъединица gp130 является также β -субъединицей рецептора лейкомиического ингибиторного фактора (LIF) [Szpirer J. et al., 1991]. Более высокая экспрессия рецептора ИЛ-6 отмечается на поздних миелоидных CD34⁺-клетках-предшественницах, чем на ранних, а экспрессия этого рецептора на CD34⁺-клетках-предшественницах В-лимфоцитов более низкая [Waele D. et al., 1998].

По своему действию на гемопоэз цитокин сходен с влиянием ИЛ-1 и

ИЛ-6. Его биологическая активность весьма широка. ИЛ-6 в синергизме с ИЛ-3 *in vitro* увеличивает пролиферативную активность полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц путем укорочения периода G_0 ; в условиях *in vivo* он укорачивает период восстановления костномозгового кроветворения после облучения и ТКМ [Okano A. et al., 1993]. Вместе с ИЛ-3 он стимулирует рост колоний КОЕ-Meg, КОЕ-ГЭММ и КОЕ-БОЕ-Э, в сочетании с КСФ-ГМ индуцирует колониеобразование гранулоцитов, а с КСФ-М — рост колоний макрофагов. ИЛ-6 в сочетании с ИЛ-4 индуцирует пролиферацию Т-клеток, колониеобразование полипотентных клеток-предшественниц, секрецию иммуноглобулинов В-клетками. В сочетании с КСФ-ГМ способствует образованию КОЕ-ГМ. Синергическое действие ИЛ-6 проявляется в сочетании с ИЛ-1 и ИЛ-2 — увеличивается пролиферация В- и Т-лимфоцитов, повышается цитотоксичность Т-клеток. *In vivo* цитокин стимулирует образование тромбоцитов [Blanchet O. et al., 1995].

Рекомбинантный ИЛ-6 не оказывает прямого влияния на гемопоэтические клетки человека, но он синергически действует со многими цитокинами, которые непосредственно влияют на пролиферацию гемопоэтических клеток. В комбинации с ИЛ-3 ИЛ-6 индуцирует пролиферацию примитивных гемопоэтических клеток-предшественниц, включая КОЕ-С. При добавлении в культуру костномозговых клеток ИЛ-3 и ИЛ-6 резко возрастает образование колоний, состоящих из бластов, и это может быть связано с укорочением G_0 — периода покоящихся гемопоэтических клеток-предшественниц и, по-видимому, с вхождением этих клеточных элементов в митотический цикл [Lotz M., 1995].

Помимо стимулирующего влияния на колониеобразование гемопо-

этических клеток, цитокин оказывает и отрицательное действие. В культуре мононуклеарных клеток костного мозга человека, которые были стимулированы КСФ-М и ФСК, добавление ИЛ-6 вызывало задержку образования макрофагальных колоний на 55—73%, т. е. в данной ситуации ИЛ-6 выступает как ингибитор пролиферации макрофагов, действуя на относительно зрелые клетки-предшественницы, и образование ИЛ-6 зрелыми макрофагами может действовать по механизму обратной связи [Clutterbuck R et al., 1997].

F.Lin и соавт. (1997) наблюдали популяцию мышей, у которых на клетках отсутствовали рецепторы к ИЛ-6 и КСФ-Г. Авторами было установлено, что при отсутствии рецептора к КСФ-Г у животных наблюдалась хроническая нейтропения, а при утрате рецепторов к КСФ-Г и ИЛ-6 она была еще более выраженной. По мнению F.Lin и соавт. (1997), ИЛ-6 является независимым регулятором гранулоцитопоза *in vivo*.

Ингибиторный фактор лейкемии. ИФЛ (LIF, Leukemia Inhibitory Factor) является гликопротеином с молекулярной массой 58 килодальтон. ИФЛ является продуктом гена, расположенного на 22-й паре хромосом (22q). Цитокин образуется активированными клетками СМФ и стромальными клетками костного мозга [Wetzler I. et al., 1991]. Физиологическими факторами, способствующими образованию ИФЛ, являются липополисахариды, ФНО и ИЛ-1. Рецепторы ИФЛ — LIF-R α и gp130 экспрессированы на мегакариocyтах, макрофагах, моноцитах, гепатоцитах, эмбриональных клетках и др. По своему действию на нормальный гемопоэз и при лейкозе LIF близок к ИЛ-6 [Casadevall N. et al., 1995].

О биологической активности цитокина известно мало, но достоверно установлено, что активность ИФЛ у человека и мышей сходна. Цитокин

увеличивает пролиферативную активность полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц у человека, усиливает мегакариопоэз *in vivo*, индуцирует дифференциацию лейкозных клеток у мышей и человека, стимулирует резорбцию кости, задерживает дифференциацию клеток эмбриональной карциномы [Bagby G., 1994; Blanchet O. et al., 1995].

Интерлейкин-12. ИЛ-12 является гетеродимерным белком, состоящим из двух дисульфидсвязанных субъединиц (р40 и р35), имеющих молекулярную массу 40 и 35 килодальтон соответственно. Обе единицы структурно не связаны между собой, и их гены у человека расположены на разных хромосомах: ген р40 субъединицы расположен на 5-й паре хромосом (5q31—q33), а ген р35 — на 3-й паре (3p12—3q13.2) [Sieburth D. et al., 1992]. Ко-экспрессия обеих цепочек ИЛ-12 способствует образованию активного гетеродимера.

ИЛ-12 образуется моноцитами и лимфоцитами. Цитокин дает синергический эффект с ФСК. В присутствии последнего *in vitro* он поддерживает образование миелоидных и пре-В-клеточных колоний. При наличии в кондиционной среде ИЛ-3 и ИЛ-11 или ИЛ-3 и ФСК ИЛ-12 повышает пролиферацию мегакариоцитов, эритроидных и тучных клеток, но не эозинофилов, т. е. в присутствии других цитокинов ИЛ-12 может играть роль в регуляции гемопоэза [Ploemacher R. et al., 1993].

In vivo, когда мышам вводили ИЛ-12, в костном мозге животных уменьшалось количество НРР-, КОЕ-ГМ-, БОЕ-Э- и КОЕ-Э-клеток. Этот факт указывает на то, что ИЛ-12 индуцирует мобилизацию как зрелых, так и незрелых гемопоэтических клеток-предшественниц на периферию. Это действие ИЛ-12 может быть использовано в тех случаях, когда необходимо получить в достаточном

количестве гемопоэтические стволовые клетки из периферической крови для трансплантации и иных целей [Gately M. et al., 1995].

ИЛ-12 является одним из основных регуляторов функции Т- и NK-клеток. Цитокин повышает литическую активность NK-лимфокин активированных киллерных клеток, секрецию ИФγ, стимулирует пролиферацию Т- и NK-клеток, цитолитическую активность Т-лимфоцитов [Manetti R. et al., 1993; Scott P. et al., 1993].

Интерлейкин-9. ИЛ-9 у человека был впервые клонирован и идентифицирован как митогенный фактор мегакариобластного лейкоза Y. Yang и соавт. в 1989 г. Впоследствии было установлено, что мишенями для этого цитокина являются эритроидные клетки-предшественницы, Т- и В-лимфоциты, фетальные тимоциты, тучные и другие клетки [Donahue R. et al., 1990; Houssiau R. et al., 1993].

Ген ИЛ-9 расположен на хромосомах 5-й пары (5q31—q35), содержит 5 экзонов и 4 интронов [Modi W. et al., 1992]. Молекулярная масса цитокина составляет 16 килодальтон. Он образуется преимущественно CD34⁺-клетками. Цитокин, обладая плеотропным эффектом на тучные и Т-клетки, проявляет свою активность через специфические рецепторы ИЛ-9 (IL-9R). IL-9R состоит из лигандсвязанной α-цепочки (IL-9Rα) и IL-2Rγ-цепочки [Sliva D. et al., 1998].

ИЛ-9 стимулирует пролиферацию CD34⁺HLA-DR⁺CD33⁻-клеток, фракцию, где содержится большая часть БОЕ-Э и все КОЕ-Э, способствует дифференциации КОЕ-ГЭММ. Цитокин поддерживает выживаемость эритроидных клеток-предшественниц в культуре в отсутствие Эпо в течение по крайней мере 5 дней [Lu M. et al., 1992]. Это указывает на то, что в гемопоэтической системе ИЛ-9 является специфическим регулятором эритропоэза [Casadevall N. et al., 1995].

Эксперименты, проведенные с гемопоэтическими клетками-предшественницами плода и костного мозга взрослых людей, показали, что цитокин способствует созреванию примитивных БОЕ-Э. Более того, добавление цитокина в культуру, содержащую фетальные гемопоэтические клетки-предшественницы, вызывает созревание КОЕ-ГЭММ и КОЕ-ГМ, но эта активность не отмечается при исследовании клеток костного мозга взрослых людей. Это указывает на то, что спектр действия ИЛ-9 на фетальные гемопоэтические клетки-предшественницы более широк, чем на эти клетки взрослого человека [Holbrook S. et al., 1991; Renauld J.-C. et al., 1995].

ИЛ-9 активирует пролиферацию тучных клеток. Он действует как синергист с ИЛ-4 при синтезе IgE и IgG, активированными В-лимфоцитами, но образование этих классов Ig не происходит при отсутствии ИЛ-4 [Dugas B. et al., 1992]. Цитокин оказывает также плеотропное действие на тучные клетки и Т-лимфоциты, проявляя свою активность через ИЛ-9R [Sliva D. et al., 1998].

ИНДУКТИВНЫЕ ЦИТОКИНЫ

Индуктивные цитокины, или факторы непрямого действия, представляют собой протеины, которые стимулируют гемопоэз *in vivo* и *in vitro*, воздействуя на него косвенно. Эти цитокины влияют на определенные клетки, стимулируя их синтезировать факторы, которые оказывают непосредственное, прямое действие на гемопоэтические клетки. К числу индуктивных цитокинов относятся ИЛ-1 и ФНО α .

Интерлейкин-1. ИЛ-1 существует в виде двух молекулярных форм — ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , гены которых расположены на 2-й паре хромосом (2q14). Первоначально эти молекулы

синтезируются как большие молекулы-предшественницы с молекулярной массой 30 килодальтон, а затем они расщепляются на малые формы, пептиды с молекулярной массой 17 килодальтон [Dinarello C. et al., 1991]. Обе формы ИЛ-1 (ИЛ-1 α и ИЛ-1 β) обладают той же самой биологической активностью. ИЛ-1 образуется многими клетками, включая моноциты и макрофаги, которые подверглись действию эндотоксина, ИЛ-1, КСФ-ГМ, ФНО α и ИЛ-2 [Neuhaus T. et al., 1998].

ИЛ-1 способствует экспрессии рецептора на различных клетках для различных цитокинов, хотя сам по себе не обладает стимулирующей активностью на гемопоэз. Рецептор ИЛ-1 экспрессирован на многих клетках — на Т- и В-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах, стромальных клетках костного мозга, эпителиальных клетках. На одной клетке экспрессируются от 100 до 500 рецепторов [Pegoraro L. et al., 1988]. Для ИЛ-1 существуют два типа рецепторов — ИЛ-1Р1 и ИЛ-1Р2; оба типа рецепторов связываются с обеими формами ИЛ-1. Первый тип рецептора (ИЛ-1Р1) экспрессируется на Т-лимфоцитах, фибробластах и эндотелиальных клетках, а второй тип рецептора (ИЛ-1Р2) экспрессируется на В-лимфоцитах и миелоидных клетках [Boraschi D. et al., 1991].

Широкий диапазон активности ИЛ-1 обусловлен тем, что он вызывает индукцию экспрессии ИЛ и генов КСФ на различных клетках (КСФ-Г, КСФ-ГМ, КСФ-М, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ФНО и других цитокинов). В большинстве случаев цитокин действует синергически с другими цитокинами [Estrov Z. et al., 1995].

ИЛ-1 индуцирует пролиферацию клеток-предшественниц эритропоэза. Он вызывает экспрессию КСФ-ГМ, КСФ-Г, ИЛ-1 и ИЛ-6 на стромальных клетках костного мозга. Он увеличи-

вает пролиферацию Т-лимфоцитов, предварительно подвергнутых активации. ИЛ-1 стимулирует освобождение АКТГ и способствует трансэндотелиальной миграции нейтрофилов. Вместе с ИЛ-3 он действует синергически на пролиферацию гемопоэтических полипотентных клеток-предшественниц с увеличением образования колоний в 30 раз. Более того, в присутствии ИЛ-1 из этих же колоний удается ретрансплантировать клетки, по крайней мере, дважды, что может указывать на то, что ИЛ-1 действует на уровне примитивных гемопоэтических клеток-предшественниц. J.Schooley и соавт. (1987) в эксперименте на мышах установили, что человеческий и мышиний цитокин в культуре подавляет активность Эпо в стимуляции пролиферации клеток-предшественниц эритропоэза, выделенных из взвеси клеток селезенки и костного мозга. Это заставляет полагать, что ИЛ-1 играет роль в патогенезе АА. ИЛ-1 способствует увеличению выживаемости гемопоэтических клеток-предшественниц *in vitro* и *in vivo*.

ИЛ-1 индуцирует созревание пре-В-лимфоцитов, экспрессию рецепторов ИЛ-2 на клетках, стимулирует образование простагландина Е фибробластами, моноцитами и нейтрофилами, модулирует экспрессию рецепторов ТФР [Bagby G., 1994]. Цитокин способствует освобождению КСФ-ГМ и КСФ-Г из эндотелиальных клеток кровеносных сосудов человека, из фибробластов и стромальных клеток костного мозга. Он стимулирует дополнительное выделение ИЛ-1 из эндотелиальных клеток сосудов, регулирует пролиферацию фибробластов. Если до лечения мышам вводили цитокин, то животные перенесли летальные дозы облучения [Neta R. et al., 1987]. Возможно, что это связано с тем, что ИЛ-1 стимулирует гемопоэтические стволовые клетки, способствуя их переходу в

тот клеточный цикл, который более резистентен к лучевому воздействию [Pegoraro L. et al., 1988].

Фактор некроза опухоли- α . Этот цитокин образуется В-лимфоцитами, НК-клетками, макрофагами, эндотелиальными клетками. Его молекулярная масса составляет 17 килодальтон. Физиологическими индукторами образования этого цитокина являются липополисахариды, КСФ-ГМ и ИЛ-3. ФНО α может индуцировать образование ИЛ-1 эндотелиальными клетками, и в то же время оба эти цитокина способны стимулировать синтез ФНО α эндотелиальными клетками [Neuhaus T. et al., 1998]. Ген ФНО α располагается на 6-й паре хромосом (6p) поблизости от большого гистосовместимого комплекса МНС [Spies T. et al., 1989]. На клетках имеются два рецептора для ФНО: ФНО-Р α и ФНО-Р β . Рецепторы ФНО экспрессируются почти на всех клетках тканей и систем.

Как и ИЛ-1, ФНО обладает многими гетерогенными биологическими свойствами, и совместно они способствуют экспрессии других подчиненных генов, которые начинают функционировать как более специфические регуляторы гемопоэза и иммунологического ответа на воспаление. Хотя ФНО α может непосредственно оказывать ингибиторное влияние на гемопоэтические клетки-предшественницы, в то же время он может индуцировать экспрессию генов КСФ, и это его влияние превалирует над его влиянием как ингибитора гемопоэза. В особенности это относится к лимфо- и гранулоцитопоэзу. Цитокин индуцирует на клетках экспрессию КСФ-ГМ, КСФ-Г, ИЛ-1 и ИЛ-6. Он повышает митогениндуцированную КСФ-ГМ экспрессию на Т-лимфоцитах, выделение из клеток КСФ-ГМ и КСФ-М *in vivo*. *In vitro* ФНО дает ингибиторный эффект на колониеобразование КОЕ-Э человека; это действие опосредуется ИФВ

и ИФУ, которые действуют непосредственно на КОЕ-Э [Means R. et al., 1997].

ФНО α ингибирует колониеобразование гемопоэтических клеток-предшественниц, индуцированных КСФ-Г; в то же время рост коммитированных клеток-предшественниц, стимулированных ИЛ-3 и (или) КСФ-ГМ, а также более примитивных КОК-ВПП увеличен при низких, но не высоких концентрациях ФНО α [Rusten L. et al., 1998]. В низких концентрациях (1 нг/л и меньше) ФНО α является потенциальным синергическим стимулятором пролиферации клеток CD34⁺CD38⁻; в более высоких концентрациях начинает проявляться его ингибиторный эффект на эти клетки. Этот эффект опосредуется через р55-рецептор [Weeks S. et al., 1998]. Как отмечают авторы, стимулирующий эффект ФНО α исчезал при внесении в кондиционную среду анти-ТФР β АТ. Эта бифазная реакция ФНО α заставляет полагать, что, с одной стороны, действие цитокина на клетки CD34⁺CD38⁻ связано с косвенной стимуляцией гемопоэза при низких концентрациях ФНО α , опосредованного через аутокринное воздействие ТФР β , а с другой стороны — с прямым ингибиторным эффектом, которое более всего выявляется при высоких концентрациях цитокина [Weeks S. et al., 1998]. ФНО α также ингибирует рост LTC1C-клеток [Rusten L., 1998].

ФНО α стимулирует образование фибробластами и нейтрофилами простагландина E, повышает цитотоксичность эозинофилов и макрофагов, направленную против паразитов и опухолевых клеток. Он индуцирует экспрессию адгезивных молекул на миелоидных и стромальных клетках костного мозга, а также на эндотелиальных клетках кровеносных сосудов. Цитокин повышает интенсивность образования актива-

тора плазминогена в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, а также индуцирует экспрессию ИЛ-3 на клетках, способствует трансмиграции нейтрофилов через эндотелий венул. Вместе с тем ФНО α ингибирует пролиферацию клеток-предшественниц миело- и лимфоцитопоэза, некоторых линий лейкемических клеток. Вместе с ИФ цитокин задерживает репродукцию некоторых вирусов. Он опосредует гемодинамический и токсический эффекты эндотоксина, угнетает транскрипцию гена тромбомодулина на клетках эндотелия кровеносных сосудов. Содержание ФНО α резко увеличивается при септическом шоке, и цитокин является одним из главных медиаторов появления тяжелой сердечно-сосудистой дисфункции при этих состояниях [Neuhauser T. et al., 1998]. В норме содержание ФНО α в сыворотке крови менее 20 нг/л [Shirono K. et al., 1995].

* * *

Из представленных данных очевидно, что фактически все цитокины, обладающие гемопоэтической активностью, в действительности являются многофункциональными. Определенные КСФ оказывают доминантное действие на гемопоэтические клетки-предшественницы определенного ростка кроветворения, но ни один из перечисленных цитокинов не действует только на единственный росток гемопоэза или же на определенный тип клеток.

Как было сказано, КСФ-Г имеет высокую степень специфичности на клетки нейтрофильного ростка, но в то же время *in vitro* он влияет на репродукцию примитивных гемопоэтических клеток-предшественниц. Кроме того, цитокины, действующие на уровне клеток-предшественниц, нередко активируют функцию дочерних клеток этого же ростка. Напри-

мер, КСФ-ГМ стимулирует клоногенный рост КОЕ-ГМ, но он также активирует функцию большинства терминально дифференцированных фагоцитов, происходящих из КОЕ-ГМ — нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, эозинофилов.

Не обязательно, чтобы экспрессия всех КСФ утрачивалась по мере созревания гемопоэтических клеток-предшественниц; связывание лигандов преобразует полностью различный конечный ответ гемопоэтических клеток-предшественниц по сравнению с реакцией более дифференцированных дочерних клеток. Иначе говоря, ответ на стимуляторы недифференцированных и дифференцированных клеток будет значительно отличаться.

Действие цитокинов на рецепторы может быть двояким: в одних случаях одни цитокины связываются с рецептором клетки-предшественницы или ее потомством, посылая биологический сигнал непосредственно этой клетке; в других случаях цитокины также прикрепляются к этим же рецепторам и к этим же клеткам, чтобы заставить эту клетку-мишень секретировать различные цитокины. Например, КСФ-ГМ индуцирует нейтрофилы секретировать другие цитокины, и один из них — ИЛ-1 — способен индуцировать экспрессию различных дополнительных цитокинов, т. е. отмечается как бы каскад продукции цитокинов. Это обстоятельство следует учитывать при интерпретации полученных данных *in vivo*. Это же следует учитывать при названии больному определенного рекомбинантного цитокина, так как под действием назначенного цитокина может быть индуцирована выработка одного или нескольких нежелательных цитокинов, способствующих росту злокачественных новообразований [Levy Y et al., 1991; Segawa K. et al., 1991].

Когда суммарная биологическая активность двух цитокинов превы-

шает сумму этой активности каждого отдельного фактора роста, то о таких цитокинах говорят, что они синергичны. Механизм синергизма может быть различен. Так, некоторые стимуляторы индуцируют транскрипцию гена. Например, эндотоксин индуцирует транскрипцию гена ИЛ-1 [Donnelli R. et al., 1991]. Другие стабилизируют обычно нестабильные молекулы мРНК; например, ИЛ-1 увеличивает период полужизни КСФ-ГМ и ИЛ-6 — мРНК [Elias J. et al., 1990]. Третьи повышают трансфер-фактор мРНК; например, эндотоксин увеличивает трансфер-фактор ФНО α мРНК [Han J. et al., 1990].

При изучении биологической активности цитокина *in vitro* клетками-мишенями могут быть либо клетка, которая функционально исследуется, например КОЕ, либо клетки, которые могут быть индуцированы этим цитокином и которые образуют соответствующие белки, непосредственно способствующие колониеобразованию. Эти клетки называют «акцессорными» или «вспомогательными» клетками, и они всегда присутствуют в системах для колониеобразования. Обычно с течением времени как *in vitro*, так и *in vivo* такими клетками становятся дочерние и потомство клеток-предшественниц гемопоэза. Например, появление промоноцитов и моноцитов в макрофагальных колониях способствует образованию таких цитокинов, как КСФ-Г, КСФ-М, ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО α , поэтому нередко биологический эффект того или иного цитокина трудно распознать как *in vitro*, так и при применении рекомбинантных цитокинов *in vivo*. Однако известно, что ИЛ-1 и ФНО α способны индуцировать экспрессию множества генов цитокинов, хотя в действительности этого не происходит, так как первоначально они вызывают экспрессию только одного гена фактора роста иерархии. Например, центральную

роль в регуляции гемопоэза в воспалительном ответе играют 2 цитокина — ИЛ-1 и ФНО α . После возникновения очага воспаления в организме сразу же происходит экспрессия на клетках генов ИЛ-1 и ФНО α . Продукты этих двух генов вызывают экспрессию генов различных ИЛ и КСФ, которые служат источником ответа на воспаление. ИЛ-1 последовательно стимулирует многие гены цитокинов. Кроме того, в ответ на воспаление уже в ранний его период увеличивается собственная экспрессия гена ИЛ-1. Увеличение последнего может быть объяснено двумя механизмами: собственным продуктом гена или же белками, которые являются продуктом индуцированного гена ИЛ-1. Такой сигнальный амплификационный механизм может быть либо аутокринным, либо паракринным, либо и тем, и другим.

ГОМЕОСТАЗ ГЕМОПОЭЗА

Для поддержания гомеостаза гемопоэтической ткани очень важен контроль за пролиферацией и дифференциацией в течение созревания гемопоэтических клеток-предшественниц. Регуляция этих процессов обеспечивается благодаря сбалансированию стимулирующих и ингибиторных сигналов. Кроме того, цитокины оказывают различное действие на цикл деления клеток, дифференцирующую способность последних, которая зависит и от концентрации цитокина, и от клетки-мишени, на которую они действуют.

Тотальный пул нейтрофилов периферической крови составляет $(5,1...6,5) \times 10^8$ /кг массы тела, и каждый час около 10% тотального пула нейтрофилов покидают сосудистое русло. Общий кругооборот нейтрофилов за 1 ч составляет $2,2 \times 10^7$ /кг массы тела, а в сутки — $1,8 \times 10^{10}$ /кг массы тела. Продукция нейтрофилов

в сутки составляет $(0,85...1,6) \times 10^9$ /кг массы тела. В течение 1 ч число вновь образующихся моноцитов составляет $0,7 \times 10^7$ /кг массы тела, а общий пул этих элементов в периферической крови составляет 8×10^7 /кг массы тела. В течение суток у взрослых образуется 1×10^9 гранулоцитов на 1 кг массы тела.

Количество образующихся Эр зависит от возраста. К моменту рождения ребенка суточная продукция Эр составляет 2,5—3% от общей массы циркулирующих Эр, или 1,3 мл на 1 кг массы тела ребенка. В последующие периоды детства образование Эр уменьшается до 0,2% к 5-му дню жизни и до 0,1% — к 10-му дню жизни. К 3-месячному возрасту продукция Эр составляет 2% от общей массы Эр и на этом уровне сохраняется во все периоды детства. У взрослых в сутки Эр образуется $(2,5...3) \times 10^9$ /кг массы тела.

Тромбоцитов в сутки образуется $2,5 \times 10^9$ /кг массы тела.

Из приведенных кратких данных становится очевидным, что в нормальных условиях костный мозг здоровых людей выполняет колоссальную работу, чтобы компенсировать гибнущие клетки периферической крови, сохранить устойчивое равновесие. В поддержании гемопоэтического гомеостаза большой вклад вносит популяция гемопоэтических стволовых клеток, зрелых аксессуарных клеток и целый набор гуморальных регуляторов процесса кроветворения.

Гемопоэз начинает развиваться у эмбриона в течение первых недель гестации, и в последующем активность кроветворения увеличивается (см. раздел «Кроветворение в период внутриутробного развития»). Здесь мы хотим лишь подчеркнуть, что у эмбриона и плода обнаружены гемопоэтическая стволовая клетка, полипотентные и коммитированные клетки-предшественницы, как и у людей в постнатальный период, но по своим

функциональным свойствам они несколько различаются. Так, рост БОЕ-Э *in vitro* из костномозговых клеток взрослых людей происходит в присутствии Эпо и обязательно второго цитокина (КСФ-ГМ, ИЛ-3 или ФСК), тогда как для образования колоний из этих же клеток, выделенных из печени эмбриона или плода, достаточно только одного Эпо. Эмбриональные БОЕ-Э, в отличие от таковых взрослых людей, резистентны к ингибиторному эффекту ФНОу [Migliaccio A. et al., 1998]. В колониеобразующих культурах костного мозга взрослых людей синергические свойства ФСК и Эпо на рост КОЕ-ГЭММ проявляются минимально, тогда как этот эффект синергизма максимален при изучении взвеси клеток из печени плода в этой культуре [Papaunopoulos T. et al., 1991].

Для гемопоэтических стволовых клеток характерна так называемая клональная последовательность, сущность которой состоит в следующем. Если стволовые клетки, маркированные ретровирусом, ввести летально облученным реципиентам, то основная масса гемопоэтических стволовых клеток состоит из 1 или 2 клонов. Только некоторые из них, находящиеся в «гемопоэтической нише», будут активными для репопуляции клеток костного мозга в необходимое время [Jordan C. et al., 1990]. Этот феномен, при котором среди множества клеток только 1 или 2 клона являются активными, а через неопределенный промежуток времени появляются другие активированные клетки, называется феноменом клональной последовательности (непрерывности, преемственности).

Подтверждением существования этого феномена служат данные при изучении гемопоэза в долгосрочных культурах *in vitro*, при трансплантации меченных ретровирусом гемопоэтических клеток: через 4—6 мес после трансплантации появляется но-

вый клон гемопоэтических клеток, и в сущности они практически на 100% обеспечивают устойчивый гемопоэз [Jordan C. et al., 1990]. Этот феномен клональной последовательности хорошо согласуется с гипотезой о смене «гемопоэтических клеточных пластов», которая наблюдается на протяжении всей жизни организма [Воробьев А.И. и др. 1985]. Иначе говоря, в течение жизнедеятельности организма один клон гемопоэтических стволовых клеток «старееет» и погибает, а его место занимает новый клон.

Однако до сих пор остается открытым вопрос: можно ли этот феномен, наблюдаемый при ТКМ, перенести на нормальный, устойчивый гемопоэз. К сожалению, до сих пор нет ясности в деталях регуляции ГСК. Существующая стохастическая теория пытается дать объяснение, как происходит регуляция процессов самоподдерживания и коммитирования стволовых клеток. Согласно этой теории, процессы самоподдерживания и дифференциации стволовой клетки происходят стохастически.

Итогом пролиферации и дифференциации стволовой клетки является появление дочерних клеток, при этом обе последние могут быть либо коммитированы в сторону одного гемопоэтического ростка, либо в результате асимметричного деления одна из дочерних клеток становится коммитированной клеткой-предшественницей, вторая — полипотентной клеткой-предшественницей. Этот феномен называется квантовым митозом [Ogawa M. et al., 1989].

Какие же механизмы и геномы регулируют этот квантовый митоз? Если учесть «константность генома», то значит регуляция осуществляется с помощью подвижного генетического контролирующего элемента, который, двигаясь по геному клетки, включает и выключает соответствующий ген пролиферации или ген са-

поддерживания. Однако существует мнение, согласно которому регуляция гемопоэза на уровне родоначальных гемопоэтических клеток-предшественниц зависит от структуры и функции гемопоэтических органов, в которых происходит пролиферация и дифференциация гемопоэтических клеток, т. е. от костномозговой стромы и микроокружения.

К концу внутриутробного развития основным гемопоэтическим органом становится костный мозг, и к моменту рождения ребенка кроветворение практически ограничено костным мозгом, который является красным. У новорожденного ребенка объем костного мозга составляет 16,4—43,9 мл, т. е. $(1,4 \pm 0,14)\%$ от общей массы тела, или же по отношению к общему объему скелета около 40%, а у взрослых объем костного мозга составляет 4,8% от общей массы тела. Приблизительно с 4-летнего возраста в диафизах длинных трубчатых костей появляются жировые клетки, объем и количество которых увеличиваются, и в возрасте 16—18 лет красный костный мозг сохраняется только в костях с губчатым строением.

Костный мозг располагается во внутренней части кости, разделенной трабекулами с промежутками между ними. Внутри костного мозга определяется развитая синусоидальная сосудистая сеть, а экстрасинусоидально располагаются гемопоэтические клетки. Кроветворные клетки располагаются между синусами сосудов. Эритроидные элементы располагаются вокруг наружной поверхности сосудистых синусов в виде островков, окруженных макрофагами. Внутри этих островков располагаются менее зрелые эритроидные элементы. Клетки мегакариоцитарного ростка располагаются на поверхности адвентиции сосудов синусов. Гранулоциты сконцентрированы в гемопоэтических тяжах вне сосудов синусов, связаны с ретикулярными клетками,

с положительной реакцией на щелочную фосфатазу. Стволовые клетки и клетки-предшественницы миелоидного ряда концентрируются в подкорковой области кости в гемопоэтических тяжах. Лимфоциты и макрофаги располагаются вокруг артериальных сосудов.

Строма костного мозга состоит из различных клеток, играющих важную роль в кроветворении. Это клетки эндотелия синусов и сосудов, адвентиции, жировые клетки и фибробласты, остеобласты, механоциты и ретикулярные клетки. В окружении (микроокружении) этих клеток располагаются кроветворные элементы, причем некоторые из них (моноциты, макрофаги, остеобласты) тесно связаны с ними.

О роли микроокружения в процессе кроветворения образно высказался R. Baig (1988): дефицит гемопоэза может быть связан либо с первичным изменением свойств гемопоэтических стволовых клеток («зерна»), либо с аномальным состоянием состава тканей («почвы»), где располагаются гемопоэтические элементы — гипотеза «зерна и почвы». Эта гипотеза хорошо обоснована классическими моделями на животных.

Среди множества видов мышей существуют два вида, на примере которых хорошо обосновывается роль «зерна» и «почвы». У мышей генотипа W / W^v наблюдается абсолютный дефицит гемопоэтических стволовых клеток («зерна»), а у мышей фенотипа Sl / Sl^d наблюдается дефект стромы («почвы»). Хотя у мышей Sl / Sl^d компартмент гемопоэтических стволовых клеток нормальный, тем не менее в силу дефекта стромы у этих животных не поддерживается нормальный гемопоэз, у них возникает анемия [Morrison-Graham K. et al., 1989]. Эти аномалии были воспроизведены при долгосрочном культивировании клеток костного мозга этих животных. На этом основании была обоснована концеп-

ция, что клетки костного мозга «обучаются» и регулируются внутри образований, содержащих структурные и функциональные элементы. Эта система, поддерживающая кроветворение, была названа «микроокружением, индуцирующим кроветворение» [Curry J. et al., 1967].

Термин «костномозговое окружение» — это комплексное понятие, которое включает в себя [Nilsson S. et al., 1998]:

1) экстрацеллюлярную матрицу (семейство коллагена типов I, III, IV и V, фибронектин, ламинин, гликопротеины, протеогликаны);

2) негемопэтические клетки костного мозга, называемые стромальными (фибробласты, клетки эндотелия сосудов, макрофаги, адипоциты);

3) субстанции, которые образуются (цитокины, молекулы адгезии).

Клетки микроокружения образуют специфические «ниши», которые поддерживают тесную связь с находящимися в них стволовыми клетками. Опыты на мышах, проведенные S.Nilsson и соавт. (2001), показали, что после введения животным клеток костного мозга наблюдалось пространственное распределение костномозговых элементов. Большая часть клеток проникали в костный мозг через его центральные сосуды, а затем в зависимости от фенотипической принадлежности клетки они распределялись неравномерно. Кандидаты в «стволовые клетки» селективно перераспределялись и их было много в участке эндоста. Это указывает на то, что существуют эндостозные «ниши» гемопэтических стволовых клеток. Линейно-коммитированные и зрелые клетки селективно перераспределялись из участка эндоста и определялись преимущественно в центральной части костного мозга. Эритробласты синхронно созревали в эритробластических островках.

Установлено, что эритроидные клетки экспрессируют два ангиоген-

ных фактора — сосудистый эндотелиальный фактор роста А (VEGFA-A, Vascular Endothelial Growth Factor A) и плацентарный фактор роста. В процессе дифференциации эритроидных клеток секреция этих факторов эритробластами увеличивается, и *in vivo* они могут способствовать взаимодействию или с макрофагами эритробластических островков и (или) эндотелиальными клетками сосудов. Это взаимодействие способствует прохождению эритроидных клеток сквозь эндотелиальный барьер сосудов [Tordjman R. et al., 2001].

Роль микроокружения в поддержании процессов пролиферации и дифференциации кроветворных клеток хорошо известна и обоснована. Гепарансульфат стромальных клеток и его экстрацеллюлярная матрица являются одним из компонентов микроокружения гемопэтической ткани. Экспрессия гепарансульфата связана с клетками-предшественницами эритропоэза, и она происходит на раннем этапе дифференциации эритроидных клеток [Just U. et al., 1998]. *In vivo* пролиферация и дифференциация стволовых клеток обеспечиваются сигналами клеток микроокружения. По данным J.Wineman и соавт. (1996), в костном мозге существуют 3 стромальные клеточные линии: 1) которые не поддерживают функцию стволовых клеток; 2) которые поддерживают, но на очень низком уровне; 3) которые обеспечивают высокую поддержку функций примитивных, длительно репопулирующих стволовых клеток. Однако механизмы и стимулы, которые способствуют образованию КСФ *in vivo*, остаются неясными, хотя *in vitro* было установлено, что целый ряд цитокинов продуцируются клетками микроокружения (ИЛ-1, ФНО α и др.). Другим источником КСФ являются клетки, вовлеченные в воспалительную реакцию. Под влиянием бактерий, эндотоксина, АГ и других

факторов происходит активация моноцитов, макрофагов, эндотелиальных клеток, и образование этими клеточными элементами гемopoэтических КСФ, которые действуют не только как активаторы пролиферации гемopoэтических клеток-предшественниц, но и как активаторы функциональной терминально-дифференцированных клеток.

Гемopoэтические КСФ могут воздействовать на клетки-мишени в системе микроокружения, если их концентрация достаточно высока. Однако в реальных условиях содержание КСФ в циркулирующей крови крайне низкое или не определяется современными методами, и, учитывая, что нормальные клеточные источники КСФ (моноциты, лимфоциты, эндотелиальные клетки и др.) не выделяют КСФ, если эти клеточные элементы не стимулированы, то встает вопрос о роли и месте образования КСФ за пределами костного мозга *in vivo*. К этому же следует добавить, что гемopoэтические клетки-предшественницы, культивируемые *in vitro* в отсутствие стромальных клеток, нежизнеспособны. Исходя из этого, можно полагать, что стромальные клетки микроокружения костного мозга вырабатывают небольшое количество КСФ для поддержания пролиферации кровetворных клеток-предшественниц, или же, альтернативно, цитокины образуются резидентными костномозговыми клетками или клетками в каком-то другом месте, и КСФ концентрируются в микроокружении и представляются гемopoэтическим элементом. По данным D. Zipori (1989), стромальные клетки не экспрессируют гены КСФ-ГМ, ИЛ-3 и КСФ-Г, но в то же время эти клеточные элементы секретируют небольшое количество КСФ-М. Эти данные объясняют, почему стромальные клетки способны поддерживать в долгосрочных культурах костного мозга миелопоэз. Более того, извест-

но, что ИЛ-1 является потенциальным индуктором образования КСФ-ГМ и КСФ-Г стромальными клетками, и ИЛ-1 стимулирует образование КСФ-Г в долгосрочных культурах костного мозга человека. Поскольку это так, то макрофаги под действием секретированного КСФ-М стромальными клетками образуют КСФ-ГМ либо вследствие непосредственного влияния КСФ-М на макрофаги, либо косвенного, через образование ИЛ-1. Эти данные указывают на то, что стромальные клетки не являются источником выработки большого количества КСФ, хотя умеренное их образование может быть индуцировано.

Каким же образом стромальные клетки поддерживают микроокружение, чтобы оно способствовало линейно-специфической дифференциации кровetворных клеток? Предполагают, что стромальные клетки могут селективно адсорбировать КСФ и локально представлять его клеткам-мишеням. Об этом свидетельствует тот факт, что КСФ-ГМ связан с клеточной матрицей компонентов стромы. Следует также помнить о том, что многие КСФ имеют широкий спектр мишеней среди гемopoэтических клеток, и поэтому конечный результат не ограничивается приложением только к одной линейно-специфической клетке-мишени.

На необходимость микроокружения для индукции кровetворения указывают данные при изучении долгосрочного культивирования кровetворных клеток *in vitro* в системе Декстера. В последней в течение длительного времени удается поддерживать гемopoэз всех ростков кровetворения. В этой системе, наряду с гемopoэтическими клетками, включены компоненты стромы (фибробласты, макрофаги, эндотелиальные и ретикулярные клетки). Для поддержания миелопоэза в этой системе очень важно наличие в ней адгезивных молекул.

Клетки микроокружения являются не только источником КСФ, но также образуют ряд компонентов экстрацеллюлярной матрицы. Некоторые из этих молекул, такие как фибронектин, коллагены, ламинин и гемонектин, являются адгезивными белками для кроветворных клеток, тогда как другие, например гликозаминогликаны, играют главную роль в связывании и аккумуляции ростовых факторов. Сульфат гликозаминогликана клеток стромы костного мозга мышей связывает КСФ-ГМ и ИЛ-3 и представляет их в активной форме гемопоэтическим клеткам-предшественницам. Молекулы ламинина могут действовать как адгезивный субстрат для многих типов клеток и играют важную роль в пролиферации гемопоэтических клеток.

Факторы экстрацеллюлярной матрицы могут регулировать гемопоэз двумя путями:

1) факторы матрицы могут связываться с гемопоэтическими ростовыми факторами, тем самым КСФ будут присутствовать в оптимальных концентрациях и использоваться гемопоэтическими клетками. Молекулы матрицы могут связываться с ингибиторными факторами кроветворения (фибронектин связывается с ТФРβ);

2) некоторые молекулы матрицы могут связываться непосредственно с гемопоэтическими клетками-предшественницами, находящимися в «гемопоэтической нише»; например КОЕ-ГМ с гемонектином, КОЕ-Э с фибронектином, тромбоспондин с ранними гемопоэтическими клетками-предшественницами [Siler U. et al., 2000].

При внутривенной инфузии клеток костного мозга или стволовых клеток эти элементы проникают сквозь стенки сосудов синусов костного мозга и оседают в так называемых нишах вместе со стромаль-

ными клетками. Здесь в этих «нишах» происходят самоподдержание стволовых клеток и их дифференциация, которые поддерживаются способностями и многими функциями стромальных клеток. К ним относятся экспрессия рецепторов, выработка экстрацеллюлярных факторов матрицы, которые взаимодействуют как с ростовыми факторами, так и с факторами, которые способствуют дифференциации клеток, происходит экспрессия интегральных мембранных белков, которые действуют как юстакриновые факторы.

Интегральные белки мембраны гемопоэтических стволовых клеток прикрепляются к белкам мембраны, экспрессированных на стромальных клетках в гемопоэтических «нишах». Например, ФСК и его рецептор c-kit являются одновременно интегральным мембранным протеином стромальных и гемопоэтической стволовой клеток. Взаимодействие продуктов этих двух генов обеспечивает, с одной стороны, связывание этих двух клеточных элементов, а с другой — индуцирование сигналов для пролиферации клеток. Так, у мышей породы Steel — Dickie имеется дефект микроокружения — отсутствует экспрессия мембранно-связанной молекулы ФСК, и у животных отмечается нарушение процессов пролиферации и дифференциации ГСК. Такой тип контакта — зависимость фактора роста клетка — клетка — называется юстакриновым [Braman C. et al., 1991; Dainik N., 1991].

Гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественницы могут экспрессировать адгезивные молекулы, которые взаимодействуют с белками мембран стромальных клеток. Адгезия гемопоэтических клеток-предшественниц происходит либо непосредственно к стромальным клеткам костного мозга, либо к экстрацеллюлярной матрице [Dantel M. et al., 1997]. Клетки стромы являются

источником необходимых факторов роста. Адгезия клеток позволяет гемопоэтическим клеткам находиться локально в среде с высоким содержанием факторов роста, быть в контакте с трансмембранными КСФ (ФСК, КСФ-М). Кроме того, матрица является резервуаром КСФ (КСФ-ГМ, ИЛ-3, ингибиторов, ТФРВ). Эти межклеточные контакты (клетка — клетка, клетка — матрица) происходят с помощью рецепторов-лигандов [Candèvall N. et al., 1995].

Механизм, лежащий в основе мобилизации, и «хоминг» клеток $CD34^+$ в «нишах» костного мозга, недостаточно изучены. E. Weber и соавт. (1998) установили, что адгезия клеток $CD34^+$ может происходить через молекулы ICAM-1 (CD59, внутриклеточная адгезивная молекула), которая экспрессирована на эпителиальных, эндотелиальных и других клетках, и является лигандом для $\beta 2$ -интегринов. Последние играют роль в процессах адгезии и миграции клеток, лежащих в основе «хоминга», мобилизации клеток $CD34^+$. В этих же процессах важная роль принадлежит адгезивной молекуле VCAM-1, селектинам, экспрессированным на эндотелиальных и других клетках [Frenette P. et al., 1998]. Из всех трех селектинов (L, P и E, CD62L, CD62P и CD62E соответственно) только L-селектин экспрессирован на гемопоэтических клетках-предшественниках. R. Sackstein и соавт. (1998) идентифицировали неизвестный до этого времени L-селектиновый лиганд, который интегрально связан с мембраной клеток-предшественниц гемопоэза, и высказали предположение, что этот лиганд играет роль в опосредовании L-селектинзависимой адгезии этих клеток с клетками «ниши» костномозгового микроокружения. E-селектин и его лиганд (ESL1), экспрессированный на клетках $CB34^+$, играют критическую роль в процессе трансэндотелиальной миграции этих

клеток в течение «хоминга» [Najler A. et al., 1998].

«Хоминг» гемопоэтических клеток-предшественниц в костном мозге поддерживается взаимодействием этих клеток с гемопоэтическим окружением, и центральную роль в этом процессе играют $\beta 1$ -интегрины. В адгезии гемопоэтических клеток с экстрацеллюлярной матрицей участвуют цитоскелетные белки (винкулин, талин, тензин, протеинкиназы и др.), обеспечивающие передачу специфических интегрин-опосредованных сигналов [Levesque I. et al., 1998]. ФСК и КСФ-ГМ увеличивают адгезию гемопоэтических клеток-предшественниц к фибронектину через активацию интегринов VLA4 и VLA5. Y. Suehigo и соавт. (1998) установили, что MIP-1 α (CD78, хемокин β -подгруппы) значительно увеличивает адгезивный фенотип $CD34^+$ гемопоэтических клеток, выделенных из костного мозга и пуловинной крови, но не из периферической крови здоровых людей. Этот эффект MIP-1 α ингибируется АТ, блокирующими интегрины, происходит перестройка G-актива клеток, и все это указывает на то, что появление адгезивного фенотипа этих клеток-предшественниц опосредуется путем модуляции организации интегрин. Иначе говоря, модуляция адгезивного фенотипа клеток может влиять на их миграцию, «хоминг» и мобилизацию.

Регуляция пролиферации клеток-предшественниц происходит при их адгезии к клеткам стромы через передачу сигналов $\beta 2$ -интегринами. Как установил R. Bhatia (1998), контакт клеток $CD34^+$ со стромальными клетками резко уменьшает как число $CD34^+CD38^-$, так и $CD34^+CD38^+$ -клеток, при этом пролиферативная активность клеток $CD34^+$ не увеличивается, так как содержание этих элементов, находящихся в G_0/G_1 — S-фазах клеточного цикла деления, не изменялось. Одним из механизмов

регуляции гемопоэза клетками микроокружения может быть уменьшение апоптоза клеток вследствие опосредованного антиапоптозного сигнала при адгезии кроветворных клеток к стромальным.

В регуляции пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток-предшественниц важную роль играет и ТФРβ. Последний является многофункциональным цитокином, который регулирует пролиферацию, дифференциацию и организацию клеток различных тканей [Massgue J. et al., 1995]. Действие ТФРβ возможно лишь при наличии лигандов I и II типов. II тип рецептора на стромальной клетке может связываться с ТФРβ непосредственно, тогда как I тип рецептора может взаимодействовать с ТФРβ только тогда, когда ТФРβ связан со II типом рецептора стромальной клетки. Как известно, ТФРβ является регулятором синтеза цитокинов и цитокиновых рецепторов, адгезивных молекул, потенциальным ингибитором пролиферации и дифференциации ГСК, КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ, КОЕ-М, КОЕ-Э, БОЕ-Э, которые стимулированы ростовыми факторами. ТФРβ ингибирует пролиферацию и дифференциацию клеток CD34⁺CD38⁻ костного мозга. Поскольку стромальные клетки являются интегральным компонентом костного мозга и они способны связываться с ТФРβ, то в данном случае ТФРβ стромальных клеток может оказывать выраженное влияние на процессы регуляции и дифференциации кроветворных клеток [Robledo M. et al., 1997; Weekx S. et al., 1998].

В негативной регуляции гемопоэза ключевую роль играет муциноподобная адгезивная молекула CD164. Из четырех МА CD164 по крайней мере два МА из них (103B2 / 9E10 и 105A5) оказывают функциональное действие на клетки CD34⁺ костного мозга человека : 103B2 / 9E10 и 105A5

блокируют клоногенный рост этих клеток. Эпитоп 103B2/9E10 экспрессируется на наиболее примитивных CD34⁺-клетках-предшественницах (CD34^{lo}-CD164 (103B2/9E10)⁺), и эта популяция в основном состоит из В- и эритроидных клеток. Экспрессия CD164 на эритроидных клетках появляется раньше других специфических маркеров этих клеток-гликофоринов А и С и Band 3 [Watt S. et al., 1997].

Роль гемопоэтической стромы в процессе кроветворения подтверждена клиническими наблюдениями. Дефекты индуцирующего влияния гемопоэтического микроокружения на кроветворение наблюдаются у людей при облучении, врожденной и приобретенной АА и др. Трансплантации стромальных клеток в сочетании с гемопоэтическими стволовыми клетками способствуют регенерации костномозгового кроветворения. В развитие учения и роли стромальных клеток в кроветворении большой вклад внесли работы А.Я.Фриденштейна и соавт. (1980).

Существуют несколько теорий относительно дифференциации ГСК. Согласно одной из них, гемопоэтические стволовые клетки имеют рецепторы только для одного цитокина, и отсутствуют рецепторы для линейно-специфических факторов. Коммитирование гемопоэтических клеток происходит лишь после приобретения стволовой клеткой линейно-специфических рецепторов. Согласно этой модели, клетки, коммитированные в сторону гранулоцитопоэза, будут экспрессировать на своей мембране не рецепторы к эритропоэтину, а только рецепторы КСФ-Г [Heberlein C. et al., 1992]. Согласно второй модели, полипотентные гемопоэтические стволовые клетки экспрессируют на низком уровне рецепторы для многих цитокинов (многолинейных и линейно-специфических), и в процессе коммитирования кро-

ветворных клеток происходит утрата большинства этих рецепторов [Smith L. et al., 1991].

Некоторые исследователи считают, что в коммитировании пула гемопоэтических стволовых клеток в определенном направлении играют роль линейно-специфические КСФ. G. Bagby (1994) высказывает гипотезу, согласно которой в некоторых условиях, например когда требуется увеличение массы каких-то клеток (Эр, нейтрофилов, тромбоцитов и др.), полипотентные стволовые клетки будут прилагать все усилия, чтобы увеличить число дочерних клеток, коммитированных в сторону образования этих элементов. Этот пример коммитирования ГСК называется «инструктированием». Альтернативно этой модели объяснения является другая, предложенная M. Ogawa (1989), согласно которой коммитирование ГСК может быть «стохастическим», и чисто линейно-специфическая амплификация возникает только в компартменте коммитированных клетках-предшественницах, увеличивающихся в количественном отношении в ответ на повышение числа линейно-специфических цитокинов.

По вопросу о линейной специфичности гемопоэтических ростовых факторов с позиций биохимии существуют 2 объяснения. По одному из них полипотентные гемопоэтические клетки должны экспрессировать на своей поверхности данный линейно-специфический рецептор, но линейно-специфический цитоплазматический или ядерный набор имеют только клетки одного ростка. И второе: клетки только одного ростка могут экспрессировать ген для специфического КСФ.

На гемопоэтических клетках-предшественницах имеется постоянная экспрессия некоторых цитокинов — ФСК, КСФ-Г, КСФ-М, ИЛ-6, Эпо, которые необходимы для поддержания постоянства гемопоэза. Но в

дополнение к этим постоянно экспрессированным цитокинам имеются ряд факторов роста, которые находятся в состоянии пресинтеза либо в цитоплазматических гранулах лейкоцитов (КСФ-ГМ, ТФРβ, ростовой фактор, освобождаемый тромбоцитами), либо они являются интегральными белками мембран (ФНОα, ТФРβ), либо эти цитокины образуют комплекс с белками на поверхности клеток или с экстрацеллюлярной матрицей (ТФРβ, ИЛ-8) [Massague J. et al., 1993]. Этот пул непостоянно экспрессированных цитокинов очень важен для быстрой реализации ответа организма на стимуляторы. Последними могут быть различные инфекционные агенты (бактерии, вирусы, грибы и др.), механические, химические, физические, токсические и другие стимулы. Кроме того, помимо классических АГ, инфекционные агенты выделяют неспецифические, цитокининдуцирующие молекулы, такие как эндотоксин.

Цитокины также потенциально индуцируют экспрессию других цитокинов на многих клетках. Некоторые из этих цитокинов (ИЛ-1, ФНО, ИФγ) являются потенциальными индукторами цитокин-генной экспрессии и относятся к так называемым «противовоспалительным цитокинам» [Corrigan C., 1997].

Наряду с положительными стимуляторами, существуют ряд медиаторов, которые ограничивают либо предотвращают экспрессию цитокинов, либо ограничивают действие цитокинов. Классическим примером ингибитора генной экспрессии цитокинов являются глюкокортикоиды, которые широко используются в клинической практике. Комплексный глюкокортикоидный рецептор прикрепляется ко многим генам цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФγ). Таким же свойством обладают иммуносупрессорные вещества (циклоспорин А, ранамицин и др.),

которые действуют на транскрипцию цитокинов.

Контролировать функцию цитокинов можно путем регуляции процесса образования их предшественников. Многие цитокины, включая ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ГФР β , ФНО α , первоначально образуются как интегральные белки мембраны, которые не являются активными, и для их перехода в активную форму требуется протеолитическое расщепление. Альтернативно некоторые цитокины (ГФР β) первоначально синтезируются в виде биологически неактивной формы, и для превращения в активную форму требуется ферментативное протеолитическое расщепление [Thornberg N. et al., 1992].

Таким образом, различные клеточные элементы (миелоидные и лимфоидные клетки, клетки различных тканей) способны выделять или же индуцировать выделение (образование) цитокинов, а также различные индуцирующие стимулы, приводящие к этому процессу, способствуют модуляции образования гемопоэтических клеток и их функций. При патологических состояниях первоначально внешний стимул (бактерии, АТ, физические и химические агенты и др.) действуют локально на соответствующие клетки различных органов и тканей, и следствием этого является выделение эффекторных молекул (ИЛ-1, ФНО и др.), которые, в свою очередь, генерируют образование других цитокинов из других клеток (или же из этих же клеток), т. е. начинается процесс образования цитокинов. Но эти взаимодействия могут ограничиваться только костномозговой полостью.

Обе системы, коротко- и длинно-дистанционная, функционируют едино в процессе модуляции образования кроветворных клеток. ИЛ-3 и КСФ-ГМ являются полипотентными КСФ, с частично дублирующей и синергической активностями. Однако

ИЛ-3 является более эффективным стимулятором ранних полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц, таких, как КОЕ-бласт, КОЕ-ГЭММ. Эффект ИЛ-3 и КСФ-ГМ на пролиферацию и дифференциацию ранних клеток-предшественниц гемопоэза может быть усилен другими цитокинами, например ИЛ-1 и ИЛ-6. ИЛ-3 и КСФ-ГМ могут стимулировать и более линейно-специфические гемопоэтические клетки-предшественницы — КОЕ-ГЭММ. Однако это влияние происходит в синергизме с другими КСФ — КСФ-Г, КСФ-М, КСФ-Э α , ИЛ-5. Кроме того, ИЛ-3 является потенциальным КСФ для базофилов и тучных клеток. Другие факторы — КСФ-Г и КСФ-М — являются относительно линейно-специфическими, которые поддерживают пролиферацию и дифференциацию клеток, уже коммитированных в стороны образования нейтрофилов или моноцитов-макрофагов. Все эти данные поддерживают гипотезу об иерархическом действии различных КСФ на различные ступени гемопоэза.

После исчезновения стимула наступает период образования (хотя возможно и во время стимула) и действия ингибиторных цитокинов, угнетающих активность КСФ, тем самым способствующих приведению гемопоэза к нормальному, устойчивому равновесию. Нарушение этого равновесия приводит к изменению кроветворения, называемого болезнью.

ИНГИБИТОРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Клеточный цикл деления необходим для самоподдерживания, дифференциации и гомеостаза гемопоэтической системы. Это обеспечивается НТm4, гемопоэтическим регулятором клеточного цикла деления, который экспрессирован на кроветвор-

ных клетках и тесно связан с ГСК. При повышении экспрессии NTm4 на клетке происходит остановка клеточного цикла деления в фазе G₀/G₁ [Donato J. et al., 2002].

Угнетение процессов пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток может осуществляться различными путями — либо путем угнетения синтеза митогенных факторов, либо факторами, угнетающими этот процесс синтеза. Некоторые активные модуляторы кроветворения угнетают синтез митогенных факторов и одновременно оказывают прямое ингибирующее действие на пролиферацию клеток.

O. Blanchet и соавт. (1995) указывают на то, что угнетение кроветворения контролируется тремя воздействующими клеточными типами:

1) путем секреции клетками ингибирующих цитокинов;

2) путем цитотоксического действия определенных клеточных элементов (Т-лимфоциты, НК-клетки, моноциты-макрофаги);

3) путем секреции ингибиторных факторов пролиферации зрелыми клетками, действующими на собственные клетки (сегментоядерные нейтрофилы, моноциты, тромбоциты).

К числу наиболее изученных ингибиторов факторов пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток относятся ТФРβ (ТФРβ, ТФРβ), ингибины и активины, ИЛ-4, ИЛ-10, простагландины, ИФ, лактоферрин, ферритин, ФНОα.

В последние годы определены ряд супрессорных молекул, действие которых, по крайней мере, проявляется *in vitro*. Эти супрессорные цитокины, называемые хемокинами, описаны как интеркриновые цитокины. У человека хемокины относятся к группе (семейству) макрофагального протеина (MIP), которые, в свою очередь, подразделяются на две подгруппы:

1) хемокины β-подгруппы (MIP-1), ген которых расположен на 17-й

паре хромосом; к этой подгруппе относятся MIP-1α (CD78), MIP-1β (ACT-2), RANTES и макрофагальный хемотаксический и активирующий фактор (MCAF, MuJE);

2) хемокины α-подгруппы (MIP-2); ген располагается на 4-й паре хромосом; к этой подгруппе относятся GROα (стимулятор роста меланомы, фактор MGSA, MuKC), GROβ (MIP-2α), GROγ (MIP-2β), фактор тромбоцитов 4 (PF4), ИЛ-8 (пептид, активирующий нейтрофилы), NAP-1, NAP-2, BK-10 [Wolpe S. et al., 1989; Oppenheim J. et al., 1991; Schall Y., 1991; Broxmeyer H., 1993].

Негативные регуляторы кроветворения действуют в течение нескольких минут или часов, и их влияние обратимо. По способу своего действия они влияют более или менее специфично на гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественницы либо в период фазы S клеточного цикла, задерживая синтез ДНК, либо в течение фазы G₁, предотвращая переход в фазу синтеза ДНК. Ингибиторные пептиды или протенины влияют на кроветворные клетки в очень незначительных концентрациях — пико- или мономолярных — через высокоаффинные рецепторы клеток-мишеней, противопоставляя свое действие активным стимуляторам гемопоэза. Некоторые факторы роста (например, ИЛ-3, КСФ-ГМ) могут ингибировать дифференциацию эритроидных клеток либо вызывать терминальную дифференциацию без индуцирования апоптоза, либо способствовать быстрой дифференциации и апоптозу эритроидных клеток (ТФРβ), либо задерживать апоптоз (ФСК).

Все гемопоэтические регуляторы кроветворения (положительные и отрицательные) действуют согласованно, чтобы обеспечить механизм быстрого, обратимого и специфического пролиферативного ответа на запросы организма.

Трансформирующий фактор роста- β , ТФР β (Transforming Growth Factor- β , ТФР β) экспрессирован на клетках многих тканей и органов; этот фактор угнетает рост клеток либо непосредственно, либо косвенно. Источником его образования являются тромбоциты, клетки плаценты и почеч. Образование цитокина ТФР β эндотелием кровеносных сосудов увеличивается при воспалении. Тромбоциты содержат ТФР β в 100 раз больше, чем другие клеточные источники. Этот фактор представляет гомодимер с молекулярной массой 25 килodalтон, термостабилен. Его предшественник является гликопротеином, хотя ТФР β не содержит углеводов. У позвоночных существуют 5 изоформ ТФР β : ТФР β 1, ТФР β 2, ТФР β 3, ТФР β 4 и ТФР β 5. Каждый из генов этих изоформ локализован на разных хромосомах: β 1 — на 19q, β 2 — на 1q, β 3 — на 14q. Глюкокортикоиды регулируют экспрессию ТФР β 1 на клетках и тканях человека, стимулируют экспрессию гена этого цитокина на эндотелиальных клетках [Jin D. et al., 1998]. Идентифицированы также 4 высокоаффинных рецептора для цитокина, и один из них является протеогликаном [Massagué J., 1990].

Для биологического действия ТФР необходимы лиганды, ТФР β — рецепторы I и II типа. Последний тип рецептора может непосредственно связываться с ТФР β , а рецептор I типа может взаимодействовать с этим цитокином только тогда, когда он связан с рецептором II типа. Стромальные клетки костного мозга несут оба типа рецепторов, и это особенно важно потому, что ТФР β является регулятором синтеза цитокинов и их рецепторов, а также адгезивных молекул, и это является важным звеном в регуляции пролиферации и дифференциации гемопоэтических клеток-предшественниц [Robledo M. et al., 1997].

Наиболее изученными изоформами являются ТФР β 1, ТФР β 2 и ТФР β 3, оказывающие антипролиферативное действие на многие типы клеток. Этот эффект происходит вследствие угнетения процесса фосфорилиции Rb-протеина, необходимого для перехода клетки из фазы G₁ в фазу S митотического цикла деления [Cheng T. et al., 1998]. ТФР β является многофункциональным цитокином, который регулирует пролиферацию и дифференциацию гемопоэтических клеток-предшественниц, организацию тканей, ингибирует пролиферацию клеток гемопоэтических ростков *in vitro* и *in vivo*, пролиферацию лимфоцитов, клеток-предшественниц в долгосрочных культурах [Zhon D. et al., 1991; Massagué J. et al., 1995].

Цитокин является ингибитором пролиферации и дифференциации ГСК, КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ, КОЕ-М, КОЕ-Э и БОЕ-Э, которые стимулированы КСФ. Однако он не влияет на нестимулированные гемопоэтические клетки-предшественницы [Sing G. et al., 1988]. В 14-дневной культуре, содержащей костномозговые клетки человека, он ингибирует КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ, КОЕ-М и КОЕ-Г. В присутствии КОЕ-Г ТФР β не дает ингибиторного эффекта ни на колонии-, ни на кластерообразование [Axelrod A., 1990]. Из этих данных очевидно, что ингибиторное действие ТФР β проявляется только на полипотентные и бипотентные гемопоэтические клетки-предшественницы, а не на монопотентные.

Действие цитокина не является линейно-специфическим. Он ингибирует БОЕ-Э в присутствии КСФ-ГМ, ИЛ-3 и Эпо, а также КОЕ-Э — в присутствии Эпо. В долгосрочных культурах костного мозга человека внесение антител, направленных против ТФР β , приводит к увеличению числа примитивных БОЕ-Э, которые подвержены «тимидиновому самоубийству». Эти эксперименты указы-

вают на то, что цитокин действует как естественный ингибитор на эти гемопоэтические клетки-предшественницы, имеющие высокий пролиферативный потенциал. Он также действует на КОЕ-Meg в присутствии КСФ.

S.Weeks и соавт. (1998) изучали CD34⁺CD38⁻-клетки костного мозга взрослых людей и установили, что добавление в кондиционную среду цитокина вызывало задержку пролиферации этих клеток, но при добавлении анти-ТФРβ-АТ наблюдалась стимуляция колониеобразования. В присутствии этих АТ также исчезал стимулирующий эффект на пролиферацию CD34⁺CD38⁻-клеток, при этом ингибиторный эффект был дозозависимым.

ТФРβ поддерживает в состоянии покоя примитивные гемопоэтические клетки-предшественницы человека через аутокринный и(или) паракринный механизмы. Эффект действия цитокина зависит от его концентрации и клетки-мишени. N.Fortune¹ и соавт. (1998) установили, что наиболее примитивные клетки-предшественницы (КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ и обладающие высокой пролиферативной активностью КОЕ-Г и КОЕ-М) очень чувствительны к ингибирующему влиянию при низкой концентрации (10 мкг/л) цитокина в среде. В то же время низкая концентрация ТФРβ не влияла на более поздние клетки-предшественницы (КОЕ-Г и КОЕ-М с низкой пролиферативной активностью), и для проявления ингибирующего эффекта необходимо увеличить концентрацию этого цитокина в 100 раз и более. ТФРβ в низких концентрациях угнетает БОЕ-Э, а если содержание этого цитокина уменьшить в 1000 раз, то наблюдается стимуляция БОЕ-Э. Это действие ТФРβ на БОЕ-Э не может быть объяснено только контролированием клеточного цикла деления [Fortune¹ N. et al., 1998]. Цитокин индуци-

рует дифференциацию эритроидных клеток быстрее и сильнее, чем Эпо. Однако обладая апоптозной активностью, которая частично может быть обратима под действием ФСК, ТФРβ является ингибитором эритропоэза на уровне компартмента эритроидных клеток [Zermati Y. et al., 1997].

Антипролиферативный эффект ТФРβ на гемопоэтические клетки-предшественницы происходит, по крайней мере, двумя путями. В первом случае ингибирование пролиферации этих клеток происходит вследствие непосредственного действия протеина на соответствующую таргетную клетку путем угнетения процессов фосфорилиции Rb-протеина и дополнительно благодаря способности ТФРβ угнетать экспрессию на клетках рецепторов КСФ-ГМ, КСФ-Г и ИЛ-3. Второй путь — это прерывание цитокином действия индуктивных факторов гемопоэза (ИЛ-1, ФНОα) в стимуляции экспрессии гемопоэтических ростовых факторов на акцессорных клетках, в том числе на моноцитах, фибробластах, Т-лимфоцитах и эндотелии кровеносных сосудов [Elias J. et al., 1991; Jacobson S. et al., 1991].

ТФРβ оказывает ингибирующее действие не только на клетки гемопоэза, он действует также на фибробласты, клетки эпителия, остеогенные клетки, вызывает увеличение образования внеклеточных белков матрицы, может способствовать фиброзу костного мозга [Shehata M. et al., 1998].

Ингибины и активины. Ингибины и активины являются димерными гликопротеинами и относятся к семейству ТФРβ. Биологически активная молекула ингибина является гетеродимером с молекулярной массой 32 килодальтона (αβA или αβB), состоящая из α-субъединицы (18 килодальтон) и 2 различных, но относящихся к β-субъединицам (14 кило-

дальтон) — либо к βA , либо к βB . Они образуются многими клетками тканей (сертолиевые клетки яичек, клетки яичников и др.) и влияют на многие биологические процессы, включая образование гормонов роста, АКТГ, пролиферацию клеток некоторых линий.

Помимо эндокринного эффекта, ингибин угнетает образование эритроидных колоний *in vitro* КОЕ-Э и КОЕ-Э костного мозга человека, но это действие проявляется лишь в том случае, если клетки-предшественницы были стимулированы активинном [Vale W. et al., 1989]. Если же в культуральную среду добавить Эпо, Эпо + рекомбинантный человеческий ИЛ-3, КСФ-ГМ или ИЛ-4, то ингибин не угнетает КОЕ-ГЭММ или БОЕ-Э.

Активин является гомодимером ($\beta A\beta A$, $\beta B\beta B$), состоящим из двух ингибиновых цепочек по 14 килодальтон. Активин А образуется в костном мозге и моноцитами, его содержание регулируется цитокинами воспаления и глюкокортикоидами. Стромальные клетки костного мозга человека экспрессируют 4 транскрипта РНК активина А [Dolter K. et al., 1997].

Активин оказывает свое действие линейно-специфически, способствует пролиферации и дифференциации эритроидных клеток-предшественниц. Он стимулирует быстро и обратимо синтез ДНК КОЕ-Э, БОЕ-Э и в больших дозах действует на КОЕ-ГЭММ. Это действие активина блокируется ингибином. Эффект активина на эритроидные клетки-предшественницы дозозависим и наблюдается лишь в присутствии Эпо, действие которого стимулируется активинном, и эти эффекты наблюдаются в среде, лишенной сыворотки крови. Это указывает на то, что для пролиферации эритроидных клеток-предшественниц не требуется дополнительных сывороточных факторов. По-видимому, эффект активина кос-

венно опосредуется лимфоцитами и моноцитами. Большая часть циркулирующих БОЕ-Э в норме находится не в ДНК-синтезирующей фазе; добавление в культуру БОЕ-Э активина индуцирует эти клетки к синтезу ДНК.

Н. Broxmeyer и соавт. (1988) установили, что рекомбинантный активин А увеличивает клональный рост КОЕ-ГЭММ и БОЕ-Э, но не влияет на КОЕ-ГМ. Напротив, ингибин А блокирует этот эффект активина. Если из костномозговой взвеси удалить мононуклеарные фагоциты и(или) Т-лимфоциты, то наблюдаемые эффекты от ингибина и активина *in vitro* исчезают. Ингибин опосредует свой эффект путем прямого влияния на аксессуарные клетки [Broxmeyer H., 1993].

Интерлейкин 10. ИЛ-10 является плеотропным цитокином, который играет важную роль в регуляции лимфоидных и миелоидных клеток. Он образуется эндотоксин-индуцированными клетками СМФ [De Waal Malefyt R. et al., 1991] и митоген-активированными $CD4^+$ Т-лимфоцитами [Bendelac A. et al., 1991]. ИЛ-10 секретируется в основном $Th2$ $CD4^+$ лимфоцитами. Протеин имеет молекулярную массу 30—35 килодальтон, ген расположен на 1-й паре хромосом.

ИЛ-10 обладает многими биологическими свойствами. Он является фактором роста для тучных клеток и В-лимфоцитов [Rousset F. et al., 1992]. Однако действие ИЛ-10 как ингибитора превалирует над его действием как стимулятора, поэтому его еще называют ингибиторным фактором синтеза цитокинов (CSIF — Cytokine Synthesis Inhibitory Factor). Так, он угнетает синтез ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФ γ , ФНО α , образование КОЕ-ГМ и КОЕ-Г [Gruber M. et al., 1994]. Снижение секреции ИФ γ является следствием угнетения синтеза ИЛ-10 аксессуарными клетками [D'Andrea A. et al., 1993].

ИЛ-10 ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов, клеток CD4⁺ через задержку образования ИЛ-2. Цитокин угнетает моноцито-макрофагальный синтез ИФ γ и ФНО α НК-клетками, стимулированными ИЛ-2, ИЛ-5 опосредованную секрецию иммуноглобулинов, индуцированную Т-клеточными независимыми АТ [Hsu D. et al., 1992]. В синергизме с ИЛ-4 и ТФР ИЛ-10 ингибирует цитотоксичность активированных макрофагов [Oswald I. et al., 1992].

Наряду с ингибиторным эффектом, ИЛ-10 обладает функцией ко-стимулирующего фактора. Он индуцирует секрецию активированными В-лимфоцитами IgG, IgM и IgA, а в комбинации с ИЛ-4 способствует образованию в большом количестве изотипов этих Ig [Benjamin D., 1995]. В комбинации с ИЛ-4 и ИЛ-3 ИЛ-10 стимулирует рост тучных клеток. Введение рекомбинантного ИЛ-10 здоровым лицам вызывает у них тромбоцитопению, снижение содержания гемоглобина. Это связано с тем, что ИЛ-10 угнетает КОЕ-Мег; цитокин не влияет на КОЕ-ГЭММ и БОЕ-Э [Sosman J. et al., 1998]. ИЛ-10 проявляет свое действие как самостоятельно, так и в комбинации с другими цитокинами, угнетая КОЕ-ГМ, и это его действие дозозависимое [Sarris A. et al., 1993].

Интерфероны. ИФ — это гликопротеины. Источником их образования являются лейкоциты периферической крови, фибробласты, клетки различных тканей. Существуют 3 типа интерферонов: ИФ α , ИФ β и ИФ γ .

ИФ индуцируют образование КСФ, но, с другой стороны, они угнетают непосредственно гемопоэтические клетки-предшественницы. ИФ γ угнетает пролиферацию очень примитивных гемолоэтических клеток-предшественниц (CD34⁺CD38⁻) путем увеличения и ускорения созревания этих клеток [Henckaerts et al.,

1997]. In vitro ИФ α и ИФ γ ингибируют колониобразование, в особенности образование эритроидных колоний, путем угнетения продукции ФНО α (прямого ингибитора КОЕ-ГМ) вспомогательными клетками стромы костного мозга, а также путем экспрессии ИЛ-1 мононуклеарными фагоцитами [Darris V. et al., 1990].

ИФ β и ИФ γ действуют непосредственно на БОЕ-Э и КОЕ-Э и опосредуют ингибиторный эффект ФНО и ИЛ-1 на колониобразование КОЕ-Э. In vitro ингибиторный эффект ИФ γ , но не ИФ β обратим, если в кондиционную среду внесен Эпо в высокой дозе [Means R. et al., 1997]. ИФ γ угнетает нормальные КОЕ-ГМ, БОЕ-Э и КОЕ-Э, при этом более чувствительными к действию цитокина являются промежуточные и более зрелые БОЕ-Э, а КОЕ-Э менее чувствительны [Dai C.-H. et al., 1998]. ИФ действуют опосредованно на уровне гемопоэтических клеток-предшественниц. Способность ИФ α угнетать гранулоцито- и эритропоэз нашло практическое применение в клинической практике. В опытах на мышах было установлено, что in vivo цитокин ингибирует экспрессию на клетках генов ИЛ-3 и ИЛ-6 [Ferran C. et al., 1991].

Основной эффект на лимфоидные клетки дает ИФ γ . Так, элиминация ИФ γ с помощью МА подавляет пролиферацию чистой популяции Т-лимфоцитов в присутствии ИЛ-2 и ФГА, а также дифференцировку в цитотоксические эффекторные клетки. Активированные В-лимфоциты также способны пролиферировать под влиянием ИФ γ . Воздействие ИФ γ на В-клетки, особенно в сочетании с ИЛ-2, резко повышает количество В-лимфоцитов, дифференцирующихся после активации в иммуноглобулинстимулирующие клетки. Однако большие дозы ИФ γ угнетают как пролиферацию, так и дифференциацию В-лимфоцитов.

Другие типы интерферонов также влияют на лимфоидные клетки. Так, ИФβ может повышать синтез цитокинов активированными Т-лимфоцитами и значительно усиливать киллерную активность НК-клеток. ИФα при добавлении в культуру, содержащую незрелые Т-лимфоциты, способствует реаранжировке генов Т-клеточного рецептора и дифференцировке этих клеток в зрелые цитотоксические Т-лимфоциты. ИФα повышает цитотоксичность ИЛ-2-активированных лимфоцитов, значительно увеличивает активность перфорина лимфоцитов, который способствует некрозу и апоптозу таргетных клеток. В сочетании с ИЛ-2 цитокин увеличивает секрецию лимфоцитами ФНОα и ИФγ и экспрессию на клетках ФНОα и мРНК ИФγ [Li C. et al., 1998].

В клинической практике ИФ широко используются для лечения вирусных инфекций.

Интерлейкин-8. ИЛ-8 образуется стромальными клетками, макрофагами, Т-лимфоцитами. Физиологическим индуктором его образования являются липополисахариды, ИЛ-1, ФНОα. Протеин имеет молекулярную массу 8—9 килодальтон, ген расположен на 4-й паре хромосом (4q). Рецептор цитокина экспрессирован на нейтрофилах и Т-лимфоцитах.

Этот цитокин действует на ранние клетки-предшественницы гемопоэза и способствует их самоподдержанию, но не влияет на пролиферацию и дифференциацию клеток-предшественниц более поздних стадий. Как в комбинации с другими цитокинами, так и самостоятельно ИЛ-8 угнетает колониеобразование клеток-предшественниц миелопоэза, и этот эффект дозозависим [Blanchet O., 1995]. ИЛ-8 действует на нейтрофилы как хемоаттрактант, способствуя аккумуляции этих элементов в тканях при воспалительном процессе [Liu F. et al., 1998].

Внутривенное введение ИЛ-8 вызывает быстрое и значительное увеличение (в 7—12 раз) числа гранулоцитов в периферической крови, которые обладают нормальной хемотаксической и фагоцитарной активностями и адгезивными свойствами, и способностями генерировать перекись водорода. Поэтому цитокин можно использовать для получения концентратов гранулоцитов для трансфузий, а также при наличии дисфункции этих элементов у больных. Вместе с тем под влиянием ИЛ-8 мобилизация CD34⁺ незначительная. J.Pruijt и соавт. (1998) выявили, что мобилизация гемопоэтических клеток-предшественниц может быть предотвращена АТ, направленными против β2-интегрина (LFA-1, CD11a / CD18) и металлопротеиназной желатиназы В (MMP-9). При активации нейтрофилов, которые экспрессируют рецепторы LFA-1 и ИЛ-8, под действием цитокина происходит выделение MMP-9, которая является регулятором мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. Иначе говоря, нейтрофилы играют важную роль в ИЛ-8-индуцированной мобилизации гемопоэтических клеток-предшественниц. Кроме того, как отметили G.Velders и соавт. (1998), блокирование LFA-1 приводит к увеличению мобилизации гемопоэтических клеток-предшественниц под действием КСФ-Г, причем степень мобилизации гемопоэтических элементов не зависит от дозы последнего, и это может свидетельствовать о том, что мобилизация гемопоэтических клеток-предшественниц происходит различными путями.

Хемокины подгруппы β. Хемокины — это семейство родственных белков, которые обладают широкой биологической активностью, регулируют миграцию и активацию лейкоцитов в участках воспаления. Они секретируются активированными лейкоцитами, эндотелиальными и

эпителлиальными клетками [Schall T. et al., 1994]. Хемокины — это гепаринсвязанные белки с молекулярной массой 8—12 килодальтон. В зависимости от локализации в молекуле двух цистеинов семейство хемокинов подразделяется на две подгруппы: если цистеины разделены аминокислотой, то хемокины относятся к семейству α -хемокинов (их также называют C—X—C), а если оба цистеина соседствуют между собой, то эти хемокины относят к семейству β -хемокинов (C—C). Ген семейства α -хемокинов располагается на 4-й паре хромосом (4q12—21), а семейства β — на 17-й паре (17q11—32) [Narusse K. et al., 1996].

К хемокинам семейства β относятся MIP-1 α (CD78), MIP-1 β (ACT-2), RANTES, макрофагальный хемотаксический и активирующий фактор (MCAF, MuJE, exodus) [Hromas R. et al., 1997].

MIP-1 α и MIP-1 β увеличивают пролиферативный эффект более зрелой популяции КОЕ-ГМ, стимулированной КСФ-ГМ и КСФ-М. Однако основное их действие — это супрессорное. MIP-1 α увеличивает количество КОЕ-ГМ и в то же время уменьшает образование БОЕ-Э, при этом это действие было дозозависимым. Методом поточной цитометрии установлено, что фракция клеток CD34⁺ неоднородна: некоторые клетки CD34⁺ экспрессируют рецептор MIP-1 α (CD34⁺MR⁺), а другие не экспрессируют его (CD34⁺MR⁻). Клетки CD34⁺MR⁺ в 10 раз больше образуют КОЕ-ГМ, чем CD34⁺MR⁻. Кроме того, фракция клеток CD34⁺MR⁻ очень обогащена клетками LTC1C, которые экспрессируют рецептор для MIP-1 α [de Wuyter E. et al., 1997]. БОЕ-Э и КОЕ-Э экспрессируют рецептор CCR1 к MIP-1 α . In vitro MIP-1 α угнетает

колониобразование БОЕ-Э и способствует колониобразованию КОЕ-Э человека [Means R. et al., 1997].

Хемокины подгруппы β угнетают пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественниц КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ и КОЕ-Э, которые были стимулированы цитокинами (ФСК, Эпо + ИЛ-3, КСФ-ГМ + ИЛ-3). β -хемокины (MIP-1 α , MIP-1) способствуют переходу КОК-ВПП в фазу G₀ митотического цикла [Eaves C. et al., 1997]. Хемокины действуют на менее зрелую, быстро пролиферирующую популяцию гемопоэтических клеток-предшественниц. Но действие хемокинов подгруппы β не ограничивается только последними, они также влияют на гемопоэтические стволовые клетки [Quesniaux V. et al., 1993]. In vivo на мышах установлено, что MIP-1 α угнетает миелопоэз и это супрессорное действие, с одной стороны, дозозависимое, а с другой — обратимо [Maze R. et al., 1992]. При назначении мышам гидрооксимочевины или цитозинарабинозида, MIP-1 α оказывает защитное действие на миелопоэз [Dunlop D. et al., 1992].

MIP-1 α также регулирует движение фагоцитов и лимфоцитов, влияет на миграцию, «хоминг» и мобилизацию гемопоэтических клеток-предшественниц путем модуляции адгезивного фенотипа этих клеток [Ericson S. et al., 1998 ; Suehio Y. et al., 1998].

Другие хемокины (MIP-1 β , MCAF) как самостоятельно, так и в сочетании с другими хемокинами угнетают колониобразование миелоидных клеток-предшественниц, и этот супрессорный эффект дозозависим [Sarris A. et al., 1993].

В приложении 2 представлены данные о содержании в сыворотке крови некоторых цитокинов.

КРОВЕТВОРЕНИЕ В ПЕРИОД ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

В последние два десятилетия успешно развивается новое направление в области пересадок органов и тканей — трансплантация фетальных гемопоэтических клеток. Эти пересадки успешно применяют при различных заболеваниях системы крови (серповидно-клеточная анемия, α - и β -талассемии, АА и др.) [Maggio A. et al., 1997; Touraine J.-L. et al., 1997], наследственных нарушениях метаболизма и иммунодефицитных состояниях (болезнь Ниманна — Пика, Х-связанный тяжелый комбинированный иммунодефицит, хроническая гранулематозная болезнь и др.) [Wengler G. et al., 1997; Westgren M. et al., 1997] как *in utero* (с 1988 г.), так и постнатально. Как указывают J.-L. Touraine и соавт. (1997), пересадка фетальных тканей в постнатальном периоде успешна у 67% детей, и это особенно важно, если нет возможности получить гистосовместимые костномозговые клетки от доноров для пересадки. Поэтому краткое ознакомление с эмбриональным и фетальным гемопоэзом необходимо для понимания не только патогенеза развития некоторых болезней, но и для выработки стратегии и тактики лечения некоторых болезней.

Гемопоэз у эмбриона и плода значительно отличается от такового у взрослых следующими признаками:

1) внутриутробно различные органы способны поддерживать кроветворение в течение всего периода развития; это обусловлено различиями в микроокружении, которые обеспечивают специфическую регуляцию гемопоэза;

2) в течение развития плода наблюдается относительное различие в дифференциации ростков гемопоэза; так, в течение первых 12 нед гестации доминирует эритропоэз;

3) фенотип эритроидных клеток не постоянен во времени; классиче-

ским примером этого феномена является замена типов гемоглобина;

4) количество гемопоэтических клеток-предшественниц в циркулирующей крови значительно больше в течение всего периода внутриутробного развития.

После оплодотворения происходит быстрый рост эмбриона, который требует повышенного количества кислорода. Рост плода требует постоянного увеличения массы Эр. Низкое парциальное давление кислорода при высокой метаболической активности тканей плода требует, чтобы система освобождения кислорода отличалась от таковой у взрослого. В то же время плод, находясь в стерильных условиях, не требует большого количества нейтрофилов. Это может быть удовлетворено кислородпереносящими клетками. Поэтому уже в ранний период развития эмбриона, приблизительно через 2—3 нед после оплодотворения и имплантации яйцеклетки, возникает и начинает развиваться гемопоэтическая система.

Ее развитие происходит с разной степенью интенсивности, со сменой преимущественной локализации кроветворения в различные сроки гестации (схема 1). Знание внутриутробного развития гемопоэза позволяет клиницистам правильно интерпретировать патологические данные у преждевременно родившихся детей.

В период внутриутробного развития человека топографически можно выделить 4 этапа гемопоэза: мезобластический, печеночный, селезеночный и костномозговой (рис. 1). Некоторые исследователи исключают селезеночный этап кроветворения.

Первоначальные данные об эмбриональном гемопоэзе были получены в основном на основании ана-

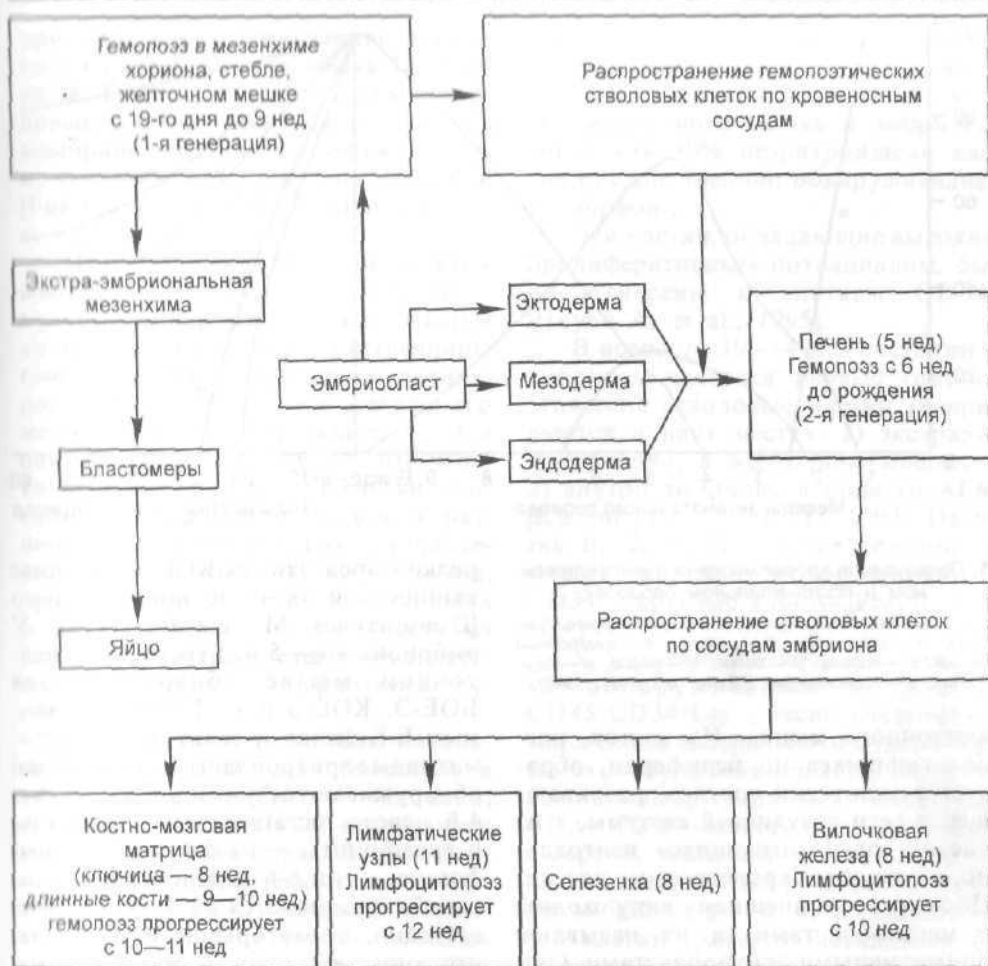


Схема 1. ЭМБРИОНАЛЬНОЕ, ФЕТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ И ОНТОГЕНЕЗ ГЕМОПОЭЗА (по E.Keleman и соавт.).

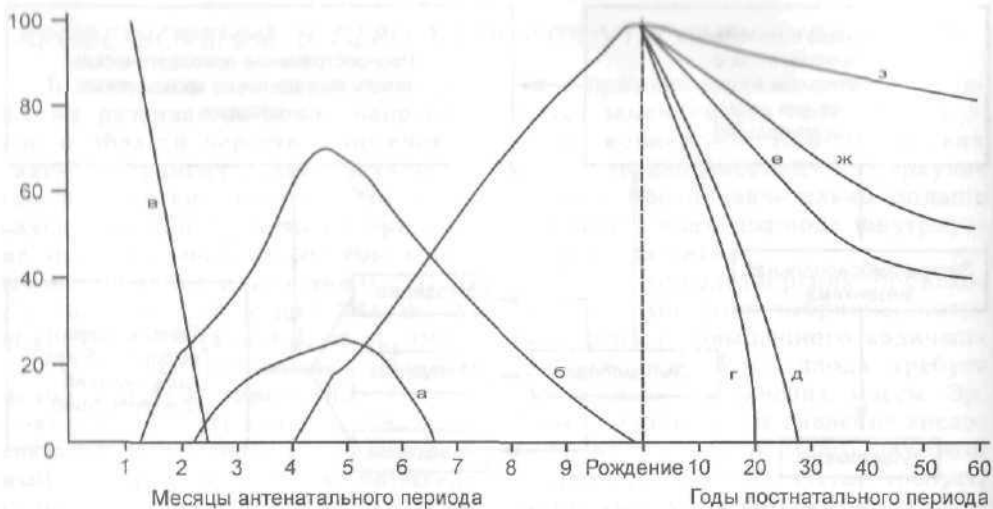
томических и экспериментальных исследований у птиц и животных. Последующие исследования у человека показали, что эти результаты коррелируют с данными, полученными в эксперименте.

Поскольку предметом освещения данного руководства является эритропоэз и связанные с ним нарушения, то об образовании остальных элементов гемопоэза мы упоминаем кратко.

Мезобластический тип кроветворения возникает в желточном мешке,

аллантаисе, хорионе и стебле приблизительно к концу 2-й — началу 3-й недели после оплодотворения и имплантации яйцеклетки. Желточный мешок состоит из эндодермальных и мезенхимных клеток [Ohls R. et al., 2000].

В мезенхиме появляются темноокрашенные клетки, собранные в кластеры. Эти островки клеточных элементов являются предшественниками сосудистой и кроветворной систем, они тесно связаны с сосудами



1. Локализация кроветворения в антенатальном и постнатальном периодах.

I — антенатальный период; *II* — постнатальный период; а — селезенка, б — печень, в — желточный мешок, г — голень, д — бедро, е — ребра, ж — грудина, з — позвоночник (по Z.Erslav и соавт., 1940).

желточного мешка. Из клеток, располагающихся по периферии, образуется эндотелий сосудов, развивающейся сети сосудистой системы, а из клеток, располагающихся центрально, образуются кроветворные клетки. Последние по внешнему виду сходны с мегалобластами, и их называют примитивными эритробласти. Они имеют овальную форму, большие размеры (до 30 мкм в диаметре), их объем достигает 200 фл, цитоплазма базофильная, ядро нежносетчатой структуры, содержит ядрышки. Эти клетки синтезируют эмбриональный гемоглобин и циркулируют с кровью в период 4—12 нед гестации. Начиная с 6-й недели гестации в крови эмбриона появляются эритроидные элементы без ядра — мегалоциты, объем которых достигает 125 фл. По своему фенотипу эритроидные клетки-предшественники желточного мешка близки к таковым взрослых людей. В желточном мешке определяются БОЕ-Э в количестве 150—200,

редко определяются КОЕ-Э, которые атипичны и их число незначительно [Dommergues M. et al., 1992]. У эмбриона 4^{1/2}—5 нед гестации в желточном мешке обнаруживаются БОЕ-Э, КОЕ-Э и КОЕ-ГМ. По данным E.Keleman и соавт. (1979), примитивные эритробласти и макрофаги обнаруживаются у эмбриона на 3—4-й неделе гестации, мегакарициты и тромбоциты — на 5-й неделе, лимфоциты — на 6-й неделе; гранулоциты обнаруживаются на 3—4-й неделе гестации, но авторы не исключают, что они могут быть материнского происхождения.

Хотя в мезобластический период кроветворения отмечается преимущественно эритропоэз, тем не менее в это период можно обнаружить клетки-предшественницы всех гемопоэтических ростков, включая полипотентные стволовые клетки. Так, при культивировании клеток желточного мешка мышей 7—9 дней гестации обнаруживаются типичные моноцитомacroфагальные, эритроидные, мегакариоцитарные, гранулоцитарные и смешанные колонии [Фрейдлин М.С., 1984; Metcalf D., 1975]. Имплантация клеток желточного мешка летально облученным мышам

приводит к восстановлению способности клеток вырабатывать Ig [Тайен М.Л., 1972]. Полипотентные стволовые клетки идентифицируются в мембране желточного мешка собак и человека на 16-й день гестации [Fukuda T., 1974; Nothdurft W. et al., 1981].

При культивировании клеток желточного мешка без эмбриона в культуре обнаруживаются в большом количестве клетки-предшественницы гемопоэза, тогда как при культивировании эмбриона без желточного мешка этого не наблюдается. Эти данные указывают на то, что желточный мешок содержит клетки, способные дифференцироваться в различных гемопоэтических направлениях. Основываясь на этих опытах, проведенных у экспериментальных животных, полагают, что именно из желточного мешка клетки-предшественницы гемопоэза мигрируют в другие органы.

Для того, чтобы понять начальные этапы становления гемопоэза в течение онтогенеза у человека, А.Нуйн и соавт. (1995) исследовали клоногенные свойства гемопоэтических клеток человеческого желточного мешка и у 25—50-дневных эмбрионов. В отличие от гемопоэтических клеток-предшественниц костного мозга взрослых людей при культивировании клеток желточного мешка большинство эритроидных колоний содержат клетки гранулоцитарно-макрофагального ростков, и это заставляет полагать, что, по-видимому, клетки желточного мешка являются полипотентными стволовыми клетками, обладающими различным ответом на цитокины. С другой стороны, имелись незритроидные клетки-предшественницы, которые явились источником роста очень больших гранулоцитомакрофагальных колоний, и некоторые клетки из этих колоний при рекультивировании давали рост эритроидных колоний. Количество

клеток-предшественниц эритроидного ряда было распределено в равной степени среди гемопоэтических клеток желточного мешка и эмбриона, тогда как 80% незритроидных клеток-предшественниц обнаруживались у эмбриона.

Эти клетки, обладающие высоким пролиферативным потенциалом, были отнесены к клеткам CD34⁺ [Нуйн А. et al., 1995].

В возрасте 3½—4 нед гестации у эмбриона человека первые гемопоэтические стволовые клетки генерируются в двух местах: 1) экстраэмбрионально, в желточном мешке, и 2) внутри эмбриона в области АГМ [Kirzenbaum M. et al., 1997; Dzierzak E., 2001]. В сосудах желточного мешка изредка обнаруживаются CD34⁺ округлые клетки [Peault B. et al., 1995].

У 5-недельного эмбриона человека обнаруживается популяция CD45⁺CD34⁺Lin⁻, тесно связанная с эндотелием вентрального отдела аорты околопупочной области. Наличие компактных, округлых кластеров CD34⁺CD45⁺-клеток, тесно связанных с аортой, указывает на то, что гемопоэтическая система развивается внутри эмбриона *per se* и, по-видимому, эти клетки являются истинными гемопоэтическими стволовыми клетками человека. Эти CD34⁺CD45⁺Lin⁻ клетки ко-экспрессируют гены tal-1/SCL, c-myb, c-kit, flk-1/KDR, GATA-2, GATA-3, обладают высоким пролиферативным потенциалом *in vitro*. По мнению М.-С. Labastie и соавт. (1998), типичные гемопоэтические стволовые клетки у эмбриона 4—6 нед гестации имеют следующую фенотипическую характеристику: CD34^{hi}CD45⁺CD31⁺CD38⁻Lin⁻. Эти стволовые клетки, происходящие *de novo* из парааортальной спланхноплевры, являются источником дефинитивного гемопоэза у человека.

С помощью иммуногистохимических, электронно-микроскопических

и культуральных методов было установлено, что:

1) интраэмбриональные гемопоэтические кластеры, состоящие из CD34⁺-клеток, наблюдаются у 27—37-дневного эмбриона;

2) эндотелиально-ассоциированные кластеры гемопоэтических клеток также обнаруживаются в хвостовой части аорты (ниже, чем рудимент печени) и в пупочно-мезентериальной артерии;

3) в долгосрочных культурах вентральная часть аорты может поддерживать гемопоэз спонтанно благодаря наличию эндогенных клеток-предшественниц гемопоэза, чего никогда не отмечается при культивировании дорсальной части сосудов.

Все эти факты свидетельствуют о том, что в ранний период эмбриогенеза гемопоэтическая стволовая клетка тесно связана с кровеносными сосудами эмбриона [Tavian M. et al., 1997].

Несмотря на отсутствие у эмбриона зрелых гранулоцитов, тем не менее у него определяются макрофаги, КОЕ-ГМ. Предшественники Т-лимфоцитов способны образовывать колонии в участках, где происходит закладка вилочковой железы, определяются В-лимфоциты [Palacios R. et al., 1993].

Механизмы регуляции гемопоэтических клеток-предшественниц желточного мешка не установлены. В целом гемопоэз в желточном мешке характеризуется следующим образом:

1) хотя имеются гемопоэтические полипотентные стволовые клетки, тем не менее кроветворение ограничивается эритропоэзом;

2) эритроидные клетки-предшественницы не чувствительны к Эпо;

3) эритробласты поступают в циркулирующую кровь синхронно;

4) терминально дифференцированные эритроидные клетки сохраняют ядро;

5) точные механизмы регуляции гемопоэза не установлены.

Начиная с 8 нед гестации кроветворные островки в желточном мешке начинают регрессировать, внутрисосудистый гемопоэз идет на убыль, и к 12—15 нед гестации большие ядерные мегалобласты, представляющие первую генерацию эритроидных клеток, исчезают из циркуляции.

Печеночный этап гемопоэза возникает у эмбриона с 5-й недели гестации, и на протяжении 3—6 мес печень является главным гемопоэтическим органом. С 5-го месяца развития плода 80% гемопоэтической активности связано с печенью и лишь 20% с селезенкой. Печень также является местом образования Эпо. Источником кроветворения в печени является гемопоэтическая стволовая клетка [Моисеева О.И., 1985; Zanjanì E. et al., 1992].

Первоначально гемопоэз в течение I триместра направлен в сторону эритропоэза; к 9—10 нед гестации около 90% зрелых клеток составляют примитивные эритробласты. В отличие от эритроидных клеток желточного мешка они меньшего размера, встречаются безъядерные формы, содержащие HbA и HbF. Постепенно примитивные эритробласты замещаются вторичными эритробластами, и к 32 нед гестации эритроидные клетки составляют около 40% [Oguro M. et al., 1978]. По данным В.А.Балашовой и соавт. (1984), в фетальной печени 6—7 нед гестации эритрокарициты составляют 90,3%, при этом 24,6% из них представлены мегалобластными элементами, а возрасте 22 и 27 нед гестации — 80,3% и 1,3% соответственно.

В фетальной печени обнаруживаются все гемопоэтические клетки-предшественницы эритроидного ростка (БОЕ-Э и КОЕ-Э), гранулоцитарного (КОЕ-ГМ) и мегакариоцитарного (КОЕ-Мег и БОЕ-Мег) ростков, а также клетки-предшественницы В- и Т-лимфоцитов. Количество этих клеток быстро увеличивается и

стабилизируется в течение 5—7 нед: КОЕ-Э в пределах 200, БОЕ-Э — 150 и КОЕ-ГМ — 10 на 10 гепатоцитов [Domegnes M. et al., 1992]. Как и клетки-предшественницы эритропоэза желточного мешка и костного мозга взрослых людей, эти элементы фетальной печени не дифференцируются при отсутствии Эпо. У эмбриона и плода источником Эпо длительно являются гепатоциты, которые способны экспрессировать ген Эпо. БОЕ-Э фетальной печени иногда способны дифференцироваться при отсутствии ИЛ-3; они резистентны к ингибиторному эффекту ИФγ, что отличает их от БОЕ-Э костного мозга взрослых людей [Casadevall N. et al., 1995].

Для понимания молекулярных механизмов, контролирующих ранний гемопоэз у человека, M.Kirszenbaum и соавт. (1997), M.Teyssier и соавт. (1998) проводили идентификацию генов, дифференцированно экспрессированных в клетках гемопоэтической ткани в течение эмбриогенеза. Для этого сравнивали экспрессию мРНК в клетках тканей желточного мешка (4 нед гестации), АГМ (3½—4½ нед гестации), печени (4—7 нед гестации) и в клетках пуповинной крови. Авторы клонировали 2 гена: 36—10 и 36—16. Один ген (36—10) был высокоэкспрессирован в клетках тканей в области АГМ и в клетках тканей в раннем этапе развития печени; в последующие этапы развития эмбриона и плода экспрессия этого гена снижалась и вновь увеличивалась в клетках пуповинной крови. Экспрессия другого гена (36—16), напротив, была высокой в клетках желточного мешка и ранней печени, а в клетках АГМ и пуповинной крови была низкой. Из этих данных можно сделать 2 вывода:

1) одновременная экспрессия гена 36—10 в клетках тканей АГМ и ранней печени может указывать на миграцию гемопоэтических стволовых клеток из АГМ;

2) одновременная экспрессия гена 36—16 в клетках желточного мешка и ранней печени не исключает того, что колонизация печени стволовыми клетками происходит также другой субпопуляцией стволовых клеток, происходящих из клеток желточного мешка; в процессе перемещения и «хоминга» человеческих гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественниц, а также в поддержании фетального печеночного кроветворения важную роль играют эндотелиальные клетки фетальной печени [Shieh J. et al., 1997].

В 1998 г. M.Kirzenbaum и соавт. определили новый ген — pV18 — и установили, что его экспрессия наиболее высока на гемопоэтических клетках области АГМ и ранней эмбриональной печени (28 дней); по мере увеличения сроков гестации экспрессия этого гена снижается. Авторами было отмечено, что мРНК pV18 наблюдается во фракции клеток CD34⁺-пуповинной крови и отсутствует во фракции клеток CD34⁺. На этом основании авторы считают, что ген pV18 участвует в дифференциации стволовых клеток CD34⁺.

Для идентификации молекулярных механизмов, ответственных за пролиферацию и дифференциацию клеток CD34⁺CD38⁻ и CD34⁺CD38⁺, I.-H. Ohs и соавт. (1998), используя метод RT-PCR, исследовали эту популяцию клеток в онтогенезе (клетки, выделенные из фетальной печени, пуповинной крови и костного мозга). Изучалась экспрессия различных факторов роста, генов рецепторов и факторов транскрипции. Установлено, что уровень транскрипции для c-kit, flt-3 и IL-3Rβс был в 2—5 раз выше в клетках CD38⁻ фетальной печени, а в клетках CD38⁺ отмечалось только увеличение в 2—3 раза уровня транскрипции (по сравнению с таковыми костного мозга). Уровень транскрипции gp-130 и IL-6Rα был одинаковым в клетках CD34⁺CD38⁻

фетальной печени и костного мозга, но экспрессия с-тус и с-тув была увеличена в 20 и 4 раза соответственно на этих клетках фетальной печени по сравнению с аналогичными клетками костного мозга. Эти изменения в уровне транскрипции в примитивных гемопоэтических клетках могут лежать в основе их биологической характеристики.

Рецепторы тирозинкиназы (RTKs) через связывание с лигандами опосредуют клеточный ответ на экстрацеллюлярные сигналы, регулирующие пролиферацию и дифференциацию клеток. Протоонкоген c-kit кодирует RTK для фактора стволовых клеток, и оба они играют важную роль в процессе роста и дифференциации гемопоэтических стволовых клеток. M.Kirszenbaum и соавт. (1997), M.Teyssier и соавт. (1998) изучали экспрессию генов, ответственных за молекулы c-kit и ФСК, в гемопоэтических клетках тканей желточного мешка, в участке АГМ и печени у эмбриона человека 24—65 дней гестации. Ими было установлено, что экспрессия гена c-kit наблюдалась во всех клетках исследуемых тканей, но на разном уровне. Экспрессия ФСК гена на высоком уровне обнаружена только в клетках тканей АГМ (24 дня гестации) и в клетках печени (28—34 дня гестации); в этих же клетках отмечалась более высокая экспрессия гена c-kit. Поскольку имеется пространственное ограничение экспрессии ФСК, относящееся по времени к началу гемопоэза в участке АГМ и колонизации печени кроветворными клетками, то определение этого фактора роста в этих клетках можно использовать для фенотипической характеристики гемопоэтических клеток АГМ и печени. Кроме того, ген ФСК может быть фенотипическим маркером для мигрирующих гемопоэтических стволовых клеток из АГМ в печень. Биологическая роль c-kit-рецептора мо-

жет быть ограничена ранними стадиями гемопоэза.

Эта моноклональная модель у человека отличается от биклонального онтогенеза у птиц, у которых полипотентная стволовая клетка дает сепаративный рост клеток-предшественниц кроветворения в желточном мешке и в печени, с синтезированием эмбрионального и впоследствии фетального и взрослого типов гемоглобиновых цепей [Miller D., 1990].

У эмбриона 4—5 нед гестации в рудиментах печени обнаруживаются кластеры, состоящие из эритробластов, моноцитов и гранулоцитов. Приблизительно к 9-й неделе гестации признаки кроветворения в печени выявляются более четко. Островки кроветворных клеток обнаруживаются в синусоидах печени, они быстро разрастаются. Гемопоэз становится экстравакулярым.

Гемопоэтические клетки-предшественницы фетальной печени определены как CD34⁺CD38^{-/+} [Barcena A. et al., 1997]. S.Weeks и соавт. (1998) изучали влияние некоторых цитокинов на CD34⁺CD38-клетки фетальной печени. Установлено, что ФНО α дает дозозависимый ингибиторный эффект на эти клетки и его действие опосредуется через p55-рецептор. Пролиферативная активность фетальных гемопоэтических клеток не стимулируется ФНО α или анти-ТФР β , и это заставляет полагать, что пролиферация CD34⁺CD38-клеток не регулируется аутокринной ингибиторной ТФР β -связью [Snoeck H.-W. et al., 1996]. A.Barcelona и соавт. (1998) установили, что некоторые клетки, как CD34⁺, так и CD34⁻, фетальной печени экспрессируют CD95-лиганд, связанный с мембранной клеткой (mCD95L). Установлено, что эндогенный CD95L дает ингибиторный эффект на пролиферацию примитивных гемопоэтических клеток-предшественниц.

Гемопоэтическим клеткам фетальной печени так же, как и клеткам

костного мозга постнатального периода, свойствен так называемый квантовый митоз, асимметричное деление, когда одна из дочерних клеток становится коммитированной гемопоэтической клеткой-предшественницей. По данным S.Huang и соавт. (1998), асимметричное деление клеток $CD34^+CD38^-$, выделенных из фетальной печени, наблюдается уже в течение первых митозов, и процент асимметрично делящихся клеток тем выше, чем меньше гестационный возраст плода. Добавление в культуру клеток фетальной печени различных ростовых факторов (ФСК, Эпо, FLT3-лиганд, ИЛ-3, ИЛ-6, КСФ-ГМ) изменяет направление коммитирования указанных клеток, но пропорция клеток с асимметричным делением остается неизменной. Это свидетельствует о том, что характер коммитирования клеток $CD34^+CD38^-$ находится под контролем внешних сигналов, тогда как асимметричное деление этих клеток находится под контролем внутренних факторов клеток.

До 56,3% клеток $CD34^+$, выделенных из фетальной печени, экспрессируют АГ АС133, и эта фракция клеток содержит значительно большее число примитивных и коммитированных КОЕ, чем фракция $CD38$ ($АС133^+$ или $АС133^-$). Фракция $CD34^+АС133^-$ содержит меньше примитивных и коммитированных КОЕ, чем фракция $CD34^+АС133^+$. По мнению S.Huang и соавт. (1998), АГ АС133 является маркером примитивных и коммитированных клеток-предшественниц. Частота экспрессии АГ АС133 на гемопоэтических клетках фетальной печени $CD34^+$ колеблется в пределах 14—79%.

Популяция гемопоэтических клеток $CD34^+АС133^+$ включает большинство гемопоэтических клеток $CD34^+CD38^-$, содержащих большое количество КОЕ-ГМ, несколько меньше КОЕ-ГЭММ и незначительное

число БОЕ-Э. Фракция клеток $CD34^+АС133^+$ содержит большое количество КОЕ-Мег по сравнению с популяцией $CD34^+АС133^-$ и в культуре образует большие многолинейные и(или) мегакариоцитарные колонии, содержащие более 1000 клеток [Berger M. et al., 1998].

Поскольку в настоящее время все большее признание находит генная терапия, то для ее решения важной задачей является получение большого числа гемопоэтических стволовых клеток. Н.Сгоizat и соавт. (1998) культивировали гемопоэтические клетки, полученные из фетальной печени плодов 19—21 нед гестации. Ими было установлено, что на 5×10^3 трансплантированных клеток приходится в среднем 610 КОЕ-ГМ, на БОЕ-Э — 674, на КОЕ-ГЭММ — 246, причем 20% последних находились в активном клеточном цикле деления.

Во фракции гемопоэтических стволовых клеток определяются $CD34^+CD4^+$. Популяция этих клеток обладает высоким пролиферативным потенциалом, в 1,9 раза больше, чем фракция $CD34^+CD4^-$ -клеток. При изучении в культуре, в кондиционную среду которой добавлены цитокины, фракция клеток $CD34^+CD4^+$ на 7-й день культивирования генерировала $CD34^+$ клеток в 6 раз больше, чем фракция клеток $CD34^+CD4^-$. Клетки $CD34^+CD4^+$ также экспрессировали АГ $CD13^+$ и $CD33^+$ [Muench M. et al., 1996]. По данным F.Lim и соавт. (1995), в фетальной печени плода человека 14—22 нед гестации клетки $CD34^+$ составляют 31%.

Изучая пролиферативную активность гемопоэтических стволовых клеток фетальной печени (сроки гестации 9,2—22 нед), G.Raju и соавт. (1997) отметили, что в среднем 20,1% клеток находятся в фазе синтеза ДНК, тогда как у взрослых в костном мозге — 7,6%. При исследовании колониеобразующей способности

КОЕ-ГЭММ, КОЕ-ГМ и БОЕ-Э) отмечено, что по сравнению с клетками костного мозга взрослых людей гемопоэтические клетки фетальной печени образуют колонии не только большего диаметра (в 2 раза больше), но и раньше (на 10-й день при исследовании клеток из фетальной печени и на 14-й день при исследовании клеток костного мозга взрослых) и в 1,5 раза больше колоний, т. е. гемопоэтические клетки фетальной печени обладают высокой пролиферативной потенцицией.

Печеночный гемопоэз ориентирован в сторону эритропоэза. Уже на 5—6-й неделе гестации у эмбриона человека обнаруживаются кластеры, состоящие из клеток эритроидного ряда, которые локализуются в синусоидах и в печеночной связке. В этот же период обнаруживаются макрофаги больших размеров и примитивные мезенхимные клетки с морфологией дендритических клеток (по-видимому, гепатоциты). С увеличением сроков гестации содержание этих клеток увеличивается. Общее число клеток эритроидного ряда в 50—100 раз больше, чем макрофагов, и в 9—10 нед гестации до 93,4% всех форменных элементов гемопоэза составляют клетки эритроидного ростка. Используя метод иммуоцитохимии, W. Timens и соавт. (1990) установили, что у 6-недельного эмбриона человека в печени определяются крупные мононуклеарные клетки, морфологически относящиеся к миеломоноцитарным элементам, а также незначительное число незрелых миелоидных клеток. Эти клетки локализовались в основном в соединительной ткани портального пространства, хотя миеломоноцитарные элементы определялись во всех участках печени, в том числе в синусоидах и перисинусоидальной печеночной связке. С увеличением сроков гестации количество миеломоноцитарных клеток увеличивалось, и к 16 нед

гестации некоторые из этих элементов были положительными на CD45R (зрелые Т- и В-лимфоциты), а другие — на CD15⁺ (клетки моноциты-макрофаги).

В печени плода клетки CD34⁺ имеют размеры больших лимфоцитов с узким ободком цитоплазмы, ядро с дисперсным хроматином иногда содержит небольшое ядрышко. Количество этих клеток — менее 0,1% от всех гемопоэтических клеток, локализуются они в основном в паренхиме печени и в перисинусоидном пространстве; встречаются также недифференцируемые бласты — они имеют узкий ободок цитоплазмы, округлое ядро с нежным хроматином в центре и узким ободком конденсированного хроматина вокруг ядерной мембраны, выраженное ядрышко. Эти клетки располагаются в паренхиме печени, иммуногистохимически относились к клеткам CD43⁺. У плодов 5 нед гестации их содержание составляет около 1% от всех гемопоэтических клеток печени. К началу II триместра гестации их число повышается приблизительно до 5%, а к концу II триместра содержание этих клеток было менее 1% [Timens W. et al., 1990].

При сроке 6—7 нед гестации в печени плода обнаруживаются клетки нейтрофильного ростка, в основном промиелоциты и миелоциты, содержание которых до 27 нед гестации остается неизменным и крайне низким — около 1%. Содержание зрелых нейтрофилов первоначально низкое (около 0,15%), но с увеличением сроков гестации их содержание увеличивается. В этот же период в печени плода обнаруживаются также эозинофилы, базофилы, моноциты, макрофаги и мегакариоциты, содержание которых, за исключением макрофагов и мегакариоцитов, постепенно увеличивается к 22—27 нед гестации. Начиная с 8—9-недельного срока гестации в печени эмбриона человека обнаруживаются в неболь-

ном количестве (0,14%) лимфоциты, содержание которых по мере увеличения сроков гестации повышается, и к 22—27-недельному сроку они составляют около 10% [Балашова В.А. и др., 1984]. По данным G.Azma и соавт. (1984), у 8-недельного эмбриона до 90% лимфоцитов относятся к пре-B-клеткам, определяются В-лимфоциты, несущие на своей поверхности IgM. Приблизительно в возрасте 11½ нед гестации обнаруживаются лимфоциты, на поверхности которых определяются IgG и IgA. К 14-недельному сроку гестации процент лимфоцитов, циркулирующих с кровью плода и имеющих каждый класс рецепторов иммуноглобулинов, соответствует таковому у взрослых, однако способность этих фетальных клеток синтезировать и секретировать иммуноглобулины проявляется только к 20-недельному сроку гестации. В печени плода 14—22 нед гестации определяются CD3⁺-Т-лимфоциты (20%), CD56⁺-NK-клетки (33%), CD19⁺-В-клетки (31%) [Lim F. et al., 1995].

В возрасте 14 нед гестации лимфоидные клетки имеют средний размер, а с 16 нед и позднее появляются лимфоциты малых размеров. На поверхности лимфоцитов определяются тяжелые цепи Ig и легкие цепи — κ и λ. В цитоплазме лимфоцитов промежуточного размера определяются mλ, но не определяются цепи κ и λ Ig. Большие клетки с морфологией моноцитов и макрофагов иммуногистохимически окрашиваются как на α- и γ-тяжелые цепи, так и на легкие κ- и λ-цепи Ig. Возможно, что окраска этих клеток обусловлена пассивной абсорбцией иммуноглобулинов этими клеточными элементами [Tiemens W. et al., 1990].

В печени плода (сроки гестации 6—22 нед) NK-клетки составляют 35—70% от всех лейкоцитов эмбриона и плода. Их фенотипическая характеристика — CD56⁺CD3⁻. О раз-

витии NK-клеток и взаимоотношении NK-коммитированных клеток-предшественниц с примитивными гемопоэтическими клетками-предшественницами на различных стадиях созревания известно мало. M.Muench и соавт. (1998) изучали клетки CD34⁺Lin⁻ в культуре без добавления к последней клеток стромы и сыворотки крови и установили, что клетки CD34⁺CD38⁺ и CD34⁺CD38⁻ дифференцировались в NK-клетки при добавлении в культуральную среду ИЛ-15 и c-kit-лиганда.

При культивировании клеток CD34⁺CD38⁻Lin⁻ в присутствии цитокинов (flt3/flk2-лиганд, kit-лиганд, ИЛ-7) без добавления в кондиционную среду клеток стромы эта популяция клеток образует клетки CD19⁺ и CD56⁺ [Humeau L. et al., 1998].

При изучении клоногенных свойств гемопоэтических клеток печени плода человека 6—12 нед гестации установлено, что вне зависимости от возраста число колоний, их размеры и клеточный состав колоний не отличались от таковых при исследовании взвеси клеток костного мозга взрослого человека; 92% колоний были гранулоцитарными, 5% — смешанными и 3% — макрофагальными. В гранулоцитарных колониях 65% клеточных элементов относились к митотическому пулу, а 35% — к постмитотическому. Ультраструктурно в миелобластах определялись хорошо развитый пластинчатый комплекс [Barak Y. et al., 1980].

При клонировании в полутвердой питательной среде взвеси гемопоэтических клеток, полученной из печени плода (сроки гестации 6—27 нед), А.А.Раков и соавт. (1982) установили, что уже на 6—7-й неделе гестации из суспензии клеток образуются гемопоэтические агрегаты. Наибольшее количество миелоидных клеток-предшественниц отмечалось при изучении взвеси клеток печени при 9- и 12-недельных сроках гестации (в не-

сколько раз больше, чем при изучении костного мозга взрослых людей). При первом подъеме (9 нед) преобладают колонии над кластерами, миелопоэз носит моноцитомacroфагальный характер, наблюдается активность клеток-предшественниц эритропоэза. К 21-й неделе гестации отмечается второй подъем — преобладает кластерообразование, в агрегатах определяются в основном миелобласты и промиелоциты, иногда зрелые гранулоциты, спонтанный эритропоэз отсутствует.

Печеночный гемопоэз достигает максимума к 18—20-й неделе гестации, а затем гемопоэтическая активность печени снижается, и в III триместре основной клеточный состав представлен клетками эритроидного ростка. К моменту рождения ребенка кроветворение в печени прекращается, хотя в течение 1-й недели жизни ребенка у него в печени могут обнаруживаться единичные гемопоэтические элементы (см. рис. 1).

Селезеночный этап кроветворения возникает с 12-й недели гестации. Первоначально в селезенке определяются грануло-, эритро- и мегакариопоэз. С 15-недельного срока гестации появляются лимфоциты [Titens W. et al., 1987]. В возрасте 19—25 нед внутриутробного развития плода 85% клеток селезенки представлены клетками лимфоидной природы, появляются лимфоциты с внутриклеточным содержанием IgG и IgM.

При культивировании клеток селезенки плодов 18—24-недельного возраста в полутвердой среде Howell установлено, что до 80% колоний составляют моноцитомacroфагальные; относительное содержание коммитированных клеток миелондного ряда в 5 раз больше, чем в костном мозге взрослого человека. Кроветворение в селезенке достигает максимума к 4 мес гестации, а затем идет на убыль и прекращается прибли-

тельно к 6½ мес внутриутробного развития плода. В. Wolf и соавт. (1983) считают, что селезенка играет роль не столько органа фетального гемопоэза, сколько места секвестрации клеток.

Сокращение экстрамедуллярного кроветворения совпадает с появлением первых признаков костномозгового гемопоэза. Последняя анатомическая фаза гемопоэза возникает приблизительно к 4 мес гестации.

К 8-недельному сроку гестации появляются рудименты хряща длинных трубчатых костей с одновременным появлением клеток-предшественниц остеокластов (CD68⁺), CD34⁺-эндотелиальных клеток и преостеобластов. Костномозговые полости начинают формироваться в хрящевых рудиментах длинных костей вследствие развития сосудов внутри промежуток, сформированных благодаря активности макрофагально-опосредованного хондролитизиса. Между оссифицирующими трабекулами происходит формирование сосудистых синусов. Первые признаки эндогенного эритро- и гранулоцитопоэза появляются у плода 11-недельного срока гестации в области первично-образованного хряща вокруг артериол, в стромальной мезенхимной области. Гемопоэтические клетки ограничены CD34⁺-клетками эндотелия. Сосудистые структуры, включающие эндотелиальные клетки и гладкомышечные актин-экспрессирующие перicyты, представляют на данном этапе главный стромальный компартмент зарождающегося костномозгового гемопоэза [Labastie M. et al., 1997]. В развивающемся костном мозге CD34⁺-гемопоэтические клетки не обнаруживаются [Peault B. et al., 1995]. По данным L.Chen и соавт. (1976), первоначально костный мозг возникает в телах позвонков у плода, размером 95 мм (13 нед гестации).

В.И. Ругаль и соавт. (1987) указывают на то, что у плодов 11—14 нед

гестации в подвздошной кости определяются незрелые гемопоэтические клетки и Эр, а в возрасте 23—27 нед гестации обнаруживаются элементы всех трех ростков кроветворения на всех стадиях развития. В возрасте 13—14 нед гестации появляются первые очаги кроветворения в диафизах плечевой и бедренной костей. В возрасте 18—20 нед гестации менее 40% костномозговых клеток представлено клетками эритроидного ростка, а нейтрофильный составляет менее 15%. Появлению гранулоцитарных клеток предшествует появление макрофагов (как и в печени плода), соотношение макрофагов к нейтрофилам уменьшается обратно-пропорционально срокам гестации [Ohls R. et al., 2000].

На основе изучения гистологических срезов с использованием МА против гемопоэтических и эндотелиальных клеток, клеток стромы, фибробластов и клеток гладкой мускулатуры в течение развития костномозгового кроветворения у эмбриона и плода человека выделяют 5 стадий [Charbord P. et al., 1996].

I стадия (гестационный возраст 6,6—8,5 нед). Определяются исключительно хрящевые рудименты. Хондроциты расширены и в капиллярах обнаруживаются CD34⁺-эндотелиальные клетки, располагающиеся в перихондриальной части мезенхимы.

II стадия (гестационный возраст 8,5—9 нед). Происходит активный процесс хондролитиза, в костномозговых полостях выявляются CD68⁺-клетки.

III стадия (гестационный возраст 9—10,5 нед) характеризуется развитием сосудистой сети при отсутствии признаков гемопоэза. В средних участках диафиза определяются специфические структуры, в которых наблюдаются маленькие участки соединительной ткани, окруженные вокруг артериол CD45⁺-клетками, отделенные от окружающего синуса CD34⁺-

эндотелиальными клетками. Эти участки примыкают к α SM актину⁺ миоидных клеток.

IV стадия (гестационный возраст 10,5—15 нед). Определяются начальные признаки гемопоэза. Кроветворные клетки обнаруживаются в первичных островках, которые увеличиваются в размерах. Эти участки находятся только в диафизе, содержат гемопоэтические клетки, пронизаны сосудистыми синусами. Большинство из этих клеток составляют CD15⁺-миелоциты, редко гликофорин A⁺ незрелые эритроидные клетки и CD34⁺-не эндотелиальные клетки. Гемопоэтические клетки находились в контакте с α SM актином⁺ миоидных клеток.

V стадия (гестационный возраст 16 нед и более) характеризуется окончательной организацией длинных костей, в которых определяются полностью кальцифицированные участки и гемопоэз.

На основании этих данных P.Charbord и соавт. (1996) считают, что главными признаками начала гемопоэза в длинных костях является отсутствие CD34⁺-гемопоэтических клеток-предшественниц, превалирование гранулоцитопоэза, исключительно развитое в специфических структурах, которое организовано сосудистыми клетками. Можно также полагать, что клетки CD68⁺ участвуют в процессе хондролитиза, а сосудистые клетки (эндотелиальные и миоидные) могут быть главными участниками формирования микроокружения в период становления кроветворения в костном мозге.

У плода 13 нед гестации содержание в костном мозге клеток CD34⁺CD19⁺ составляет около 30%, и к 20-недельному сроку их содержание снижается до 10%. В то же время процент клеток CD34⁺CD19⁻ в костном мозге в эти периоды оставался неизменным. К 22 нед гестации содержание гемопоэтических

стволовых клеток в костном мозге составляет 1,6%. Эти изменения в распределении содержания гемопоэтических клеток в течение развития плода следует учитывать для выбора времени трансплантации стволовых клеток *in utero* [Lim F. et al., 1995].

Среди костномозговых элементов выявляются клетки $CD34^+CD4^+$ и $CD34^+CD4^-$. Обе фракции этих клеток поддерживают рост В-лимфоцитов и миелоидных элементов. $CD34^+CD4^+$ также экспрессировали АГ $CD13^-$ и $CD33^-$ [Muench M. et al., 1996].

Как известно, в последние два десятилетия успешно развивается новое направление в трансплантологии — пересадка стволовых клеток *in utero*, получение гемопоэтических стволовых клеток из органов плодов (печень, костный мозг) для пересадок в постнатальном периоде [Maggio A et al., 1997; Touraine J.-L. et al., 1997; Wengler G. et al., 1997; Zanjani E. et al., 1997], поэтому важное значение приобретает изучение не только локализации, свойств и количества гемопоэтических клеток, но и их пролиферативный потенциал. Существенный вклад в этот вопрос внесли A.Wul и соавт. (1997), которые установили, что клетки костного мозга плода имеют отчетливые преимущества для трансплантации по сравнению с другими источниками получения гемопоэтических стволовых клеток, поскольку в фетальном костном мозге:

1) более высок процент клеток $CD34^+$;

2) более высокая клоногенная способность гемопоэтических клеток;

3) гемопоэтические клетки обладают низкой иммунореактивностью, что выявляется в реакции смешанной культуры лимфоцитов.

В отличие от стволовых клеток, полученных из других источников, (см. приложение 1), клетки из фетального костного мозга обладают

более высоким пролиферативным потенциалом — отмечается более высокий процент клеток, находящихся в S- и G₂/M-фазах клеточного цикла деления. Высокое активное состояние клеток костного мозга плода будет способствовать увеличению приживляемости этих элементов и является одним из решающих факторов для их получения для генной терапии, т. е. костный мозг плода обладает наибольшей потенцией для восстановления гемопоэза у реципиента [Casadevall N. et al., 1995; Wul A. et al., 1997].

M.Michejda и соавт. (1997) изучали фенотипическую характеристику костного мозга плода, пуповинной крови и костного мозга взрослых людей.

Костный мозг получали у плода на II триместре развития. Авторы определяют содержание клеток $CD34^+$, клоногенный и пролиферативный потенциал и иммунологическую реактивность (см. приложение). Установлено, что имеются отчетливые различия как свойств, так и числа гемопоэтических клеток костного мозга плода от таковых в пуповинной крови и костного мозга взрослых: по сравнению с последними в костном мозге плода во много раз увеличено количество клеток $CD34^+$, клоногенный и пролиферативный потенциал и низкая иммунологическая реактивность (в 3—6 раз). Все эти данные дают основание трансплантировать костномозговые клетки плода для восстановления числа стволовых клеток у реципиента и генной терапии, поскольку клетки костного мозга плода обладают оптимальными свойствами для приживания без развития БТЛХ [Michejda M. et al., 1997].

В возрасте 12—20 нед гестации у плода среди лимфоидных элементов преобладают пре-В-клетки. По мере развития скелета костномозговое кроветворение играет все большую

роль, и в возрасте 30 нед гестации костный мозг представлен всеми элементами гемопоэза, и он является основным источником образования форменных элементов крови.

С 32-недельного возраста плода и до рождения ребенка все костномозговые полости заполнены гемопоэтическими клетками, т. е. объем костного мозга равен объему гемопоэтических клеток. К моменту рождения ребенка кроветворение практически полностью ограничено костным мозгом (см. рис. 1). Однако относительный объем костного мозга плода и новорожденного ребенка значительно меньше, чем у детей более старшего возраста и взрослых. Это объясняется тем, что большая часть скелета плода является хрящевой, и длинные кости конечностей пропорционально меньше. Актуальный же объем костного мозга приблизительно соответствует общему объему гемопоэтических клеток. Поэтому единственным путем, которым плод или новорожденный ребенок может значительно увеличить гемопоэз, — это реактивный или персистирующий экстрамедуллярный гемопоэз, главным образом в брюшной полости (печень, селезенка). Классическим примером является фетальный эритробластоз, при котором возникает висцеральный гемопоэз.

Развитие лимфоидной ткани и вилочковой железы происходит относительно рано (см. схему 1). Так, зачатки вилочковой железы наблюдаются уже у 8-недельного эмбриона.

В течение онтогенеза вилочковая железа млекопитающих участвует в эритро- и гранулоцитопоэзе. Унитарная концепция, что все клетки крови происходят из общей ГСК, сомнений не вызывает, но считается, что в вилочковой железе наблюдается особый путь созревания мигрировавших $CD34^+$ -гемопоэтических стволовых клеток, и это обусловлено главным образом с регуляцией клетки клеткой

и гуморальным взаимодействием с клетками тимического микроокружения. Наличие интралимфических АГ, необходимость их представления, высокий пролиферативный потенциал кортикальных тимоцитов зависит от развития дендритических клеток (интердигитатных и клеток Лангерганса), макрофагов, эозинофилов и гемопоэтических стволовых клеток. Некоторые клетки $CD34^+$ экспрессируют АГ $CD4^+$, а в других клетках он не определяется. Установлено, что обе фракции клеток — $CD34^+CD4^+$ и $CD34^+CD4^-$ — поддерживают рост Т-клеток в вилочковой железе. Фракция клеток $CD34^+CD4^+$ обогащена гемопоэтическими стволовыми клетками; эта фракция экспрессирует также АГ $CD13$ и $CD33$ [Muench M. et al., 1996]. Небольшое число стволовых клеток находятся в строме вилочковой железы. Большая часть гемопоэтических стволовых клеток образуют гранулоцитарные и эритроидные колонии в межлобулярной соединительной ткани железы в тесном контакте клетка с клеткой, с фибробластами, которые способны к антигенной презентации. Дифференцирующиеся тимоциты образуют также КСФ, необходимые для созревания клеток.

Опыты по пересадке вилочковой железы реципиентам с врожденными иммунодефицитными состояниями показали нормальную толерантность больных, и последние живут до 2—20 лет после трансплантации вилочковой железы без признаков иммунодефицита. В то же время пересадка вилочковой железы от плодов 14-недельных сроков гестации и больше приводила к смерти большинства реципиентов от БТПХ. Эти данные указывают на то, что плод человека становится иммунокомпетентным вскоре после 12-недельного возраста [Hobbs J., 1997].

Лимфоциты вилочковой железы 7—8-недельного эмбриона имеют ядра

неправильной формы с 1—3 нуклеолами. В них не определяются Т-АГ, рецепторы к Эр барана. В возрасте 11—12 нед гестации тимоциты имеют несколько меньшие размеры, появляются рецепторы к Эр барана и Т-АГ [Райцина С.С. и др., 1979]. После 10-недельного срока гестации лимфоцитопоэтическая активность вилочковой железы увеличивается.

Клетки эритроидного ряда, гранулоциты и макрофаги обнаруживаются в вилочковой железе на 10-й неделе гестации. Эритроидные элементы имеют светлое ядро и цитоплазму и находятся на разных стадиях гемоглобинизации. Эозинофилы локализируются между тимическими ретикулоэндотелиальными клетками, а также среди телец вилочковой железы. В этом же участке обнаруживаются сегментоядерные нейтрофилы и макрофаги. Мегакариоциты, тромбоциты наблюдаются на 14-й неделе гестации, а моноциты — на 18-й неделе [Bodey E. et al., 1997].

Первые лимфатические узлы появляются на 10-й неделе гестации, а лимфоидный аппарат кишечника несколько позднее — на 14—16-й неделе. У плода 11 нед гестации в лимфатических узлах обнаруживаются эритробласты и макрофаги, а в возрасте 12 нед — гранулоциты и моноциты. Лимфоциты наблюдаются у 9—12-недельного плода. Наблюдаемый первоначально миелопоэз в лимфатических узлах вскоре сменяется лимфоцитопоэзом и с этого момента прогрессивно увеличивается. К моменту рождения у ребенка определяются 220 лимфатических узлов. Однако окончательное формирование синусов и стромы лимфатических узлов происходит в постнатальном периоде.

Итак, в разные сроки гестации гемопоэз имеет различную органную локализацию, и в некоторые периоды кроветворение происходит одновременно в разных органах. А.И.Во-

робьев и соавт. (1985) высказывают предположение, что при смене преимущественной органной локализации кроветворения происходит перемещение одинаковых стволовых клеток из одного органа в другой, а пролиферация на новом месте иной стволовой клетки. Напротив, D.Miller (1989) считает, что стволовые клетки в различных органах и системах плода имеют единое гистогенетическое происхождение — из желточного мешка. D.Linch и соавт. (1982) отмечают, что у 12¹/₂—19-недельных эмбрионов содержание в крови гемопоэтических клеток-предшественниц грануломоноцитопоэза в 120 раз, а эритроидных — в 50 раз больше, чем у взрослых людей. Эти различия в числе и активности гемопоэтических клеток-предшественниц на разных стадиях развития эмбриона и плода подтверждают концепцию о заселении развивающегося костного мозга циркулирующими гемопоэтическими стволовыми клетками. Эта унитарная концепция об едином гистогенетическом происхождении ГСК в различных органах гемопоэза у плода и эмбриона у человека не оспаривается никем и подтверждена исследованиями M.Muench и соавт. (1996), M.Kirszenbaum и соавт. (1997), M.Teyssier и соавт. (1998).

Гемопоэтические полипотентные клетки-предшественницы мигрируют из печени в костный мозг, вилочковую железу, селезенку, кровь, но причины и механизмы, регулирующие движение этих клеток в эти органы, изучены слабо. Высказывается мнение, что этот процесс может управляться взаимодействием ряда адгезивных молекул, включая хемокины. Для подтверждения этой гипотезы были проведены ряд исследований. Так, A.Shaaban и соавт. (1998) установили, что по мере развития плода происходит утрата адгезивной молекулы VCAM гемопоэтической тканью в печени, и это

приводит к снижению гемопоэза в этом органе. Выраженная экспрессия адгезивной молекулы VLA-4 на гемопоэтических клетках в печени может свидетельствовать о первичной роли этой молекулы в адгезии гемопоэтических клеток к строме печени плода. Увеличение экспрессии CD44 на гемопоэтических клетках может указывать на первичную роль адгезивности гемопоэтических клеток к клеткам костномозговой стромы и на переключение на костномозговой гемопоэз.

M. Poznansky и соавт. (1998) изучали экспрессию адгезивных молекул CCR-5 и CXCR-4 на клетках CD34⁺, выделенных у плодов 16—22 нед гестации из печени, селезенки, костного мозга, вилочковой железы и крови и отметили, что во всех изученных пробах клетки CD34⁺ экспрессировали эти молекулы. Однако ответная реакция этих клеток на хемокины (SDF-1-фактор, выделенный из стромальных клеток, MIP-1 α и MIP- β) была различной: наибольший хемотаксический ответ наблюдался у клеток CD34⁺, выделенных из печени (28%) и костного мозга (24%); в меньшей степени — из селезенки (4,1%) и вилочковой железы (2,8%). Хемокинам принадлежит важная роль в миграции гемопоэтических клеток-предшественниц, и при оседании последних в различных органах они теряют чувствительность к хемокинетическому стимулу, хотя у этих клеток сохраняется экспрессия рецептора к соответствующему стимулу. Количество и потенция клеток CD34⁺ в различных органах плодов 16—22 нед гестации различаются между собой. Так, содержание этих клеток в селезенке составляет 28%, в вилочковой железе — 7%, в костном мозге — 22%, в печени — 23%, в крови — 5%, а CD34⁺CD38⁻ — 6%, 7%, 25%, 27% и 23% соответственно. Число КОЕ (эритроидных и миелоидных) в костном мозге и печени

плодов больше, чем в селезенке и вилочковой железе. Клетки CD34⁺ из вилочковой железы обладают большей способностью к образованию T-лимфоцитов, чем эти же клетки из других органов [Poznansky M. et al., 1998].

Все эти данные указывают на то, что в процессе миграции гемопоэтических клеток-предшественниц важная роль принадлежит адгезивным молекулам. Мигрированные клетки-предшественницы, осевшие в соответствующих органах, приобретают специфические функциональные свойства, которые присущи тканям этих органов, лишняя раз подтверждая роль «зерна» и «почвы».

В разные периоды внутриутробного развития ребенка у него в крови определяются клетки, имеющие различное органное происхождение. Наиболее ранними клетками крови являются эритроидные, среди которых можно выделить 3 генерации: примитивные, первичные и дефинитивные.

Показатели красной крови, числа лейкоцитов и тромбоцитов в различные сроки гестации представлены в приложении 3. Принципиальными особенностями эритроидных клеток плода в отличие от таковых постнатального периода являются то, что средний глобулярный объем фетальной крови более высок, чем у взрослых, и он уменьшается по мере созревания плода.

Характерно наличие в крови плода значительного содержания эритробластов; увеличение количества Эр происходит во II—III триместрах гестации.

Эритропоэз *in utero* контролируется исключительно эритроидными факторами роста. Эпо не стимулирует эритропоэз у плода. Хотя механизм регуляции эритропоэза в постнатальный период у человека известен, однако на сегодняшний день остается открытым вопрос, сущест-

ует ли тот же механизм регуляции в антенатальный период.

В течение I—II триместров гестации Эпо образуется в фетальной печени, моноцитомакрафагальными клеточными элементами. Иногда в течение III триместра и первых недель постнатальной жизни анатомический участок образования Эпо перемещается из печени в почки. Стимулы, вызывающие это перемещение, не выяснены, но, вероятно, в нем играет роль изменение парциального давления кислорода в артериальной крови, наступающее после рождения ребенка. Клинические наблюдения показывают, что для нормального фетального эритропоэза не обязательно наличие Эпо, секретируемого почками; у плодов без почек уровень Эпо в сыворотке крови и гематокритное число остаются нормальными [Ohls R. et al., 2000].

Относительно взаимоотношения эритроидных клеток-предшественниц и факторов роста. БОЕ-Э плодов в культуре тканей созревают в присутствии одного Эпо, без добавления других факторов роста в кондиционную среду, тогда как подобные клетки костного мозга взрослых людей способны созревать *in vitro* только при наличии в питательной среде наряду с Эпо и других факторов роста, например ИЛ-3, КСФ-ГМ.

Мегакариобласты обнаруживаются у эмбриона 5-недельной гестации, а в возрасте 16—21 нед гестации обнаруживаются макротромбоциты.

Первоначально лейкоциты обнаруживаются в центре желточного мешка, а затем в печени, селезенке и костном мозге. У плода 10—20-недельной гестации число лейкоцитов в крови составляет $(0,7...1) \times 10^9/\text{л}$. Миелоциты обнаруживаются на 8-й неделе гестации и в крови плода, длина которого 19 мм, они составляют 15% от содержания всех лейкоцитов. Зрелые нейтрофилы выявляются к 12½ нед гестации, и их

содержание постоянно увеличивается до 28-недельного возраста плода. Эозинофилы обнаруживаются в крови плода, длина которого 64 мм, и их содержание постоянно увеличивается до 20-недельного срока гестации, и после этого срока количество эозинофилов составляет $(0,1...0,2) \times 10^9/\text{л}$. Число моноцитов в крови 14-недельного плода составляет $1 \times 10^9/\text{л}$, а затем постепенно увеличивается, достигая максимума у плода, длина которого составляет 18—24 см.

Лимфоциты в крови появляются на 7—8-й неделе гестации и почти одновременно в вилочковой железе. В крови содержание лимфоцитов составляет 57% от общего числа лейкоцитов. В возрасте 12 нед гестации абсолютное число лимфоцитов составляет $1 \times 10^9/\text{л}$, а к 20—25 нед — $10 \times 10^9/\text{л}$. Несколько позднее, чем в крови, лимфоциты обнаруживаются в лимфатических узлах (10 нед), селезенке (11 нед), слизистой оболочке кишечника (12 нед) и групповых лимфатических фолликулах (15—16 нед). У 10-недельного эмбриона количество лимфоцитов в костном мозге составляет 150 000, в селезенке — 100 000, в вилочковой железе — 15 000. К 13-недельному сроку гестации число лимфоцитов увеличивается в 10 раз, а к 16-й неделе — в 100 раз [Говалло В.И., 1987]. Т-супрессоры обнаруживаются в печени у 8-недельного эмбриона, а в периферической крови — у 14-недельного [Unander A. et al., 1981]. По данным J.Uksila и соавт. (1983), в печени 9-недельного эмбриона обнаруживаются естественные киллерные клетки. Зрелые Т-лимфоциты определяются на 14-й неделе гестации. В этот период на тимоцитах мозгового слоя вилочковой железы определяется экспрессия HLA-A, -B, -C и Ia-подобного АГ [Gilhus N. et al., 1983]. A.Bonati и соавт. (1987) указывают на то, что к 15-недельному сроку гестации в

печени, костном мозге, вилочковой железе определяются клетки, содержащие дезоксирибонуклеотидилтрансферазу. В-лимфоциты также появляются рано — они обнаруживаются у 5—7-недельного эмбриона. В возрасте 11—12 нед гестации в лимфоцитах обнаруживаются поверхностные IgM, которые можно отнести к пре-B-лимфоцитам [Ama G. et al., 1984].

Исследование субпопуляции лимфоцитов крови пупочной вены у плодов 14—22 нед гестации с помощью МА показали, что содержание лимфоцитов с маркером CD2 составляет (73±25)%, CD3 — (65±15)%, CD4 — (48±14)%, CD8 — (17±6)%, CD19 — (20±9)%, CD34 — (6±3)%, CD56 — (22±18)% [Lim F et al., 1995; Muller A. et al., 1998].

По данным D.Linch и соавт. (1982), в крови плодов 12—19 нед гестации число КОЕ-ГМ в среднем составляет 295 на 10^5 мононуклеарных клеток, а БОЕ-Э — 444. Из общего числа колоний, образованных КОЕ-ГМ, 42—68% представлены моноцитарными, 27—41% — нейтрофильными и 5—30% — эозинофильными клетками, очень редко обнаруживались смешанно-клеточные колонии. У плодов более поздних сроков гестации (17—36 нед) общее количество КОЕ (КОЕ-Э, КОЕ-ГМ, КОЕ-смешанные) снижается и составляет в среднем 8,75 на 10^6 мононуклеарных клеток [Eddleman K. et al., 1995]. По данным A.Muller и соавт. (1998), изучавших КОЕ крови плодов 18—29 нед гестации в метилцеллюлозе с добавлением в питательную среду Эпо и ИЛ-3, на 8-й день культивирования число эритроидных колоний составляет в среднем 28,3 на 10^5 мононуклеарных клеток, а КОЕ-ГМ — 38,8; на 14-й день культивирования они составляли 45,3 и 60,2 соответственно.

Количество ядерных клеток в крови плода в I триместре больше (в среднем $58,8 \times 10^9/\text{л}$), чем во II

($20,2 \times 10^9/\text{л}$) и в III ($18,5 \times 10^9/\text{л}$) триместрах. Напротив, общее число гемopoэтических клеток-предшественниц нарастает по мере увеличения сроков гестации: в I триместре в крови определяется 21,5 на 10^5 ядерных клеток, во II — 245,9 на 10^5 ядерных клеток и в III — 250,6 на 10^5 ядерных клеток. В I триместре у плода в крови преобладают КОЕ-ГЭММ (20,2 на 10^5 ядерных клеток) и в незначительном числе встречаются БОЕ-Э (0,2 на 10^5 ядерных клеток) и КОЕ-ГМ (3,8 на 10^5 ядерных клеток); во II триместре число КОЕ увеличивается и составляет КОЕ-ГЭММ, БОЕ-Э и КОЕ-ГМ в среднем 98,9, 58 и 86,3 на 10^5 ядерных клеток соответственно, а в III триместре число этих КОЕ составляет 72,6, 130,8 и 46,5 на 10^5 ядерных клеток соответственно. Во все сроки гестации колонии из КОЕ-ГЭММ крупные, число клеток в одной колонии составляет в среднем $15,5 \times 10^3$, $18,7 \times 10^3$ и $19,6 \times 10^3$ в I, II и III триместрах соответственно. Эти колонии состоят в основном из эритробластов, нейтрофилов и макрофагов. Также установлено, что у плода I триместра гестации в циркулирующей крови определяются стромальные клетки-предшественницы [Campanoli C. et al., 1998].

Пуповинная кровь плодов 19—29-недельных сроков гестации содержит значительно больше клеток $CD34^+$, чем кровь новорожденных детей (в среднем 0,33%), при этом содержание клеток $CD34^+$ в крови обратно пропорционально срокам гестации. Количество ранних клетко-предшественниц ($CD34^+CD45R_{a\beta}^{\text{lo}}$, $CD34^+CD38^-Thy1^+$ и $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$) у плодов больше, чем у новорожденных детей [Engel H. et al., 1998]. Хотя общее число клеток $CD34^+$ в крови плода незначительно и это лимитирует их использование для аллогенной трансплантации, тем не менее они могут быть использо-

ваны для трансплантации и аутологичной генной терапии.

Таким образом, в различные периоды внутриутробного развития человека гемопоэз отличается не только по локализации, но и по характеру преимущественного образования различных клеток крови. Механизмы, ответственные за изменение локализации крове-

творения, как и причина преимущественного образования тех или иных клеток крови в желточном мешке, печени и костном мозге, окончательно не выяснены. К моменту рождения ребенка основным гемопоэтическим органом является костный мозг, продуцирующий все клеточные элементы периферической крови.

КОСТНЫЙ МОЗГ

Костный мозг представляет собой структуру, в которой происходят пролиферация и дифференциация гемопоэтических клеток, в конечном итоге которых образуются форменные элементы крови. Этот процесс происходит благодаря особенностям васкуляризации костного мозга и наличию в нем стромальных клеток, которые регулируют гемопоэз.

Как уже отмечалось в предыдущем разделе, у человека выделяют фетальный и эмбриональный гемопоэз, топически это в желточном мешке, печени и костном мозге. Каждой стадии развития гемопоэза предшествует образование стромальных клеток, которые происходят из адвентиции артерий.

Первые признаки костномозгового кроветворения возникают приблизительно с 4-месячного срока гестации, и в последующие месяцы внутриутробного развития плода общий объем костного мозга быстро увеличивается, достигая максимума к 30 нед гестации. В последние 10 нед внутриутробного развития плода объем костного мозга существенно не изменяется.

Макроскопически активный (гемопоэтический) костный мозг имеет красную окраску за счет его обогащения клетками эритроидного ряда, Эр. Неактивный костный мозг желтого цвета и состоит в основном из адипоцитов.

К моменту рождения и до 4 лет у ребенка все кости, костномозговые

полости, исключая терминальные части фаланг пальцев, заполнены гемопоэтическими клетками. У доношенного новорожденного ребенка общий объем костного мозга колеблется от 16,4 до 43,9 мл, а по отношению к массе тела составляет $(1,4 \pm 0,14)\%$. Если пересчитать объем костного мозга на общий объем скелета ребенка, то это составляет $(39,9 \pm 2,6)\%$. В то же время объем костного мозга у взрослого относительно больше, чем у ребенка, и составляет 4,6% от массы тела. Меньший объем костного мозга у новорожденного, чем у детей старшего возраста и взрослых обусловлен тем, что большая часть скелета у ребенка является хрящевой, длинные кости относительно малы, а общий объем костномозговых полостей меньше. Иначе говоря, актуальный объем гемопоэтического костного мозга у новорожденного равен объему костного мозга. Этим и объясняется то обстоятельство, что при ряде патологических состояний, когда происходит повышенная деструкция клеток крови у детей, нет возможности увеличить продукцию в костном мозге за счет его резервов, и поэтому происходит реактивация гемопоэза в других органах (печень, селезенка и др.) с увеличением их размеров, т. е. у детей первых месяцев жизни легко возникает возврат к эмбриональному типу кроветворения.

Приблизительно с 4-летнего возраста у детей происходит инволюция

многих участков костного мозга, в диафизах длинных трубчатых костей выявляются жировые клетки, количество которых постепенно увеличивается. Нарастает объем полостей. В последующие годы этот процесс продолжается, и к 16—18-летнему возрасту красный костный мозг сохраняется только в телах позвонков, ребрах, грудине, костях таза и черепа, в проксимальных частях плечевых и бедренных костей (см. рис. 1). У ребенка с массой тела 15 кг общая масса костного мозга составляет 1—1,4 кг, а у взрослого — 1,2—1,5 кг. Наиболее активные участки кроветворения определяются в костях с большим содержанием губчатого вещества.

Характерной особенностью костного мозга является его обильная васкуляризация, способствующая снабжению костного мозга питательными веществами, стимулирующими факторами, проникновению зрелых элементов в кровь. Артерии, которые питают костную ткань, в центре кости разветвляются. Внутри кости располагаются крупные венозные синусы, артериолы направлены к периферии костномозговых полостей, которые оканчиваются капиллярами, чаще всего располагающихся в корковом слое. Эти капилляры трансформируются в синусоиды, а затем вновь возвращаются в костный мозг. Синусоиды окружены множеством анастомозов, которые собираются в центральные синусоиды и вены.

При гистологическом исследовании костного мозга хорошо видны эндотелиальные клетки синусоидов. Эндотелий капилляров синусоидов пронизан гемопозитическими клетками-предшественниками. Последние образуют экстравакулярно гемопозитические «ниши». Сквозь эндотелий капилляров зрелые элементы проникают в циркулирующую кровь.

Клетки, которые образуют гемопозитические «ниши», представлены

стромальными элементами, которые поддерживают остов костномозговой ткани. К стромальным элементам относятся фибробласты, адипоциты, эндотелиальные клетки и остеобласты. В процессе образования «ниши» участвуют молекулы экстрацеллюлярной матрицы (коллаген, лиминин, фибронектин, протеогликаны и др.) и цитокины, находящиеся на клеточной мембране и экстрацеллюлярной матрице. Как уже отмечалось, для процесса пролиферации и дифференциации клеток гемопоэза необходим контакт между клетками стромы и кроветворными элементами. Этот контакт между ними может быть прямым (клетка — клетка) либо косвенным, путем секреции молекул, регулирующих гемопоэз. Стромальные клетки также участвуют в процессе адипо- и остеогенеза. Во взаимодействии стромальных и гемопозитических клеток важную роль играют адгезивные сосудистые молекулы и интегрины, а также гомологичные рецепторы на гемопозитических клетках при адгезии последних к фибробластам костного мозга.

Фибробласты костного мозга, их еще называют миелофибробластиками, клетки ретикулярной стромы, адвентициальные клетки костного мозга и другие играют важную роль в гемопоэзе. Они синтезируют молекулы коллагена, экстрацеллюлярной матрицы (протеогликаны, ламинин, фибронектин). В костномозговой ткани они образуют сетевидные образования в виде колец.

В костном мозге определяются адипоциты. Их количество может увеличиваться при снижении миелопоэза (например, при АА) и снижаться при увеличении миелоидных клеток (лейкозы).

Экстрацеллюлярная матрица образована сетью молекул, которые синтезируются стромальными клетками. В нормальном костном мозге редко наблюдаются зрелые нити кол-

лагена I-го типа, так как они располагаются исключительно в периваскулярной зоне крупных сосудов. Сеть нитей, называемых ретикулинами, относится к гликопротеинам; их еще называют коллагеном 3-го типа. В петлях этой ретикулиновой сети, которая окружает синусы, располагаются гемопоэтические клетки. Коллаген 4-го типа, синтезируемый эндотелиальными клетками, составляет основу большинства базальных мембран, окружает наружную поверхность эндотелия сосудов.

Макромолекулы, которые относятся к нефибриллярным компонентам матрицы, составляют экстрацеллюлярную матрицу. Они образуют агрегаты и участвуют в перемещении воды, регулируют так называемый феномен интерстициальной диффузии, стабилизируют фибриллы коллагена, участвуют в адгезии гемопоэтических клеток-предшественниц к ткани-подложке, могут воздействовать на факторы роста, увеличивая их активность *in situ*. Гликозаминогликаны могут фиксироваться к молекулам экстрацеллюлярной матрицы, к таким как фибронектин и к гемопоэтическим факторам роста (КСФ-ГМ, ИЛ-3), увеличивая их влияние на процесс пролиферации гемопоэтических клеток. Гепарансульфаты играют роль во взаимодействии между клетками стромы и гемопоэтическими клетками-предшественницами. Фибронектин обеспечивает адгезию гемопоэтических клеток, в частности клеток эритроидного ростка, а гемонектин — клеток гранулоцитарного ростка. Ламинин, являющийся гликопротеином, определяется на базальных мембранах клеток; он способствует проникновению макромолекул.

Вблизи синусоидов, в адвентиции костного мозга в изобилии определяются макрофаги, происходящие из КОЕ-ГМ. Макрофаги необходимы как для процесса созревания гемопо-

этических клеток, так и для фагоцитоза ядер, выделенных из зрелых клеток эритроидного ряда, апоптозных и поврежденных клеток. Макрофаги окружены эритроидными клетками разной стадии созревания, которые тесно прилипают к макрофагам, образуя так называемые эритробластические островки. Адгезия эритроидных клеток к макрофагам необходима для окончательного созревания клеток эритроидного ростка и их энуклеации. В формировании этих эритробластических островков активное участие принимает адгезивная молекула VCAM-1, а на эритробластах — соответствующий рецептор, а также α -интегрин VLA4.

Клетки миелоидного ряда расположены между сосудами эндоста, в соприкосновении с адипоцитами и клетками костномозговой стромы. Компартмент пролиферирующих миелоидных элементов располагается эндостально и периэндотелиально. Эндостальный юкстатрабекулярный (рядом с трабекулами) участок более богат гемопоэтическими клетками-предшественницами и активными стромальными элементами. Это же относится и к клеткам костного мозга, прилежащих к эндотелию сосудов.

Напротив, центральный участок костного мозга представлен в основном компартментом созревающих клеток миелоидного ростка.

Гемопоэз лимфоидных клеток в костном мозге распределяется в виде лимфоидных бугорков.

Для оценки костномозгового кроветворения наиболее распространенным в клинической практике методом является пункционный со взятием аспирата.

Из последнего приготавливают мазки, которые окрашивают и производят парциальный подсчет клеток костного мозга. Нормальные показатели костномозгового пунктата представлены в приложениях 4—8.

Костномозговой пунктат представлен различными клетками, как гемопоэтического, так и не гемопоэтического происхождения. Поскольку морфология этих клеток описана во всех классических руководствах и монографиях, посвященных гематологическим аспектам и лабораторной диагностике, мы на этом вопросе не останавливаемся и лишь опишем клетки эритроидного ростка, поскольку книга посвящена анемиям.

Морфологически распознаваемыми клетками эритроидного ряда являются:

— эритробласт — первая морфологически распознаваемая клетка эритроидного ряда; его диаметр 15—20 мкм; ядро занимает большую часть клетки, имеет нежно-сетчатую структуру, содержит несколько нуклеол; цитоплазма в виде узкого ободка окружает ядро, резко базофильна, без просветлений в перинуклеарной зоне;

— пронормоцит — напоминает эритробласт, но в отличие от него диаметр несколько меньше, структура хроматина более грубая, местами утолщена, более компактна, отсутствуют нуклеолы; отчетливо выявляется зона просветления;

— нормоцит базофильный — имеет диаметр 16—18 мкм; ядро округлой формы, имеет грубую структуру хроматина с чередованием темных и светлых участков, напоминая колесо со спицами; цитоплазма базофильная;

— нормоцит полихроматофильный — отличается от базофильного окраской цитоплазмы;

— нормоцит оксифильный — по величине приближается к Эр, имеет небольшое пикнотичное ядро, оксифильную цитоплазму.

По мере гемоглобинизации цитоплазмы, которая начинается с перинуклеарной зоны, происходит инволюция ядра, пикноз. Нормоцит чаще освобождается от ядра путем карео-

рексиса. Однако денуклеация возможна путем кариолизиса, распада ядра; остатки последнего в Эр определяются в виде телец Жолли, колец Кебота, азурофильной зернистости.

В приложениях 7 и 8 представлены данные о морфологии эритрокариоцитов и эритробластограммы.

При оценке состояния кроветворения важное значение имеет и качественная, и количественная характеристики клеток пунктата костного мозга. Процентное содержание клеточных элементов костномозгового пунктата называется миелограммой. Кроме того, определяют абсолютное число миелокариоцитов и мегакариоцитов.

Следует помнить, что на показатели миелограммы влияют техника взятия костного мозга — чем более он разбавлен кровью, тем менее информативны данные.

У недоношенных детей в возрасте до 2 мес (см. приложение 4), содержание бластных элементов и соотношение клеток миелоидного ряда соответствуют таковым у здоровых доношенных детей.

Характерной особенностью миелограммы является значительный процент лимфоцитов, содержание которых в первые сутки после рождения составляет 11,2%, и оно постепенно увеличивается, достигая максимума к 1-месячному возрасту. Следующей особенностью миелограммы недоношенных детей является высокое содержание клеток эритроидного ряда, процент которых максимален в первые сутки после рождения ребенка (32%); в последующие дни процентное содержание эритрокариоцитов уменьшается и колеблется в пределах 9,7—28%.

У доношенных детей (приложение 5), по данным Ю.Е.Малаховского (1963), в отличие от недоношенных детей содержание лимфоцитов в первые дни после рождения ребенка несколько меньше; в последующий

период процент лимфоцитов нарастает, достигая максимума к первому полугодию, а затем снижается и в возрасте до 3 лет колеблется в пределах 10,2—17,85%.

Содержание других клеточных элементов костного мозга существенно не различается. У детей возрасте от 3 до 6 лет и от 7 до 14 лет показатели миелограммы отличаются только по содержанию лимфоцитов, процент которых более высок у детей младшей возрастной группы (см. приложение 6).

В клинической практике используют также метод прижизненного гистологического исследования костного мозга. Он имеет преимущества перед пункционной аспирационной биопсией, так как позволяет рассмотреть костный мозг как орган, с количественной оценкой резервов кроветворения, определить взаимоотношение отдельных тканей. Изучение биоптата костного мозга, особенно когда пунктат беден костномозговыми элементами, в сочетании с миелограммой позволяет более полно охарактеризовать клеточный состав костного мозга и его структуру. Интерпретация биоптата улучшилась в связи с прогрессом иммуногистологии, позволяющей идентифицировать тип клеток в норме и при патологических состояниях. Различные клеточные элементы могут быть оценены и иммуногистохимическими методами. Например, эритробласты — антигликофоринными АТ, гранулоциты — анти-CD15-, мегакарициты — анти-CD61-, макрофаги — анти-CD68-АТ; идентификация костномозговых лимфоидных гемопатий — с помощью CD20 АТ (В-клетки) и CD3 (Т-клетки) [Bryon P.-A., 1998].

В педиатрии метод трепанобиопсии используется сравнительно редко; обычно ее проводят (не всегда) при определении степени гипоплазии костномозгового кроветворения в целом или отдельных ростков его

составляющих, при подозрении на организацию атипичных структур (миелосклероз, миелофиброз и др.), оценке полноты ремиссии и др. Получаемый трепанат костного мозга имеет вид столбика — по его краям корковые слои кости, а в центре — губчатая кость. В зависимости от цели исследования полученный трепанат подвергают соответствующей обработке и окраске.

По данным Л.П.Счастливецовой (1967), костный мозг подвздошной кости здоровых детей в возрасте 4—14 лет характеризуется неравномерным распределением костных балок, разной их толщиной, и это отражается на процентном содержании костной ткани в разных полях зрения одного и того же препарата (18—44%). У детей младшего возраста в отдельных костных балках могут определяться островки хрящевой ткани. Эндост представлен в виде цепочки из остеокластов, тесно прилегающих к костной ткани. Костномозговые пространства имеют различную величину, представлены жировой и миелоидной тканью. Распределение клеток миелоидной ткани неравномерное, и это отражается при подсчете числа миелокарицитов в разных полях зрения (от 143 до 713 клеток и более). Среднее количество миелокарицитов с учетом коэффициента сморщивания (0,2) у детей 4—7 лет составляет 261, а у детей 8—14 лет — 337,7 или 1 522 400 и 1 430 000 в 1 мм³ среза соответственно. Число мегакарицитов в 1 мм³ среза существенно не различается у детей в возрасте от 4 до 7 лет (3030±296) и 8—12 лет (3290±251). В окрашенных гистологических препаратах костного мозга у здоровых детей эритрокарициты распределяются очагово; мегакарициты по полям зрения располагаются неравномерно, а клетки гранулоцитопоза — равномерно.

У взрослых соотношение костной ткани и заполняющего межбалочные

пространства костного мозга различно. В губчатой ткани хорошо видны костные пластинки и балки, соединенные в различных направлениях. Поверхность кости покрыта эндостом. Хорошо видна пластинчатая структура костной ткани. Пространства между костными пластинками заполнены костным мозгом. В утолщении костной ткани, особенно вблизи коркового слоя, часто определяются небольшие полости, заполненные костным мозгом.

Нормальная костномозговая ткань содержит 30—55% жира. Жировые клетки не всегда располагаются равномерно, иногда они занимают значительную часть гистологических препаратов, приготовленных из трепаната, и это может служить поводом для ошибочных заключений. Костный мозг здоровых людей имеет полиморфный клеточный состав. Для полноценного костного мозга характерно наличие мегакариоцитов во всех полях зрения. Различимы эозинофилы, которые имеют тенденцию к отдельным скоплениям; эта же тенденция свойственна и для клеток эритроидного

ростка. Более точная дифференциация клеток костного мозга возможна лишь в препаратах-мазках, одновременно приготовленных и окрашенных гематологическими методами, при использовании МА.

В гистологических препаратах различимы сосуды. Иногда обнаруживаются пучки волокнистой ткани, обычно примыкающие к эндосту, но ограниченное расположение волокон позволяет исключить системный характер их происхождения. Если использовать специальные методы окраски (пикрофусцином, азокармином, соли серебра), можно выявить нежную сеть ретикулиновых волокон с утолщениями по ходу сосудов и крупных синусов. Редко встречаются остеокласты или же остеобласты.

Таким образом, знание физиологии кроветворения, клеточного состава костного мозга и его архитектоники с учетом возраста позволяет избежать ошибочных заключений. Использование различных методов окраски, МА позволяет более точно охарактеризовать клеточный состав костного мозга.

АПОПТОЗ

Апоптоз — это запрограммированная гибель клетки, он наблюдается в нормальных физиологических условиях. Апоптоз впервые был открыт J.Kerr и соавт. в 1972 г. и с тех пор интенсивно изучают механизмы его развития как в физиологических условиях, так и при ряде патологических состояний.

В отличие от некроза, при апоптозе гибель клетки запрограммирована, и этот процесс является физиологическим [Willie A. et al., 1980]. Апоптоз является активным процессом, требует активации генетической программы, последствием которой являются морфологические изменения клетки, фрагментация ДНК ге-

нома, нарушение связей между белками клеток [Lin J.-D., 2001]. В процессе апоптоза наблюдаются ряд морфологически различных изменений в клетке: происходит конденсация ядра и цитоплазмы, фрагментация и фагоцитоз дериватов клетки. В отличие от некроза при апоптозе клетки выглядят сморщенными, в них хорошо сохранена внутренняя и внешняя мембраны, в нейтрофилах сохранены органеллы, включая гранулы, вокруг клетки нет признаков воспаления. В течение апоптоза происходит фрагментация ДНК ядра на (олиго)нуклеосомы, тогда как при некрозе этого не наблюдается. С помощью FACS-анализа можно он-

ределять число клеток, находящихся в апоптозе, так как при нем снижается флюоресценция ДНК [Bursch W. et al., 1993]. In vivo апоптозные клетки быстро поглощаются макрофагами.

Апоптоз генетически регулируется. В процессе апоптоза схематично можно выделить несколько стадий: начальную, генетической регуляции и действия эффекторных механизмов. Пусковыми факторами апоптоза могут быть противоопухолевые препараты, ультрафиолетовые и γ -лучи, утрата ростовых факторов, вызывающих выживание клеток (например, ИЛ-1), различные цитокины, активирующие «рецепторы смерти» (например, FAS- и ФНО-рецепторы). Все эти стимуляторы, инициирующие апоптоз через различные эффекторы, способствуют появлению метаболических изменений в клетке. Это приводит к деградации геномного ДНК с появлением нуклеосомальных фрагментов. В регуляции этого процесса вовлечены многие гены [Sperandio S. et al., 2000].

Наиболее хорошо изученными генами является семейство генов bcl-2, и в апоптоз вовлечены по меньшей мере 20 членов этого семейства. Некоторые из них являются проапоптозными, или «генами смерти» (gen *bad*), а другие — антиапоптозными, или «генами выживания», которые включают в себя собственно ген bcl-2. Ген супрессии опухоли p53 является апоптозным, и он определяется на клетках CD34⁺ нормального костного мозга. Основными эффекторами апоптоза является семейство протеаз, называемых каспазами.

Апоптоз проявляется уже на ранних этапах развития плода, обеспечивая очертания различных органов. Он способствует формированию межпальцевых промежутков на руках и ногах. Нарушение механизма апоптоза является важной детерминантой в появлении аномальностей у плода. Так, при облучении беременной сам-

ки мышей, если у ее эмбрионов определяется супрессорный опухолевый ген p53, происходит выкидыш плода, а если p53 отсутствует, то этого не происходит [Nogimura N. et al., 1996]. В процессе развития иммунной и нервной систем у плода внутриутробно происходит избыточное образование соответствующих клеток, но большая их часть погибает путем апоптоза, поскольку клетки не способны обеспечить синаптическую связь и антигенную специфичность [Renahan A. et al., 2001].

У здорового человека ген p53 может ограничивать пролиферацию клеток с поврежденной ДНК путем двух механизмов: 1) путем остановки клеточного цикла деления и 2) путем активации апоптоза [Wallace-Brodeur R. et al., 1999]. Этот двойной механизм и комплексная роль гена p53 хорошо проявляется при использовании химиопрепаратов: либо увеличивается апоптоз аномальных клеток, либо задерживается рост этих клеток и вследствие этого увеличивается резистентность к лекарственным препаратам [Hamilton A. et al., 2000]. Некоторые лекарственные средства, например Vinca alkaloids, которые не повреждают ДНК клетки, могут индуцировать апоптоз клеток через другие пути, независимые от p53. Заболевания, в основе которых лежат клетки с отсутствием мутации гена p53, являются наиболее курбельными [Sjöström J. et al., 2001].

У взрослого человека ежедневно погибают до 10 млрд клеток, и для сохранения баланса необходимо образовывать новые клетки из популяции стволовых клеток. Это возможно лишь при наличии четкой регуляторной системы. Нормальный гомеостаз не является пассивным процессом, он регулируется через апоптоз. По мере развития организма апоптозная реакция в ответ на повреждение ДНК клетки становится менее контролируемой [Sjögren S. et al., 1996].

При апоптозе происходит последовательная активация ряда каспаз, которые являются протеолитическими ферментами. Существуют два главных пути, которые опосредуют апоптоз, активируют каспазы, — это митохондриальный путь и через поверхностные рецепторы. Митохондриальный путь является важным при ответной реакции организма на лечение при наличии аномальных клеток, и он опосредуется белками семейства *bcl-2*. Окончательная гибель этих аномальных клеток с деградированной хромосомной ДНК происходит под действием каскада каспазы, пусковым механизмом которого является цитохром *C*, выделяемый из митохондрий [Reed J. et al., 2000].

Каспазы представляют собой группу цистеиновых протеолитических ферментов, под действием которых происходит расщепление мембраны ядра клетки. Они играют важную роль в *Fas*-индуцированной гибели клетки. Каспазы активируются протеолитическим процессом с образованием *p20/p10* гетеродимеров [Wu D. et al., 1998]. Активация каспазы связана с освобождением ряда апоптогенных факторов из митохондрий клеток, и одним из них является цитохром *C* (holоцитохром *C*). Выделение последнего задерживается *bcl-2* [Garland J. et al., 1997]. К числу ингибиторов каспаз относятся белки семейства ингибиторов апоптоза — *cIAP-1*, *cIAP-2*, *XIAP* и др. [Roy N. et al., 1997].

Каспазы могут активироваться специфическими путями и под действием неспецифических сигналов, например, под влиянием цитотоксических препаратов, радиации. Роль каспазы очень важна в контроле апоптоза — под ее действием происходит реорганизация клетки, подготовка последней к фагоцитозу [Hasslett C. et al., 2001].

Второй путь, способствующий активации каспазы, — через гибель ре-

цептора ФНО клетки. Взаимодействие ФНО с этим рецептором может индуцировать гибель клетки путем активации различных киназных ферментов, которые действуют как вторичные мессенджеры внутри клетки [Smith C. et al., 1994]. К этой же группе активаторов каспазы относятся *Fas*-рецептор и его лиганд — *FasL*, молекулы, которые используются эффекторными иммунными клетками для уничтожения клеток-мишеней [Ju S.-T. et al., 1995; Benoist C. et al., 1997].

Апоптоз играет важную роль в жизнедеятельности и жизнеобеспечении человека. Запуск апоптоза может происходить под действием различных эндо- и экзогенных факторов, разными путями и вовлекать многие функции клеток. Апоптоз защищает организм от неконтролируемой пролиферации клеток, которая может приводить к неоплазии. Неадекватный апоптоз приводит к несоответствующей выживаемости клеток, вследствие чего происходит повышенная аккумуляция клеток и в итоге возникают злокачественные опухолевые заболевания, хронические воспалительные болезни, аутоиммунные заболевания и др. Опухоли возникают при мутации механизмов, контролирующих апоптоз и выживаемость клеток. Так, при фолликулярной лимфоме идентифицирован ген *bcl-2*, который блокирует апоптоз [Sjöström J. et al., 2001]. Мутация гена *p53* также способствует развитию опухолей, так как при развитии мутации отсутствует белок, который «опекает» геном, предупреждает делецию путем апоптоза клеток с поврежденной ДНК. При хронических воспалительных заболеваниях (например, ревматоидный артрит) увеличена выживаемость лейкоцитов, которые у здоровых людей запрограммированы погибать апоптозом. В патогенезе аутоиммунных заболеваний (гепатит, СКВ, некоторые

вирусные инфекции и др.) важную роль играет дисрегуляция процесса апоптоза клеток различных органов и тканей, снижение или ингибция апоптоза. Регуляция апоптоза клеток, которые пролиферируют, может быть ключом для обратного развития прогрессирования болезней [Kiess W. et al., 1998]. Поэтому модуляция процесса апоптоза является одним из факторов, способствующих успешному лечению. Многие нестероидные противовоспалительные препараты корректируют уровень апоптоза [Nicholson D. et al., 2000; Renehan A. et al., 2001]. Напротив, активация процесса апоптоза вызывает гибель клеток, вследствие чего наступает иммунный дефект, как это имеет место при СПИДе [Haslett C. et al., 2001].

Апоптоз играет важную роль в гемопоэзе как в норме, так и при патологических состояниях. Гемопоэз является следствием комплексного действия на кроветворные клетки стимулирующих, ингибирующих и апоптозных сигналов. Гемopoэтические факторы роста и ингибирующие цитокины регулируют функцию гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественниц, опосредуют сигналы апоптоза.

Внутриклеточные механизмы, вовлеченные в регуляцию апоптоза гемопоэтических клеток, продолжают исследоваться и уточняться, но бесспорно, что центральную роль в апоптозе играют семейство белков гена *bcl-2*. К ним относятся собственно *bcl-2*, который был первым идентифицирован, *Bcl-x*, *Mol-1*, *Bax*, *Bad*, *Bag-1*, *Bak*, *A1* и целый ряд других белков; список этих протеинов с каждым годом пополняется. В зависимости от влияния на апоптоз выделяют две группы белков семейства *Bcl-2*:

- 1) ингибирующие апоптоз (*Bcl-2*, *Bcl-x*, *Bag-1*, *A1*, *Mol-1*);
- 2) белки, увеличивающие апоптоз (*Bax*, *Bad*, *Bak*).

Продукты генов этого семейства экспрессированы на гемопоэтических клетках разного уровня. Клетки *CD34⁺* костного мозга и периферической крови экспрессируют *Bcl-2*, *Bax* и *Bcl-x* [Teofili L. et al., 1997]. Стимуляция *CD34⁺* клеток человека Эпо в сочетании или без ФСК *in vitro* уменьшает регуляцию *Bax* и увеличивает *Bcl-x*, *Bcl-2* и *Mol 1*, т. е. отмечается увеличение выживаемости клеток *CD34⁺* в культуре [Josefson D. et al., 1997]. *Bcl-2*, *Bcl-x* и *Bag-1*, являющиеся антиапоптозными членами семейства *Bcl-2*, экспрессированы на гемопоэтических клетках-предшественницах. В процессе дифференциации гемопоэтических клеток продукты этих генов модулированы на клетках эритроидного, мегакариоцитарного, гранулоцитарного и моноцитарного ростков. *Bcl-2* сохраняется на Эр, моноцитах и мегакариоцитах до окончательного их созревания, тогда как *Bag-1* быстро исчезает в Эр, моноцитах и мегакариоцитах, сохраняясь только в гранулоцитах. *Bcl-x* экспрессирован преимущественно на клетках эритроидного ряда [Testa U. et al., 1997]. В процессе дифференциации эритробласта в ретикулоцит происходит прогрессивная аккумуляция белка *Bcl-x* и его мРНК. Это накопление наиболее выражено в течение поздних стадий созревания, когда происходит быстрый синтез гемоглобина; уровень экспрессии *Bcl-x* зависит от Эпо [Gregoli P. et al., 1998].

Одним из важнейших механизмов регуляции эритропоэза является контроль апоптоза Эпо. *In vitro* при отсутствии эритропоэтина в кондиционной среде происходит массивный апоптоз КОЕ-Э, т. е. Эпо действует на эритроидные клетки-предшественницы поздних стадий развития как фактор выживания, а не как фактор пролиферации [Koury M. et al., 1990]. Наличие укороченной формы ЭпоР (EPOR-T) предрасполагает

эритроидные клетки к апоптозу. EPOR-T экспрессирована преимущественно на незрелых эритроидных клетках-предшественницах, максимально на КОЕ-Э, а затем по мере созревания клеток экспрессия EPOR-T снижается [Takano T. et al., 1997]. V.Lacronique и соавт. (1997) выявили, что экспрессия Bcl-2 на эритроидных клетках-предшественницах не является необходимым условием для дифференциации этих элементов. У здорового человека рецептор c-kit и лиганд c-kit играют важную роль не только в регуляции пролиферации эритроидных клеток-предшественниц, но оба эти компонента влияют на активность теломеразы и ингибируют апоптоз ранних клеток-предшественниц [Ratajczak J. et al., 1998].

In vitro и in vivo система Fas-рецептор/Fas-лиганд играет важную роль в возникновении апоптоза в различных органах и системах [Ju S.-T. et al., 1995]. Перекрестная связь Fas рецептора с Fas лигандом укрепляет сигнальный комплекс, индуцирующий смерть (DISC), который состоит из FADD/MORT1 и прокаспазы 8. Последняя, связанная с DISC, активируется и выделяется в цитозоль. Активная каспаза 8 активирует другие каспазы (3, 6, 7 и др.), которые вызывают биохимические изменения при апоптозе [Hirata H. et al., 1998].

Рецептор Fas экспрессирован на многих типах клеток, но FasL определяется главным образом только на активированных Т-лимфоцитах. На клетках CD34⁺ костного мозга экспрессия CD95 mРНК не определяется, лишь единичные CD34⁺ из нормального костного мозга экспрессируют Fas, но его экспрессия резко увеличена на этих клетках у больных с ЛА [Maciejewski J. et al., 1995; Maurilio L. et al., 1998]. Незрелые клетки-предшественницы гемопоэза из печени плода также не экспрессируют Fas (CD95), но в более зрелых клетках

определяется низкая экспрессия этого АГ [Barcena A. et al., 1996]. По данным К. Nagafuji и соавт. (1995), ИФУ и ФНО индуцируют экспрессию Fas на клетках CD34⁺.

Задержка пролиферации и возникновение цитокин-индуцированного апоптоза гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественниц может вызвать ограничение физиологической экспансии нормальных гемопоэтических клеток. В данном случае механизм действия ИФУ осуществляется через Fas-опосредованный апоптоз. В апоптозном пути ключевым каспазным ферментом является ИЛ-1 β -конвертирующий фермент (ICE), который активируется через Fas-систему. Увеличение экспрессии ICE сопровождается повышенным апоптозом лимфоцитов, появляется mРНК ICE в клетках CD34⁺. При наличии в культуре клеток CD34⁺ КСФ содержание белка ICE повышается при добавлении в питательную среду ИФУ и Fas-агонистов. Таким образом, ICE участвует в регуляции апоптоза гемопоэтических клеток-предшественниц [Sloan E. et al., 1997].

Экспрессия Fas, определяемая на гемопоэтических клетках-предшественницах, сохраняется на протяжении дифференциации эритроидных, гранулоцитарных и моноцитарных клеток. Экспрессия Fas задерживает большинство эритроидных клеток на стадии базофильных нормобластов. Под влиянием стимуляции Fas происходит апоптоз эритроидных и гранулоцитарных клеток, тогда как гемопоэтические клетки-предшественницы в состоянии «покоя», мегакариоцитарного и моноцитарного ростков апоптозу не подвергаются. Повышенная экспрессия Bcl-2 и Bcl-x на эритроидных клетках и Bag-1 на клетках гранулоцитарного ростка не защищают их от Fas-индуцированного апоптоза.

Значительное образование FasL происходит на гранулоцитарных

клетках в течение их поздней дифференциации, тогда как на клетках других ростков кроветворения экспрессия FasL отсутствует или же она очень низкая. Это заставляет полагать о потенциальной роли созревания миелоцитов — гранулоцитов в регуляции гемопоэза. Взаимодействие Fas и FasL дифференцированно модулирует рост гемопоэтических клеток, их дифференциацию и апоптоз различных клеточных ростков кроветворения. И в данном случае система Fas/FasL может являться ключевым механизмом в регуляции баланса между эффективным и неэффективным гемопоэзом через эритроидный и гранулоцитарный ростки кроветворения [Testa U. et al., 1997].

ИФУ ингибирует рост и дифференциацию колониеобразующих эритроидных клеток-предшественниц, вызывая их апоптоз. Этот эффект дозозависим, поверхностный рецептор (APR1, CD95) запускает апоптоз после активации его лиганда. В нормальном костном мозге только небольшое количество колониеобразующих эритроидных клеток экспрессируют Fas и при этом на очень низком уровне. При добавлении ИФУ в кондиционную среду культуры костномозговых клеток *in vitro* уже через 6 ч на эритроидных клетках-предшественницах резко увеличивается экспрессия мРНК Fas, а через 12 ч на поверхности клеток определяется Fas-Аг с максимальной экспрессией через 72 ч [Dai С.-Н. et al., 1998]. Под действием этого цитокина на эритроидных клетках увеличивается также экспрессия каспаз 1, 3 и 8, которые вызывают апоптоз этих КОЕ.

В развитии апоптоза участвуют ряд транскрипционных факторов. Так, транскрипционный фактор AP1 индуцирует апоптоз эритроидных клеток, а JAK2 и STAT5, напротив, предохраняют эритроидные клетки-предшественницы от него [Jacobs-

Helber S. et al., 1998; Lawson A. et al., 1998].

В нормальном костном мозге содержание апоптозных клеток составляет $(1,1 \pm 0,6)\%$ [Hirase N. et al., 1997]. По данным А.Аргикян и соавт. (1998), в нормальном костном мозге содержание апоптозных клеток CD34⁺ составляет 20%, CD34⁻CD33⁺ — 7%, CD34⁻CD33⁻CD15⁻ — 10%. При хранении клеток костного мозга при температуре 37°C количество апоптозных клеток увеличивается до 65%, 80% и 70% соответственно. По мнению E.Sloan и соавт. (1997), число апоптозных клеток CD34⁺ в костном мозге — менее 1%. Количество апоптозных гемопоэтических клеток-предшественниц резко увеличивается (в 15 раз и более) при ряде патологических состояний (мегалобластные анемии, анемии при хронических воспалительных заболеваниях, ЖДА, β-талассемия, НbH и др.), и апоптоз кроветворных клеток играет важную роль в патогенезе неэффективного эритропоэза при этих заболеваниях [Hirase N. et al., 1997; Centis F. et al., 2000; Pootrakul P. et al., 2000; Yang G. et al., 2001].

Если еще недавно было распространено мнение, что нежизнеспособные нейтрофилы подвергаются некрозу с последующим разрушением и их поглощением макрофагами, то, согласно последним данным, главным процессом изъятия интактных нейтрофилов и других гранулоцитов из воспалительного очага является апоптоз, который играет важную роль в удалении нейтрофилов из тканей при остром воспалении. Более того, апоптоз является главным, кардинальным процессом, контролирующим длительную функциональную жизнеспособность клетки, которая может быть модулирована различными медиаторами воспаления [Haslett С. et al., 1997].

Установлено, что мембрана нейтрофилов освобождается от рецепто-

ра CD16 (FcγRIII) в процессе апоптоза. Поскольку в процессе апоптоза уменьшается экспрессия CD16, то определение последнего может служить критерием для установления числа неапоптозных (высокая экспрессия CD16) и апоптозных (низкая экспрессия CD16) нейтрофилов. Процесс апоптоза нейтрофилов сопровождается снижением их функциональных способностей (фагоцитоза, секреции гранул, хемотаксиса). При спонтанном апоптозе способность нейтрофилов к адгезии к E-селектину и к CD18-интегриновому лиганду фибриногена снижается. Изменяется уровень экспрессии ключевых рецепторов, которые опосредуют адгезию нейтрофилов: снижается экспрессия D-селектина/селектин лиганда, повышается экспрессия CD11b/CD18-интегринов. Снижение адгезивной способности апоптозных нейтрофилов ограничивает высвобождение из них гистотоксических веществ [Dransfield I. et al., 1995; Homburg C. et al., 1995].

Липополисахариды, КСФ-ГМ, С5а увеличивают жизнеспособность нейтрофилов путем ингибирования процесса апоптоза, повышают их функциональную активность, включая секрецию и хемотаксис. Внутриклеточные механизмы, управляющие апоптозом нейтрофилов, недостаточно изучены, но известно, что в этом процессе играет роль Ca^{2+} . Процесс апоптоза нейтрофилов опосредуется Fas-рецептором (CD95) клетки. Введение здоровым лицам рекомбинантного КСФ-Г вызывает у них значи-

тельное увеличение экспрессии CD95 на нейтрофилах с одновременным уменьшением числа апоптозных клеток [Pullman K. et al., 1998].

Апоптозные нейтрофилы удаляются макрофагами, оставаясь интактными, без выделения из гранул ферментов и медиаторов воспаления. Макрофаги, происходящие из моноцитов, для распознавания апоптозных клеток используют на своей поверхности рецепторы интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ (витронектин рецептор) и CD36 (рецептор тромбоспондина). *In vitro* поглощение нейтрофилов макрофагами может быть модулировано факторами микроокружения и веществами, которые изменяют содержание цАМФ в макрофагах. Фибробласты и мезангеальные клетки также способны распознавать и поглощать апоптозные нейтрофилы *in vitro* [Cox G. et al., 1995; McCutcheon J. et al., 1996].

Таким образом, апоптоз не только определяет жизнеспособность нейтрофилов и их функцию в очаге воспаления, но он контролируется и модулируется внешними медиаторами. В отличие от некроза клетки при апоптозе включается механизм, ограничивающий распространение воспалительного процесса на здоровые ткани [Haslett C. et al., 1997].

Исходя из всего сказанного, можно отметить, что апоптоз играет важную роль в онтогенезе человека. Различные эндо- и экзогенные факторы могут нарушать генетическую регуляцию апоптоза, приводя к различным патологическим состояниям.

ЭРИТРОЦИТЫ

Эр является сложным образованием, характеризуется наличием мембраны, цитоскелета мембраны и гемоглобина, особенностями метаболизма. Все это способствует выполнению этими клетками определенных

функций. Нарушение структуры и метаболизма Эр приводит к преждевременной их гибели, и клинико-гематологически это проявляется в виде синдрома анемии разной степени выраженности.

МОРФОЛОГИЯ И КИНЕТИКА ЭРИТРОЦИТОВ

Как было отмечено, клетками-предшественницами Эр являются ранняя и поздняя БОЕ-Э и КОЕ-Э. Эти клетки отличаются друг от друга преимущественной локализацией, колониеобразующей способностью, чувствительностью к Эпо, способностью продуцировать различные типы гемоглобинов и другими признаками.

Первой морфологически распознаваемой клеткой эритроидного роста является эритробласт. В процессе созревания эритробласт претерпевает ряд морфологических изменений — уменьшается размер клетки, происходит конденсация ядерного хроматина, в цитоплазме накапливается гемоглобин, ядро из центра перемещается на периферию с последующим его кариорексисом, ретикулцит принимает очертания двояковогнутого диска. Эти множественные изменения в эритрокариоцитах являются следствием транзиторных экспрессий различных генов в течение терминальной стадии процесса дифференцировки [Yarlagadda S. et al., 1998]. Инволюция ядра происходит с момента гемоглобинизации — оно становится более грубым, пикнотичным, и после лишения ядра нормоцит превращается в Эр.

Ультраструктурно в цитоплазме проноормоцита определяются большое количество рибосом, расположенных группами, наблюдаются митохондрии, зерна ферритина. Отмечаются две центриоли, окруженные цистернами пластинчатого комплекса. В ядре преобладает эухроматин, определяются ядрышки, не ограниченные мембраной. В норме индекс метки (ИМ) с ^3H -тимидином составляет 70—100%. Методом цитофотометрии установлено, что содержание клеток, находящихся в G_1 -фазе, составляет 1,4—5,5%, в S-фазе — 52—80% и в G_2 -фазе — 15—45%. Средняя

продолжительность митоза — 76 мин. Генерационное время для проноормоцита составляет 20 ч [Жозинец Г.И. и др., 1982].

В базофильных нормоцитах ультраструктурно определяется высокая насыщенность цитоплазмы полисомами (полирибосомами) и митохондриями. Они делятся дважды и длительность их жизни 25 ч. Число базофильных нормоцитов, находящихся в G_1 -фазе, составляет 16—52%, в S-фазе — 52—80%, в G_2 -фазе — 3—15%. ИМ составляет 50—80%, длительность митоза — 91 мин, а генерационное время — 20 ч.

В полихроматофильном нормоците на электронограммах видны агрегаты, состоящие из множества зерен, иногда окруженные мембраной. Число клеток в G_1 -фазе составляет 4—47%, в S-фазе — 46—68%, а в G_2 -фазе — 2—26%. Длительность митоза составляет 10½ мин, а генерационное время — 30 ч. ИМ равен 33—50%.

При электронной микроскопии в оксифильном нормоците эндоплазматическая сеть и пластинчатый комплекс развиты слабо или полностью отсутствуют. Количество и размеры митохондрий значительно уменьшены. Аморфное вещество цитоплазмы равномерно диспергировано, но иногда его несколько больше вокруг рибосом. Встречаются включения железа. Фигур митотического деления не встречается. ИМ равен нулю.

В результате четырех делений эритробласта в конечном итоге образуются 8—32 Эр [Sébahoun G., 1998].

В процессе гемоглобинизации цитоплазмы в эритрокариоцитах параллельно происходит инволюция ядра — оно становится сморщенным, пикнотичным, клетка лишается ядра и превращается в Эр. Однако вследствие диссоциации в созревании ядра и цитоплазмы в нормальных условиях часть полихроматофильных нор-

моцитов теряют ядро, превращаясь в ретикулоцит (Рц). Последний является незрелым Эр. В нем определяется сетчатая субстанция, которая является артефактом и состоит из агрегированных митохондрий, пластинчатого комплекса, рибосом и других органелл. При прижизненной окраске (бриллиантовым крезильовым синим, акридиновым оранжевым) эти вещества выявляются в виде сетчатой субстанции. Последняя в мазках крови, окрашенных обычным способом, не выявляется, и Эр имеют полихроматофильную окраску.

В сутки у здоровых людей в костном мозге образуется 3×10^9 /кг массы тела ретикулоцитов. Образовавшиеся в костном мозге ретикулоциты сохраняются в нем 36—44 ч, а затем попадают в кровь, где созревают в течение 24—30 ч. По данным Е.Н.Мосягиной (1969), время созревания Рц в крови составляет 8—12 ч. Поскольку в Рц сохранена система рибосом и других органелл, то в период пребывания ретикулоцита в костном мозге в нем происходит синтез большого количества белковых фракций, входящих в состав мембраны. В то же время Рц периферической крови синтезируют только две фракции. Синтез белков в Рц зависит от наличия в них гема. При недостаточности гема происходит ингибирование синтеза белка, так как активируется eIF-2 α -киназа (HRI), которая блокирует начальную стадию синтеза белка [Rafie-Kolpin M. et al., 2000]. Гем отрицательно регулирует активность HRI путем непосредственного связывания с ней. По мнению J.Crosby и соавт. (2000), HRI участвует в синтезе белка в незрелых клетках эритроидного ростка и, возможно, регулирует образование Эр. Кроме того, в Рц происходит синтез липидов и гема.

В свежих нативных препаратах Рц обладают двигательной активностью, поэтому при их изучении в

фазово-контрастном микроскопе контуры и форма Рц постоянно изменяются. По мере созревания Рц в нем исчезает сетчатая субстанция и он превращается в зрелый Эр. Весь жизненный цикл от эритробласта до Рц составляет от 3 до 7 дней.

Главная задача Эр заключается в том, что они должны сохраняться в циркулирующей крови как можно дольше и при этом сохранять гемоглобин в таком состоянии, чтобы можно было переносить кислород в течение этого времени для удовлетворения потребностей в нем тканей и переносить CO₂ из тканей в систему циркуляции легких. Фиксация кислорода приводит к переходу Fe²⁺ гема в Fe³⁺. Главными компонентами Эр являются мембрана, гемоглобин и метаболический путь. Все эти три главных компонента Эр взаимодействуют, чтобы обеспечить перенос кислорода, защитить гемоглобин от окислителей и поддерживать постоянство осмотического давления в Эр.

В норме костный мозг у взрослого должен вырабатывать ежедневно до 10^{11} Эр. У детей количество образующихся Эр зависит от возраста. По данным F.Oski (1981), к моменту рождения ребенка суточная продукция Эр составляет 2,5—3% от общей массы циркулирующих Эр, или 1,3 мл/кг массы тела ребенка. В последующие периоды уменьшается образование Эр до 0,2% к 5-му дню жизни и до 0,1% — к 10-му дню. К 3-месячному возрасту продукция Эр составляет около 2% от общей массы Эр, и на этом уровне сохраняется во все периоды детства.

Время циркуляции Эр с кровью у взрослых составляет в среднем 120 (100—140) дней [Wajzman H. et al., 1992]. Период полужизни ($T_{1/2}$ по ⁵¹Cr) у доношенных детей несколько короче, в среднем 23,3 дня (от 13 до 35 дней), чем у взрослых (26—35 дней). Еще более низкие значения наблюдаются у недоношенных детей —

16,6 дней. Длительность жизни Эр у доношенных новорожденных детей составляет 60—70 дней, а у недоношенных — 35—50 дней.

По мере старения Эр становятся менее деформабельными. Это связано с потерей поверхностного слоя мембраны Эр, уменьшается объем Эр вследствие их дегидратации. Механизм, вследствие которого происходит потеря мембраны Эр, окончательно не выяснен. Предполагают, что этот феномен является вторичным как следствие взаимодействия Эр с клетками СМФ. По мере старения Эр в них уменьшается активность ферментов, концентрация 2,3-ДФГ и вследствие этого увеличивается сродство гемоглобина к кислороду, уменьшается освобождение кислорода в тканях [Waugh R. et al., 1992; Michel G., 1995].

Высказывается мнение, что причиной гибели стареющих Эр является появление в них неоантигенов. Распознавание этих неоантигенов происходит аутоАТ, и этим объясняется фагоцитоз Эр клетками СМФ (по аналогии с АИГА). Эти неоантигены локализируются на Band 3, трансмембранном белке, участвующем в транспорте анионов [Kay M. et al., 1990].

Появление неоантигенов может быть связано либо с деградацией белка Эр, либо вследствие олигомеризации молекулы белка под влиянием оксидантов, либо связано с взаимодействием белка с денатурированным гемоглобином [Tanner M. et al., 1993]. Однако опыты на кроликах не выявили увеличения Ig на поверхности мембраны Эр, что ставит под сомнение иммунологический генез старения Эр [Dale N. et al., 1991].

Принято считать, что Эр имеют форму двояковогнутого диска (дискоцит). Однако рядом авторов установлено, что у здоровых людей действительно преобладающей формой

Эр являются дискоциты, но их содержание колеблется в разные периоды жизни: их меньше всего у недоношенных и доношенных детей, и у взрослых их содержание составляет в среднем 78% (от 42 до 94%). В то же время у здоровых лиц в циркулирующей крови в разные возрастные периоды встречаются Эр в виде «чашки», стоматоцитов, дискостоматоцитов, шизоцитов и др. (см. приложение 9).

В разные возрастные периоды эритроцитометрические показатели также отличаются у детей недоношенных, доношенных и взрослых. Чем меньше возраст ребенка, тем больше объем крови и Эр (из расчета в миллилитрах на 1 кг массы тела), средний объем Эр.

На исходный уровень Hb и числа Эр у новорожденных детей значительно влияет поступление крови из плаценты. Сосуды плаценты содержат 75—125 мл крови. В момент рождения ребенка кровь из плаценты быстро проникает в сосуды ребенка. Выяснено, что в течение первых 15 с после рождения происходит трансфузия 25% крови из плаценты ребенку; если перевязка пуповины отсрочена на 1 мин, то этот объем крови увеличивается до 50%. Задержка перевязки пуповины увеличивает объем крови у новорожденного ребенка в среднем на 61%. В этих случаях через 72 ч после рождения ребенка объем массы Эр составляет в среднем 49 мл/кг, а если перевязка пуповины произведена сразу, то 31 мл/кг [Doyle J. et al., 1999].

Показатели красной крови и эритроцитометрии представлены в приложениях 10—13.

Таким образом, эритроцитометрические показатели, суточная продукция и длительность циркуляции Эр в крови различаются у людей различного возраста — более значительные изменения отмечаются у недоношенных детей.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ, СКЕЛЕТА МЕМБРАНЫ И ЦИТОСКЕЛЕТА ЭРИТРОЦИТОВ

Большинство Эр здорового человека имеют форму двояковогнутого диска, в циркулирующей крови их диаметр в зависимости от возраста человека колеблется от 6,4 до 9,1 мкм, а объем — от 71 до 117 фл. Более высокие параметры наблюдаются у детей периода новорожденности. Площадь поверхности всех Эр составляет у взрослого человека 3800 м².

С точки зрения биологов, изучающих строение клетки, в Эр следует различать мембрану, скелет мембраны и цитоскелет. Мембрана представляет собой жидкий двойной липидный слой, который поддерживается сложной инфраструктурой белковых молекул, обеспечивающей вязкость и эластичность мембраны. Протеины, которые обеспечивают эту функцию мембраны, называются мембранным скелетом. Последний следует отличать от так называемого цитоскелета Эр, в понятие которого включают комплекс белков, соприкасающихся между собой, с липидным слоем мембраны и со скелетом мембраны.

Наружной оболочкой Эр является плазматическая мембрана (плазмолемма), которая является границей, отделяющей внутреннее содержимое эритроцита от среды, в которой живет и функционирует Эр. Мембрана обладает свойствами текучести, пластичностью, деформабельностью, благодаря им эритроцит способен проникать через капилляры диаметром до 3 мкм, а затем, пройдя через них, вновь принимать первоначальную форму и размер.

Мембрана полупроницаема, состоит из липидов и белков, и благодаря им в биохимическом аспекте

играет и роль буфера для диффузии, и в то же время представляет поверхность, через которую регулируется поступление в Эр и выход из них питательных веществ, кислорода, макромолекул, гормонов, ионов, информации и др. Иначе говоря, мембрана играет жизненно важную роль в процессах, происходящих в Эр.

Селективная проницаемость мембраны позволяет задерживать необходимые для жизнедеятельности Эр компоненты и выделять ненужные токсины, усваивать питательные вещества, экскретировать продукты распада. Каналы и насосы, находящиеся в мембране, модулируют содержание этих веществ и ионов внутри Эр, обеспечивают осмотическое давление и электрический потенциал в Эр. Плазматическая мембрана играет важную роль как первичное место для взаимодействия и связи Эр с окружающей его средой. Но для нормальной жизнедеятельности Эр, наряду с другими факторами, необходима интактная и функционирующая плазмолемма.

Средняя длительность циркуляции Эр у взрослого человека составляет 120 дней. Эр лишены ядра, митохондрий, полирибосом, нуклеиновых кислот, не способны синтезировать новые белки, которые были утрачены или повреждены в период циркуляции с кровью. За время своей жизни Эр совершают кругооборот более 100 000 раз, и за этот период в них происходят значительные механические и метаболические изменения. Большое количество гемоглобина (белка) в Эр обеспечивает ему высокое онкотическое давление и, таким образом, имеются все условия для разбухания Эр (способности принимать выпуклую форму) в изотонических растворах и сморщиваться в гипертонических. Это особенно важно при прохождении Эр через сосудистую сеть почек, так как в почках имеются зоны с различной молярно-

стью — от изотонической до увеличенной в 6 раз. Выделение молекул железа из поврежденного гемоглобина приводит к изменению рН и PO_2 в Эр. Все это требует, чтобы Эр были структурно прочными: мембрана должна быть пластичной, резистентной к фрагментации, растяжимой и была бы приспособлена к быстрым изменениям осмотического давления. Подложка мембраны и цитоскелет должны быть резистентны к различным повреждениям (окислению, протеолизу и др.), так как возмещение поврежденных белков невозможно. В этом отношении мембрана Эр уникальна, она адаптирована к этим воздействиям.

Одним из главных свойств Эр является их способность к деформации с последующим восстановлением нормальной формы без признаков фрагментации и нарушения целостности мембраны. Как указывают N. Moschandes и соавт. (1983), деформабельность Эр определяется тремя величинами: геометрией (двоковогнутая дискоидная форма Эр), цитоплазматической вязкостью и деформабельностью.

Двоковогнутая дискоидная форма Эр является важнейшей величиной, поскольку обеспечивает выживание Эр в экстремальных условиях. Объем Эр в норме у взрослого человека составляет в среднем 90 фл, общая поверхность диска при определенных условиях позволяет увеличить объем Эр до 140 фл, т. е. почти в 1,5 раза.

Таким образом, только форма позволяет Эр обеспечить себя значительным избытком мембраны и цитоскелетом при разбухании Эр. Кроме того, геометрическая форма Эр позволяет ему растягиваться под действием механического стресса. Утрата мембраны вследствие частичного фагоцитоза при иммунной форме ГА, фрагментации кусочков мембраны у больных с дефектами цитоскелета

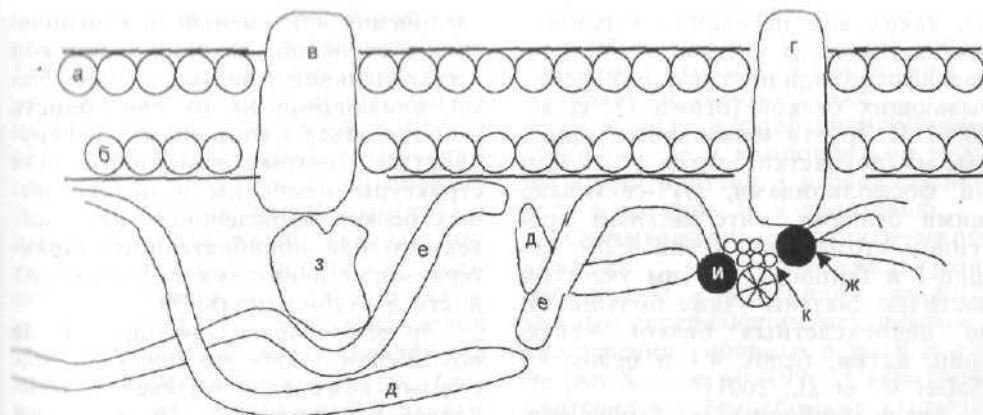
приводит к появлению Эр со сферической и эллипсоидными формами. В Эр с такими формами общая поверхность мембраны уменьшается, и как следствие этого, Эр менее деформабельны, у них отмечается сниженная толерантность к осмотическому стрессу.

Вязкость Эр определяется в основном содержанием гемоглобина в Эр, которое у здоровых людей составляет 270—350 г/л. В дегидратированных Эр эффект внутриклеточной концентрации гемоглобина увеличивается и происходит экспоненциальное повышение вязкости Эр. Насосы и каналы мембраны Эр в норме поддерживают внутриклеточный объем, который поддерживает концентрацию гемоглобина ниже уровня, при котором вязкость цитоплазмы влияет на деформабельность. Аномалии насосов и(или) каналов мембраны Эр, их перестройка полимеризованным или кристаллизованным гемоглобином — все это приводит к дегидратации Эр с резким увеличением его вязкости.

Проходя через капилляры, Эр деформируются. Дефекты мембранных и цитоскелетных белков Эр могут привести либо к временной, либо к постоянной деформации Эр. Взаимодействие различных белков скелета мембраны и цитоскелета Эр регулирует деформабельность и стабильность мембраны Эр. Стабильность мембраны предохраняет Эр от фрагментации.

Мембрана Эр имеет сложный биохимический состав. Большую ее часть (52%) составляют белки, 40% — липиды и 8% — углеводы. Общая масса мембраны 10^{10} Эр составляет 15 мг.

Мембрана Эр представляет собой жидкий двойной липидный слой, который связан с различными белковыми структурами. Некоторые белковые молекулы находятся на поверхности наружного липидного



2. Схематическое изображение мембраны и белков цитоскелета, связанных с мембранной эритроцита (пояснения в тексте).

слоя, другие — связаны с внутренним слоем, трети — насквозь проникают липидный слой (рис. 2).

Липидный компонент мембраны состоит примерно из равного количества фосфолипидов и незастерифицированного холестерина; в небольшом количестве определяются свободные жирные кислоты и гликолипиды. Фосфолипиды составляют приблизительно 0,53—0,75 ммоль/мг белка мембраны Эр и представлены в основном фосфатидилхолином (30%), сфингомиелином (25%), фосфатидилэтаноламином (28%) и фосфатидилсерин (14%); другие фосфолипиды составляют 2—3%.

В различных слоях мембраны липиды распределяются неравномерно, асимметрично. Так, наружный слой мембраны Эр состоит в основном из фосфатидилхолина и сфингомиелина, тогда как внутренний слой на 80% состоит из фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. Холестерин распространен в подложке [Boas F. et al., 1997]. В нормальных Эр фосфатидилсерин локализуется во внутреннем слое мембраны [Mandogri A. et al., 1998]. По мнению M. de Jong и соавт. (1998), такое

асимметричное расположение фосфатидилсерина в мембране Эр обусловлено взаимодействием скелета мембраны с фосфолипидным слоем. При увеличении концентрации катионов в Эр в апоптотных Эр фосфатидилсерин перемещается с внутреннего слоя мембраны на наружный и этим как бы дает сигнал макрофагам, чтобы они поглотили эти измененные Эр [Shiffer K. et al., 1997].

Эр не способны синтезировать липиды de novo, но между липидами мембраны Эр и окружающей их средой происходит обмен липидами. У здоровых людей значительных изменений в составе липидов мембраны Эр не наблюдается. Однако при патологических состояниях, когда имеются изменения в липидном обмене в организме (цирроз печени, абеталипопротеинемия и др.), аномальный состав липидов в циркулирующей крови может приводить к нарушению обмена липидов между окружающей средой и мембраной Эр. В свою очередь, это может способствовать морфологическим изменениям Эр (акантоцитозу) и клинически проявляться ГА разной степени выраженности.

Скопления липидов в латеральной части плазматической мембраны играют важную роль в различных процессах, происходящих в мембра-

не, таких как передача сигналов в гемопоэтических клетках, отбор гликозилфосфатидилинозитол(GPI)-связывающих белков [Brown D. et al., 2000]. В Эр эти мембранные липидные микроучастки богаты различными фосфолипидами, GPI-связывающими белками, интегральным протеином стоматином (band 7.2b), flotillin-1 и flotillin-2. С этим участком частично связаны также большинство цитоскелетных белков — спектрин, актин, белок 4.1 и белок 4.2 [Salzer U. et al., 2001].

Белки мембраны Эр обычно подразделяют на два класса: интегральные и периферические. Интегральные белки взаимодействуют с липидным слоем мембраны, они проходят через мембрану насквозь, так что один сегмент белка находится снаружи мембраны Эр, а другой располагается на цитозольной части мембраны. Белковые молекулы, тесно связанные с липидным слоем мембраны Эр, являются структурной основой цитоскелета, образуют гексагональную решетку, состоящую из спектриновых и актиновых фрагментов, к которым дополнительно прикрепляются белки, укрепляющие решетку с липидным слоем. Укрепление решетки происходит через определенные интервалы с помощью мультивалентных белков (анкирин, протеин 4.1), которые прикрепляются к решетке и цитоплазматическому участку для интегральных белков (гликофорина, протеина 3 — см. рис. 2).

При деформации Эр происходит перестройка решетки. Некоторые молекулы спектрина раскручиваются и растягиваются, тогда как другие еще больше сжимаются и скручиваются. Итогом этого является то, что общая поверхность Эр не изменяется, хотя его очертания приобретают иной вид. Исходя из строения цитоскелета, становится очевидным, что деформабельность Эр будет увеличиваться или уменьшаться в зависимости от

увеличения или уменьшения химических соединений спектрин-актиновой гексагональной решетки с молекулами, влияющими на их способность сворачиваться в спираль или раскручиваться. Поэтому любые нарушения структуры мембраны и цитоскелетных белков врожденного, наследственного или приобретенного характера могут влиять на деформабельность и стабильность Эр.

Эр не способны синтезировать де novo белки. Наиболее важными белковыми компонентами скелета мембраны и цитоскелета Эр являются спектрин (α - и β -субъединицы), анкирин, протеин 4.1, актин, гликофорины, протеин 3, протеин 4.2, аддуцин и протеин 4.9.

Цитоскелетные белки (к ним не относятся протеин 3 и гликофорины) способствуют образованию цитоскелетной решетки, состоящей из нитей спектрина, скрепленных между собой узлами, которые содержат нити F-актина и протеин 4.1. Эти узловые участки (точки пересечения нитей спектрина) прикрепляются к прилежащему липидному слою мембраны с помощью протеина 4.1 к гликофорину и мультивалентной связи анкирина со спектринном и цитоплазматической частью протеина 3. Аддуцин, протеин 4.2 и протеин 4.9 стабилизируют взаимодействие спектрина и актина и связывание актина.

Главными интегральными белками мембраны Эр являются протеин 3 (Band 3) и гликофорины, которые пронизывают липидный слой насквозь.

Протеин 3 (band 3, AE1 — Anion Exchanger) — это трансмембранный гликопротеин. На его долю приходится приблизительно 25% от всего белка, составляющего мембрану. В одном Эр содержится более 1 млн молекул белка [Jarolim P., 1998]. Протеин 3 является главным транспортным белком анионов в Эр, значительно влияет на деформабельность Эр, опосредует в них метабо-

лизм [Liu S. et al., 1990]. Локус гена протеина 3 находится на хромосоме 17 (17q21—q^{ter}), содержит 20 экзонов.

Протеин 3 — это полифункциональный белок с молекулярной массой 100 килодальтон, играющий двойную роль в Эр. В цитоплазме Эр располагается 4-kD N-терминальный участок, который связывает цитоскелет Эр с билипидным слоем мембраны через анкирин [Perrotta S. et al., 1998]. Цитоплазматический участок Band 3 (cdb3) связывает ряд периферических мембранных белков — это периферические белковые лиганды, анкирин, протеин 4.1, протеин 4.2, обеспечивая очертания Эр, некоторые гликолитические ферменты (альдолаза ГАФ-дегидрогеназа, ФФК), дезоксигемоглобин, гемохромы [Zhang D. et al., 2000].

C-терминальный мембранный участок (55 килодальтон) протеина 3 осуществляет транспортный обмен хлоридов и гидрокарбонатов в Эр [Tanner M., 1998].

По данным P.Jagolim (1998), A.Mandori и соавт. (1998), протеин 3 играет ведущую роль в гомеостазе Эр, выполняя следующие функции:

1) он является главным анион-транспортным каналом Cl^- и HCO_3^- ;

2) с помощью цитоплазматических окончаний протеин 3 взаимодействует с цитоскелетом Эр с помощью связей с анкирином, протеином 4.2 и, возможно, со спектрином;

3) цитоплазматические окончания протеина 3 являются мишенью для связывания с гемохромами, которые образуются при денатурации или окисления гемоглобина глицеральдегиддегидрогеназой, альдолазой;

4) протеин 3 может регулировать метаболический путь расщепления ферментов, таких как Г-6-ФД;

5) протеин 3 может быть ключевым элементом в организации мембраны Эр;

6) протеин 3 является потенциальным носителем АГ групп крови, эпитопы которых локализованы в мембранном участке белка;

7) наряду с фосфатидилсеринном мембраны Эр и компонентами плазмы крови протеин 3 играет важную роль в адгезии Эр к эндотелию.

Связывание цитоплазматического участка (43 килодальтона) протеина 3 с анкирином является важным скрепляющим механизмом в обеспечении гибкости и ригидности Эр [An X.-L. et al., 1996]. Связывание протеина 3 с гемохромами стимулирует образование агрегатов в виде «пята», которые распознаются изо-АТ Эр, что приводит к опсонизации Эр с последующим их удалением из циркулирующей крови клетками СМФ [Mohandes N., 1990]. Этот механизм является главным, путем которого измененные и состарившиеся Эр секвестрируются. Биогенез мембраны Эр в эритроблестах зависит от использования цитоплазматического участка протеина 3 как очага для стабильности мультимолекулярного комплекса, образующего спектриновую решетку [Palek J. et al., 1992].

Таким образом, протеин 3 является важным компонентом Эр для биогенеза их мембраны, модуляции эластичности и ригидности, транспорта анионов и иммунной метки стареющих Эр для их удаления из циркулирующей крови.

К интегральным мембранным белкам относятся также гликофорины, которые содержат большое количество силовых кислот. Существуют 5 различных форм гликофоринов: А, В, С, D, Е [Chasis J. et al., 1992]. В Эр основную часть составляет гликофорин А — в одном Эр определяется $(5...9) \times 10^5$ копий. Содержание других гликофоринов значительно меньше. Так, в одном Эр определяется $(0,8...3) \times 10^5$ копий гликофорина В, $(0,5...1) \times 10^5$ копий гли-

кофорина С, $(0,1...0,2) \times 10^5$ копий гликофорина D [Becke V. et al., 1990]. Гликофорин Е, по-видимому, происходит из гликофорина А [Kudo S. et al., 1990]. Гликофорины А и В гомологичны.

Гены гликофоринов А, В и Е локализованы на хромосомах 4-й пары (4q28—q31) [Vignal A. et al., 1990], а гликофоринов С и D — на хромосомах 2-й пары (2q14—q21) [Cartron J. et al., 1990].

Окончательная биологическая функция гликофоринов не охарактеризована. Высказывают предположение, что гликофорины играют важную роль в модуляции взаимодействия Эр — Эр и Эр — эндотелиальная клетка [Kopito K., 1987]. Гликофорины имеют важное значение для клинической иммунологии. Так, АГ группы крови М и N располагаются на гликофоре А. Редкие варианты группы крови — Miltenbergen V, En (a-) и M^k M^k являются гликофоринными вариантами, En (a-) является следствием делеции гена гликофорина А. Гликофорин В связан с SS-групиной крови.

Гликофорины А и В экспрессированы только на клетках эритроидного ряда, в течение их терминального созревания, первоначально появляясь на стадии проэритробласта. Дефицит гликофоринов А и В не влияет на форму и деформабельность Эр, и это заставляет полагать, что они не играют роли в поддержании механической стабильности, деформабельности и формы Эр.

Варианты гликофорина С дают увеличение необычных иммунологических фенотипов Эр, включая Gerbich YUS и WEPB [Chasis J. et al., 1992]. В течение дифференциации и созревания эритроидных клеток экспрессия гликофорина С изменяется. Гликофорин С обеспечивает стабильность, регулирует деформабельность и очертания мембраны. При дефиците гликофорина С Эр при-

мают форму эллипса, но клинических признаков ГА не отмечается [Tellen M. et al., 1991]. Как и протеин 3, гликофорин С играет важную роль в укреплении цитоскелета.

Скелет мембраны Эр прикрепляется к мембране Эр путем взаимодействия между переносчиком анионов протеином 3 с анкирином, а также взаимодействия с гликофорином С (символ человеческого гена — GYPC) и протеином 4.1. По данным G.Hummel и соавт. (1998), GYPC у человека представляет собой трансмембранный белок, состоящий из трех функциональных участков:

- 1) экстрацеллюлярного, содержащего эритроцитарные АГ Gerbich;
- 2) трансмембранного;
- 3) цитоплазматического, который связывается с протеином 4.1.

Мембрана содержит в небольшом количестве (менее 1×10^4 копий в одном Эр) ряд ионных насосов и каналов, включая Na⁺, K⁺, АТФаза и кальцийзависимых калиевых каналов. Активность этих белков часто изменяется в ответ на первичную аномалию мембраны или цитоскелета Эр, однако патологические состояния, связанные с мутациями этих белков, не описаны [Benz E., 1994].

К числу цитоскелетных белков, связанных с мембраной, относятся спектрин, F-актин, протеин 4.1, протеин 4.2, протеин 4.9, анкирин и аддуцин. Они связываются с цитоплазматическими участками интегральных белков (протеином 3 и гликофоринами) [Tse F. et al., 1998].

Спектрин является главной частью цитоскелета Эр и составляет 75% от всей массы белков цитоскелета. В одном Эр содержится около 200 000 молекул. Спектрин представляет собой гетеродимер, состоящий из α- и β-цепочек.

Относительная молекулярная масса α-цепочки составляет 280 000, β-цепочки — 240 000 [Winkelman J. et al., 1993]. Ген α-спектрина распо-

жен на хромосомах 1-й пары (1q22—q23), содержит 52 эксонов, а β -спектрина — на хромосомах 14-й пары (14q23—q24.2) [Huebner K. et al., 1985; Fukushima Y. et al., 1990].

При электронной микроскопии обе субъединицы спектрина имеют стержневидный, «лапшеобразный» вид, и длина каждой структуры составляет около 100 нм. По всей своей длине обе спектриновые молекулы имеют множественные точки соприкосновения. Спектриновые димеры образуют тетрамерные формы путем нековалентной связи между участком 80 килодальтон α -субъединицы и участком 28 килодальтон β -субъединицы. При нарушении взаимодействия спектрин — спектрин изменяется деформабельность и стабильность мембраны Эр. Амино- и карбоксильные окончания спектрина являются ключевыми участками для взаимодействия с анкирином, актином и протеином 4.1 [Burke J. et al., 1997].

К спектрину прикрепляется протеин 4.1, который является цитоскелетным фосфопротеином с молекулярной массой 80 килодальтон. Протеин 4.1 стабилизирует мембранно-цитоскелетную решетку, предлагающую к липидному бислою мембраны Эр. В одном Эр определяется до 200 000 копий протеина 4.1.

Протеин 4.1R является структурным белком скелета мембраны Эр и играет важную роль в определении морфологии Эр и их механических свойств. Эритроцитарный 4.1R-полипептид с молекулярной массой 80 килодальтон является прототипом семейства различных протеинов 4.1, образующихся в незэритроидных клетках путем альтернативного соединения преРНК-транскриптов 4.1R, а также экспрессии новых 4.1-гомологических веществ различных генов. В состав семейства гена 4.1 входят по крайней мере четыре высокогомологических члена,

экспрессирующихся в различных пропорциях в разных тканях млекопитающих.

Семейство гена 4.1:

1.4.1.R — экспрессируется в Эр, гемопоэтических клетках, селективно и в других клетках организма [Huang S. et al., 1998];

2.4.1.G — широко экспрессирован в клетках различных тканей;

3.4.1.N — нейроспецифический;

4.4.1.B — экспрессирован в клетках головного мозга, а также селективно в клетках других тканей.

Ген протеина семейства 4.1 располагается в геноме человека среди различных хромосом: 1q32—9ter (4.1R), 6 (4.1G) и 18 (4.1B) [Parra M. et al., 1997].

Протеин 4.1 соединяет спектрин-актиновую решетку с липидным слоем мембраны Эр с помощью комплекса, образованного спектрин-актином, цитоплазматическим участком протеина 3 и гликофоорином С. Биохимическая роль протеина 4.1 — это связывание спектрина с мембраной. Сам по себе спектрин связывается с актином слабо, но благодаря протеину 4.1 эта связь укрепляется, стабилизируется взаимодействие спектрина с актином, и этим самым придается прочность мембране Эр [Becker P. et al., 1990].

Наличие anomalies протеина 4.1 или же его дефицита клинически и гематологически проявляется наследственным эллиптоцитозом [Chasis J. et al., 1992]. Дефицит протеина 4.1 сопровождается механической нестабильностью Эр, но деформабельность мембраны Эр не изменяется.

Другим белком, который связывается со спектрином, является анкирин. В прошлом его обозначали как протеин 2.1. Анкирин представляет собой молекулу с молекулярной массой 210 килодальтон, в которой можно выделить 3 участка: аминоконцевой (89 килодальтон), который является местом прикрепления

протеина 3, участок (62 килодальтон) для прикрепления спектрина и регуляторный участок (55 килодальтон). В одном Эр содержится около 100 000 копий анкирина [Zhu L. et al., 1998]. Эритроидно-специфическая экспрессия гена анкирина I (Ank1) опосредуется промотером, и для проявления его активности необходимы GATA-1 и CACCC-связывающие белки. Ген анкирина располагается на хромосомах 8-й пары (8p11.1—p21.1), содержит 42 эксона [Lambert S. et al., 1990; McMullin M., 1999].

Анкирин, являясь поливалентным протеином, связывается с β -цепочкой спектрина, и это приводит к плотному соединению со спектрином и протеином 3, скреплению связи скелета мембраны Эр с липидным слоем [Riel G. et al., 1998].

В укреплении цитоскелета Эр важная роль принадлежит протеину 4.2, содержание которого составляет около 5% от всей массы белков мембраны Эр человека. Протеин 4.2 представляет молекулу с молекулярной массой 72 килодальтона, в одном Эр содержится до 200 000 копий. Ген протеина 4.2 (ELB42) расположен на хромосомах 15-й пары (15q15—q21), содержит 13 экзонов. Протеин 4.2 связывается с протеином 4.1, анкирином, протеином 3 и комплексом анкирин — протеин 3 [Zhu L. et al., 1998]. Главная функция протеина 4.2 — это стабилизация комплекса спектрин — актин — анкирин с протеином 3 [Perrotta S. et al., 1997]. По мнению E.Guerra-Shinohara и соавт. (1998), отсутствие протеина 4.2 не приводит к разрушению цитоскелетной части мембраны, так как физиологическое отсутствие этого белка может быть компенсировано за счет более высокого содержания анкирина. L.Chang и соавт. (1994) высказывают предположение, что протеин 4.2 защищает цитоскелет Эр от преждевременного старения путем присоединения кальция и других кофакторов, которые

обычно активируют трансглутаминазы Эр.

Хотя истинная роль протеина 4.2 окончательно не определена, однако отмечено, что дефицит этого белка в мембране Эр проводит к сферуляции последних, а клинически отмечается ГА разной выраженности [Granjo E. et al., 1998]. Это обстоятельство заставляет полагать, что протеин 4.2 играет роль в поддержании стабильности и эластичности Эр [Yawata Y., 1994]. На основе биофизических и электронно-микроскопических исследований, D.Golan и соавт. (1996), A.Rybicki и соавт. (1996) высказывают предположение, что протеин 4.2 может играть роль акцессорно-связывающего белка для скрепления взаимодействия интегрального мембранного протеина 3 с цитоскелетной решеткой.

Деформабельность и механическая целостность мембраны Эр человека обеспечиваются короткими нитями актина скелетной решетки, перекрещенных длинными, гибкими спектриновыми молекулами. Длина коротких нитей актина составляет (33 ± 5) нм [Fowler V., 1997].

Кроме того, в Эр в различных количествах обнаружены другие белки, связанные со спектрин-анкириновым комплексом. К ним относятся аддуцин, протеин 4.9 (дематин), тропомиозин, миозин, белки, относящиеся к тропонину [Benz E., 1994].

Тропомодулин Эр человека — это тропомиозин-связывающий белок с молекулярной массой 40,6 килодальтон, находящийся в комплексах в местах соединения цитоскелета с мембраной Эр [Vera C. et al., 1998]. Тропомиозиновые комплексы регулируют длину актиновых нитей в клетках мышечной и немышечной тканей [Chu X. et al., 1998].

Чтобы предотвратить перестройку длины нитей актина, оба его конца прикрыты, в частности медленнорастущее окончание (остроконечное)

филамента тропомодулином [Fowler V., 1997].

Протеин 4.9 — это фосфопротеин с молекулярной массой 48 килодальтон, и он выполняет функцию как актинсвязывающий белок. В процессе созревания клеток эритроидного ряда количество протеина 4.9 уменьшается. Высказывается мнение, что, возможно, роль фосфопротеина более значима для процесса созревания эритроидных клеток, чем для жизнедеятельности Эр в циркулирующей крови.

Аддуцин — это белок скелета мембраны; он, как и тропомодулин, прикрывает окончания нитей фибрина. В одном Эр содержится до 30 000 копий [Kuhlman P. et al., 1996]. Аддуцин способствует взаимодействию спектрина с F-актином, участвует в процессе соединения спектрина к комплексу в участке скелета мембраны Эр. Ген α -аддуцина расположен на хромосомах 4-й пары (4p16.3), а β -аддуцина — на хромосомах 2-й пары (2p13—p14) [Gallagher P. et al., 1998]. Аддуцин конкурирует с протеином 4.1 за связывание со спектрин-актиновым комплексом, но так как его значительно меньше содержится в Эр, чем протеина 4.1, то маловероятно, что аддуцин играет существенную роль как модулятор в образовании спектрин-актинового комплекса.

С помощью метода гомологичной рекомбинации эмбриональных гемопоэтических стволовых клеток D.Gilligan и соавт. (1998) вывели породу мышей, у которых в Эр отсутствовал аддуцин. К этому их побудило то обстоятельство, что до этого не было известно о функции аддуцина *in vivo*. Наблюдения за этими β -аддуцин-отрицательными мышами показали, что аддуцин необходим для поддержания нормальной поверхности Эр. При отсутствии β -аддуцина не происходит включения α -аддуцина в мембрану Эр, и след-

ствием этого появляются морфологически измененные Эр в периферической крови — сфероциты, сферостоматоциты, эллиптоциты, а клинически может наблюдаться умеренно выраженная ГА, отставание животных в физическом развитии.

Таким образом, структура мембраны, ее скелета и цитоскелета Эр тесно взаимосвязаны, определяют функцию и свойства мембраны Эр. Мутации генов или дефицит отдельных биохимических компонентов мембраны и цитоскелета приводят к нарушению свойств, формы, деформабельности и других жизненно важных функций Эр, которые клинически могут проявляться в виде различных заболеваний и синдромов.

В отношении биогенеза мембраны Эр четкой ясности относительно последовательности отдельных ступеней ее развития в известных нам публикациях нет. Это связано с тем, что для исследований практически невозможно получить чистую популяцию эритроидных клеток-предшественниц каждой стадии развития эритропоэза в достаточном количестве для анализа. Кроме того, существуют множество изоформ белков, и до сих пор остается открытым вопрос, на каком этапе эритропоэза происходит переключение этих изоформ.

Установлено, что биосинтез белков мембраны и цитоскелета Эр происходит асинхронно в течение эритропоэза, так что пик синтеза различных компонентов мембраны достигается на в разных стадиях дифференциации и созревания эритроидных клеток. Эти компоненты, появляющиеся на ранних стадиях эритропоэза, начинают собираться с образованием цитоскелета на более поздних стадиях. Белки одного гена синтезируются асинхронно. Так, экспрессия гена протеина 4.1 возникает до стадии проэритробласта, тогда как спектрин-актиновый участок по-

является на поздних стадиях созревания эритробластов [Tang T. et al., 1990].

На ранней стадии образования мембраны Эр с формированием ее формы важную роль играет протеин 3, который включается в мембрану. С появлением новых белковых компонентов мембраны и цитоскелета Эр происходит организация стабильного макромолекулярного комплекса. В течение ранних стадий эритропоэза синтезируется также анкирин, и это заставляет полагать, что он является важным элементом на раннем этапе организации мембраны путем непосредственного взаимодействия с протеином 3 [Lazarides E., 1987].

Процесс биосинтеза и сборки субъединиц спектрина является комплексным. В ранних эритробластах, происходящих в желточном мешке, у плода и у взрослых биосинтез спектрина β -формы превышает биосинтез α -спектрина. Это соотношение сохраняется и в течение поздних стадий эритропоэза у эмбриона, но не у плода и взрослых людей. У взрослых людей в нормобластах и ретикулоцитах увеличивается экспрессия гена α -спектрина, тогда как экспрессия гена β -спектрина остается неизменной. Вследствие этого в течение поздних стадий развития эритропоэза превалирует мРНК α -белка, т. е. это наступает в тот период, когда фактически происходит образование мембраны Эр [Peters L. et al., 1993].

Изменения в соотношении биосинтеза спектрина в различных компартаментах эритроидных клеток могут отражать в какой-то степени различную чувствительность эритроидных клеток-предшественниц к Эпо и различным цитокинам, стимулирующих эритропоэз. Так, экспрессия гена β -спектрина селективно увеличивается под влиянием Эпо в человеческих анкирин-дефицитных эрит-

робластах, а экспрессия гена α -спектрина преобладает в более поздних клетках-предшественницах эритропоэза [Benz E., 1994].

Значительная перестройка и формирование зрелой мембраны происходят после энуклеации ортохромного нормоцита [Mohandas N., 1991]. После потери клеткой ядра в ретикулоците происходит незначительный биосинтез протеина 4.1 и гликофорина С. В ретикулоцитах содержатся митохондрии, полирибосомы и ряд белков мембраны, которые либо отсутствуют, либо содержатся в небольшом количестве в зрелых Эр. Также отличается фосфолипидный состав и внутренне-внешнее распределение липидов в бислой мембраны ретикулоцитов и Эр. Ретикулоциты менее деформабельны и менее стабильны к механическому воздействию, чем Эр. Ретикулоциты, созревая в костном мозге в течение 2—3 дней, первоначально имеют форму «чаш» и лишь впоследствии принимают форму двояковогнутых дисков. Процесс созревания ретикулоцита и параллельное изменение его формы сопровождается реорганизацией как фосфолипидов мембраны и цитоскелета и включенных в них белков, так и потерей липидов и ряда белков, включая рецепторы Тф, инсулина и фибронектина. В итоге к концу созревания ретикулоцита его деформабельность достигает таковую Эр [Wagh R. et al., 2001].

Имеются немногочисленные сведения относительно структуры и свойств мембраны, скелета мембраны и цитоскелета Эр у людей различного возраста.

Состав белка мембраны и цитоскелета у детей и у взрослых не отличается, но имеются некоторые качественные различия. Так, S.Landaw и соавт. (1981) установили, что α -спектрин легче экстрагируется из Эр новорожденных детей, чем из Эр взрослых людей. Исходя из этого,

авторы высказывают предположение, что это связано с наличием в Эр новорожденных фетальной формы спектрина. Вместе с тем содержание димеров спектрина одинаково в Эр сравниваемых групп.

В Эр определяется контрактильный актин-миозиновый комплекс, при этом содержание иммунореактивного миозина в Эр новорожденных больше, чем в Эр взрослых. Возможно, это обусловлено истинным увеличением содержания белка, но не исключена возможность, что это связано с качественным различием протенина — присутствием фетального миозина [Fowler V. et al., 1994].

В отношении липидного состава мембраны Эр новорожденных детей и взрослых также имеются различия. Так, в Эр новорожденных детей, особенно недоношенных по сравнению с Эр взрослых людей на 20% больше содержится липидов, больше определяется фосфолипидов и холестерина. Соотношение холестерина и фосфолипидов в Эр новорожденных и у взрослых постоянно, хотя у взрослых оно может быть несколько выше. Однако Эр новорожденных в отличие от таковых взрослых содержат больше сфингомиелина, насыщенных жирных кислот и фосфатидилинозитола и меньше фосфатидилхолина [Matovcic L. et al., 1985].

Как известно, деформабельность Эр зависит от трех факторов: отношения поверхности Эр к его объему, цитоплазматической вязкости и ригидности мембраны. Эр новорожденных и взрослых имеют одинаковый профиль градиента осмотической деформабельности. С помощью эктацитометрии установлено, что деформация Эр новорожденных детей и взрослых одинаковая, но отмечено, что в отличие от Эр взрослых прохождение Эр новорожденных через микротрундроз затруднено. Этот парадокс был объяснен исследованиями

O.Lindercamp и соавт. (1982), которые установили, что Эр и новорожденных, и взрослых людей имеют избыток поверхности мембраны по отношению к объему Эр. Поэтому это обстоятельство обеспечивает равную степень деформабельности Эр при ее измерении в вискозиметре. Однако Эр новорожденных в отличие от таковых у взрослых имеют большие размеры и увеличенный минимальный цилиндрический диаметр. Эти повышенные геометрические параметры Эр у новорожденных детей затрудняют прохождение Эр в системе микроциркуляции, в частности в селезенке, что способствует увеличенной секвестрации и сокращению длительности жизни Эр.

Суммируя вышесказанное, схематично мембрану и цитоскелет Эр можно представить следующим образом (см. рис. 2): Эр окружен билипидным слоем, состоящим из внутреннего и наружного листков. Снаружи (а) этот липидный слой состоит в основном из фосфатидилхолина и сфингомиелина, а внутренний слой (б) — из фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. Трансмембранные белки — протенин 3 (в) и гликофорин (г) пересекают насквозь билипидный слой. Основу цитоскелета составляют белковые молекулы — спектрин, представленный α - (д) и β - (е) субъединицами, и актин (ж), которые образуют гексагональную решетку, связанную с билипидным слоем мембраны. Прикрепление решетки к мембране опосредуется анкирином (з), протенином 4.1 (и), аддуцином (к).

Таким образом, мембрана и цитоскелет Эр тесно взаимосвязаны и взаимозависимы, обеспечивая поддержание различных функций и свойств Эр, их жизнеспособность. Наследственные или приобретенные изменения в количестве или качестве биохимических компонентов, входящих в состав структуры мембраны

и цитоскелета Эр могут приводить к морфологическим и функциональным изменениям Эр, укорочению длительности их жизни. Клинически это может протекать бессимптомно либо в виде различных форм анемий с соответствующей клинико-гематологической симптоматикой.

ГЕМОГЛОБИН

Гемоглобин является дыхательным пигментом, относящимся к хромопротеидам. Он придает Эр красную окраску и на его долю приходится 95% от всех белков, входящих в состав Эр, тогда как на остальные компоненты Эр (stroma, мембрану) — 5%. Гемоглобин — это сложный белок, металлопротеин имеет молекулярную массу 64 500. В одном Эр содержится около 280 млн молекул Hb, каждая из которых состоит из протетической группы гема и глобина.

Гем представляет собой комплексное соединение протопорфирина IX с железом. Протопорфирин состоит из четырех пирроловых колец, в центре которого находится железо, соединенное с четырьмя атомами азота пирроловых колец двумя главными и двумя координационными связями. Так как координационное число железа равно 6, то остаются неиспользованными две связи: с одной из них связывается глобин, а к другой присоединяется кислород и другие лиганды.

Глобиновая часть Hb состоит из четырех субъединиц (2 α и 2 β). Цепочка α -глобина содержит 141 аминокислоту, а β -цепочка — 146. Каждая субъединица глобина соединена с активной частью молекулы гема, содержащего атом Fe²⁺, находящегося в центре протопорфирина IX. Атом Fe²⁺ ковалентно связан с аминокислотой полипептидной цепочки — гистидином.

БИОСИНТЕЗ ГЕМА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Гем составляет 4% от всего Hb и представлен комплексом протопорфирина IX и Fe²⁺. В процесс биосинтеза гема вовлечены 8 ферментов (схема 2).

Синтез гема начинается в митохондриях эритробластов. Мишенями первой ступени образования гема являются глицин и сукцинил-коэнзим А (сукцинилКоА). В митохондриях клеток сукцинат превращается в сукцинилКо, который соединяется с глицином в присутствии пиридоксальфосфата (витамина В₆). Эта реакция катализируется синтетазой δ -АЛК-С, ферментом, находящимся в митохондриях, с образованием пяти углеродных цепочек δ -АЛК. Существуют две формы АЛК-С: печеночная (неспецифическая) и эритроцитарная, которые являются изоферментами. Оба изофермента находятся под контролем двух различных генов: ген печеночной АЛК-С расположен на 3-й паре хромосом (3p21), а эритроцитарный ген — на хромосоме X (Xp11.21) [Sassa S., 2000]. После образования в митохондриях АЛК последний транспортируется в растворимую фракцию клетки — цитозоль; здесь под действием фермента АЛК-дегидратазы (син. — порфириногенсинтетаза) из двух молекул АЛК образуется монопиррольный ПБГ. Ген АЛК-дегидратазы расположен на 9-й паре хромосом (9q34). Под влиянием ПБГ-Д (син. — гидроксиметилбилансинтетаза) путем полимеризации из четырех молекул ПБГ образуется тетрапирроловый гидроксиметилбилан. Это вещество очень нестабильно в водных растворах и быстро без участия ферментов может превращаться в уропорфириноген I. Ген ПБГ-Д расположен на 11-й паре хромосом (11q23—11qter). Однако в нормальных условиях фермент уропорфириноген III-косинтетаза, который находится в избытке,

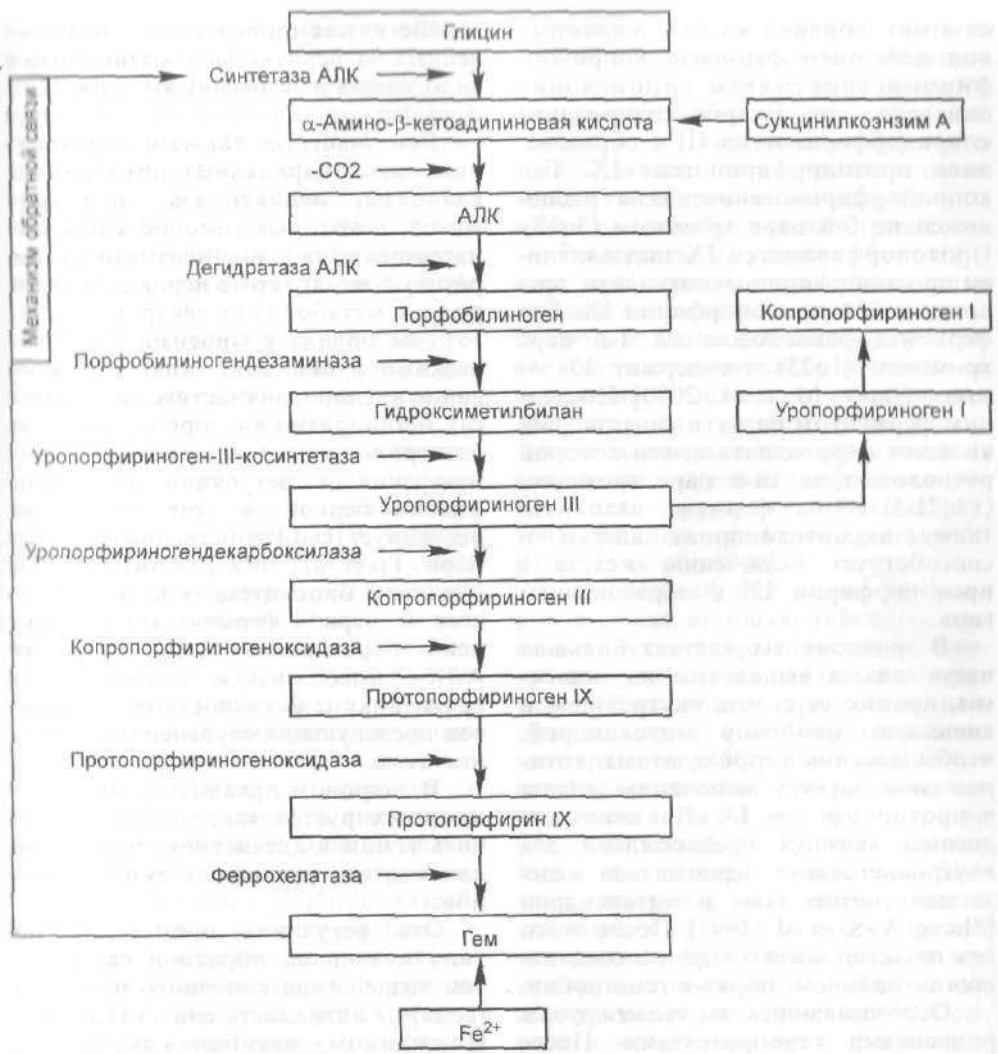


Схема 2. БИОСИНТЕЗ ГЕМА.

подвергает полимеризации почти весь гидроксиметилбилан с образованием уропорфириногена III. Ген уропорфириноген III-синтетазы расположен на 10-й паре хромосом (10q25.3—q26.3) [Astrin K. et al., 1991]. В природе существует только уропорфириноген или его изомеры I и III. В растворимой фракции клетки имеется фермент УПГ-Д, который

действует на уропорфириноген I или III с образованием копропорфириногена I или III соответственно. Как к субстрату активность фермента проявляется в большей степени к изомеру III, чем к изомеру I. Ген УПГ-Д расположен на 1-й паре хромосом (1pter—p21).

После образования копропорфириногена III последний перемещает-

ся в митохондриях клеток, в которых под действием фермента копропорфириногенаксидазы происходит окисление и декарбокислирование копропорфириногена III с образованием протопорфириногена IX. Ген копропорфириногенаксидазы расположен на 3-й паре хромосом (3q12). Протопорфириноген IX под влиянием протопорфириногенаксидазы превращается в протопорфирин IX. Ген фермента расположен на 1-й паре хромосом (1q23) и содержит 13 экзонов [James M. et al., 2000]. Последним ферментом на пути синтеза гема является феррохелатаза, ген которой расположен на 18-й паре хромосом (18q21.3). Этот фермент находится также в митохондриях клеток и способствует включению железа в протопорфирин IX с образованием гема.

В эритроидных клетках большая часть железа выделяется из эндосомы, проникает сквозь внутреннюю и внешнюю мембрану митохондрий, чтобы достичь феррохелатазы, которая способствует включению железа в протопорфирин IX. Движение эндосомы является предпосылкой для внутриклеточного перемещения железа для синтеза гема в митохондриях [Zhang A.-S. et al., 1997]. После этого гем покидает митохондрию и соединяется с глобином, образуя гемоглобин.

Образовавшийся гем утилизируется различными гемопротейнами. После присоединения четырех глобиновых субъединиц образуется гемоглобин. Гем одинаков для всех видов гемоглобина, и различия в свойствах Hb связаны только с различиями глобиновой части. Гем крайне неустойчив, легко превращается в гематин с окислением Fe^{2+} в Fe^{3+} и присоединением к последней группе OH^- ; он также легко превращается в гемин, который вместо группы OH^- содержит хлор.

В печени, в гепатоцитах гем утилизируется для образования цитохрома р450, который относится к

семейству гемопротейнов, ответственных за первую фазу метаболизма эндогенных и экзогенных химических веществ.

Гем участвует также в образовании митохондриальных цитохромов, каталазы, пероксидазы, цитохрома b5; некоторые гемопротейны обнаруживаются в эндоплазматическом ретикулуме, которые играют важную роль в метаболизме лекарств.

Гем обладает многими биологическими функциями, включая связывание кислорода, участвует в процессах метаболизма кислорода, передаче электронов и др. Он играет центральную роль в регуляции активации многих белков, в том числе гем регулирует свой собственный синтез [Hon T. et al., 1997]. Контрольный механизм биосинтеза гема локализуется на первой ферментативной ступени образования АЛК. Фермент АЛК-С имеет низкую активность по сравнению с активностями ферментов последующих ступеней образования гема.

В здоровом организме синтез гема регулируется так, чтобы обеспечить гемом в адекватном количестве для синтеза различных гемопротейнов.

Эта регуляция происходит по типу механизма обратной связи путем воздействия конечного продукта (гема) на активность синтетазы АЛК. По-видимому, ингибция активности АЛК-С является главным контролирующим механизмом. Высказывается мнение, что при избытке гема последний соединяется с белком, называемым «апорепрессор», синтез которого находится под контролем регуляторного гена. Это комплексное соединение — «гем — апорепрессор» действует как корепрессор, и апорепрессор еще называют репрессором. Последний действует на оперативный ген, вследствие чего угнетается транскрипция структурного гена, ответственного за синтез мессенджера РНК,

который контролирует синтез АЛК-С в рибосоме.

Таким образом, избыток гема приводит к укорочению полупериода существования мРНК АЛК-С, уменьшению содержания АЛК-С, предотвращению транслокации цитозольных предшественников АЛК-С в митохондрии, и итогом этого является снижение синтеза гема [Hon T. et al., 1997].

При повышенной утилизации гема происходит угнетение оперативного гена, вследствие чего происходит увеличение синтеза АЛК-С с образованием большого количества предшественников гема для удовлетворения потребностей организма в геме [Orkin F., 1996]. По данным Т.Нон и соавт. (1997), в регуляции синтеза гема в эритроидных клетках участвуют 15 клонов, 2 из которых являются негативными регуляторами.

Регуляция метаболизма печеночного гема также находится на уровне фермента АЛК-С. В норме печеночные клетки содержат фермент в небольшом количестве, и его период полужизни короткий. Однако активность фермента может быстро увеличиться во много раз под воздействием различных лекарственных и химических веществ, которые обладают потенциальностью вызывать порфирии (см. раздел «Наследственные и приобретенные порфирии»). Экспериментальные и клинические наблюдения показали, что главным фактором, контролирующим уровень активности печеночной АЛК-С, является небольшой, но критический пул «регуляторного» гема, находящегося в гепатоцитах, и этот контроль осуществляется по типу обратной связи. Концентрация гема, необходимая для угнетения продукции АЛК-С, низкая — 10^{-7} моль/кг, тогда как для подавления активности — 10^{-5} моль/кг. Но концентрация гема, образованного внутри митохондрий, недостаточна для инги-

бирования АЛК-С, так что контроль АЛК-С осуществляется за счет «свободного пула гема», находящегося внутри цитозоля. Таким образом, ценность и активность фермента АЛК-С зависит от внутриклеточного содержания гема и от потребности в геме для метаболических процессов.

В нормальных условиях большинство печеночного гема используется для синтеза цитохромов р450, группы микросомальных ферментов, функцией которых является окончательное окисление в процессе метаболизма лекарственных веществ. Гем увеличивает экспрессию гена оксигеназы 1, содержание гуанилмонофосфата через растворимую гуанилатциклазу, транскрипцию гена цитохрома р450 [Hon T. et al., 1997].

«Свободный пул гема» рассматривается как истощающийся пул при состояниях, которые вызывают индукцию увеличения синтеза цитохромов р450, особенно при состояниях, приводящих к быстрому снижению цитохромов р450. Так, различные порфириногенные липофильные химические вещества и лекарства (инсектициды, барбитураты, эндогенные и экзогенные стероиды, антибиотики, небарбитуровые гипнотические вещества и др.) вызывают снижение содержания цитохромов р450 и индуцируют повышение содержания апопротеинов цитохромов р450, приводя к истощению пула «регуляторного» гема, вследствие чего увеличивается синтез АЛК-С. Напротив, периферическое введение гема животным и больным людям с порфирией может приводить к сохранению или же избытку пула «регуляторного» гема и по механизму обратной связи снижать активность АЛК-С. Механизм, с помощью которого пул «регуляторного» гема уменьшает активность АЛК-С, включает в себя увеличение содержания деградации мРНК АЛК-С и блокаду проникновения молекул фермента в митохон-

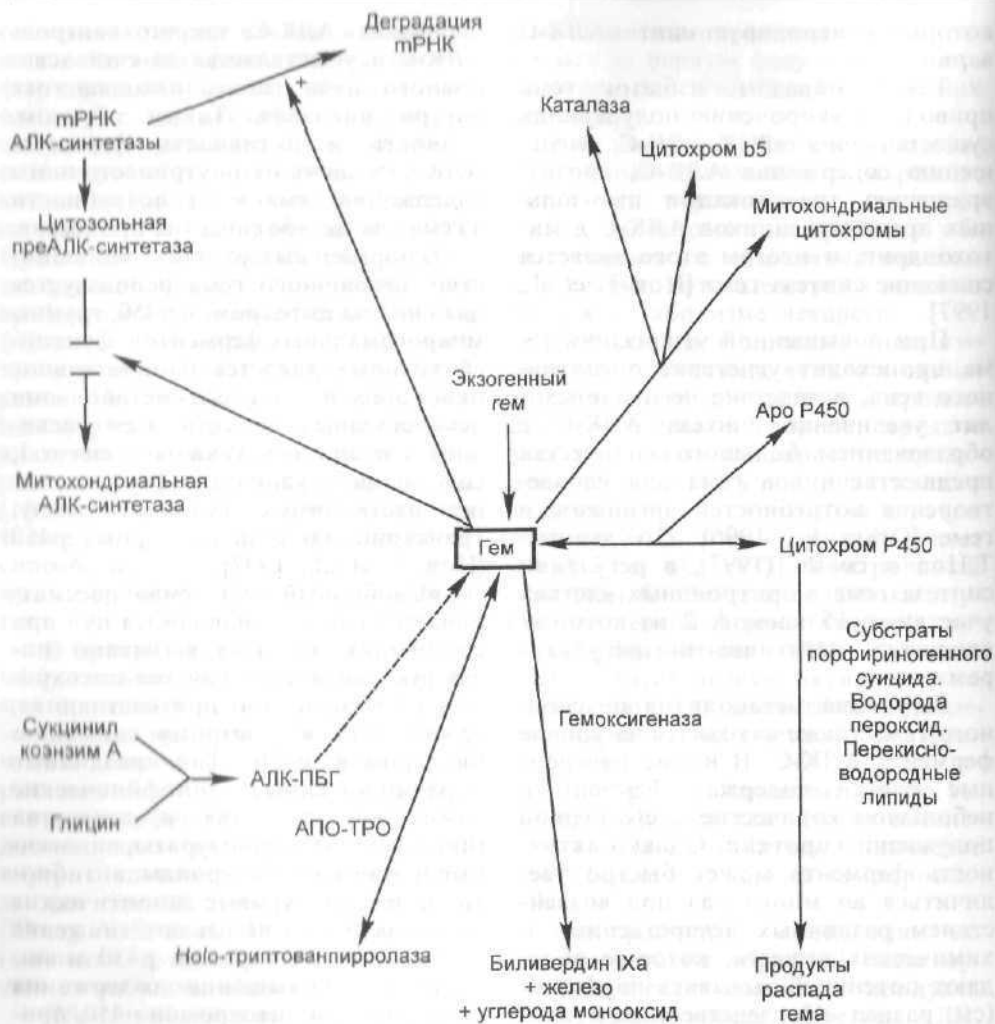


Схема 3. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПЕЧЕНОЧНОГО ГЕМА
(по Н. Bankovsky, 1999).

дрии. Экспериментально было показано, что уменьшение содержания мРНК АЛК-С происходит по механизму обратной связи, изменяется уровень транскрипции гена АЛК-С. Содержание пула «регуляторного» гема также зависит от активности гемоксигеназы. Этот фермент расщепляет гем внутри гемосодержащих клеток. Активность гемоксигеназы может быстро и значительно увели-

чиваться в клетках под влиянием повышенного содержания гема, которое может быть обусловлено либо экзогенным введением гема, либо индукцией активности АЛК-С, приводящей к образованию всех промежуточных продуктов образования гема и в конечном счете к увеличению гема.

В норме образование АЛК приводит к увеличению активности ПБГ-

Д, способствуя продолжению эффективного пути биосинтеза гема. Ряд эндогенных и экзогенных факторов могут модифицировать индукцию АЛК-С. Так, увеличение потребления углеводов или белка может блокировать индукцию синтеза АЛК-С; механизм действия глюкозы не известен.

Хелатное железо (цитратное железо, декстран) снижает содержание гема, приводя ко вторичному увеличению его синтеза. Различные группы стероидов, включая гонадные метаболиты и АКГГ, промежуточные продукты деградации желчных кислот могут индуцировать синтез АЛК-С. У адреналэктомированных животных гидрокортизон индуцирует синтез АЛК-С.

На схеме 3 представлена схема регуляции метаболизма печеночного гема. Поскольку при ряде заболеваний может нарушаться синтез порфиринового обмена, то в приложениях 14 и 15 представлены нормальные показатели.

БИОСИНТЕЗ ГЛОБИНА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

На разных этапах развития эмбриона, плода, ребенка и взрослого человека обнаруживаются различные типы гемоглобинов. Все Hb являются гетеротетрамерами и содержат два типа глобиновых цепей: α (α или ζ) и β (ϵ , δ , $\zeta\gamma$, $\lambda\gamma$ или β) [Russel J. et al., 1997]. β -Подобные гены глобина у человека (ϵ , $\zeta\gamma$, $\lambda\gamma$ и β) экспрессированы в эритроидных клетках, выделенных из желточного мешка (ϵ), печени плода ($\zeta\gamma$, $\lambda\gamma$) и костного мозга (β) [Sabatino D. et al., 1998]. Синтез Hb происходит в проэритроцитах — базофильных нормоцитах.

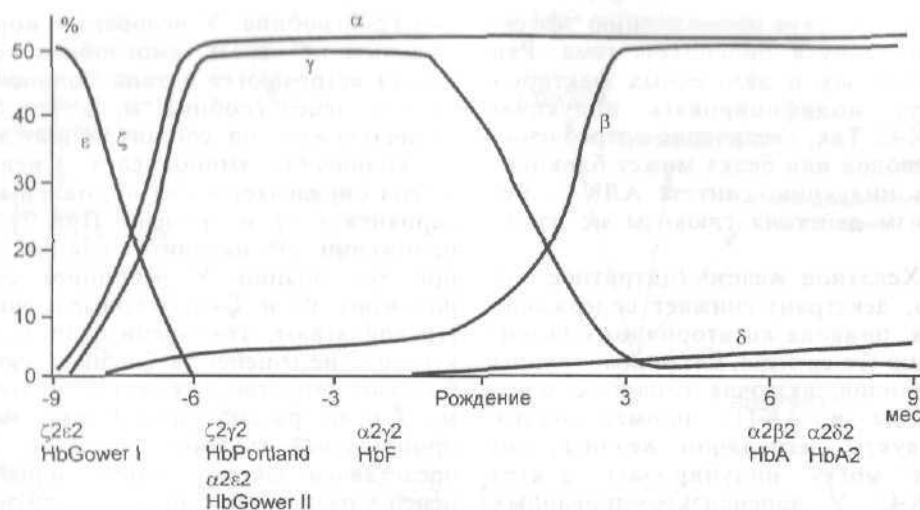
В онтогенезе у человека продуцируются несколько типов цепей глобина, которые при различных сочетаниях между собой определяют

тип гемоглобина. У человека с нормальным по генам гемоглобина геномом встречаются 4 типа полипептидных цепей глобина: α , β , γ и δ , отличающихся по составу и иногда по количеству аминокислот. Среди γ -цепи определяется два нормальных варианта — $\zeta\gamma$ - и $\lambda\gamma$ -цепи. При $\zeta\gamma$ в положении 136 находится глицин, а при $\lambda\gamma$ — аланин. У эмбрионов существуют ϵ - и ζ -глобиновые цепи. Предполагают, что ϵ -цепи относятся к группе не α -цепей, а ζ -цепи имеют большое сходство с α -цепью, поэтому ζ -цепи рассматривают как эмбриональный α -глобин. На рис. 3 представлен синтез полипептидных цепей в различные периоды развития эмбриона, плода и доношенного ребенка.

α -Цепь состоит из 141 аминокислотного остатка, а β -, γ - и δ -цепи — из 146. α - и β -цепи идентичны в 65 позициях и различны в 76. γ - и δ -цепи идентичны по 107 положениям аминокислотных остатков, но различны в 39 позициях.

Как было отмечено, одна из неиспользованных координационных связей железа в геме соединяется с глобином, и результатом этого является образование гемоглобина. Рентгеноструктурный анализ показал, что в гемоглобине α - и β -цепи свернуты в спиральные сегменты различной длины: в α -цепях имеются 7 спиралей, в β -цепях — 8. Молекула Hb представляет тетрамер, состоящий из 4 полипептидных цепей. В различные периоды развития человека отмечаются различные виды Hb, и это обусловлено различиями в глобинах, активность синтеза которых изменяется в онтогенезе (см. рис. 3).

Синтез глобиновых цепей находится под управлением генов. Каждый ген глобина состоит из трех эксонов, разделенных двумя интронами. Эксон 2 контролирует связывание гема и образование α — β -димера, а эксон 3 контролирует многие



3. Экспрессия цепочек глобина у людей в онтогенезе (по данным E.Girodon и соавт., 1995).

аминокислоты, вовлеченные во взаимодействие глобиновых субъединиц, необходимых для кооперации тетрамера Hb в связывании кислорода. Гены, кодирующие синтез α-цепи находятся на хромосомах 16-й пары (16p13.2—pter). α-подобные глобины находятся под контролем трех генов (5'—ζ—α₂—α₁—3'). Экспрессия α-генов наблюдается у 5-недельного эмбриона и сохраняется после рождения на протяжении всей жизни человека. Гены для β-, γ- и δ-цепей расположены вблизи друг от друга на хромосомах 11-й пары (11p15.5). β-Подобные глобины контролируются пятью генами (5'—ε Gγ—Aγ—δ—β—3') [Léna-Russo D. et al., 1998]. γ-Цепи находятся под контролем двух генов — «гамма G» и «гамма A». Последние несут код для γ-глобина, отличительной чертой которых является наличие глицина (в Gγ) и аланина (в Aγ) в позиции 136 на γ-цепи. В свою очередь, в Aγ-цепи в позиции 75 аминокислотный остаток может быть замещен изолейцином (AγI) или треонином (AγT). У

новорожденного ребенка отношение Gγ к Aγ составляет 7 : 3, а к 6 мес — 2 : 3 [Honig G. et al., 1986; Stamatoyannopoulos G. et al., 1994]. Для β- и δ-цепей имеется один локус для каждой из этих двух глобинов.

В отношении генов эмбриональных глобиновых цепей уже на ранних стадиях эмбриогенеза отмечается экспрессия ε- и ζ-глобиновых генов. H.Kamuzoga и соавт. (1974) считают, что ζ-гены являются генами примитивных α-цепей. γ-Глобиновые гены наиболее активно функционируют у плода, а после рождения ребенка они постепенно инактивируются. В то же время активность генов β- и δ-цепей в антенатальном периоде минимальна и резко увеличивается после рождения ребенка.

Экспрессия генов глобина в эритроидных клетках у человека является высоко регулируемым процессом, который обеспечивается как транскрипционным, так посттранскрипционным контролем. Этот контроль обеспечивает высокий уровень эритроидно-клеточной специфичности и клеточно-специфическую стадию экспрессии генов α- и β-подобных глобинов: ζ- и ε-глобина в течение раннего эмбриогенеза и α- и β-гло-

бина в постнатальном периоде. Специфичность экспрессии индивидуальных генов отражает взаимодействие *cis*-активных регуляторных элементов в ДНК с транскрипционными факторами. К числу эритроидных факторов транскрипции относятся GATA-1, NF-E2 (Nuclear Factor — Erythroid 2, ядерный эритроидный фактор 2) и SCFL (Stem Cell Factor Leukemia, фактор стволовой клетки лейкемии), EKLF, Nrf-1, Nrf-2, LCR-F1, AP-1, Sp1 [Moi P. et al., 1994; Sun C.-W. et al., 1994]. Посттранскрипционный контроль стабильности мРНК глобина обеспечивается другим уровнем, чем при котором экспрессия гена глобина регулируется. Если у большинства мРНК период его деградации ($T_{1/2S}$) колеблется от нескольких минут до нескольких часов, то $T_{1/2S}$ мРНК глобина составляет 16—48 ч [Kabnick K. et al., 1988; Hargrove J. et al., 1989]. Эта значительная стабильность позволяет более 95% мРНК глобина аккумулироваться в терминально-дифференцированных эритроидных клетках-предшественниках [Russel E. et al., 1996].

GATA-1 является транскрипционным фактором, одна или несколько копий которого локализованы в регуляторных элементах всех генов, экспрессируемых в эритроидных клетках. Это свидетельствует о важности GATA-1 для развития и функции Эр. GATA-1 необходим для дифференциации клеток эритроидного ряда. Ген расположен на X-хромосоме [Orkin S., 1992]. GATA-1 также экспрессирован на полипотентных гемопоэтических клетках-предшественниках, тучных, мегакариоцитарных и эндотелиальных клетках [Sposi N. et al., 1992; Mouton M.-A. et al., 1993].

NF-E2 — это второй ДНК-связывающий белок, играющий важную роль в экспрессии гена глобина. мРНК для компонента NF-E2 с молекулярной массой 45 килодаль-

тон обнаружен в полипотентных гемопоэтических клетках-предшественниках, в мегакариоцитарных и тучных клетках. NF-E2 необходим для повышения активности кластера β-гена LCR (β-globin gene locus control region). Он является важным активатором в синтезе гемоглобина и в обмене железа [Andrews N. et al., 1993; Gong Q. et al., 1993].

Ген SCFL ответствен за образование белка, который является активатором транскрипции. Он экспрессирован на высоком уровне в эритроидных, мегакариоцитарных и тучных клетках [Green A. et al., 1992]. Индукция созревания клеток эритроидного ряда приводит к увеличению экспрессии SCFL в 5—10 раз, а при блокировании синтеза или активности SCFL или же мутации белка происходит ингибирование созревания эритроидных клеток [Aplan P. et al., 1992].

Каждый ген глобина имеет регуляторные элементы (промоторы), которые модулируют тканеспецифическую экспрессию белка. Эти элементы, взаимодействуя с LCR, контролируют индивидуальную экспрессию гена глобина. Каждый регуляторный элемент включает в себя множественные эритроидно-специфические участки и отмечается экспрессия транскрипционных факторов.

Тканеспецифическая экспрессия ε-гена глобина обусловлена тем, что промотор взаимодействует с эритроидно специфическими белками (GATA-1, NF-E2). В эритроидных клетках эмбриона эта экспрессия ограничена из-за действия ингибиторов [Gong Q. et al., 1993]. При увеличении уровня GATA-1 в эмбриональных эритроидных клетках наблюдается снижение синтеза ε-глобина и мРНК GATA-2. Увеличение в 2—3 раза содержания мРНК в клетках сопровождается увеличением в 1,5 раза содержания ε-глобина и в 2,6 раза γ-глобина [Ikonomi P. et al., 1998]. У

человека ген β -подобного глобина (ϵ) экспрессирован на примитивных эритроидных клетках желточного мешка уже в течение первых недель развития эмбриона, и экспрессия гена ϵ -глобина опосредуется многими положительными и негативными регуляторными элементами; к их числу относятся PRE II (Positive Regulatory Element), PRE II — связанный фактор (PRE II BF), SSRPI и др. [Baron M. et al., 1998].

Существуют ряд промоторов, участвующих в регуляции генов γ -глобина. Известны до 15 ДНК-связывающих белков (SSP, CP1, SP1, GATA-1, Oct-1, NF-E3 и др.), которые взаимодействуют с геном промотора γ -глобина [Mantovani R. et al., 1989]. На функцию промотора непосредственно или косвенно влияют множественные механизмы путем взаимодействия регуляторных элементов с LCR и, возможно, через ингибиторы. В дистальном участке гена γ -промотора обнаружен участок негативного регулятора — YY1 [Park K. et al., 1991; Stamatoyannopoulos G. et al., 1994].

Промотор β -глобина содержит элементы, которые взаимодействуют с LCR и, тем самым, способствуют экспрессии гена и созреванию эритроидных клеток-предшественниц [Antonion M. et al., 1990]. Известны ряд активаторов транскрипции, которые способствуют экспрессии β -глобина. В их число входят GATA-1, Sp1, Sp2, CACD и др. [Magram J. et al., 1989; Hartzog G. et al., 1993].

Ген ζ -глобина имеет только промотор. Его транскрипционными активаторами являются GATA-1, Sp1 и Sp2. Главная роль в функционировании и регуляции промотора ζ -гена принадлежит GATA-1 [Yu C. et al., 1990].

В гене промотора α -глобина также имеются участки для связывания с активаторами транскрипции (GATA-1, Sp1, Sp2 и др.) [Lim L. et al., 1992].

На разных этапах развития человека (эмбрион — плод — ребенок — взрослый) превалируют различные типы гемоглобинов. Каким образом происходит молекулярный контроль переключения выработки определенного типа глобина?

Исследованиями В. Peters и соавт. (1993) было показано, что у мышей делеция угнетающего элемента в регионе ϵ -промотора приводит к тому, что в дефинитивных эритроидных клетках наблюдается экспрессия ϵ -глобина. Это указывает на то, что в процессе развития эмбриона ген ϵ -глобина контролируется ингибиторными элементами. Было установлено также, что существует автономный контроль гена ζ -глобина. Этот ген экспрессирован в эритроблестах желточного мешка, но он не определяется в дефинитивных эритроидных клетках фетальной печени и костного мозга взрослых людей [Pondel M. et al., 1990]. В промоторе гена ζ -глобина отсутствует супрессор, и это указывает на то, что автономный контроль гена ζ -глобина отличается от такового гена ϵ -глобина [Sabath D. et al., 1994].

В 1988 г. О. Choi и соавт. впервые выдвинули гипотетическую модель переключения различных типов глобинов в онтогенезе, которая впоследствии подтверждена исследованиями С. Kim и соавт. (1992). Было установлено, что в эмбриональной стадии LCR (Locus Control Region, контролирующий локус участка) взаимодействует с геном ϵ -глобина; у плода ген ϵ -глобина угнетен и LCR взаимодействует с $\zeta\gamma$ - и $\alpha\gamma$ -генами. У взрослых γ -гены угнетены и LCR узнает β -ген.

Общепринятые модели переключения гемоглобина предполагают, что промоторы гена глобина конкурируют за эритроидно-специфические факторы транскрипции и (или) LCR, чтобы активировать экспрессию определенного гена глобина на

каждой стадии развития [Sabatino D. et al., 1998]. Фрагмент 576bp промотора β -спектрина человека увеличивает экспрессию мРНК $\Lambda\gamma$ -глобина в эритроидных клетках. Промотор $\Lambda\gamma$ -глобина угнетает экспрессию мРНК β -глобина в желточном мешке. Было установлено, что для полного угнетения мРНК β -глобина в эритроидных клетках желточного мешка у трансгенных мышей необходимы все три промотора генов (ϵ , γ , $\Lambda\gamma$) [De Sabatino D. et al., 1999]. Координированное переключение α - и β -подобных генов приводит к экспрессии на высоком уровне Hb Gower ($\zeta\epsilon\epsilon$), HbF ($\alpha\gamma$) и HbA ($\alpha\beta$) в течение эмбрионального, фетального и взрослого развития соответственно [He Z. et al., 2001].

In vitro колонии, образованные из гемопоэтических клеток-предшественниц фетальной печени, костного мозга новорожденных детей и взрослых, содержат БОЕ-Э, в которых определяется HbF и HbA. У взрослых людей уровень образования HbF в БОЕ-Э умеренный и значительно меньше, чем в БОЕ-Э, образованных из гемопоэтических клеток-предшественниц плода и новорожденных детей. БОЕ-Э, образованные из гемопоэтических клеток-предшественниц печени плода, содержат 90—95% HbF.

В Эр крови новорожденных детей определяются ζ -цепочки глобина [Chui D. et al., 1989]. Колонии, образованные из гемопоэтических клеток-предшественниц плодов ранних сроков гестации, содержат эритроидные клетки с ϵ - и γ -глобинами. Это указывает на то, что эритроидные клетки-предшественницы уже на ранних этапах развития плода в период переключения синтеза ϵ -глобина на синтез γ -глобина содержат программы, позволяющие им коэкспрессировать ϵ - и γ -гены [Reschle C. et al., 1984]. Так как эритроидные клетки-предшественницы у плода, новорожденного ребенка и у взрос-

лых происходят из одной линейной стволовой клетки, то поэтому в клетках эритроидных колоний продолжает определяться HbF в течение периода переключения синтеза различных типов глобиновых цепей. G. Stamatoyannopoulos и соавт. (1994) отмечают, что содержание HbF в БОЕ-Э, образованных из гемопоэтических клеток-предшественниц пуповинной крови, имеет промежуточное содержание HbF в БОЕ-Э, образованных из гемопоэтических клеток-предшественниц плода и взрослых людей. В экспрессии гена β -глобина участвует Kruppel-подобный фактор (Erythroid Kruppel-like Factor, EKLF), который является одним из ключевых факторов, участвующих в процессе переключения гена глобина фетального типа на взрослый [Oghill E. et al., 2001]. В регуляции EKLF участвует транскрипционный фактор GATA-1 [Anderson R. et al., 1997].

Вопрос о времени переключения синтеза глобиновых цепочек окончательно не выяснен. Высказывают предположение, что переключение зависит от уровня регенерации гемопоэтических клеток, который очень высок у плода и снижается после рождения ребенка. Однако усиление эритропоэза у плода не влияет сильно на уровень переключения. У детей с ГБН вследствие несовместимости антигенного состава Эр у матери и плода, с врожденными заболеваниями сердца, со вторичной гипоксемией — у этих детей наблюдается нормальный характер переключения.

Известно также, что содержание HbF в Эр новорожденных детей зависит от гестационного возраста. У недоношенных детей содержание HbF в Эр очень высокое и у них переход синтеза от HbF на HbA происходит к концу нормального гестационного периода. Это указывает на то, что переключение типов глобинов является процессом, не зависящим от внутри- или внеутроб-

ного статуса ребенка, и наиболее вероятно, что именно степень зрелости плода определяет время переключения синтеза γ -цепочек глобина на β -цепочки. Тем не менее у взрослых образование γ -цепочек продолжается на всем протяжении жизни, но переключение γ -цепочек на β -цепочки сохраняется на низком уровне, и количество клеток, способных к синтезу γ -цепочек глобина, очень незначительно. Переключение синтеза γ -глобина на синтез β -глобина происходит в период 30—34 нед гестации, и в возрасте 40 нед гестации β -глобин составляет около 20%. Содержание β -цепочек глобина у ребенка достигает значений у взрослого к 6—9-недельному возрасту [Smith M. et al., 1982].

Хотя в физиологических условиях число F-клеток незначительно, тем не менее при стрессовых состояниях, приводящих к усилению эритропоэза, их количество резко возрастает (восстановление эритропоэза при транзитной эритробластении, после ТКМ, при лечении ЖДА препаратами железа в период ретикулоцитарного криза и др.). У плода значительное повышение образования F-клеток наблюдается во II триместре, т. е. в тот период, когда резко увеличиваются ОЦК и образование эритроидных клеток у женщины в период беременности. Исходя из этого, можно провести аналогию с состояниями, когда повышенное образование F-клеток возникает в ситуациях с усилением эритропоэза. Взаимосвязь между повышенной эритроидной регенерацией и активацией экспрессии γ -цепей глобина в клетках красного ротка доказана и экспериментально. Острое кровотечение стимулирует образование γ -цепей глобина. Увеличение образования HbF отмечается при эритропоэтическом стрессе *in vivo* при введении больших доз рекомбинантного Эпо [Umemura T. et al., 1988; Stamatoyannopoulos G. et

al., 1994]. При культивировании в присутствии гемина *in vitro* клеток-предшественниц гемопоэза, выделенных из крови новорожденных детей и взрослых, наряду с увеличением числа эритроидных колоний, отмечается стимуляция образования эмбриональных (ζ , ϵ) и фетальных (γ) глобинов в клетках образовавшихся колоний [Alter B. et al., 1998].

Методы клонального культивирования гемопоэтических клеток-предшественниц человека позволили провести анализ синтеза различных типов гемоглобина в клетках колоний. Было установлено, что *in vitro* в эритроидных клетках происходит более интенсивное образование HbF, чем *in vivo*, при этом распределение HbF в клетках различных колоний было неравномерным. Некоторые субклоны эритроидных колоний образовывали HbF во всех клетках, в других — HbF не определялся, но большинство колоний содержали F-эритробласты и A-эритробласты. По мнению G. Stamatoyannopoulos и соавт. (1981), экспрессия HbF в эритроидных клетках-предшественницах зависит от случайных, стохастических явлений. Если стохастический результат проявляется с первым делением клетки, то в конечном итоге возникают F-эритробласты, а если стохастический исход происходит через несколько делений, то в БОЕ-Э происходит частичное распределение HbF. В последующих работах (1994) авторы высказали предположение, что одним из факторов, влияющим на стохастический процесс образования F-клеток, является стадия, в которую клетки-предшественницы входят в компартмент эритробластов. Стохастическая вероятность образования HbF клеток увеличивается, так как нормальный переход от БОЕ-Э к КОЕ-Э и к проэритробласту имеет «короткий цикл». Но стохастический исход зависит и от других факторов. Так, при добавлении сы-

воротки крови плодов теленка в культуру тканей в клетках эритроидного ряда происходит индукция экспрессии HbF. Под влиянием КОЕ-ГМ и ФСК наступает повышенный синтез цепочек γ -глобина в клетках БОЕ-Э колоний. Сыворотка плодов барана угнетает образование HbF в БОЕ-Э [Miller B. et al., 1992].

Как уже было отмечено, у здоровых людей в Эр обнаруживается «фетальный» и «взрослый» гемоглобин. Синтез этих типов гемоглобина происходит асинхронно в течение созревания клеток эритроидного ряда: синтез γ -глобина отмечается в эритроблестах и базофильных нормоцитах, а синтез β -глобина — позднее. Таким образом, переключение синтеза различных типов Hb происходит в компартменте эритроидных клеток. Контроль за синтезом HbF у взрослых заключается в том, что ранние клетки-предшественницы гемопоэза содержат программу, позволяющую им экспрессировать гены фетального глобина. Однако в процессе дифференциации и созревания клеток-предшественниц гемопоэза в направлении эритроидного ростка эта программа изменяется в сторону синтеза гемоглобина взрослого типа. По-видимому, ранние клетки-предшественницы эритроидного ряда содержат активирующие факторы, которые благоприятствуют экспрессии γ -цепочек глобина, тогда как в поздних клетках-предшественницах содержатся факторы, способствующие экспрессии β -цепочек глобина. Согласно гипотезе, выдвинутой G. Stamatou-anopoulos и соавт. (1994), F-клетки образуются тогда, когда ранние клетки-предшественницы становятся незрелыми коммитированными клетками. Эти ситуации возникают при острой регенерации костного мозга, после введения больших доз рекомбинантного Эпо [Imamura T. et al., 1988].

Контроль за экспрессией β - и γ -генов может зависеть от клеточного цикла деления. Экспрессия β -гена

может зависеть от накопления активирующих факторов в фазе G₁ клеточного цикла деления. В быстроделящихся клетках эти факторы не аккумулируются совершенно или же в незначительном количестве, тогда как эритроидные клетки, проходящие клеточный цикл деления более медленно, успевают аккумулировать эти активирующие факторы в адекватном количестве, необходимом для экспрессии γ -гена. То, что в норме у взрослых людей образование F-клеток находится под генетическим контролем, указывает на наличие мутаций в генах, не связанных с β -локусом. Наблюдения за семьями, у лиц которых отмечается повышенное образование F-клеток, показали, что наследование может быть аутосомным и X-связанным доминантным [Miyoshi K. et al., 1988; Dover G. et al., 1992].

Нет единого мнения относительно того, на каком уровне клеток происходит синтез Hb. P. Harrison (1976) считает, что у здоровых людей синтез Hb начинается в базофильных нормоцитах, а по мнению J. Hunt (1974) — в пронормоцитах, но скорость синтеза Hb в последних крайне низкая. Гемоглобин накапливается в G₁-фазе, возможно и в G₂-периоде [Стародуб Н.Ф. и др., 1987].

Методом автордиографии с использованием ⁵⁹Fe аскорбината было установлено, что синтез гемоглобина начинается на стадии эритроблеста, но наиболее интенсивно он происходит в базофильных нормоцитах; затем по мере созревания клеток и увеличения содержания в них гемоглобина интенсивность включения железа в гем уменьшается, но сохраняется вплоть до ретикулоцита. Скорость синтеза Hb в эритроблестах и базофильных нормоцитах составляет 0,5 пг/ч, а на стадии ретикулоцита она снижается в 5 раз. В делящихся клетках после фазы митоза содержание Hb уменьшается в 2 раза и в

ТАБЛИЦА 1. Различные типы гемоглобина и время их появления в процессе онтогенеза

| Тип Hb | Цепи глобинов | Время появления |
|------------|-----------------------|--|
| Gower 1 | $\zeta_2 \epsilon_2$ | В эмбриональном периоде (первые недели беременности) |
| Gower 2 | $\alpha_2 \epsilon_2$ | |
| Portland 1 | $\zeta_2 \gamma_2$ | |
| Portland 2 | $\zeta_2 \beta_2$ | » |
| HbF | $\alpha_2 \gamma_2$ | 2-й месяц беременности; к 6-му месяцу после рождения ребенка достигает показателей у взрослых |
| HbA | $\alpha_2 \beta_2$ | У плода содержится в минимальных количествах. Достигает показателей у взрослых к 3—6-му месяцу жизни |
| HbA2 | $\alpha_2 \delta_2$ | То же |

течение интерфазы восстанавливается почти до первоначального уровня. Методом цитофотометрии установлено, что синтез гемоглобина начинается сразу после митоза и продолжается в G₁-, S- и G₂-фазах клеточного цикла деления.

В течение онтогенеза отмечаются разные типы Hb (табл. 1). В течение первых 3 мес гестации Эр содержат эмбриональный гемоглобин. Этим ранним гемоглобином является HbP (примитивный), к которому относятся Hb Gower1 и Hb Gower2. Hb Gower1 обладает повышенным P₅₀ уровнем, сниженным эффектом Бора и увеличенной способностью связываться с 2,3-ДФГ [He Z. et al., 2001]. По данным G. Honig и соавт. (1986), у эмбрионов менее 6 нед гестации Hb Gower1 и Hb Gower2 составляют около 2/3 от всего количества Hb; на долю Hb Portland приходится около 20%. В этот ранний период у 5-недельного эмбриона человека уже определяются следы HbF, и его синтез резко увеличивается, достигая к 8-недельному сроку гестации приблизительно 90% от всего Hb. HbF остается доминирующим в течение всего периода внутриутробного развития. Переключение образования ϵ -глобиновых цепочек на γ -глобиновые у эмбриона

человека происходит рано, приблизительно на 5-й неделе гестации. Изучение эмбриональных и фетальных эритробластов 38—60-дневных эмбрионов и плодов человека показало, что ϵ -глобиновая экспрессия ограничена эритроидными клетками желточного мешка, а экспрессия γ - и β -цепочек глобина — эритробластами печеночного происхождения [Baron M. et al., 1998].

Синтез HbA начинается приблизительно с 9-й недели гестации, и содержание этого типа Hb составляет 4—13% от общего содержания Hb во все периоды внутриутробного развития. К моменту рождения ребенка содержание HbA у него колеблется от 5 до 45% от общего количества Hb, но превалирует HbF над HbA [Kutlar F. et al., 1987]. Как указывают M. Baron и соавт. (1998), экспрессия β -глобина начинается рано в течение развития плода и ее можно обнаружить иммунологическими методами. У плода экспрессия γ -гена приблизительно в 50 раз больше, чем экспрессия β -гена. С помощью метода двойной иммунофлюоресцентной окраски эритробластов плода и фетальных Эр было установлено, что в одной и той же клетке наблюдается экспрессия и β -, и γ -цепочек глобинов. В течение внутриутробного развития человека

синтез β -цепочки прогрессивно увеличивается и к 30—35 нед гестации составляет около 10% от всех глобинов гемоглобина. Затем синтез β -цепочек глобина резко увеличивается, а образование γ -цепочек глобина резко падает. Начиная с первых недель постнатальной жизни ребенка происходит резкое увеличение синтеза HbA, тогда как синтез HbF снижается (приблизительно на 3% в неделю), и к 6-месячному возрасту доля HbF составляет менее 3%, а HbA — 95—98%. Наряду со снижением содержания HbF, происходит и изменение соотношения γ - и δ -субъединиц; если к моменту рождения ребенка оно составляло 7 : 3, то к 6 мес — 2 : 3, и соотношение этих глобиновых цепей HbF в Эр пуповинной крови выше, чем в крови новорожденного [Huisman T. et al., 1980]. Переход HbF к HbA происходит в перинатальный период и заканчивается к концу первого года жизни.

К моменту рождения ребенка HbA₂ определяется в виде следов, и к одному году он составляет 2—3% от общего количества гемоглобина. В годовалом возрасте у человека устанавливается стабильный тип гемоглобина: HbA ($\alpha_2\beta_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$) и HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) [Girodon E. et al., 1995].

Содержание HbF у взрослых составляет менее 1% от общего гемоглобина. HbF ограничен Эр, называемыми F-клетками, содержание которых в крови составляет 3—7%. В каждом таком Эр содержатся 4—8 пг HbF и 22—26 пг HbA.

P. Neumeier и соавт. (1987) изучали содержание HbF, HbA и HbA₂ у недоношенных детей различных сроков гестации. Авторы установили, что чем более недоношен ребенок, тем выше у него содержание HbF (при гестации 28—31 нед — 84,4%, в 32—36 нед — 80,4%, в 37—41 нед — 78,2%). С увеличением сроков геста-

ции увеличивается содержание HbA (15,6, 19,5 и 21,6% соответственно) и HbA₂ (0,09%, 0,14% и 0,18% соответственно).

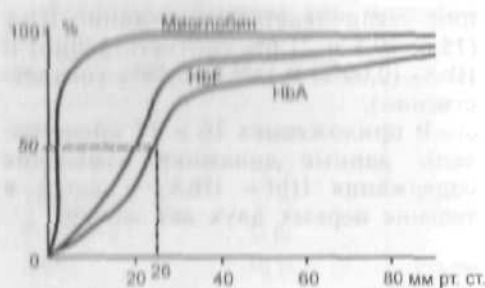
В приложениях 16 и 17 представлены данные динамики изменения содержания HbF и HbA₂ у детей в течение первых двух лет жизни.

СВОЙСТВА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ГЕМОГЛОБИНА

Несмотря на наличие различных типов гемоглобина, все они являются дыхательными пигментами, и отличаются они друг от друга не только по структуре строения глобиновых цепочек, но и свойствами. Тип гемоглобина определяется характером и сочетанием различных типов цепочек глобина.

Эр, содержащие HbF, обладают более высокой аффинностью к кислороду, чем Эр, содержащие HbA. Это связано с тем, что HbF связывается с 2,3-ДФГ в меньшей степени, чем HbA [Bunn H. et al., 1986]. Более высокое кислородное сродство крови плода по сравнению с таковым крови матери обеспечивает транспорт кислорода через плаценту, препятствует развитию гипоксии у плода.

Функция транспорта кислорода связана со способностью Hb фиксировать молекулу кислорода и выделять ее при уменьшении парциального давления (pO_2). Кривая диссоциации кислорода имеет сигмовидный характер (рис. 4). Фиксация одной молекулы кислорода способствует связыванию других, и напротив, освобождение одной молекулы кислорода способствует освобождению других, т. е. происходит каскад. Оксигемоглобин и дезоксигемоглобин находятся в равновесии между двумя этими состояниями, соответственно «R» (от Relaxed, расслабленный) и «T» (от Tense, напряженный). Оксигемоглобин имеет большее срод-



4. Кривая диссоциации оксигенированного Hb в зависимости от кислородного напряжения, pH 7,4.

ство к кислороду, чем дезоксигемоглобин, и кислород перемещает равновесия в сторону формы «R». Форма «Т» стабилизирована с помощью слабой связи с субъединицами гемоглобина. Фиксация одной молекулы кислорода к гемоглобину перемещает атом железа на поверхность гема и придает другое строение протопорфирина, что отражается на цепочках глобина, снижая взаимодействие молекул субъединиц [Girodon E. et al., 1995]. При дезоксигемоглобинизации перемещения железа не происходит [Léna-Russo D. et al., 1998]. Фиксация кислорода к гемоглобину приводит к переходу гемового Fe^{2+} в Fe^{3+} .

Сродство гемоглобина к кислороду изменяется под действием факторов микроокружения — температуры, pH, ионов Cl^- , углерода диоксида, 2,3-ДФГ. Увеличение содержания каждого из этих факторов снижает аффинность гемоглобина к кислороду, способствуя освобождению кислорода в тканях. Наличие в капиллярной крови тканей H^+ и CO_2 способствует освобождению кислорода гемоглобином, который связывается с H^+ и CO_2 и переносит их в кровь (эффект Bohr). Противоположный эффект на уровне альвеол легких называют эффектом Haldan.

2,3-ДФГ является органическим анионом Эр; он придает аллостерический эффект гемоглобину [Mis-

hel G., 1995]. Фиксируясь в центральном участке гемоглобина, образованном двумя цепочками β -глобина, в особенности на Т-форме, 2,3-ДФГ стабилизируется путем ионной связи, и это приводит к снижению аффинности гемоглобина к кислороду [Wajstajn H. et al., 1992]. Регуляторный эффект 2,3-ДФГ играет важную роль при гипоксии: при ее развитии содержание 2,3-ДФГ увеличивается, и это препятствует возникновению гипоксии.

Существуют формы гемоглобина, которые не способны обратимо фиксировать кислород и при спектральном анализе они отличаются от HbA. К их числу относятся метгемоглобин, карбоксигемоглобин, сульфгемоглобин.

Метгемоглобин — это окисленная форма гемоглобина, в которой атом железа — в трехвалентной форме (Fe^{3+}). У здоровых людей его содержание в крови менее 1%, но может увеличиваться при интоксикации, отравлении оксидантами, при наследственном дефиците метгемоглобинредуктазы.

Карбоксигемоглобин содержит одну молекулу CO вместо CO_2 . Сродство этой формы Hb к CO в 200 раз больше, чем к кислороду, т. е. незначительное увеличение CO в окружающей среде резко повышает образование карбоксигемоглобина.

Сульфгемоглобин образуется при отравлении сероводородом, оксидантами (фенацетин, дапсон). Эта форма гемоглобина очень нестабильна [Girodon E. et al., 1995].

Таким образом, гемоглобин имеет сложную структуру, изменяющуюся в процессе онтогенеза. Различия в строении гемоглобинов отражаются на их функциональных свойствах.

Основная функция Hb — это перенос кислорода в ткани, а из последних — CO_2 . Связывание Hb кислорода во многом определяется 2,3-ДФГ, играющим защитную роль при гипоксии.

МЕТАБОЛИЗМ В ЭРИТРОЦИТАХ

Эр человека, как и другие клетки организма, образуются из клеток, содержащих ядра, которые способны синтезировать ДНК, РНК, белки и делиться. К моменту созревания Эр покидают костный мозг в виде ретикулоцитов, которые дозревают в периферической крови, и Эр обеспечены всеми необходимыми ингредиентами, чтобы нормально существовать и функционировать на протяжении всей его жизни. В ретикулоцитах определяются остатки рибосом и мессенджеров РНК (мРНК), митохондрий и лизосом, но после окончания созревания ретикулоцитов и перехода в зрелый Эр эти образования исчезают в течение нескольких дней [Bull В. et al., 1990].

Зрелые Эр не содержат ядра и органеллы и вследствие этого не способны синтезировать белки мембраны, гемоглобин и ферменты, необходимые для метаболизма. Роль Эр ограничивается переносом кислорода из легких в ткани, транспорт и выделение CO_2 и продуктов метаболизма тканей. Для поддержания активной функции Эр необходимо, чтобы они обладали определенной интегральной структурой мембраны, способностью перемещать сквозь нее различные вещества и ионы, защищать мембрану от окисления. Для этого Эр должен содержать определенный набор ферментов, которые, с одной стороны, обеспечивали бы энергетический метаболизм, а с другой — препятствовали бы окислению структур Эр.

Эр лишены большинства синтетических функций, но они сохраняют способность к метаболизму глюкозы, образовывать жизненно важные вещества. Эта важная функция обеспечивает Эр энергией, необходимой для активного восстановления метгемоглобина в гемоглобин, сохранения железа в восстановленной форме,

образования 2,3-ДФГ для обеспечения функции гемоглобина и нейтрализации оксидантов, повреждающих мембрану Эр, для насосов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} против концентрационного градиента и других важных метаболических процессов — синтез аденина, гуанина и пиримидиновых нуклеотидов, глутатиона и липидов [Weatherall D. et al., 2000].

Хотя Эр не способны синтезировать белки, в частности ферменты, тем не менее к моменту созревания Эр в них содержатся более 40 ферментов, необходимых для их жизнедеятельности, в том числе около 20 ферментов участвуют в двух главных путях гликолиза. Зрелые Эр не являются метаболически инертными образованиями. Несмотря на отсутствие в них митохондрий и генерации АТФ не происходит в цикле Кребса, тем не менее Эр усваивают глюкозу и образуется молочная кислота [McMullin M., 1999].

Главным источником энергии для циркулирующих Эр человека является глюкоза. На 90% метаболизм глюкозы происходит анаэробным путем (путь Embden — Meyerhoff, EM): из одной молекулы глюкозы образуются две молекулы АТФ. При гликолитическом пути (схема 4) происходит перенос молекулы фосфата к АДФ для образования АТФ. В конечном итоге из одной молекулы глюкозы образуются 2 молекулы АТФ и молочная кислота. Образовавшаяся в процессе метаболизма глюкозы АТФ участвует по крайней мере в 5 функциях, необходимых для нормальной жизнедеятельности Эр [Ohls R. et al., 2000]:

1) АТФ поддерживает градиент электролитов в Эр; это происходит при участии энергии, АТФ-зависимого мембранного механизма, насосов; если насосы нарушены, то в Эр поступают Na^+ и H_2O , вследствие чего они разбухают и гемолизуются; энергия необходима для Эр и для

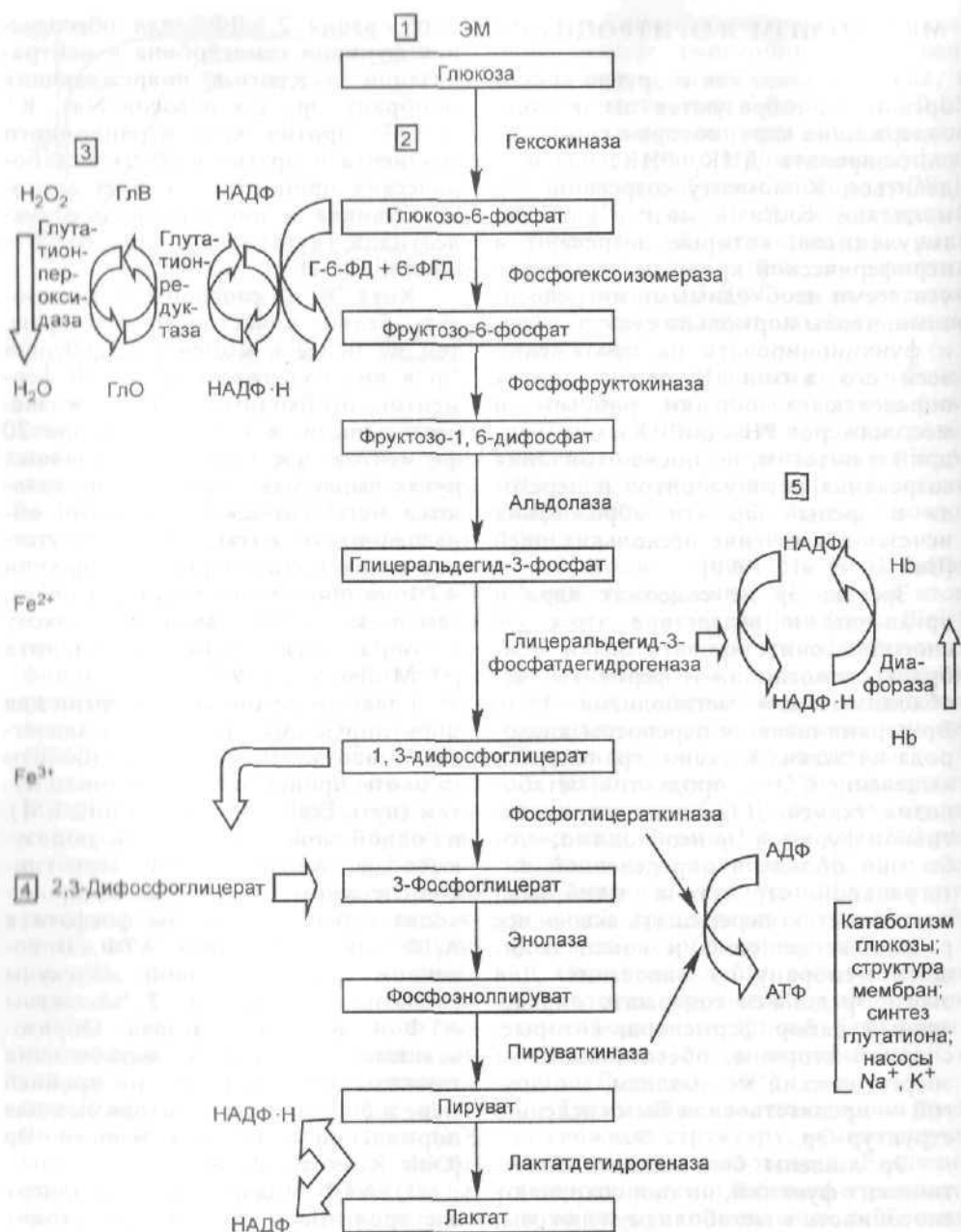


Схема 4. ГЛИКОЛИЗ В ЭРИТРОЦИТАХ.

1 — анаэробный путь Embden — Meyerhof (ЭМ); 2 — пентозно-фосфатный шунт; 3 — метаболизм глутатиона; 4 — шунт Rapoport — Luebering; 5 — редукция метгемоглобина.

того, чтобы поддерживать в них низкую концентрацию Ca^{2+} ;

2) АТФ необходима для начала реакции гликолиза в процессе фосфорилиции глюкозы в Г-6-Ф;

3) АТФ необходима для поддержания структуры мембраны Эр, ее двойковогнутости, комплекса фосфолипидной структуры;

4) АТФ необходима для поддержания концентрации органических фосфатов (2,3-ДФГ, АТФ) в Эр; эти вещества взаимодействуют с гемоглобином и оказывают значительное действие на сродство с кислородом;

5) АТФ необходима для поддержания железа гема в восстановленной форме; кислородный потенциал Эр может вызвать окисление Hb; если пероксиды и другие окислительные вещества не инактивированы, то Hb может денатурироваться и выпасть в осадок; эти Эр с денатурированным Hb (тельца Heinz) быстро удаляются из циркулирующей крови; защита Эр от окисления зависит от НАДФ и НАДФ·Н, которые регенерируются в процессе активации гликолитического пути и пентозофосфатного шунта; при дефицитах многих ферментов гликолитического пути и пентозофосфатного шунта отмечается дефицит энергии, необходимой для жизненно важных функций, вследствие чего происходит гемолиз.

Гликолитический путь метаболизма глюкозы обеспечивает Эр также НАДФ, который участвует в восстановлении метгемоглобина в гемоглобин, и 2,3-ДФГ, являющимся аллостеричным эффектором молекулы гемоглобина, который образуется в цикле Rapoport — Luebering (ответвление от цикла EM). 2,3-ДФГ является главным модулятором диссоциации кислорода из Hb; он фиксируется на гемоглобине и стабилизирует молекулу. Увеличение концентрации 2,3-ДФГ в Эр уменьшает сродство гемоглобина к кислороду, феномен, который обеспечивает оксигенацию тканей [McMullin M., 1999].

На схеме 4 представлены ферменты, которые катализируют различные ступени гликолитического пути. Дефицит активности большинства из этих ферментов приводит чаще всего к ГА, хотя возможны и другие проявления (эритроцитоз, поражения нервной, мышечной и других систем).

Второй путь метаболизма глюкозы — это пентозофосфатный шунт. Он обеспечивает метаболизм глюкозы на 10% с образованием НАДФ·Н и восстановленного глутатиона, который элиминирует водорода пероксид. В этом пути метаболизма глюкозы первым продуктом фосфорилиции глюкозы является Г-6-Ф. После окисления и ряда превращений Г-6-Ф образуются Ф-6-Ф и ГАФ. Эти два образованных продукта являются промежуточными веществами в гликолитическом пути. Гексозомонофосфатный шунт является источником НАДФ·Н в Эр, и он образует рибозу, необходимую для синтеза нуклеотидов. НАДФ·Н необходим для восстановления окисленного глутатиона и, возможно, сульфгидрильных групп белка. Глутатион принимает участие в защите Эр от оксидантов, участвует в процессе детоксикации.

Таким образом, пентозофосфатный шунт играет важную роль в метаболизме Эр. При дефиците фермента, катализирующего первую ступень (Г-6-ФД), длительность жизни Эр значительно укорачивается.

Эр содержат большое количество каталазы и, как и глутатионпероксидаза, участвуют в деактивации водорода пероксида [Gaetani G. et al., 1989]. Каталаза плотно связывается с НАДФ·Н, и неактивная форма фермента вновь становится активной под действием НАДФ·Н. Таким образом, активность пентозофосфатного шунта способствует удалению водорода пероксида не только путем действия глутатионпероксидазы, но и вследствие активации каталазы, тем самым предохраняя Эр от пере-

кисного окисления. Несмотря на важную роль каталазы в процессах метаболизма в Эр, последние при отсутствии каталазы, по-видимому, могут компенсировать инактивацию водорода пероксида путем действия глутатионпероксидазы. Кроме того, Эр содержат $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ -супероксиддисмутазу, функция которой, по-видимому, связана с удалением свободных радикалов [Kirkman H. et al., 1987]. У людей дефицита этого фермента в Эр не выявлено, четкая роль его не ясна [Beutler E., 1994].

Хотя Эр не синтезируют *de novo* пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, тем не менее они способны образовывать ряд соединений, играющих существенную роль в жизнедеятельности Эр. Метаболизм нуклеотидов необходим для поддержания пула энергии в Эр. Ряд ферментов (П-5'-Н, аденозиндезаминаза, АК) необходимы для цикличности нуклеотидов, и аномальная их активность приводит к преждевременной гибели Эр.

В Эр циркулирующей крови содержание аденина уменьшается вследствие процесса дезаминирования аденозина в инозин под влиянием аденозиндезаминазы и дезаминирования АМФ в ИМФ под действием аденозинмонофосфатдезаминазы. И тем не менее пул аденина в старых Эр больше, чем в молодых. Это объясняется тем, что пул аденина пополняется из ранее образованного аденина, который реагирует с фосфорибозилпрофосфатом для синтеза АМФ под влиянием аденинфосфорибозилтрансферазы:

АФРТ

Аденин + Фосфорибозилпрофосфат \rightarrow АМФ + Р

Аналогичная реакция используется для пополнения запасов гуанилнуклеотидов.

Эр способны также синтезировать НАД из никотинамида и никотиновой кислоты [Michel V. et al., 1990],

а также флавинадениндинуклеотид из рибофлавина и АТФ [Mandula B. et al., 1970].

В Эр имеются ряд ферментов, которые катализируют превращение нуклеотидов и нуклеозидов. Так, АК катализирует и поддерживает равновесие АТФ, АДФ и АМФ. Имеются ферменты, которые переносят фосфор от АТФ к гуанозинмонофосфату, дезаминируют ГТФ в ИТФ и АМФ в ИМФ. Утилизация энергии, связанной с нуклеотидами, приводит последних к гидролизу. Поэтому АТФ-энергетические насосы имеют АТФазную активность.

АТФазные активности наиболее полно представлены в мембране Эр, в которой определяются Na^{+} -, K^{+} -, Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТФазы, глутатион окисленная активированная АТФаза, конъюгат глутатион синтетазы активированная АТФаза, Mg^{2+} -гуанозинтрифосфатаза, инозинтрифосфатаза [Morrot G. et al., 1990; Beutler E., 1994]. Эр также содержат ряд нуклеотидаз, которые играют роль в созревании ретикулоцитов. К ним относятся П-5'-Н и тимидиннуклеотидаза.

При интерпретации результатов определения активности ферментов следует знать, что активность ферментов гликолиза и пентозофосфатного шунта различается в разной популяции Эр и изменяется в онтогенезе. Более высокая активность ферментов определяется в молодой популяции (ретикулоцитах), чем в зрелой (Эр), и очень низкая — в старых Эр; поэтому при наличии у больного ретикулоцитоза следует выделять популяцию Эр, максимально освобожденную от ретикулоцитов, и лишь после этого определять активность ферментов. Необходимо также помнить о том, что активность ферментов в Эр у детей (при равных значениях числа ретикулоцитов) может отличаться от таковой у взрослых. Активность ферментов в Эр

новорожденных детей по сравнению со взрослыми, имеющих то же содержание ретикулоцитов, может быть:

1) увеличена (ГФИ, энлаза, ГАФ-дегидрогеназа, ФГК);

2) снижена (ФФК, АК, глутатионсинтаза, глутатионпероксидаза, каталаза, углеродная ангидраза, АХЭ, НАД·Н-метгемоглобинредуктаза);

3) одинаковой (ГК, альдолаза, ТФИ, фосфоглицератмутаза, ПК, лактатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, Г-6-ФД).

Активность энлазы в Эр в 1,5—1,8 раза выше у новорожденных детей, чем у взрослых, а активность ФФК составляет 42—70% от взрослых [Rosa R., 1995]. Активность ФФК в Эр плода очень низкая, и возможно, это связано с наличием необычного фетального изофермента; после рождения ребенка активность этого фермента в Эр увеличивается и к концу 1-го года жизни соответствует таковой у взрослых.

Количество метаболитов, возникающих в процессе гликолиза, также может изменяться в онтогенезе. Так, содержание АТФ в Эр новорожденных более высоко, чем у взрослых, но при корригировании числа ретикулоцитов он одинаков. Однако этого нет в отношении некоторых других метаболитов. Так, содержание Г-6-Ф увеличено в Эр у детей от периода новорожденности до 8-недельного возраста. Это связано с тем, что активность ГК, которая участвует в образовании Г-6-Ф, снижена, а активность ФФК увеличена. Это и приводит к снижению содержанию Г-6-Ф. Содержание 2,3-ДФГ относительно стабильно в Эр плода. В течение 1-й недели жизни содержание 2,3-ДФГ в Эр быстро увеличивается, а затем снижается и к 2—3 нед жизни ребенка возвращается к уровню новорожденных детей. У чернокожих уровень 2,3-ДФГ выше, чем у белых

[Schwartz E., 2000]. В то же время аффинность Эр к кислороду уменьшается параллельно со снижением содержания HbF, и к 4—6-месячному возрасту она достигает таковой у взрослых.

Таким образом, в метаболическом отношении Эр не являются инертными образованиями, в них происходят активные метаболические процессы, поддерживающие их нормальную жизнедеятельность. Активность ферментов и метаболизма снижается по мере старения Эр. Нарушение различных звеньев в метаболическом пути приводит к укорочению жизни Эр.

Данные об активности различных ферментов и метаболитов в Эр здоровых людей представлены в приложениях 18 и 19.

ГЕМОЛИЗ

Гемолиз — это необратимый процесс разрушения Эр с выделением их содержимого, в том числе гемоглобина, в окружающую среду. В физиологических условиях 80—90% Эр разрушаются внутри тканей и только 10—20% — внутри кровеносных сосудов [Schaison G., 1995].

У здоровых взрослых людей длительность жизни Эр составляет около 120 дней. Вследствие старения Эр (истощается активность ферментов, замедляются метаболические процессы, потеря мембраны и др.), изменяется морфология (тенденция к сфероцитозу вследствие потери мембраны, и(или) гипергидратации) и пластичность Эр (снижается деформабельность). Это приводит к тому, что деструкция 80—90% измененных Эр происходит в клетках СМФ (костный мозг, печень, селезенка и др.), они фагоцитируются в основном макрофагами костного мозга, в которых происходят все этапы, свойственные процессу фагоцитоза. В физиологи-

ческих условиях деструкция Эр, протекающая в клетках СМФ, происходит без выделения гемоглобина внутри сосудов [Schaeter B., 1988].

У здорового человека гемолиз происходит постоянно, и старые Эр замещаются новыми в эквивалентном количестве. Каждый день разрушаются около 1% от всех Эр, т. е. $1/120$ общего числа Эр, при этом из них высвобождается около 6—8 г Hb и связанного с ним около 30 мг железа. Глобиновая часть Hb подвергается гидролизу с образованием аминокислот, которые пополняют общий пул метаболитов. Гемовая часть гемоглобина, пройдя через ряд этапов, превращается в билирубин.

Билирубин является продуктом катаболизма гема. Гем отщепляется от глобина и оседает в клетках СМФ, которые содержат в микросомах фермент гемоксигеназу. Под влиянием этого фермента железосодержащее протопорфириновое кольцо (гем) расщепляется, выделяется железо и образуется водорастворимый пигмент зеленого цвета — биливердин IX α и СО. Большая часть железа, освобожденного из гема, поступает в кровь, где связывается с Тф и используется эритроидными клетками для синтеза Hb; меньшая часть откладывается в макрофагах в виде ферритина и гемосидерина.

Под действием цитозольной НАДФ-Н-зависимой биливердинредуктазы, находящейся в клетках СМФ, биливердин IX α быстро превращается в билирубин IX α (ZZ) [Michel G., 1995].

Билирубин IX α является изомером билирубина. Он содержит пиррольные кольца, которые стабилизируются шестью внутримолекулярными водородными мостиками, связывающие группы пропионовой кислоты с азотом и кислородом. Водородные связи обеспечивают водонерастворимость билирубина [Hanser S., 1999].

У доношенного новорожденного ребенка катаболизм 1 г Hb приводит к образованию 35 мг неконъюгированного билирубина, и это считается нормальным количеством для ребенка, но это в 6 раз больше, чем у здорового взрослого человека. В сутки у взрослых образуется 250—350 мг билирубина; из общего образованного билирубина на долю гема стареющих Эр приходится 70—80%, а источниками остальных 20—30% билирубина являются продукты метаболизма гемопротеинов в печени (цитохром р450, каталаза) и гема, выделяемого после деструкции клеток-предшественниц эритропоэза в костном мозге, до их созревания и поступления в периферическую кровь.

Образовавшийся в макрофагах билирубин в виде неконъюгированной формы (нерастворимой в воде) выделяется в плазму, где он связывается с альбумином и переносится в печень. У здоровых людей почти весь билирубин в плазме крови неконъюгирован. Большая часть этого билирубина связана с альбумином и лишь небольшое количество свободного или несвязанного билирубина определяется в плазме крови. В плазме крови у здоровых взрослых обнаруживается около 1 мг/л конъюгированного билирубина (билирубингликоуронида). Конъюгированный билирубин менее прочно связан с альбумином, чем неконъюгированный, и менее 1% конъюгированного билирубина остается свободным, не связанным с альбумином. При желтухах, сопровождающихся увеличением конъюгированного билирубина, эта свободная, не связанная с альбумином фракция, фильтруется через сосуды клубочков почек и обратно не реабсорбируется в проксимальных канальцах, вследствие чего возникает билирубинурия. Если же желтуха сопровождается увеличением содержания конъюгированного билируби-

на в плазме крови, то эта фракция билирубина ковалентно связывается с альбумином (Δ -билирубин, Δ -фракция, билипротени, Bil—alb) и она не экскретируется с мочой. Образовавшийся Δ -билирубин очень медленно исчезает из плазмы крови, так как $T_{1/2}$ составляет 12—14 дней. У здоровых людей и у больных с неконъюгированной билирубинемией Δ -билирубин отсутствует.

Переносчиком неконъюгированного билирубина из плазмы крови в печень, помимо альбумина, могут быть Эр и некоторые липопротенины. Этот тип переноса билирубина может наблюдаться при состояниях, когда имеется гипербилирубинемия и(или) гипоальбуминемия [Whittington P. et al., 1993].

Неконъюгированный билирубин плазмой крови доставляется в печень, где он проникает в гепатоциты через мембрану синусоидов путем пассивной диффузии, под действием рецептора мембраны. Этот рецептор является специфичным для билирубина и для сульфобромфталейна. Процесс захвата билирубина гепатоцитами происходит быстро и опосредуется некоторыми белками. В цитоплазме гепатоцита билирубин взаимодействует с лигандами так, что они могут передавать билирубин от мембраны к мембране, например из плазматической мембраны клетки к эндоплазматическому ретикулуму. В цитоплазме гепатоцита билирубин, связываясь с белками (лигандином или протенином Y, в меньшей степени с протенином Z), транспортируется в эндоплазматический ретикулум. В последнем происходит процесс конъюгации билирубина.

Под действием уридинфосфатглюкуронилтрансферазы, одной из изоформ семейства УДФ-глюкуронилтрансфераз, билирубин IX α конъюгируется (эстерифицируется) с образованием МГБ и ДГБ. К моменту рождения ребенка у него снижена

активность глюкуронилтрансферазы, и она достигает 30% активности взрослого только через несколько дней после рождения [Unal D. et al., 1998]. Процесс конъюгации билирубина возможен при участии глюкозида и ксилозида, но этот путь конъюгации у здорового человека выражен слабо.

В печени процессу конъюгации группа пропионовой кислоты билирубина IX α препятствует образованию водородных связей и в итоге образуются водорастворимые дериваты билирубина (МГБ и ДГБ), которые легко экскретируются в желчь. При фототерапии под действием синего или зеленого света пирольные кольца билирубина IX α (ZZ) распадаются и образуются нестабильные геометрические изомеры, или фотобилирубин: билирубин IX α (Z, E), билирубин IX α (E, Z) и билирубин IX α (EE) фотоизомеры. Эти фотоизомеры не способны образовывать внутримолекулярные водородные мостики, т. е. они более полярны и экскретируются в желчь без предварительной конъюгации. В желчи эти нестабильные фотоизомеры могут быстро превращаться в более стабильный билирубин IX α (ZZ). Под действием света происходит структурная изомеризация или циклизация билирубина IX α (E, Z) с образованием более стабильного, водорастворимого фотоизомера — люмирубина (син.— циклобилирубин, фотобилирубин II). Последний является преобладающим билирубином в желчи у новорожденных детей с желтухой, которым проводилась фототерапия [Hauser S., 1999].

Большая часть водорастворимого конъюгированного билирубина попадает в желчь. При нарушении элиминации конъюгированного билирубина с желчью он попадает в кровь и вызывает желтуху. Конъюгированный билирубин, связанный с альбумином, транспортируется кро-

вью в почки и выделяется с мочой, придавая ей желтушную окраску [Guillard A., 1998]. Из общего количества конъюгированного билирубина в желчи на долю ДГБ приходится 80%. Процесс транспорта глюкуронидбилирубина через мембрану гепатоцитов мало понятен. Известно, что микротубулярная система печени, экскреция солей желчи и мембранные белки-переносчики облегчают экскрецию глюкуронидбилирубина [Hauser R., 1999].

Конъюгированный билирубин, попавший в тонкую кишку вместе с желчью, под действием β -глюкуронидазы клеток слизистой оболочки кишки и бактерий гидролизуется в конъюгированный билирубин. После гидролиза билирубин может реабсорбироваться и таким образом пройти энтерогепаточный цикл. При попадании в толстую кишку под действием кишечных бактерий (*Cl. perfringens* и *E. coli*) происходит процесс образования уробилиноидов. Этот процесс происходит поэтапно с последовательным образованием уробилина, уробилиногена, стеркобилиногена и стеркобилина, и большая их часть выводится с калом. Часть образовавшихся уробилиноидов может реабсорбироваться и снова войти в энтеропеченочный цикл, но небольшая часть уробилина экскретируется с мочой [Michel G., 1995].

Большая часть (80—90%) Эр разрушаются в клетках СМФ с образованием билирубина. Однако в физиологических условиях около 10—20% измененных, стареющих Эр разрушаются в сосудистом русле. Этот путь называется внутрисосудистым гемолизом.

При внутрисосудистом гемолизе Эр разрушаются в текущей крови с выделением в нее гемоглобина. Освобожденный гемоглобин соединяется с α 2-гликопротеином — гаптоглобином, синтезируемым в печени, образуя комплекс гемоглобин — гап-

тоглобин. Гаптоглобин соединяется с димерами гемоглобина $\alpha\beta$. Тетрамеры β и γ (HbH и Hb Bart) не связываются с гаптоглобином [Schaison G., 1995]. Комплекс гемоглобин — гаптоглобин стабилен, переносится током крови в печень, где происходит отщепление гаптоглобина от комплекса с гемоглобином с последующим метаболизмом Hb по пути, описанному выше.

Поскольку размер комплекса гаптоглобин — гемоглобин большой, он не проникает через сосуды клубочков почек, тем самым сохраняя железо для организма. Если количество гаптоглобина недостаточно, как это имеет место в физиологических условиях у детей первых месяцев жизни или же при патологических состояниях, когда нарушается синтез гаптоглобина, то гемоглобин в плазме крови остается не связанным и проникает через почечный фильтр после диссоциации молекулы гемоглобина на α - и β -димеры. Они реабсорбируются и катаболизируются клетками почечных канальцев с образованием депо железа. Позднее через несколько дней наблюдается гемосидеринурия вследствие десквамации почечного эпителия и попадания последних в мочу. Реабсорбция гемоглобина почечными канальцами происходит при пороге содержания Hb в плазме 1,35 г/л, а если оно выше, то наблюдается гемоглобинурия, моча становится розово-красного и даже черного цвета. Снижение содержания гаптоглобина в плазме крови происходит при состояниях, когда деструкция Эр увеличивается в 2 раза и более по сравнению с нормой. Увеличение содержания гаптоглобина в плазме наблюдается при инфекционных и воспалительных заболеваниях, злокачественных новообразованиях, терапии кортикостероидами [Guillard A., 1998]. Только у 50% здоровых детей 1—2 мес определяется гаптоглобин в плазме крови, а затем

его содержание нарастает, достигая нормальных значений к 6-месячному возрасту [Delanghe J. et al., 1998]. Существуют врожденные формы дефицита гаптоглобина [Manoharan A., 1997].

В приложении 27 представлены данные о нормальном содержании билирубина и гаптоглобина в сыворотке крови.

Однако свободный гемоглобин в плазме крови может быть элиминирован другими путями. После аутоокисления в метгемоглобин и диссоциации на глобин и гемин последний может фиксироваться: 1) гемопексином с образованием геминпексинового комплекса и выделяться с желчью; 2) альбумином.

На схемах 5 и 6 представлены катаболизм гема и метаболизм билирубина при внутрисосудистом и внутрисосудистом гемолизе.

В физиологических условиях имеется динамическое равновесия между количеством разрушающихся и вновь образованных Эр. Однако при ряде врожденных и приобретенных патологических состояниях длительность жизни уменьшена, они преждевременно разрушаются. Это приводит к тому, что увеличивается активность эритропоэза в костном мозге, у новорожденных и детей младенческого возраста могут возникнуть очаги экстремедуллярного кроветворения (печень, селезенка и другие органы). При патологическом гемолизе актуальной продукцией Эр может увеличиваться в 2—3 раза с максимум в 6—8 раз, и она связана с увеличением продукции Эпо в ответ на гипоксию. У здоровых людей (исключая детей периода новорожденности и первых месяцев жизни) содержание ретикулоцитов в периферической крови составляет 0,5—1,5%, но более ценным показателем наличия гипергемолита является определение абсолютного количества ретикулоцитов — в норме их число составляет

(50...120)×10⁹/л. Повышение количества ретикулоцитов свыше 150×10⁹/л указывает на ГА. Если число ретикулоцитов повышено, а количество Эр — в пределах нормы, то следует говорить о компенсированном гемолизе.

При хронических ГА гиперплазия эритроидного ростка может быть столь интенсивна, что происходит расширение диплоэтического вещества в плоских костях. На рентгенограммах костей черепа определяются характерные изменения, приводящие к монголоидному типу лица. Изменения в длинных трубчатых костях могут predispose к патологическим переломам. Изменения костей тем выраженнее, чем раньше у ребенка возникла ГА.

Если степень деструкции Эр превышает способность организма восполнить количество разрушаемых Эр, то наступает анемия.

При наличии анемии у больного отмечается снижение транспорта кислорода в ткани, приводящее к гипоксии, включаются механизмы адаптации. Происходит констрикция мелких сосудов, увеличивается частота сердечных сокращений, снижается аффинность Hb к кислороду путем повышенного образования в Эр 2,3-ДФГ. Гипоксия приводит к астении больного, появлению у него «шума в ушах», головокружений, диспноэ, бледности кожи и видимых слизистых оболочек, нарушениям, связанным с недостаточной оксигенацией головного мозга, ишемии миокарда и сердечной недостаточности при наличии патологических изменений в сердечно-сосудистой системе и у пожилых людей. Эти клинические симптомы зависят от степени анемии, быстроты ее наступления (при остро развившейся анемии у больного механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы у него не готовы), возраста больного и сопутствующих состояний и заболеваний.

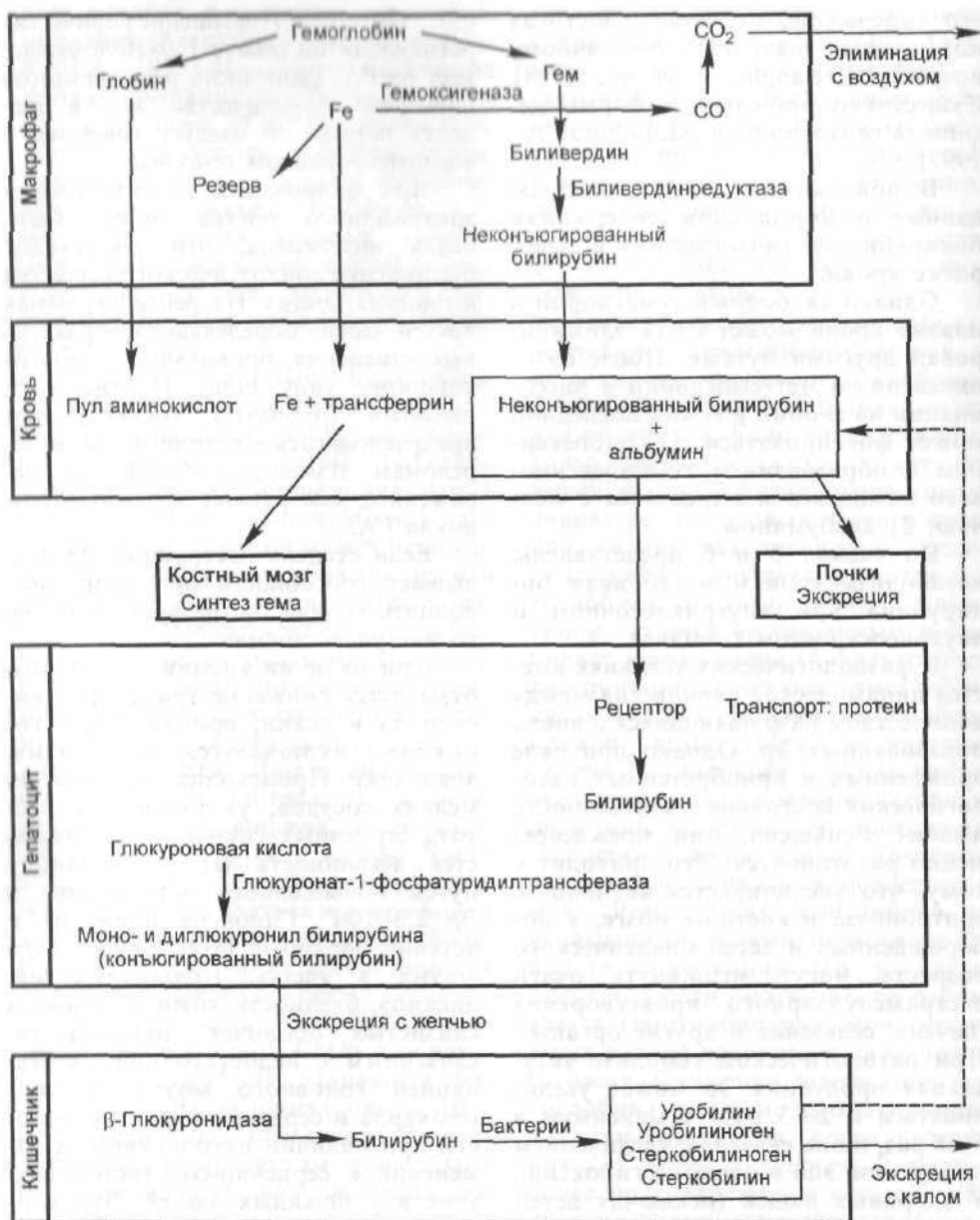


Схема 5. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА И МЕТАБОЛИЗМ БИЛИРУБИНА ПРИ ВНЕСОСУДИСТОМ ГЕМОЛИЗЕ.

ЭРИТРОЦИТЫ

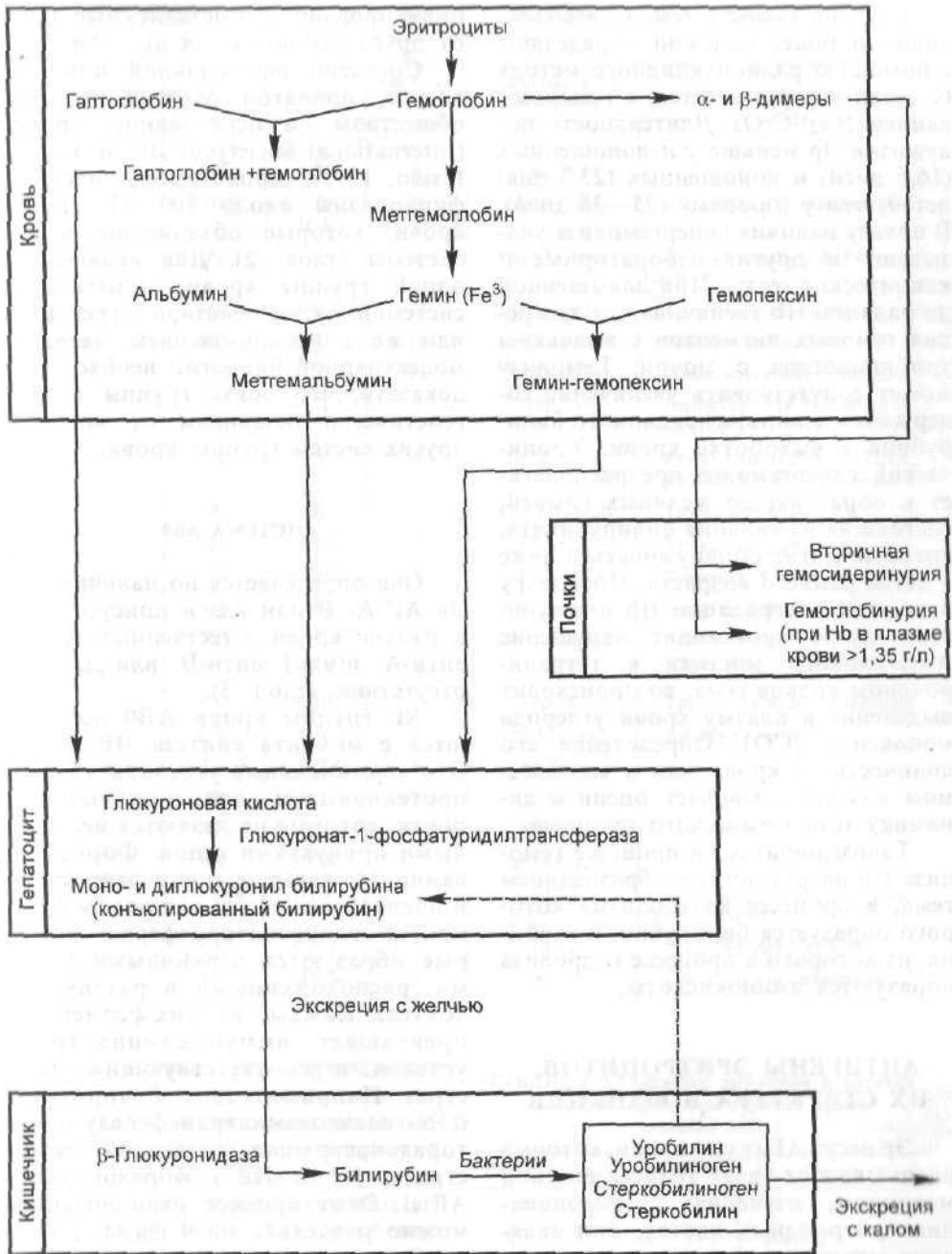


Схема 6. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА И МЕТАБОЛИЗМ БИЛИРУБИНА ПРИ ВНУТРИСОСУДИСТОМ ГЕМОЛИЗЕ.

Степень тяжести гемолиза объективно и более надежно определяют с помощью радионуклидного метода (у детей не применяется) с использованием $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$. Длительность полужизни Эр меньше у недоношенных (16,6 дней) и доношенных (23,3 дня) детей, чем у взрослых (25—35 дней). В пользу наличия гипергемолиза указывают и другие лабораторные и клинические тесты. При повышенной деградации Hb увеличивается экскреция гемовых пигментов с желчью и уробилиногена с мочой. Гемолизу может сопутствовать увеличение содержания неконъюгированного билирубина в сыворотке крови. Хронический гипергемолиз предрасполагает к образованию желчных камней, состоящих из кальция билирубината, которые могут обнаруживаться даже у детей раннего возраста. Поскольку в процессе деградации Hb в сосудистом русле происходит нарушение α -метилового мостика в тетрапирольном кольце гема, то происходит выделение в плазму крови углерода монооксида (CO). Определение его количества в крови или в выдыхаемом воздухе позволяет оценить динамику гемолитического процесса.

Таким образом, в процессе гемолиза Hb разрушается с образованием гема, в процессе катаболизма которого образуется билирубин, и глобина, из которого в процессе гидролиза образуются аминокислоты.

АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ, ИХ СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ

Эр несут АГ групп крови, которые очень важны для трансфузионной медицины, изучения дифференциации эритроидных клеток, они являются маркером в генетике человека. Группы крови — это совокупность аллотипичных АГ мембраны Эр, выявляемых серологически с помощью специфических антител, генетически

индуцированные и независимые друг от друга [Salmon C. et al., 1990].

Согласно официальной номенклатуре, принятой Международным обществом по переливанию крови (International Society of Blood Transfusion, 1995), серологически идентифицированы около 200 АГ групп крови, которые объединены в 23 системы (табл. 2). Для включения одной группы крови, называемой системой, путем мейозной сегрегации или же с использованием методов молекулярной биологии необходимо доказать, что локус группы крови генетически независим от локусов других систем группы крови.

СИСТЕМА АВ0

Она определяется по наличию на Эр АГ А, В или АВ и присутствию в плазме крови естественных АТ — анти-А и(или) анти-В или по их отсутствию (табл. 3).

АГ группы крови АВ0 появляются с момента синтеза Hb в Эр. Это терминальные углеводы гликопротеиновых и гликолипидных цепочек, которые не являются первичными продуктами генов. Формирование АГ связано с синергическим и последовательным действием ферментов гликозилтрансфераз, которые образуются первичными генами, расположенными в различных локусах. Каждый из этих ферментов превращает иммунодоминантный углевод в соответствующий субстрат. Например, гены В образуют $\alpha 3\text{N}$ -галактозамилтрансферазу, которая превращает галактозу в субстраты Н1 и Н2 с образованием АГ В. Этот процесс гликолизации можно разделить на 4 фазы.

В первую фазу (начальную) процесс происходит в эндоплазматическом ретикулуме эритрокариоцитов.

Во вторую фазу (удлиненную) процесс протекает в пластинчатом

ТАБЛИЦА 2. Система групп крови и их биологическая роль у человека
(по J.-P. Cartron, 1997)

| Система | Символ | Ген | Число антигенов | Локализация на хромосомах | Биологическая функция |
|---------------|----------------|----------------|-----------------|---------------------------|--|
| ABO | ABO | ABO | 4 | 9q 34 | |
| MN | MNS | GYPA, B, E | 40 | 4q 28—q31 | Лиганд для <i>Pl. falciparum</i> |
| P | P ₁ | P ₁ | 1 | 22q 11—qter | Лиганд для <i>E. coli</i> , Parvovirus B19 |
| Rh | RH | RHD, CE | 45 | 1p 34—p36 | Транспорт эритроцитов? |
| Lutheran | LU | LU | 18 | 19q 12—q13 | Адгезия клеток? |
| Kell | KEL | KEL | 23 | 7q 32—q36 | Цинк-металлопротеиназа? |
| Lewis | LE | FUT3 | 3 | 19p 13 | Рецептор для <i>Helicobacter pylori</i> (Le ^b) |
| Duffy | FY | FY | 6 | 1q 22—q23 | Рецептор ИЛ-8 (MGSA, RANTES, MCP-1); <i>Pl. vivax</i> |
| Kidd | JK | JK | 3 | 18q 11—q12 | Транспорт мочевины |
| Diego | DI | AE1 | 7 | 17q—21 | Транспорт анионов |
| Cartwright | YT | ACHE | 2 | 7q 22.1—q22.3 | Фермент |
| Xg | XG | XG | 1 | Xp 22—pter | Адгезия клеток? |
| Scianna | SC | SC | 3 | 1p 32—p34 | |
| Dombrock | DO | DO | 5 | ? | |
| Colton | CO | AQP1 | 3 | 7p 14 | Транспорт воды, аквапорин |
| LW | LW | LW | 3 | 19p 11—p13 | Адгезия клеток? |
| Chido/Rodgers | CH/RG | CH/RG | 9 | 6p 21.3 | |
| H | H | FUT-1 | 1 | 19q | |
| Kx | XK | XK | 1 | Xp 21.1 | Транспорт? |
| Gerbich | GE | GYPC | 7 | 2p 14—q21 | Структурные белки |
| Cromer | CROM | DAF | 10 | 1q 32 | Регуляция C3/C5-конвертаз, Echovirus |
| Knops | KN | CR 1 | 5 | 1q 32 | Рецептор для C3b/C4b |
| Indian | IN | CD 44 | 3 | 11p 13 | Рецептор для гиалурана |

комплексе клетки. Здесь происходит последовательное присоединение моносахарида к полисахаридным цепочкам. Первоначально эти цепочки имеют линейный характер, относительно длинные, и представляют из себя структуру АГ i. АГ i особенно выражен на эритроблестах и по мере созревания клеток эритроидного ростка плотность АГ i уменьшается. У человека после периода новорожденности, после созревания фермен-

ТАБЛИЦА 3. Характер антигенов и антител в плазме крови при группах крови системы ABO

| Группа крови | Антиген Эр | АТ в плазме крови |
|--------------|------------|-------------------|
| A | A | АнтиВ |
| B | B | АнтиА |
| 0 | H | АнтиА и антиВ |
| AB | A и B | Отсутствуют |

та I эти цепочки становятся разветвленными и возникает структура АГ I. Цепочки (линейные и разветвленные) присоединяют к своим окончаниям дисахариды, на которые фиксируются иммунодоминантные углеводы групп крови А, В и Н.

АГ I и i у человека были определены не аллоАТ, а аутоАТ. Фундаментальной основой является то, что среди Эр отмечается большое различие в реактивности Эр: Эр взрослых людей сильно агглютинируют с анти-I, а фетальные Эр — с анти-i АТ. Реактивность АГ i снижается с возрастом, а АГ I резко возрастает с 2-летнего возраста.

В третью фазу (окончательную) действуют гликозилтрансферазы. На этом этапе на дисахаридах фиксируются различные иммунодоминантные углеводы. Гликозилтрансферазы синтезируются активными генами эритробластов. В процессе дифференциации эритроидных клеток происходят селекционная активация генов А, В и Н (FUT1) и ингибция генов LE (FUT3) и SE (FUT2). Эта третья фаза протекает в два этапа. На первом этапе происходит синтез АГ Н: под действием α_2 -фукозилтрансферазы, которая кодируется геном Н (FUT1), фукоза фиксируется на дисахариде II типа [Oriol R. et al., 2000]. На втором этапе под действием соответствующих ферментов происходит синтез АГ А и(или) В. Ген А действует на субстанцию Н путем добавления к ней одной молекулы N-ацетилгалактозамина, вследствие чего образуется АГ А. Ген В добавляет к субстанции Н галактозу и в итоге образуется АГ В.

В последнюю, четвертую, фазу происходят перемещение, прикрепление и экспрессия гликопротеинов на поверхности мембраны Эр [Yamamoto F., 2000].

АТ системы АВ0 могут быть естественными и иммунными. Естественные АТ — это нормальные АТ, которые всегда присутствуют в плаз-

ме крови до антигенной стимуляции, трансфузий или беременности. Они присутствуют постоянно, и их специфичность относится к отсутствующим АГ Эр. По своей характеристике это полные АТ, относятся к классу IgM, оптимум их выявления — при 4°C. АТ термолабильны, разрушаются при 70°C, in vitro не обладают гемолизирующей активностью в присутствии комплемента. Существуют особенные АТ: анти-А1 у лиц А2 и А2В и анти-Н у лиц с группой крови А1 и А1В. Появление АТ связано с непосредственной стимуляцией иммунной системы АГ А и В, имеющих у бактерий кишечника. Эти АТ представляют опасность при трансфузиях несовместимой крови.

Иммунные АТ — это АТ, появляющиеся у людей группы крови 0 при стимуляции иммунной системы. Пусковыми факторами появления анти-А-, анти-В- и анти-АВ-АТ могут быть беременность при несовместимости групп крови плода и матери, гемотрансфузии, гетероиммунизация (растения, бактерии, вакцинация и др.). Обязательно регламентировано определение этих АТ у доноров крови и компонентов. По своей характеристике эти АТ неполные (IgG), спонтанно не агглютинируют в солевой среде, способны фиксировать комплемент. Свое действие АТ проявляют при 37°C. Они способны проникать через плацентарный барьер и вызывать ГБН при несовместимости плода и матери по системе АВ0. Под действием температуры они не разрушаются.

Определение группы крови АВ0 необходимо проводить двумя пробами:

1) эритроцитарная проба — используется метод агглютинации; к сывороткам со специфичностью анти-А и анти-В добавляют исследуемые Эр;

2) сывороточная проба — применяется та же методика; к сыворотке крови обследуемого, имеющего есте-

ТАБЛИЦА 4. Фенотипы системы АВ0

| Beth — Vincent | | | Simonin | | | | Группа крови |
|----------------|-------|--------|---------|----|---|---|--------------|
| АнтиА | АнтиВ | АнтиАВ | А1 | А2 | В | 0 | |
| — | — | — | + | + | + | — | 0 |
| + | — | + | — | — | + | — | А |
| — | + | + | + | + | — | — | В |
| + | + | + | — | — | — | — | АВ |

ственные АТ, добавляют заведомо известные Эр с АГ А1, А2, В и 0.

В табл. 4 представлены фенотипы системы АВ0.

Различия АГ А1 и А2 связаны с качественными и количественными биохимическими особенностями. Так, Эр с АГ А1 (встречается у 80% людей) несут на своей поверхности около 1 млн участков АГ А; Эр А1 полностью агглютинируются при добавлении анти-А1 сыворотки, анти-А1 (растительного или животного происхождения), но не агглютинируются АТ анти-Н (растительного и животного происхождения, МА). Эр с АГ А2 встречаются у 20% людей; на своей поверхности они несут около 300 000 участков и даже 200 000 у лиц А2В. С сывороткой анти-А Эр А2 реагируют слабее, чем с Эр А1; они агглютинируют с анти-Н, но не с анти-А1.

Следовательно можно полагать, что фермент А2 проявляет меньшие качества, чем фермент А1. Неоантигенность, проявляющаяся Эр А1, связана с новым распределением участков АГ А, появляющихся на Эр А1, поэтому при определении групп крови обязательно необходимо определять фенотипы А1 и А2.

Кроме того, могут быть другие слабые фенотипы А и В, которые характеризуются слабой реактивностью нормальных Эр А2 и В. Так, Эр А_x агглютинируются только в сывороточном тесте анти-АВ. Эр А_m не агглютинируются ни одним из

известных АТ, но их относят к группе А, так как сыворотка этих людей содержит АТ анти-В и тест фиксации элюата (анти-А) положительен. Существуют и другие слабые фенотипы А — Аel, Aend, Ay. Среди Эр с АГ В также выделяют несколько подгрупп со слабой выраженностью АГ В — В_x, В_m и др.

Ген системы группы крови АВ0 располагается на хромосомах 9-й пары (9q34). Имеется 4 аллеля — А1, А2, В и 0. Поэтому к тому же эритроцитарному фенотипу могут относиться множественные генотипы (табл. 5).

ТАБЛИЦА 5. Генотипы и фенотипы системы АВ0

| Фенотип | Возможные генотипы |
|---------|--------------------|
| А1 | А1/А1, А1/А2, А1/0 |
| А2 | А2/А2, А2/0 |
| В | В/В, В/0 |
| АВ | АВ |
| 0 | 0/0 |

СИСТЕМА Н

Эта система групп крови имеет два аллеля — Н и h, расположенных на хромосомах 19-й пары (19q).

В эритроблестах аллель Н кодирует фермент, который участвует в синтезе АГ Н, который является

предшественником АГ А и В. АГ, или субстанция, Н определяется в большом количестве на Эр групп крови 0, А2, А3, Ах и А_m. В то же время субстанция Н отсутствует или определяется в небольшом количестве на Эр групп крови В, А1 и А1В. Аллель h является аморфной. У лиц, содержащих два аллеля h, будет определяться дефицит Н, т. е. АГ А и В, так как имеется недостаток в субстрате Н. Н-дефицитные фенотипы (Bombay и параBombay) связаны с аллелями h, кодирующими не функционирующую фукозилтрансферазу. Появление Н-дефицитных фенотипов связано с делециями или мутациями в гене FUT1 (H) [Ogasawara K. et al., 2000]. Н-подобные АГ широко распространены в природе, и поэтому в сыворотке крови людей будут определяться не только АГ анти-А и анти-В, но и анти-Н. Последний представляет опасность для лиц, многократно получающих гемотрансфузии. Этот фенотип группы крови назван фенотином Bombay 0h.

СИСТЕМА РЕЗУС (Rh)

В 1940 г. в Эр был открыт АГ D системы Rh, а в последующие годы — другие АГ этой системы — С и Е, наличие которых может быть в сочетании (или без него) с АГ D. Противоположными АГ являются с и е. Эти АГ — С (RH2), Е (RH3), с (RH4) и е (RH5) — также играют важную роль в трансфузиологической практике. В целом насчитываются 51 АГ, относящиеся к этой системе [Avent N. et al., 2000]. Система Rh включает в себя 5 АГ: D, С, с, Е и е. АГ системы Rh определяются на КОЕ-Э, но отсутствуют на БОЕ-Э; плотность АГ увеличивается по мере созревания клеток эритроидного ростка и максимально выражена на зрелых Эр [Cartron J.-P., 1997; Sebahoun G., 1998].

АГ Rh — это комплекс полипептидов мембраны (Rh, Rh-АГ, CD47, LW, GPB), которые связаны не ковалентной связью, не собираются в комплекс и не перемещаются на наружный слой мембраны Эр, если одна субъединица Rh и Rh-АГ (30 и 50 килодальтон соответственно) отсутствуют. Молекулярные исследования показали, что для образования комплекса Rh нет необходимости в аксессуарных субъединицах белков LW, CD47 и GPB; CD47 не является абсолютно решающим для экспрессии АГ Rh [Avent N. et al., 2000; Huang C. et al., 2000].

АГ системы Rh кодируются двумя генами — RHD и RHCE, D и Ce и Ee соответственно. Гены трех аллелей Dd, Cc и Ee расположены на 1-й паре хромосом (1p34.3—p36.1), содержат 2 гомологичных гена — D и CE, приводящие к различным гаплотипам Rh. Гены D и CE кодируют два главных Rh-белка, называемых Rh30, которые несут D-, C/c- и E/e-специфичности. В АГ RhD существуют 24 различных эпитопа, а в АГ RhE — 4 [Flegel W. et al., 2000; Scott M. et al., 2000]. Эти Rh30-белки внутри мембраны эритроидных клеток взаимодействуют с другими белками, в том числе с гликопротеином Rh50, CD47, гликофорином В и гликопротеинами, несущими АГ LW и Fy. Ген, кодирующий белок Rh50, расположен на 6-й паре хромосом (6p11—p21.1) [Hyland C. et al., 1998; Huang C. et al., 2000].

Среди различных гаплотипов наиболее частыми являются Dce (приблизительно у 40% европейцев), Dce (14%), dce (39%); относительно редко (в пределах 1%) встречаются dCe, dcE и Dce (табл. 6). Частота распределения различных гаплотипов в различных этнических группах различается [Daniels G. et al., 1998]. Совокупность генов D и CE позволяет выделить 8 различных гаплотипов (см. табл. 6).

ТАБЛИЦА 6. Терминология гаплотипов Rh

| Гаплотип | Гены | Антигены |
|----------------|---------|----------|
| R ¹ | D, C, e | D, C, e |
| R ² | D, c, E | D, c, E |
| R ⁰ | D, c, e | D, c, e |
| R ^z | D, C, E | D, C, E |
| r | d, c, e | c, e |
| r ⁺ | d, C, e | C, e |
| r ⁰ | d, c, E | c, E |
| r ^y | d, C, E | C, E |

У ряда лиц наблюдается пониженная реактивность АГ. На 1 Эр содержится от 10 000 до 30 000 копий АГ D [Hughes-Jones N., 2000]. Эти слабые АГ могут быть связаны с большим количеством возможных мутаций в локусе данного гена (RHD) [Henker M. et al., 2000]. Классическим примером может служить слабый АГ D, называемый Du, который передается генетически. На основе молекулярных исследований все ослабленные АГ D могут быть отнесены к одному из более чем 17 типов ослабленных АГ D [Le Pennec P. et al., 2000].

При всех слабых типах D наблюдается замещение аминокислот в белке RhD [Flegel W. et al., 1998]. Наличие АГ Du очень опасно при переливании подобной крови Rh-отрицательному реципиенту, поэтому при определении Rh-принадлежности больного и донора следует использовать наиболее чувствительные тесты.

Другим вариантом с подавленным АГ Rh являются лица, у которых Rh является *частичным*, т. е. при которых отсутствует часть мозаичного стандарта Rh. Люди, которые являются носителями этого частичного Rh, могут быть иммунизированы против отсутствующей части АГ, поэтому при необходимости гемотрансфузии этим лицам переливают Rh-отрицательную кровь.

И последний вариант подавленного АГ Rh — это лица, у которых серологически выявляется Du высокой степени. В его основе лежит депрессия одного гена на другой. Этот вариант не будет проявляться в последующих генерациях, если ген, обладающий ингибиторной активностью, будет отсутствовать [Beckers E. et al., 1997; Zupanska B., 1997].

Существуют также так называемые аллелеморфные АГ — C^w, C^x, C^y, E^w, E^y и др. Их наличие обусловлено действием двух генов в позиции cis, поскольку гены D и C на той же хромосоме. При наличии делеции гена АГ может полностью или частично отсутствовать на Эр, и его обозначают в виде тире. Например, при частичной делеции локуса Ee пишут Dc—/DC—, а при полной делеции —/—.

Появление АТ системы Rh может быть связано либо с аллоиммунизацией (иммунизация доноров, после гемотрансфузий, фето-материнская иммунизация), либо после аутоиммунизации. Классическими примерами являются ГБН, АИГА. Серологически эти АТ характеризуются следующими признаками и могут быть:

1) полными АТ, агглютинидами; это АТ IgM, не проникающие через плаценту и не фиксирующие комплемент; они действуют при 37°C и выявляются методом агглютинации в солевой среде;

2) неполными АТ, не агглютинирующими; это АТ IgG, проникающие через плаценту, фиксируются на Эр без агглютининов (без сенсibilизации), действуют при 37°C; эти АТ определяются реакцией агглютинации при наличии макромолекул протеолитических ферментов, антиглобулиновым тестом.

Таким образом, система резус включает в себя несколько гаплотипов, определение которых важно при трансфузии крови.

СИСТЕМА Lewis

Ген системы Lewis расположен на 19-й паре хромосом (19p13) и содержит 2 аллеля: Le и le. Аллель Le является активной, она располагается в клетках слизистых оболочек, а неактивная — в эритроблестах. Гликофинголипиды Lewis не могут синтезироваться в эритроблестах. При наличии только одного аллеля Le (FUT3) они несут Lewis^A(Le¹), а если имеются аллели Le (FUT3) и Se (FUT2), то гликофинголипиды несут Lewis^B (Le²). Эти гликофинголипиды (Le^A и Le^B) освобождаются в циркулирующей крови, где они адсорбируются на мембране Эр, придавая последним фенотип Lewis.

Оба АГ Lewis — и Lewis a (LE1), и Lewis b (LE2) — не отражают активность двух генов; не существует ни гена, ни фермента Lewis b. Последний является АГ, который появляется лишь после взаимодействия генов Le и Se (Sécréteur). В эритроблестах гены Le и Se не активны. В клетке гликолипидные вещества Lewis синтезируются лишь в присутствии Le, при этом образуется Le^a, а если имеется Le и Se, то образуется Le^b. На основе двух АГ можно выделить 3 фенотипа Lewis в Эр (табл. 7): Le (a⁺b⁻), Le (a⁻b⁺) и Le (a⁻b⁻). АГ встречаются не регулярно, чаще всего в естественных усло-

ТАБЛИЦА 7. Фенотипы антигена Lewis в эритроцитах

| Сывороточные тесты | | Фенотип, частота | Генотип |
|---------------------|---------------------|--|-------------------------------|
| АнтиLe ^a | АнтиLe ^b | | |
| + | - | Le (a ⁺ b ⁻), 20—22% | Le и sese |
| - | + | Le (a ⁻ b ⁺), 70—72% | Lele или LeLe и Sese или SeSe |
| - | - | Le (a ⁻ b ⁻), 6—10% | lele и sese или Sese или SeSe |

виях обнаруживаются анти Le^A, анти-Le^{BH}, анти-Le^{BL}, анти-Le^X (анти-Le^ALe^B).

У человека АГ системы Lewis встречаются наиболее часто, они не имеют существенного значения в трансфузионной практике, не вызывают ГБН.

СИСТЕМА P

АГ системы P определяются на гликолипидных молекулах и синтезируются путем последовательного присоединения к ним иммунодоминантных углеводов. В процессе биосинтеза образуется один АГ системы P, обозначаемый как P1, и два АГ, относящиеся к GLOBO-Pk и P. В системе группы крови P можно выделить 5 фенотипов (табл. 8).

ТАБЛИЦА 8. Фенотипы системы P и набора GLOBO

| Фенотип | Антиген | Антитела |
|---------|-----------|--|
| P1 | P1 (Pk) P | Нет |
| P2 | (Pk) P | Непостоянно, естественные антиP1 |
| Pk1 | Pk P1 | Постоянно, естественные антиP, гемолизины |
| Pk2 | Pk | Постоянно, естественные антиP—P1 |
| p | 0 | Постоянно, естественные антиP—Pk—P1-антитела, гемолизины |

Фенотип P1 обладает двумя АГ — P1 и P. Этот фенотип встречается приблизительно у 75% людей. АГ P1 слабо экспрессирован на Эр новорожденных детей. Он определяется АГ, имеющих фенотип P2, и АГ, образованными у животных. Фенотип P2 встречается приблизительно у 25% людей; он не несет АГ P1, а только АГ P. В сыворотке крови лиц с фенотипом P2 обычно определяются анти-P1 АГ. В виде редкого исключе-

ния встречаются другие фенотипы — $P1^k$, $P2^k$ и др. При фенотипе $P1^k$ в Эр определяются АГ $P1$ и P^k (выявляются с помощью АТ, имеющихся у лиц с P), но отсутствует АГ P . Сыворотка крови лиц, имеющих фенотип $P1^k$, всегда содержит анти- P АТ, с помощью которой выявляются Эр с фенотипами $P1$ и $P2$.

Эр с фенотипом $P2^k$ имеют на своей поверхности АГ P^k , но в них не определяются АГ $P1$ и P . В сыворотке крови лиц этого фенотипа всегда определяются анти- P АТ.

Фенотип p , его еще называют «безмолвным» фенотипом этой системы, так как Эр этого фенотипа не содержат ни АГ $P1$, ни АГ P , ни АГ P^k . В сыворотке крови лиц фенотипа « p » определяются АТ анти- $P1$, анти- P и анти- P^k .

Лица — носители фенотипов $P1^k$, $P2^k$ и p — являются опасными реципиентами для гемотрансфузий (как и при фенотипе Bombay), так как у них имеются естественные АТ, часто гемолизирующего характера.

СИСТЕМА Kell

Ген АГ системы Kell находится на 7-й паре хромосом ($7q32 - q36$) и имеет 2 аллеля, кодирующих два АГ: K (KEL1) и k Cellano (KEL2). Эти АГ определяют 3 фенотипа: K^+k^+ , который встречается приблизительно у 9% людей, K^-k^+ (у 91%) и K^+k^- (у 0,1%). Среди известных АГ KEL1 является наиболее иммуногенным после АГ D (RH1). Этот АГ вызывает образование АТ при гемотрансфузиях, нередко является причиной ГБН; поэтому определение АГ является практически важно при проведении гемотрансфузий.

Источником АГ системы Kell (K и k) является субстрат K_x , который кодируется хромосомой X, где ген X^k связан с X^A . Они относятся к одной комплексной системе, которую

можно рассматривать как группу псевдоаллелей: Kell, Cellano (K и k) — Kp^A (Penney), Kp^B (Rautenberg), Js^A (Sutter), Js^B (Mathews), K^{11} , K^{17} . Другие АГ, называемые параKell, тем же способом связаны с этой системой. Имеется также фенотип «безмолвный» — K_0 [Lee S. et al., 2000].

Серологически АГ Kp^A вызывает ослабление в 3 раза других АГ системы Kell (k , Js^B , k^{14}) на этой же молекуле Kell. Доказано, что при фенотипе Kp^A имеется точечная мутация гена $Arg281Trp$, и следствием этого является экспрессия Kp^A АГ. В мембране Эр снижено содержание белка Kell. K.Yazdanbakhsh и соавт. (1998) предполагают, что снижение экспрессии АГ Kell связано или с нарушениями переноса внутри Эр мутантного белка Kp^A на поверхность Эр, или же с нарушением стабильности белка на поверхности Эр. При фенотипе K_{mod} АГ Kell слабо экспрессирован на Эр, и это связано с точечной мутацией в экзоне 6 белка Kell [Uchikawa M. et al., 2000].

Наличие АГ Kell ограничено только Эр, тогда как субстрат АГ определяется и в гранулоцитах. Протеин Kell экспрессирован на клетках-предшественницах в ранних стадиях эритропоэза в печени плода и отсутствует на подобных клетках, выделенных из пуповинной крови [Sesok-Pizzini D. et al., 1997]. Белок Kell обладает протеолитической активностью. K_0 , или $Kell_{null}$, клинически не проявляется. Его наличие связано с «безмолвным» геном в локусе KEL, и поэтому все АГ системы Kell отсутствуют, но K_x АГ экспрессирован, хотя содержание белка K_x снижено [Carbonet F. et al., 1997].

АГ K_x имеет важное значение, так как у лиц, имеющих фенотип McLeod, у которых наблюдается дефицит этого субстрата, отмечается ГА с акантоцитозом (подробнее см. в разделе «Гемолитические анемии»). K_x также необходим для гранулоци-

тов для их фагоцитарной функции; при его недостатке наблюдается X-форма хронической гранулематозной болезни в сочетании с синдромом McLeod [Frey D. et al., 1988].

Появление АТ системы Kell обычно является следствием аллоиммунизации. Они относятся к классу IgG. Наиболее опасными при гемотрансфузиях и при несовместимости матери и плода по системе Kell являются АТ анти-K; анти-k (Cellano) встречаются редко. АТ анти-Kr^A являются иммунными и их наличие часто сочетается с наличием анти-Kell антител. Анти-Kr^B АТ встречаются крайне редко. Лица с фенотипом K₀ являются исключительно опасными реципиентами при гемотрансфузиях, так как они очень быстро иммунизируются против всего комплекса АТ системы Kell (анти-K^U).

СИСТЕМА Duffy

Гены Fy локализованы на хромосомах 1-й пары (1q22—q23), располагаясь вблизи генов системы Rh. Система состоит из двух аллелей Fy^A и Fy^B, представленной двумя принципиальными АГ: Fy^A (FY1) и Fy^B (FY2), которые образуют три фенотипа: Fy (a⁺b⁺), Fy (a—b⁺) и Fy (a⁺b—). Частота встречаемости фенотипов составляет 15—47%, 33—48% и 20—37% соответственно. У 70% черноккожих Эр имеют фенотип Fy (a—b—), и это связано с наличием у них обоих «безмолвных» аллелей, которые образуют АГ, определяемый как анти-Fy⁺ [Zago-Novaretti M. et al., 1997]. Молекулярной основой фенотипа Fy (a—b—) в системе группы крови Duffy является точечная мутация в GATA1 (TATC → TACC) [Castilho L. et al., 1998].

Определение группы крови системы Duffy практически очень важно, так как АГ Fy^A очень иммуногенен, вызывает выработку анти-Fy^A АТ. Появление АТ анти-Duffy явля-

ется следствием аллоиммунизации. Чаще всего это IgG, иногда фиксирующие комплемент; АТ выявляются непрямым тестом Кумбса. АТ анти-Fy^A чаще выявляются у белокожих лиц, они вызывают реакции в ответ на гемотрансфузии, ГБН. АТ анти-Fy^B встречаются относительно редко, чаще обнаруживаются в сочетании с другими АТ.

СИСТЕМА Kidd

Эта система группы крови содержит два аллеля, расположенные на хромосомах 18-й пары (18q11—q12), которые кодируют два АГ: Jk^A (JK1) и Jk^B (JK2). В популяции белокожих людей определяются 3 фенотипа со следующей частотой: JK (a⁺b⁺)—50%, JK (a⁺b—)—28% и JK (a—b⁺)—22%. Крайне редко встречается «безмолвный» нуль-фенотип — JK (a—b—), появление которого связано с наличием двух «безмолвных» аллелей. При Jk_{null} фенотипе в Эр отсутствует белок Jk, и этот фенотип встречается у 0,03% жителей Финляндии [Lucien N. et al., 2000]. Jk_{null} связан с мутацией в локусе группы крови Kidd; при нем имеется мутантный аллель JK*В. Мутации отмечаются в эксонах 6 и 7, но при Jk_{null} может наблюдаться и внутренняя делеция в гене JK [Bailly P. et al., 2000]. Эр Jk_{null} j обладают пониженной способностью транспортировать и концентрировать мочевины.

АГ системы Kidd являются иммуногенными. При наличии АТ к этим АГ чаще всего выявляются анти-Jk^A АТ, вызывающие тяжелые посттрансфузионные реакции, наблюдается ГБН. Эти анти-Jk^A АТ часто трудно идентифицировать, в большинстве случаев они фиксируют комплемент, чаще всего являются IgG и значительно реже относятся к IgM. Анти-Jk^B АТ встречаются редко, чаще в сочетании с другими АТ.

СИСТЕМА MNS

Система MNS представляет собой систему двойной пары кодоминантных аллелей. Ген расположен на 4-й паре хромосом (4q28—q31), кодирует 2 АГ белковой природы, связанных с гликофоорином А: М (MNS1) и N (MNS2). Существуют 4 гаплотипа, 10 генотипов и 9 фенотипов (табл. 9) [Janot С., 1995]. Комплекс группы системы крови MNS содержит по крайней мере 40 АГ, и среди них редко встречается АГ Or (Oriss, MNS31), при котором наблюдается точечная мутация (С240Т) в экзоне 3 гликофорина А [Tsuneyama Н. et al., 1998].

АГ М и N обладают слабой иммуногенной активностью. АГ часто являются естественными, их активность определяется при низкой температуре, они редко являются причиной гемотрансфузионных реакций и ГБН.

АГ S и s связаны с локусом MN. Имеются 2 аллеля, которые кодируют 2 АГ: S (MNS3) и s (MNS4). Эти АГ белковой природы располагаются на гликофодине В, и распределяются неравномерно среди различных фенотипов MN. Так, среди фенотипов MN 73% являются S-положительными,

ТАБЛИЦА 9. Фенотипы и гаплотипы системы MNS

| Фенотип | Генотип | Частота, % |
|---------|---------|------------|
| MS | MS/MS | 6 |
| MSs | MS/Ms | 14 |
| Ms | Ms/Ms | 8 |
| MNS | MS/NS | 4 |
| MNSs | MS/Ns | 23 |
| | Ms/NS | |
| NS | NS/NS | 0,5 |
| NSs | NS/Ns | 6,5 |
| Ns | Ns/Ns | 15 |

ми, среди М — 54%, а среди N — 32%. Среди чернокожих лиц редко выявляются Эр S—s—. Гены Ss и MN определяют наличие 4 гаплотипов: MS,, Ms, NS, Ns.

АГ S и s являются иммуногенными, могут быть причиной возникновения гемотрансфузионных реакций и ГБН. По степени иммуногенности они стоят после АГ системы Rh, Kell, Duffy и Kidd.

АГ U является АГ, который выявляется в Эр всех индивидуумов белой расы; у лиц черной расы он определяется только у 1% лиц. Лица с Эр S—s— также являются отрицательными на U-АГ.

ДРУГИЕ СИСТЕМЫ ГРУПП КРОВИ

К ним относятся группы крови, которые представляют биологический интерес как маркеры Эр, но они не всегда объединены в системы.

Система Xg. В ней определяется один АГ — Xga, индуцированный геном, находящимся на хромосоме X (Xp22-pter). Наследование АГ происходит по доминантному типу, связано с полом. Это отражается на частоте различных фенотипов в зависимости от пола. Xga-положительные Эр определяются у 66% мужчин и 89% женщин. Из-за слабой иммуногенности АГ АТ обнаруживаются крайне редко.

Система Dombrock. Эта система диморфна, определяются анти-Do^A и анти-Do^B АГ. Локус группы крови этой системы расположен на 12-й паре хромосом (12p12.3—p13.2) [Matthe J. et al., 2000]. Частота фенотипов у коренных жителей Франции составляет: Do (a-b⁺) — у 34%, Do (a⁺b⁻) — у 17% и Do (a⁺b⁺) — у 49%. Поскольку АГ слабо иммуногенен, то АТ выявляются исключительно редко [Janot С., 1995]. Редко наблюдается фенотип Dombrock-null [Smart E. et al., 2000].

Мономорфные системы. К ним относятся группы крови системы Collton, Cartwright и Scianna. Они характеризуются высокой частотой встречаемости гена. АГ обнаруживается в Эр практически у всех людей, тогда как наличие его аллелей является, как правило, исключением. Так, система Cartwright несет АГ Co^A и Co^B, система Scianna — АГ Sc¹ и Sc².

Система Diego. Она представляет антропологический интерес, поскольку АГ Diego выявлен у американских индейцев. Эр с этим АГ являются маркером монголоидной расы. Белок мембраны Эр Band3 является продуктом локуса DI (Diego); охарактеризовано до 19 аллелей [Poole J., 2000].

Система Lutheran. Ген АГ этой системы расположен на 19-й паре хромосом (19q12—q13). Система включает до 18 различных АГ. Фенотипы Lutheran были выявлены двумя противоположными АТ: анти-Lu^A и анти-Lu^B. Наиболее частым фенотипом (до 95%) является Lu (a⁻b⁺), а другие — Lu (a⁺b⁺) и Lu (a⁺b⁻) встречаются редко. Очень редко у людей определяется фенотип Lu (a⁻b⁻), который обусловлен наличием «безмолвных» генов либо ингибиторного гена In (lu), который передается доминантно [Janot C., 1995; Cartron J.-P., 1997].

Другие антигены. АГ Chido и Rodgers являются аллотипами фракции C4 комплемента, которые адсорбированы на мембране Эр. АГ Cs^A, YK^A, McC^A, Kp^A выявляются при высоком содержании АГ, но со слабой аффинностью. Они представляют интерес с трансфузиологической точки зрения. При фенотипе Ch/Rg-отрицательном имеются различные нарушения в гене C4 (делеция, инверсия, конверсия). Больные с этим фенотипом относятся к группе риска развития СКВ [Cartron J.-P., 2000].

Некоторые из АГ (H, P, k и др.) могут относиться к одной из систем

групп крови или же быть самостоятельными, независимыми (Vel, Gebich, Joseph и др.). Эта группа АГ встречается с высокой частотой в Эр. «Частные» АГ (C^x, Mg, Pk и др.) могут относиться к одной из установленных систем или же быть независимыми от этих систем и определяются лишь у единичных людей.

Исходя из иммуногенности и фенотипической частоты встречаемости АГ групп крови, все они могут вызывать иммунный ответ и опасные для жизни реакции при гемотрансфузиях, пересадках органов и тканей, беременности. Отсутствие или изменения экспрессии некоторых из этих АГ Эр может сопровождаться дисфункцией Эр. Так, некоторые из этих АГ Эр (Ge, K^x, Rh и др.) сопровождаются наследственными ГА различной тяжести (эллиптоцитоз, акантоцитоз, стоматоцитоз и др.). Изменения структуры АГ групп крови (HEMPAS, Co, In) наблюдаются при ВДА, ПНГ.

В настоящее время доказано, что экспрессия многих АГ групп крови не ограничивается только Эр, но они синтезируются и выявляются на других тканях организма (например, АВ0, Rh, Lewis). Другие АГ (Lewis, Ch / Rg) не синтезируются клетками-предшественницами эритроидного ростка, а пассивно адсорбируются на поверхности Эр, поэтому определение АГ-структуры может быть функционально важным не только на Эр, но и на клетках тканей различных органов и систем.

Установлено, что за исключением только одной системы (Dombrock) гены всех остальных систем групп крови локализованы на человеческих хромосомах. Большинство из них локализованы на аутосомах и только два структурных гена (XG и XK) связаны с хромосомой X. Имеется также другой связанный с хромосомой X ген — XS2, который выполняет функцию негативного регулято-

ра АГ Lutheran (LU) и кодируется хромосомами 19-й пары.

В последнее десятилетие раскрыты химическая структура и молекулярная биология большинства структур групп крови. Так, АГ, определяемые как AB0, H, SE, Lewis, P, P1, Rk, Ii и Sd^A, являются карбогидратными структурами, ковалентно связанные с гликопротеинами или гликолипидами. Гены, ответственные за синтез этих молекул, являются гликозилтрансферазами, а последние являются ферментными белками пластинчатого комплекса [Costache M. et al., 1997].

Первичными продуктами генов групп крови являются полипептиды мембраны Эр. На основе биохимических и молекулярно-генетических исследований установлено, что некоторые из АГ групп крови являются компонентами мембраны Эр [Daniels G., 1999]. В зависимости от способа распределения полипептидов в мембране Эр их можно условно разделить на 3 категории молекул:

1) гликопротеины с одним гидрофобным трансмембранным участком;

2) гликопротеины с множественными трансмембранными участками, которые могут выполнять транспортные функции;

3) белки, прикрепленные к поверхности мембраны клеток с помощью гликозилфосфатидилинозитоловой связи (например, DAF, AXЭ), которые проявляют типичные свойства АГ и в то же время отсутствуют в Эр и в других клетках крови больных ПНГ, при приобретенных заболеваниях, сопровождающихся нарушением липидного обмена.

Среди белков мембраны Эр только Rh- и K_x-протеины не гликолизированы, однако эти молекулы определяются в мембране Эр в виде комплексов с другими гликолизированными белками.

По своей биологической сущности АГ групп крови не являются

гомогенными, поскольку они различаются по химизму, содержанию молекул и функциям. В зависимости от функциональных свойств АГ их можно условно разделить на 5 групп, хотя некоторые молекулы могут относиться к двум группам [Cartron J.-P., 2000]. Так, Band3 участвует в обмене анионов в Эр и в то же время связывается с белками цитоскелета, прикрепляет зараженные P1. falciparum Эр к эндотелию сосудов.

К 1-й группе относятся молекулы, выполняющие транспортные функции или функции каналов. Они тесно связаны с мембраной Эр и имеют множество гидрофобных трансмембранных участков. Прототипом является Band3, анионовые каналы Эр, которые участвуют в транспорте CO₂ из тканей в легкие, регуляции объема и pH внутри Эр. Band3 является носителем АГ Di [(Diego; Di^A), Wd (Waldner), Wr (Wright, гликофорин А играет роль эпитопа в Wr^B эпитопе) [Bruce L. et al., 1995; Oh S. et al., 1997]. Полилактозамингликан соединяется с Band3 и экспрессирует АГ AB0 и Ii. В мембранной части Band3 встречаются с низкой плотностью эпитопы 10 АГ групп крови (ELO, Rb^A, Tr^A, WARR, Vg^A, Wd^A, Wu, Vp^A, Hg^A, Mo^A) [Jarolim P., 1998].

Каналы в мембране Эр, участвующие в качестве насосов воды, аквафорин 1, являются носителями АГ Co (Colton), а трансмембранный переносчик мочевины в Эр человека является носителем АГ Jk (Kidd). Оба эти белка определяются в Эр и в клетках почек, где они играют важную роль в реабсорбции воды в механизме концентрации мочи [Lucien N. et al., 2000]. Эр фенотипа Jk_{null} обладают пониженной способностью транспортировать и концентрировать мочевины [Bailey P. et al., 2000].

Возможно, к этой же группе относятся также белки Rh и K_x, которые являются составной частью мембраны Эр и выполняют роль

переносчиков и каналов. При нарушении структуры этих белков (Rh_{Null}, синдром McLeod) отмечаются морфологические и функциональные аномалии, приводящие к ГА с соответствующей клинико-гематологической симптоматикой, а иногда (при синдроме McLeod) и к мышечным и неврологическим аномалиям [Carton J.-P., 2000; Lee S. et al., 2000].

Редко наблюдаются больные с нарушением структуры аквапорина-1 (фенотип Co a-b) или же переносчика мочевины (фенотип Jka-b). У таких лиц тяжелых клинических проявлений этого нарушения не наблюдается, и это может быть связано с тем, что в Эр имеются подобные белки из этого же семейства с этими же функциями.

Ко второй группе относятся молекулы, которые связывают лиганды, передающие информацию, или молекулы, которые действуют как лиганды для бактерий, вирусов и паразитов. Типичным примером является белок Fu (Duffy), который является лигандом для *Pl. vivax* и *Pl. knowlesi*, паразитов, вызывающих малярию у человека и человекоподобных обезьян. Белок Fu также является хемокиновым рецептором, который связывается с провоспалительными пептидами (IL-8, MGSA, RANTES и MCP-1), способствует удалению этих пептидов из циркулирующей крови. Возможно, что молекулы белка Fu участвуют в воспалительном ответе, так как они обнаруживаются на эндотелиальных клетках посткапиллярных венул во многих тканях организма [Olsson M. et al., 1998].

К этой же группе относится гликофорин А (GPA), который является гликопротеином мембраны Эр и несет АГ MN. Эта молекула является главным лигандом для некоторых паразитов (*Pl. falciparum*). Этот белок кодируется геном GYPE, относящемуся к семейству генов, которые включают гены GYPB (носитель АГ

Ss) и GYPE. Ген находится на 4-й паре хромосом (4q28—q31). Максимальная экспрессия гликофорина А отмечается на стадии базофильного нормоцита, а затем постепенно снижается и сохраняется на постоянном уровне до созревания Эр [Sebahoun G., 1998].

К этой же группе относятся белки рецепторов C3b и C4b Эр человека (CR1). Они опосредуют удаление иммунных комплексов печенью. Молекулы несут АГ группы крови Knops (KN), а также белок DAF (Decay Accelerating Factor), носитель АГ Cromer, который, помимо ингибирования активации аутологичного компонента на поверхности клетки, также является лигандом для некоторых серотипов эховирусов.

У человека могут нарушаться функции этих белков (Fu, GPA, CR1, DAF), но, как правило, при наличии этих нарушений клинических проявлений нет. Это может быть обусловлено тем, что эти молекулы широко распространены на клетках многих тканей, и может определяться только селективный дефект на Эр (например, фенотипы Fu a-b и Cr_{Null}).

АГ системы Lewis являются лигандами для некоторых бактерий (Le^A для *B. pertussis* и *Staph. aureus*; Le^B для *E. coli* и *Helicobacter pylori*). Гликолипиды АГ системы P (P^I и P^K) также являются лигандами для некоторых видов *E. coli*; носитель группы крови P является рецептором для Parvovirus B19, этиологического фактора развития транзиторной эритробластопении при разных формах ГА (см. раздел «Апластические анемии») и инфекционной эритемы (5-й болезни).

К 3-й группе молекул АГ группы крови относятся адгезивные молекулы. Эта группа немногочисленна.

Прототипом этой группы является молекула CD44 (носитель АГ Indian и AnWj). Эта молекула является гликопротеином мембраны кле-

ток. Она участвует в адгезии клеток, «хрминге» лимфоцитов, метастазировании опухолевых клеток, участвует в гемопоэзе (ингибирует пролиферацию лимфоидных и миелоидных клеток-предшественниц, способствует освобождению Эр из костного мозга). Молекула CD44 кодируется геном *In* (*Lu*), находящимся на 11-й паре хромосом (*11p13*), который также контролирует экспрессию на Эр АГ Lutheran и ряд других АГ. При доминантном типе *Lu* (*a-b-*), обусловленным ингибиторным геном *In* (*Lu*), Эр периферической крови имеют форму акантоцитов при нормальной длительности жизни и осмотической резистентности [Carton J.-P., 2000].

Носителями АГ LW является гликопротеин, который относится к семейству внутриклеточных адгезивных молекул (ICAM-4). Этот белок вовлечен в процесс удаления Эр из циркулирующей крови клетками СМФ, носителями интегрина. ICAM-4 может служить лигандом для белков *Pl. falciparum*.

При дефекте CD44 может отмечаться умеренная ГА (фенотип *In* (*Lu*)); дефект CD44 также отмечается при врожденном дизэритропоэзе. При фенотипе *Lu* (*a-b*), вызванном *In* (*Lu*) доминантным геном, может отмечаться умеренно выраженная ГА [Carton J.-P., 1997].

К 4-й группе белков АГ групп крови относятся ферменты. Наиболее типичным являются АХЭ, GPI-связанный белок, который является носителем АГ *Yt* (Cartwright). Белок группы крови Kell по своей структуре сходен с металлопротеиназой, но он не обладает каталитическими свойствами.

Описан редкий дефект АХЭ в Эр (фенотип *Yt a-b-*), но он протекает без видимых клинико-гематологических проявлений и ограничивается только Эр. При ПНГ в Эр снижена активность АХЭ. При отсутствии

белка Kell (фенотип *K₀*) клинико-гематологических проявлений нет, но если в Эр отсутствует протеин *K_x*, то Эр экспрессируют низкий уровень антигена Kell и клинически у больных отмечается синдром McLeod. Это заставляет полагать, что белок *K_x* необходим для перемещения белка Kell на поверхность клетки.

В последнюю группу (5-ю) белков АГ групп крови относятся структурные белки. В эту группу включены белки мембраны Эр, функция которых окончательно не выяснена. К ним относятся гликофорин С (GPC) и гликофорин D (GPD), являющиеся носителями АГ групп крови Gerbich. Возможно, эти белки играют роль в регуляции формы Эр и их механических свойств. Белки кодируются геном GYPC, располагающегося на 2-й паре хромосом (*2p14-q21*). Эр, в которых отсутствуют оба белка (фенотип Leach), имеют типичную форму эллипса. Это заставляет полагать, что имеется нарушение стабильности цитоскелета Эр. Кроме того, в этих Эр имеется постоянное снижение содержания протеина 4.1, в мембране отсутствует X-связанный белок p55. При НЭ в протеин 4.1-дефицитных Эр отмечается уменьшение GPC и GPD, отсутствие белка p55. Вероятно, GPC, GPD, p55 и протеин 4.1 взаимодействуют в мембране Эр между собой. На основе молекулярных исследований было установлено, что возникновение фенотипа Leach может быть связано либо вследствие делеции гена в эксонах 3 и 4, либо связано с мутацией с уратой одного нуклеотида [Alloisio N. et al., 1993; Carton J.-P., 2000].

АГ А и В вовлечены в процесс экспрессии плазматической активности ристоцетинового кофактора фактора Виллебранда [Sarode R. et al., 1997].

На основе имеющихся данных о структуре АГ групп крови, можно отметить, что изучение «null»-фено-

типов, которые полностью или частично дефектны для одного из мембранных компонентов Эр, позволяет получить информацию о функции и биологической роли (не только для

гемотранфузионной практики) этих молекул. Нередко дефекты белков крови сопровождаются клиническими и гематологическими синдромами.

Таким образом, в периферической крови Эр составляют большую часть всех форменных элементов крови; Эр в среднем в 600 раз больше, чем лейкоцитов, и в 20 раз больше, чем тромбоцитов. При паноптической окраске они наиболее легко идентифицируются среди всех форменных элементов крови. В обычном оптическом микроскопе Эр выглядят как примитивные двояковогнутые образования, но при специальных методах исследования (электронной микроскопии, иммунологических, биохимических и др.) у них выявляется сложная структура и состав, ферменты, белки и другие субстанции, которые обеспечивают выполнение главной функции — доставки кислорода в ткани и транспортировку из них метаболитов и углерода диоксида. Функция переноса кислорода Эр обеспечивается гемоглобином, который по структуре различается в разные периоды онтогенеза. У плода, находящегося в условиях относительной гипоксии, требуется эффективная доставка кислорода, и это обеспечивается фетальным гемо-

глобином, обладающим большим сродством к кислороду. После рождения ребенок попадает в условия с относительно высоким содержанием кислорода и поэтому происходит смена HbF на HbA. Но для того, чтобы Эр функционировал длительно и выполнял свою основную кислородтранспортную функцию, требуется энергия. Источником последней являются гликолитические процессы, поддерживаемые многими ферментами, в результате которых образуются АТФ, вещества, нейтрализующие водорода пероксид, свободные радикалы и др. Все это способствует защите Эр от преждевременного старения и гибели. По истечении, в среднем, 120 дней происходит разрушение Эр, в основном клетками СМФ и частично внутри сосудов. Продукты распада Эр инактивируются в печени, некоторые из них реутилизируются для синтеза веществ во вновь образуемых Эр. Знание физиологии эритропоэза, Эр, их биохимического, антигенного состава и др. важно для понимания патогенеза анемии.

Специальная часть

**ПАТОЛОГИЯ
ЭРИТРОПОЭЗА**

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
LIBRARY

1950

1. [Illegible text]

2. [Illegible text]

3. [Illegible text]

4. [Illegible text]

5. [Illegible text]

6. [Illegible text]

7. [Illegible text]

8. [Illegible text]

9. [Illegible text]

10. [Illegible text]

11. [Illegible text]

12. [Illegible text]

13. [Illegible text]

14. [Illegible text]

15. [Illegible text]

16. [Illegible text]

17. [Illegible text]

18. [Illegible text]

19. [Illegible text]

20. [Illegible text]

21. [Illegible text]

22. [Illegible text]

23. [Illegible text]

24. [Illegible text]

25. [Illegible text]

26. [Illegible text]

27. [Illegible text]

28. [Illegible text]

29. [Illegible text]

30. [Illegible text]

31. [Illegible text]

32. [Illegible text]

33. [Illegible text]

34. [Illegible text]

35. [Illegible text]

36. [Illegible text]

37. [Illegible text]

38. [Illegible text]

39. [Illegible text]

40. [Illegible text]

41. [Illegible text]

42. [Illegible text]

43. [Illegible text]

44. [Illegible text]

45. [Illegible text]

46. [Illegible text]

47. [Illegible text]

48. [Illegible text]

49. [Illegible text]

50. [Illegible text]

51. [Illegible text]

52. [Illegible text]

53. [Illegible text]

54. [Illegible text]

55. [Illegible text]

56. [Illegible text]

57. [Illegible text]

58. [Illegible text]

59. [Illegible text]

60. [Illegible text]

61. [Illegible text]

62. [Illegible text]

63. [Illegible text]

64. [Illegible text]

65. [Illegible text]

66. [Illegible text]

67. [Illegible text]

68. [Illegible text]

69. [Illegible text]

70. [Illegible text]

71. [Illegible text]

72. [Illegible text]

73. [Illegible text]

74. [Illegible text]

75. [Illegible text]

76. [Illegible text]

77. [Illegible text]

78. [Illegible text]

79. [Illegible text]

80. [Illegible text]

81. [Illegible text]

82. [Illegible text]

83. [Illegible text]

84. [Illegible text]

85. [Illegible text]

86. [Illegible text]

87. [Illegible text]

88. [Illegible text]

89. [Illegible text]

90. [Illegible text]

91. [Illegible text]

92. [Illegible text]

93. [Illegible text]

94. [Illegible text]

95. [Illegible text]

96. [Illegible text]

97. [Illegible text]

98. [Illegible text]

99. [Illegible text]

100. [Illegible text]

Анемия — это состояние, при котором концентрация Hb снижена ниже уровня, наблюдаемого у здоровых людей с уменьшением числа Эр или без него. Общеизвестно, что величина показателей красной крови варьирует в пределах одной возрастной популяции, отмечаются расовые различия. Так, у детей периода новорожденности показатели Hb значительно выше, чем у детей другой возрастной группы; более того, даже у новорожденных детей показатели Hb и числа Эр значительно колеблются, и одним из факторов, который приводит к этому, — это сроки перевязки пуповины — чем они больше, тем выше показатели красной крови.

У чернокожих детей содержание Hb в среднем на 5 г/л ниже, чем у детей белой расы и азиатских этого же возраста. В то же время у чернокожих содержание 2,3-ДФГ в Эр выше, чем у лиц других рас, и это способствует более эффективному освобождению кислорода в тканях при пониженном содержании Hb. Поэтому наиболее правильно говорить об анемии, когда у обследуемого Hb снижен на 2σ от среднего значения для данной субпопуляции с учетом возраста, пола, расы и др. Необходимо помнить о том, что при постановке диагноза анемии следует учитывать и ряд других факторов, которые могут привести к погрешности при определении анемии. Прин-

ципально различают две главные причины погрешностей:

1) анемия может маскироваться гемоконцентрацией, которая может наблюдаться при развитии дегидратации любой этиологии;

2) анемия может быть связана с гемодилюцией, наблюдаемой при ряде состояний (при беременности во II триместре, спленомегалии, циррозе печени с асцитом, анасарке, увеличении массы плазмы и др.); в этих случаях важное значение имеет определение глобулярного объема.

Поэтому прежде чем констатировать наличие анемии, следует учитывать все перечисленные выше факторы.

Степень снижения показателей красной крови у больных значительно колеблется при одной и той же этиологии патологического состояния. Анемия может отсутствовать, быть умеренной или резко выраженной (например, наследственный сфероцитоз, эллиптоцитоз, энзимопатии и др.). Хотя при снижении показателей красной крови снижается кислородтранспортная функция крови, но клинические признаки появляются обычно тогда, когда у больного содержание Hb составляет менее 70—80 г/л (речь идет о хронических формах анемии). У больного выявляются бледность кожи и видимых слизистых оболочек, увеличивается частота сердечных сокращений, повышается отдача кислорода тканям (увеличивается различие в содержа-

нии кислорода в артериальной и венозной крови), происходит переключение тока крови в сторону жизненно важных органов и др. В Эр увеличивается концентрация 2,3-ДФГ, вследствие чего кривая диссоциации оксигемоглобина смещается вправо, снижается аффинность Hb к кислороду и итогом этого является более полная отдача кислорода тканям. Такие же изменения наблюдаются у лиц в условиях высокогорья. При умеренно выраженной анемии могут быть ряд симптомов, которые обнаруживают случайно. Если же анемия тяжелая и сохраняется длительно, то у больных появляются слабость, одышка, тахикардия, отмечается расширение сердца, могут появиться признаки сердечной недостаточности и другие симптомы.

Классифицировать анемии по этиологии или по патогенезу очень трудно, так как один и тот же этиологический фактор может приводить к различным клиническим проявлениям, подходам к лечению и прогнозу (например, анемия при хронических воспалениях и ГУС). Поэтому с практической точки зрения удобно и достаточно доступно все анемии разделить на 3 группы в зависимости от среднего объема Эр: микроцитарную, макроцитарную и нормоцитарную. Это позволяет быстро очертить круг анемий, входящих в ту или иную группу, и уже после этого целенаправленно обследовать больного для установления типа анемии. Этому же способствует и определение цветового показателя и среднего содержания Hb в Эр, что способствует выделению гипохромной, нормохромной и гиперхромной анемий, которые характерны для определенного типа анемий. Опять же следует подчеркнуть, что при определении той или иной формы анемии следует не забывать о том, что указанные показатели у больного необходимо сопоставлять с данными,

полученными у здоровых людей того же возраста и пола с отклонениями от среднего значения на 2σ ; это позволяет правильно интерпретировать полученные данные. Например, если у взрослого здорового человека средний объем Эр составляет около 80 фл, то у новорожденного — 110 фл.

Как было отмечено, определение среднего объема Эр ориентирует врача на возможный характер анемии, что в дальнейшем подтверждается дополнительными методами исследования. Так, микроцитарные анемии наблюдаются при дефиците железа, меди, отравлении свинцом, некоторых хронических заболеваниях (инфекциях, раковых, почечных, воспалительных), сидеробластной и витамин В₆-чувствительной анемиях, талассемии; макроцитарные — при дефиците витамина В₁₂, тиамина и фолатов, некоторых формах гипотиреоза и дефицита витамина В₆, оротоацидурии, болезнях печени, МДС, может быть ложный макроцитоз у новорожденных детей, при высоком ретикулоцитозе. Но наибольшую группу анемий составляют нормоцитарные — это АА, эритробластопении, различные ГА врожденного и приобретенного генеза и др. Безусловно, это лишь классическое подразделение анемий, а на практике иногда имеется сочетание различных этиологических факторов. Так, может отмечаться дефицит фолатов и железа, и в этих случаях микроцитоз и макроцитоз могут присутствовать одновременно, и средний объем Эр будет нормальным.

При развитии анемии у больного в той или иной степени развивается гипоксия, в ответ на которую включаются различные компенсаторные механизмы — увеличиваются частота сердечных сокращений, содержание 2,3-ДФГ в Эр и др., в том числе и Эпо, чтобы скорректировать незначительное или умеренное снижение чис-

ла Эр. При некоторых анемиях костный мозг не способен поддерживать продукцию на нормальном уровне, и в этих случаях количество ретикулоцитов снижено. Поэтому определение числа ретикулоцитов у больного в периферической крови и сопоставление их количества с содержанием у здоровых людей является важным параметром для установления наличия костномозговой недостаточности или неэффективного эритропоэза. Важным параметром при дифференциальной диагностике последних двух состояний, наряду с изучением костномозгового пунктата, является определение в сыворотке крови содержания растворимых рецепторов Тф, которое увеличено при неэффективном эритропоэзе и снижено при гипопролиферации клеток эритроидного ростка.

Помимо изучения эритроцитометрических параметров и числа ретикулоцитов, направить мысль врача может изучение морфологии Эр в окрашенных мазках периферической крови (сфероциты, эллиптоциты, дрепаноциты, акантоциты и др.). Определение количества лейкоцитов и

тромбоцитов, лейкограммы в сочетании с исследованием костномозгового пунктата может ориентировать в отношении поражения костного мозга (гемопоэтические дисплазии, АА и др.).

Выявление аномалии со стороны морфологии и количества Эр, других форменных элементов крови, костного мозга позволяет принципиально очертить тот круг заболеваний, которые могут наблюдаться у данного больного. Для окончательного суждения о диагнозе иногда требуется провести ряд дополнительных исследований (определение содержания в сыворотке крови билирубина, гаптоглобина, железа, активности ферментов в Эр, типов Нб, реакции Кумбса и др.).

Суммируя сказанное, можно отметить, что констатация анемии в целом легка, но требуются дополнительные, нередко трудоемкие и дорогостоящие дополнительные исследования для постановки окончательного диагноза (иногда на молекулярном уровне), поскольку прогноз болезни зависит от правильности лечения, которое невозможно без точной диагностики.

ОБМЕН ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ И ПОСЛЕДСТВИЯ ЕГО НАРУШЕНИЯ

Железо играет важную роль в жизнедеятельности человека. Изменения его содержания в организме человека могут приводить к различным патологическим состояниям: при дефиците железа развивается ЖДА, тогда как избыток его приводит к гемохроматозу и гемосидерозу с тяжелыми поражениями различных органов и систем, нередко приводящими к летальному исходу. Для понимания патогенеза различных нарушений обмена железа важное значение имеет знание физиологических особенностей его обмена.

ОБМЕН ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ

В организме существуют различные механизмы, регулирующие усвоение железа, содержание его в плазме крови и внутри клеток различных органов в нетоксичной форме. Железо утилизируется с помощью различных ферментативных реакций. Эти ферменты содержатся либо в структуре порфиринового кольца гема, либо в различных негемовых структурах (например, кластеры железа сульфата).

Гем является протетической группой, содержится в ферментах,

ТАБЛИЦА 10. Распределение железа в различных органах у человека, мг/кг

| Возраст | Количество железа | | | | |
|---------------|-------------------|---------------|-----------------------------|-----------------|----------------------|
| | Всего | В гемоглобине | В печени, селезенке, почках | В костном мозге | В мышцах и ферментах |
| Новорожденные | 75 | 45 | 15 | 5 | 1 |
| 2 мес | 51 | 26 | 18 | 5 | 1 |
| 6 мес | 36 | 28 | 16 | 2 | 1 |
| 2 года | 38 | 31 | 17 | 2 | 1 |
| 8 лет | 38 | 34 | 4 | 2 | 2 |
| 15 лет | 44 | 37 | 4 | 4 | 2 |
| Взрослые | 52 | 35 | 7 | 7 | 4 |

необходимых для окислительного фосфорилирования, расщепления водорода пероксида и в других ферментах, участвующих в процессе детоксикации различных веществ. Он необходим для связывания кислорода гемоглобином и миоглобином, которые являются главным депо большей части общего железа в организме. Кластеры серного железа содержатся также в ряде ферментов, например в аконитазе, ферменте цикла Кребса. Кроме того, железо является составной частью ряда ферментов, которые не содержат ни гем, ни кластеры железа сульфата, например рибонуклеотидредуктаза, которая катализирует реакцию редупликации ДНК.

Железо существует в организме в виде различных форм, которые в зависимости от их функций можно разделить на ряд компартментов, в которых железо распределяется количественно и качественно неравномерно:

- 1) активные метаболические формы (гемоглобин, миоглобин, цитохромы и другие гемовые ферменты;
- 2) транспортные формы (Тф);
- 3) резервные формы (ферритин, гемосидерин).

У здорового взрослого человека общее количество железа в организме составляет 3—4 г, или 52 мг/кг; у

детей количество железа зависит от возраста. В табл. 10 представлены данные о количественном распределении железа в организме. В гомеостазе железа высших эукариотов важную роль играют 4 главных белка: гемоглобин, Тф, ферритин и гемосидерин. В организме человека железо представлено либо в гемовой форме (гемоглобин, миоглобин, цитохромы и другие гемовые ферменты — каталаза, пероксидаза и др.), либо в негемовой форме (Тф, резервное железо — ферритин и гемосидерин, негемовые ферменты — металлофлавопротеины). Из общего количества железа (3—4 г) на долю активных метаболических форм (гемового железа) приходится около 70%, т. е. 2,1—2,8 г. Основной пул находится в составе гемоглобина (60—65%). В 1 г гемоглобина содержится 3,3 мг железа. Поскольку у взрослого человека общее количество гемоглобина составляет в среднем 770 г, то в этом количестве находится 2,6 г железа. В незначительном количестве (3—10%, или 0,15—0,4 г) гемовое железо содержится в миоглобине и в ферментах, участвующих в окислительном метаболизме. Миоглобин фиксирует и транспортирует кислород в мышечную ткань. Гемовые ферменты (цитохромы, пероксидаза, каталаза) со-

держат незначительное количество железа (8—15 мг, или 0,3% от общего количества железа в организме), но эти ферменты играют важную роль в поддержании гомеостаза в организме [Dallman P. et al., 1993].

Второй формой, в которой представлено железо, является негемовое, которое составляет 25—30% (0,3—1,2 г) от общего количества железа в организме. Основная часть этого негемового железа представлена в виде резервного железа, и незначительную часть составляют транспортный белок Тф и негемовые ферменты.

Резервный компартмент железа составляет у взрослого человека около 1 г и находится в тканях, в основном в клетках СМФ (около $\frac{2}{3}$ всего резервного железа) и гепатоцитах (около $\frac{1}{3}$ всего резервного железа) в виде 2 форм: растворимой фракции, которая легко мобилизуется (ферритин) и нерастворимой фракции (гемосидерин). Резервное железо в виде этих двух форм играет важную роль в защите клеточных структур от оксидантного действия свободного железа [Bridges K., 1993]. Ферритин является в основном внутриклеточным веществом и представляет собой мобильную резервную форму. У здорового взрослого человека железо ферритина составляет около 0,6 г (15% от общего железа в организме). В небольшом количестве он обнаруживается в плазме крови; по данным J.Cook (1982), 1 мкг/л сывороточного ферритина эквивалентно 10 мг железа в пуле хранения.

Ферритин не содержит гемовую группу и является водорастворимым белком, образованным апоферритином и железом. Он состоит из 24 апоферритиновых субъединиц, которые образуют сферическую оболочку. Одна молекула апоферритина содержит до 4500—5000 атомов железа. Апоферритин имеет молекулярную массу 430—480 килодальтон. Молекула ферритина является гетеродимером,

состоящим из двух субъединиц, — типов Н (Heavy) и L (Light), молекулярная масса которых составляет 21 и 19 килодальтон соответственно. Существуют до 20 различных типов изоферритина, но для каждого органа характерен соответствующий профиль изоферритинов, при этом каждая клетка содержит многие типы. Так, сердце богато Н-формой ферритина, а печень L-формой. Оба гена Н- и L-форм ферритина являются частью большого мультигенного семейства. В семействе гена Н-цепочки имеются по крайней мере 10 генов, а в семействе гена L-субъединицы — более 12. Большинство генов располагаются на отдельных хромосомах. Функциональный ген Н-субъединицы был клонирован и находится на хромосомах 11-й пары (11q13); он относительно компактен, состоит из 4 эксонов и 3 интронов. Ген Н-субъединицы также идентифицирован на коротком плече хромосом 6-й пары, который вовлечен в НГ [Hentze M. et al., 1986]. Также был клонирован ген L-цепочки с той же структурой, который находится на хромосомах 19-й пары (19q13.1). Синтез обеих субъединиц контролируется общим цитозольным белком (IR), который прикрепляется к IRE в мРНК Н- и L-субъединиц [Theil E., 2000].

Обе субъединицы ферритина (Н и L) играют роль в хранении железа и в контроле за его внутриклеточным распределением, в то же время каждая субъединица ферритина играет различную роль в метаболизме в клетке. Н-субъединица генерирует феррооксидазную активность, которая необходима для включения железа в белковую оболочку, а L-субъединица обеспечивает поступление железа внутрь клетки [Kato J. et al., 2001].

Гемосидерин входит в состав резервного компартмента железа; последнее в нем представлено в виде нерастворимой формы и его содер-

жится больше, чем в ферритине. Гемосидерин образуется из деградированных и агрегированных молекул ферритина. Агрегированные молекулы ферритина захватываются лизосомами клеток, в которых эти молекулы частично деградируются и соединяются с липидами. Содержание гемосидерина в организме увеличивается, когда синтез апоферритина и включение в него железа максимален. У здорового взрослого человека резервное железо в виде гемосидерина составляет в среднем 0,4 г (10% от всего железа в организме). Однако в отличие от ферритина гемосидерин трудно мобилизуем для нужд организма [Lejeune C. et al., 1998].

Негемовые ферменты — это металлофлавопротеины, которые не имеют гемовой структуры, но они содержат много атомов железа в составе различных молекул. Эти ферменты играют важную роль в феномене клеточного дыхания [Hersberg S., 1988]. Общее содержание железа в негемовых ферментах незначительно (8—15 мг, или 0,3% от всего железа в организме).

Последней формой, содержащей железо, является Тф. У здоровых взрослых людей железо, связанное с Тф, составляет 3—4 мг (0,1% от общего количества железа в организме). Тф — это транспортный белок, который связывает железо в плазме крови и переносит его к клеткам различных органов и систем. В физиологических условиях коэффициент насыщения Тф железом составляет около 30%. Связывающая способность Тф составляет 55—60 мкмоль/л при сидеремии 18 мкмоль/л [Hersberg S., 1988]. В здоровом организме до 80% железа, связанного с Тф, освобождается в костном мозге, в клетках эритроидного ростка; остальные 20% фиксированного Тф железа освобождаются в клетках системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), в основном в

печени и селезенке, которые являются органами хранения железа [Bridges K., 1993]. Тф — это негемовый белок плазмы, относящийся к гликопротеинам, содержит 6% углеводов; одна молекула Тф содержит 4 группы сиаловых кислот. Молекулярная масса Тф составляет 75—80 килодальтон; большой размер молекулы Тф предупреждает ее потерю с мочой. Каждая молекула Тф может связывать 2 атома Fe^{3+} . Кроме того, Тф связывает цинк и медь. Тф содержит две полипептидные цепочки. Полипептид состоит из 679 аминокислот. Методом лучевой кристаллографии установлено, что белок сложен в виде двух участков, каждый из которых имеет N- и C-окончания, которые связываются с железом. N- и C-терминальные участки частично гомологичны на уровне последовательности аминокислот. Наличие двух железосвязывающих участков на Тф привело к гипотезе, что эти оба участка функционируют различно. По мнению J.Fletcher и соавт. (1968), один металлосвязывающий участок Тф переносит железо к ретикулоцитам, а другой — является специфическим для доставки железа к неэритроидным клеткам. H.Huebers и соавт. (1985) считают, что оба терминальных участка Тф — и N-, и C-участки сходны, если не идентичны по своему уровню высвобождения железа в клетки, хотя и имеется строгое преимущество в связывании железа диоксида Тф. Анализ структуры Тф заставляет предположить, что наличие двух терминальных участков отражает двойную дубликацию гена. Ген Тф располагается на дистальном конце длинного плеча 3-й пары хромосом (3q21—3qter) [Huerge C. et al., 1984; Yang F. et al., 1984].

У человека существуют ряд генетических вариантов Тф, и наиболее часто встречаемым является Тф D1, при котором отмечается замена одной аминокислоты (Asp — Gly) в

позиции 277 [Aisen P. et al., 1975]. Функция этих вариантов не изменена [Harford J. et al., 1994]. В сыворотке человека имеется карбогидратный дефицитный Тф (CDT, Carbohydrate-Deficient Transferrin). Это микрогетерогенная форма сывороточного Тф с низким содержанием сиаловых кислот. Его биологическая роль не ясна. Установлено, что на содержание CDT в сыворотке крови влияет содержание железа; у больных с хроническим алкоголизмом концентрация CDT повышена, и считают, что определение содержания CDT в сыворотке крови является чувствительным и специфическим маркером хронического алкоголизма [De Feo T. et al., 1998]. Главным местом синтеза Тф является печень; однако синтезирующей способностью Тф обладают лимфоциты, сустициты, клетки мышц, головного мозга и молочной железы [Bloch V. et al., 1985]. Интенсивность синтеза Тф модулируется содержанием железа в организме, в обратную пропорциональную зависимость от содержания ферритина [Lejeune C. et al., 1998]. Период полусуществования ($T_{1/2}$) Тф составляет 7—10 дней, а Тф, связанного с железом, — около 2 ч.

Поступление железа в организм происходит в основном с пищей. Абсорбция элемента из пищи зависит от многих факторов, к числу которых относятся наличие запасов железа, взаимодействие свободного железа и компонентов пищи, перистальтика желудка и тонкой кишки, прохождение железа через клетки слизистой оболочки кишки и его перемещение из клеток в кровь. Пищевое железо тесно связано с энергетической ценностью пищи. Существуют два типа абсорбции железа из пищи:

1) гемовое железо непосредственно абсорбируется и катаболизируется внутри клеток слизистой оболочки тонкой кишки;

2) негемовое железо усваивается либо как свободное железо, либо в

белково-связанной форме, либо по обоим типам.

При нормальном питании с пищей доставляется около 10—20 мг железа в сутки, но только 10% (1—2 мг/сут) от всего алиментарного железа всасывается в двенадцатиперстной и верхней части тонкой кишки [Lejeune C. et al., 1998]. Если диета богата гемом, который освобождается из крови или мяса животных, то железо гема легко усваивается в организме человека. В то же время на абсорбцию негемового железа большое влияние оказывает состав пищи. Так, аскорбиновая кислота, мясо облегчают абсорбцию железа, тогда как танины, фосфаты и кальций блокируют абсорбцию негемового железа. Всасываемость железа из материнского молока составляет 48,8%, а из коровьего — 19,5%. При приеме пищи вместе с чаем абсорбция железа уменьшается, а при добавлении апельсинового сока — увеличивается [Herberg S., 1988; Dalman P. et al., 1993].

Степень абсорбции железа зависит от кислотности желудочного сока, которая способствует освобождению микроэлемента из пищи, особенно попадающего в организм в виде закисной формы. Железа оксид нерастворим при pH 5; он может образовывать комплексы с пептидами и полисахаридами и лишь затем вторично превращаться в растворимую форму, доступную для абсорбции железа. Железа закись плохо абсорбируется, так как легко образуются хелаты [Méchinaud-Lacroix F., 1995]. Слизистая оболочка желудка не усваивает железо, но кислота желудочного сока создает низкий pH в верхней части двенадцатиперстной кишки, способствуя освобождению железа из пищи, особенно железа оксида [Crichton R., 1991]. Мукопротеины желудочного сока и продукты переваривания (аминокислоты, цистеин, гистидин) также оказывают

положительное действие на процесс абсорбции железа. Панкреатический сок с высоким рН уменьшает абсорбцию, особенно снижается растворимость солей железа оксида. Желчь, содержащая Тф, может способствовать абсорбции. Усвоение железа в организме происходит на уровне двух поверхностей кишечного эпителия: верхушечной и базальной мембраны. Верхушечная часть мембраны энтероцита обращена в просвет кишки и специализирована по транспорту гема и железистой формы микроэлемента в клетку. Существуют по крайней мере три пути транспорта железа в клетку. Наиболее мощным является захват металла дивалентным транспортером — DMT [син.— Nramp 2 (Natural resistance—associated macrophage protein 2), DCT 1 (Divalent—Cation Transporter 1)] [Zoller H. et al., 1999; Provan D. et al., 2000]. Однако ионизированное железо само по себе может проникать между клетками эпителия слизистой оболочки кишки; эта фракция может быть значительной, если в просвете кишки накапливается большое количество железа. Микроэлемент может абсорбироваться путем усвоения гема. И наконец, усвоение железа может происходить муцин-интегрин-мобилферриновым путем [Conrad M. et al., 1998]. Базальная мембрана энтероцита опосредует перенос железа в эпителиальные клетки кишки для запаса. Железо, которое не переносится в плазму, теряется в процессе слущивания эпителия [Hocker M. et al., 1998]. Белки, которые связаны с метаболизмом на базальной мембране, определяют наличие запасов железа в организме и облегчают перенос микроэлемента в плазму. К ним относятся рецептор Тф белкового комплекса НГ (НФЕ), базолатеральный переносчик железа и гомолог церулоплазмينا — hephaestin [Vulpe C. et al., 1999; Abboud S. et al., 2000; Donovan A. et al., 2000].

Пищевое негемовое железо под действием железистой редуктазы на поверхности ворсинок энтероцита превращается в восстановленную форму и соединяется с DMT 1. Железо может задерживаться в энтероците или же транспортироваться через базально-латеральную поверхность клетки ферропортином 1, окисляться гестинином или связываться с Тф для перемещения в плазму. Образование белка ферропортина 1 контролируется геном SLC11A3. Этот белок играет ключевую роль в двух различных аспектах гомеостаза железа в организме: в абсорбции пищевого железа энтероцитами двенадцатиперстной кишки и в выделении запасов железа клетками СМФ [Fleming R. et al., 2001]. В плазме крови гемовое железо появляется позднее негемового. Это заставляет полагать, что для извлечения железа из клетки слизистой оболочки требуется больше времени. Часть железа откладывается в клетке слизистой оболочки кишечника в виде ферритина, чтобы затем освободиться и абсорбироваться в течение последующих часов. Другая часть железа сохраняется в виде ферритина и теряется вместе со слущивающимся эпителием.

Абсорбируемое железо появляется в плазме крови в течение нескольких секунд, и длительность этого периода определяется балансом железа в организме. Железо, проходя через основание клетки слизистой оболочки, попадает в экстраваскулярное пространство laminae propriae, где оно может связываться с Тф плазмы крови, из которого оно может утилизироваться клетками, имеющими рецепторы Тф на плазматической мембране. Абсорбция железа из кишечника является активным процессом. Железо проникает в клетки слизистой оболочки кишечника с помощью интегрина, облегчающего его перенос внутри клетки

к комплексу интегрин — мобилферрин — флавин. Мобилферрин (относительная молекулярная масса 56 000) клеток слизистой оболочки кишечника функционируют как транспортный «челнок» внутри клетки [Congrad M. et al., 1993]. Флавин является оксигеназой, которая восстанавливает Fe^{3+} в Fe^{2+} . В базальной части клеточной мембраны слизистой оболочки кишки мембранные рецепторы к Тф переносят железо от мобилферрина к Тф плазмы. При наличии дефицита железа в организме способность мобилферрина транспортировать железо увеличивается, и в результате повышается абсорбция железа [Lejeune C. et al., 1998].

Каким же образом регулируется абсорбция железа? Установлено, что у здорового взрослого человека в норме в день абсорбируется и поступает в плазму крови около 1 мг железа. При наличии дефицита железа в организме или же при усиленном эритропоэзе абсорбция может увеличиться до 3,5 мг/день и даже до 20—40 мг, а если имеется перенасыщение железом организма, то уменьшается до 0,5 мг/день и ниже. Однако на процесс абсорбции железа больше влияют содержание элемента в организме и его биологическая ценность, вне зависимости от физиологического состояния человека.

Энтероцит получает сигналы от различных тканей органов хранения железа о снижении запасов железа. Высказано предположение, что этими регуляторами гомеостаза микроэлемента, способствующими аккумуляции и препятствующими перенасыщению микроэлементом, являются сывороточный ферритин, Тф и рецептор сывороточного Тф [Roy C. et al., 2000].

Более полувека назад S.Granick (1946) высказал гипотезу о так называемой блокаде слизистой оболочки. Согласно этой гипотезе прохождение железа через энтероцит двена-

дцатиперстной кишки и его попадание в плазму крови регулируются содержанием ферритина в клетках слизистой оболочки кишки. Все железо, входящее в клетку слизистой оболочки, рассматривается как ферритиновый пул, и по мере потребности организма железо из этого пула поступает в плазму крови. В последующие годы эта гипотеза была несколько уточнена. Согласно этой модификации, железо из просвета кишки быстро проникает в плазму крови. Ферритин, содержащийся в энтероците, будет конкурировать в процессе перехода железа из клетки слизистой оболочки в плазму, и эффективность этой конкуренции будет определяться количеством ферритина, находящегося в энтероците. Если в энтероците железа много, то будет происходить синтез ферритина, который будет откладываться в цитоплазме, тем самым увеличивая пул ферритина в энтероците. Клетки слизистой оболочки кишки будут слушиваться и вместе с ними будет теряться ферритин через кишечник. При дефиците железа синтез ферритина в энтероците будет угнетен и, таким образом, большая часть железа будет попадать в кровь. M.Argendondo и соавт. (1997), используя *in vitro* в качестве модели человеческого энтероцита клетки Сасо-2, выявили, что при перегрузке клеток железом экспрессия в них глутатион-S-трансферазы снижается, а при недостатке этого микроэлемента увеличивается экспрессия гена рибосомального 608 белка L8. Следовательно, потеря пищевого железа путем слушивания энтероцитов с содержащим в них ферритином является механизмом экскреции железа.

После прохождения клеточного барьера слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в организме больше нет эффективных экскреторных систем железа, так как железо, попадая в кровь и распределяясь в

ветках различных органов и систем, может теряться только при потере рогови и в очень небольшом количестве с эпителием кожи и волосами. Теория «блокады слизистой оболочки» является рабочей гипотезой, одной из моделей, которая объясняет регуляцию абсорбции железа пищи. Количество общего железа в организме влияет на абсорбцию пищевого железа путем синтеза ферритина в эритроците. В настоящее время показано, что для освобождения железа из клеток слизистой оболочки кишки апоТф не требуется [Harford J. et al., 1994]. Увеличение содержания апоТф не повышает абсорбцию железа. С другой стороны, возможности связывания железа в экстравакулярной жидкости laminae propriae очень ограничены, вследствие чего железо может проникать в кровь в несвязанной с белком форме либо в виде неспецифически связанной с альбумином форме. Железо, не связанное с Тф, попадает в кровь системы воротной вены печени и в печени быстро усваивается гепатоцитами [Harford J. et al., 1994]. Незначительное количество пищевого железа попадает в лимфу. Нерастворимые агрегаты железа могут захватываться макрофагами кишечной стенки, т. е. эти клетки могут действовать как другой барьер для абсорбции пищевого железа [Refsum S. et al., 1984].

Важным фактором в регуляции абсорбции пищевого железа является эритропоэтическая активность костного мозга, и это наглядно подтверждается при кровопусканиях, когда резко усиливается эритропоэз. При ГА обычно не происходит повышения абсорбции пищевого железа, но при резком увеличении эритропоэза, как это имеет место при неэффективном эритропоэзе, значительно увеличивается абсорбция железа. Высказывают предположение, что эритропоэтическим регулятором является

растворимый компонент плазмы, который передает сигналы от эритроидных клеток костного мозга в кишку [Cazzolla M. et al., 1999].

Таким образом, степень абсорбции пищевого железа регулируется запросами эритрона, которые передаются клеткам слизистой оболочки кишки. Степень абсорбции пищевого железа также регулируется количеством железа, содержащегося в организме в виде ферритина и гемосидерина. Увеличение пула резервного железа в организме приводит к снижению абсорбции пищевого железа, а его уменьшение — к увеличению. Эта регуляция запасов железа в организме может отмечаться без признаков изменения содержания этого элемента в плазме крови и насыщения Тф железом. При отсутствии апоТф железо связывается с альбумином и освобождается из него в крови системы воротной вены печени гепатоцитами.

Попадая в плазму крови железо связывается с Тф для транспортировки этого микроэлемента в растворимом состоянии во многие клетки организма. Тф играет ключевую роль в циклическом процессе, он связывает железо в виде оксида. У здорового взрослого человека с Тф плазмы связано 3—5 мг железа, но через этот пул в течение суток проходит 30—35 мг железа, из которого только 1 мг приходится на долю абсорбированного железа, а остальное железо — реутилизированное.

На всех клетках имеется ТфР, к которому фиксируется Тф. ТфР является специфическим мембранным белком, имеющим высокое сродство с железом Тф, функцией которого является доставка железа внутрь клетки. ТфР является гликопротеином, состоит из 760 аминокислот с молекулярной массой около 90 килодальтон [Harford J. et al., 1991]. Функциональный ТфР состоит из двух идентичных дисульфидсвязан-

ных полипептидов. Ген ТфР расположен в дистальном участке длинного плеча 3-й пары хромосом (3q26—3qter) [Rabin M. et al., 1985], в том же самом месте, где расположен ген Тф. В сыворотке крови имеется sТфР, который является усеченной формой тканевого рецептора. Он существует в виде комплексной формы с Тф сыворотки крови; этот комплекс состоит из двух sТфР и одной молекулы Тф с общей молекулярной массой 235 килодальтон [Hamano A. et al., 1998]. Уровень экспрессии ТфР на клетке зависит от потребности в железе клетки, ее способности к делению, от метаболической потребности клетки, например синтеза гемоглобина или миоглобина. В течение дифференциации эритроидных клеток, в период синтеза гемоглобина на поверхности этих клеток резко увеличивается экспрессия ТфР [Kato J. et al., 1998].

На поверхности большинства клеток имеются множество различных рецепторов, и каждый из них имеет большое сродство для специфического лиганда. Тф проникает в эндочитные пузырьки клетки. При эндочитозе лиганды связываются с поверхностным рецептором. Если лиганды отсутствуют, то большинство рецепторов располагаются на поверхности плазматической мембраны хаотично. Рецептор Тф располагается на поверхности мембраны клетки в виде кластеров, окутанных углублений, даже при отсутствии лиганда. Комплекс рецептор — лиганд погружается в это углубление в цитоплазматической мембране клетки, и это образование называется эндочитозным пузырьком или эндосомой [Steeg S. et al., 1991]. Через 15—45 мин после образования эндосомы происходит слияние последней с лизосомой, следствием чего является освобождение внутреннего содержимого для гидролитического расщепления. Рецепторы вновь возвращаются на

поверхность цитоплазматической мембраны клетки для повторной реутилизации, для связи с новыми молекулами лигандов. В эндосоме под действием редуктазы происходит переход иона Fe^{3+} в ион Fe^{2+} , который затем переносится в цитозоль [Mechinaud-Lacroix F., 1995; Halloran B. et al., 1997]. Недавно обнаружен другой переносчик железа через эндосомальную мембрану Nramp-2 (Natural Resistance-Associated Macrophage Protein-2). Nramp-2 необходим для выключения транспорта железа из трансферринового цикла эндосомы [Flemming D. et al., 1998]. Используя двухфазную жидкую культуральную систему для изучения экспрессии mРНК ТфР и Nramp-2 в эритроидных клетках, J.Kato и соавт. (1998) установили, что Nramp-2 играет роль в усвоении железа Тф в течение развития эритроидных клеток. Мутация белка вызывает уменьшение усвоения железа эритроидными клетками и способствует развитию микроцитарной анемии у мышей и крыс Belgrade [Zhang A.-S. et al., 1998; Canonne-Hergaux F. et al., 2000].

Железо играет важную роль в метаболических процессах, происходящих в клетке. Оно необходимо для синтеза рибонуклеотидной редуктазы, которая требуется для синтеза ДНК и клеточного деления. Содержание железа в клетке влияет на ее пролиферативную активность. Железо необходимо также для синтеза многих внутриклеточных белков, таких как цитохром, участвующий в метаболизме кислорода, синтеза миоглобина, гемоглобина в эритроидных клетках. Быстро делящимся клеткам для своей деятельности требуется больше железа, чем «покоящимся» клеткам. Гомеостаз железа в клетке поддерживается и регулируется экспрессией ТфР и ферритина [Bridges K., 1993; Klausner R. et al., 1993]. Появление экспрессии рецепторов этих двух белков ограничивает

усвоение количества железа (пропорционально количеству ТфР) и степень депонирования железа в клетке (пропорционально количеству цитоплазматического ферритина). Если клетка нуждается в увеличении содержания железа, например когда она делится, а содержание ферритина в клетке снижено, то содержание ТфР на поверхности клетки увеличивается, т. е. степень экспрессии ТфР регулируется содержанием железа в клетке по типу обратной связи [Rao D. et al., 1986]. Модуляция числа ТфР происходит путем перераспределения молекул рецепторов Тф между наружной и внутренней поверхностями мембран клетки [Klausner R. et al., 1993].

ТфР определяются на всех делящихся клетках, при этом клетки, находящиеся в S-фазе, несут на своей поверхности больше ТфР, чем клетки в фазе G₁. Около 80% железа организма используется для синтеза гемоглобина в эритроидных клетках. Только железо, связанное с Тф, может фиксироваться на клетках эритроидного ряда путем связывания с ТфР, который имеется вплоть до ретикулоцита. Именно благодаря наличию рецепторов Тф обеспечивается снабжение эритроидных клеток железом для синтеза гемоглобина. После созревания ретикулоцита в Эр последний утрачивает ТфР.

В физиологических условиях количество железа, включаемое в синтез гемоглобина, соответствует количеству железа, высвобождающегося в процессе физиологического гемолиза, у взрослых это составляет около 30 мг/сут. Железо, освобожденное в процессе гемолиза, захватывается и откладывается в макрофагах, которые являются посредниками между Эр и Тф.

Ионы железа, освобожденные Тф, попадая внутрь клетки, соединяются с апоферритиновой субъединицей оболочки, образуя ферритин. В процессе усвоения и регуляции содержа-

ния железа внутри клетки вовлечены Тф, ТфР и ферритин. Во внутриклеточном перемещении железа участвуют две системы регуляторов:

1) IRE (Iron Responsive Element, элемент, ответственный за железо);

2) специфический цитоплазматический белок, чувствительный к концентрации железа внутри клетки, обозначаемый как IRF (Iron Regulator Factor, регуляторный фактор железа) или как IRE-BP (IRE-Binding Protein, IRE-связанный белок).

При недостатке железа в клетке IRF взаимодействует с IRE, вследствие чего ингибируется синтез ферритина и АЛК-С, а синтез ТфР увеличивается. Если же в клетке имеется избыток железа, то IRF отщепляется от IRE и это приводит к увеличению синтеза ферритина и АЛК-С с одновременной ингибацией ТфР [Klausner R. et al., 1993; Kim S. et al., 1998]. Азота оксид, гипоксия и аскорбиновая кислота также модулируют взаимодействие IRF с IRE [Toth I. et al., 1997; Alvarez-Hernandez X. et al., 1998]. Через взаимодействие IRF с IRE происходит стабилизирование мРНК ТфР, тогда как ферритин его дестабилизирует [Roy C. et al., 2000].

Цитоплазматический белок ферритин является внутриклеточным источником железа. Это резервное железо используется клетками организма по мере их потребности в этом микроэлементе. Около $\frac{2}{3}$ резервного железа находится в клетках СМФ, а $\frac{1}{3}$ — в гепатоцитах. Клетки СМФ захватывают $\frac{2}{3}$ железа, находящегося в плазме крови, и откладывают его внутри клетки в виде ферритина, который является пулом хранения, и по мере необходимости железо пула хранения возвращается в циркулирующую кровь, связывается с Тф и доставляется в соответствующие органы и системы.

Печень является органом, в котором хранится наибольшее количество резервного железа. Гепатоциты

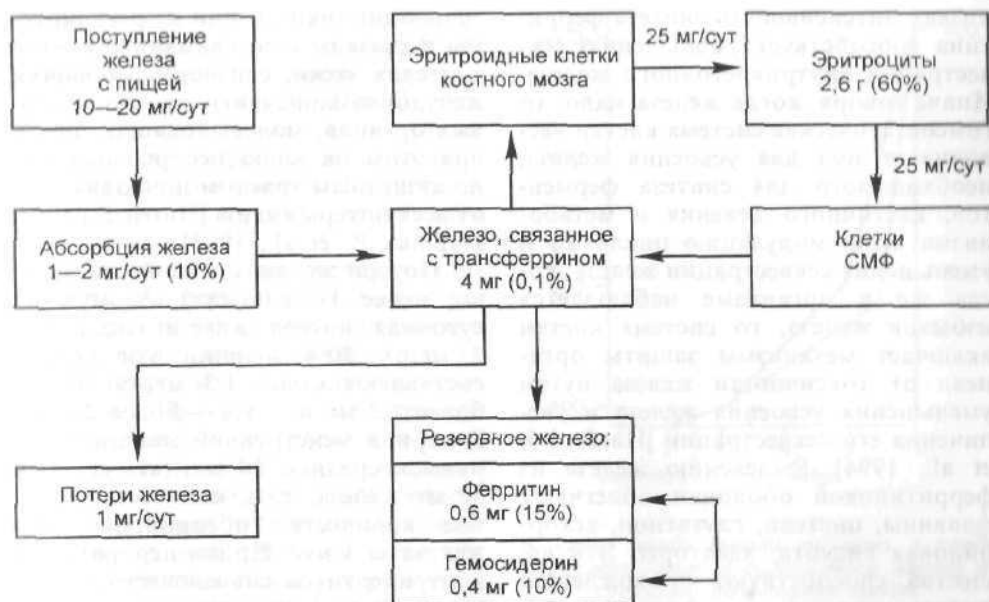


Схема 7. МЕТАБОЛИЗМ ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА (по С. Lejeune и соавт., 1998).

способны усваивать железо с помощью нескольких механизмов, включая ТФР, ферритин и комплекс гаптоглобин — гемоглобин — гемоглобин, а также усваивать низкомолекулярное не связанное с Тф железо. Гепатоциты обладают собственным механизмом усвоения железа. Гем, связанный с гемопексином через специфический рецептор, освобождается, и гемопексин вновь включается в цикл. Подобным образом из циркулирующей крови извлекается комплекс гемоглобин — гаптоглобин с освобождением железа гема и расщеплением глобина и гаптоглобина. На плазматической мембране гепатоцита также имеется рецептор ферритина, но в физиологических условиях только небольшое количество железа достигает печени этим механизмом.

И гепатоциты, и макрофаги могут быть донаторами железа для Тф плазмы крови. Если содержание железа в плазме крови снижено, то гепатоциты выделяют железо в

кровь, а если наблюдается избыток железа, то оно откладывается в гепатоците в виде ферритина и гемосидерина.

Особенностью обмена гепатоцит — железом заключается в том, что печеночные клетки способны усваивать железо, не связанное с Тф, например железа цитрата или аскорбата, которое поступает в организм при внутривенных инъекциях препаратов.

Количество перехода нового приобретенного железа в клетку зависит прямо пропорционально от содержания ферритина в клетке; распределение железа между ферритином и неферритиновым пулом зависит от содержания ферритина. Уменьшение содержания железа для усвоения клетками приводит к снижению транскрипции гена ТФР. Следствием снижения «регуляторного» пула железа является уменьшение интенсивности синтеза ферритина. Увеличение числа ТФР на клетке приводит к повышенному усвоению железа, а

изкая интенсивность синтеза ферритина способствует уменьшению секвестрации внутриклеточного железа. [иначе говоря, когда железа мало, то гомеостатическая система клетки увеличивает пул для усвоения железа, необходимого для синтеза ферментов, клеточного деления и метаболизма через модуляцию цикла Тф и уменьшения секвестрации железа; когда же в организме наблюдается избыток железа, то система клетки включает механизмы защиты органов от токсичности железа путем уменьшения усвоения железа и увеличения его секвестрации [Harford J. et al., 1994]. Выделению железа из ферритиновой оболочки облегчают цитостин, глутатион, аскорбиновая кислота, хелаторы. Эти вещества способствуют прохождению железа через каналы ферритиновой оболочки. Альтернативно ферритиновая оболочка может деградировать либо внутри лизосом клетки с образованием гемосидерина, либо в цитоплазме.

Железо, освобожденное из ферритина в цитоплазму, легко усваивается.

На схеме 7 представлен метаболизм железа в организме человека.

БАЛАНС ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Баланс железа в организме обеспечивается равновесием потерь железа с количеством усвоенного микроэлемента. Организм человека очень экономно распоряжается железом. В физиологических условиях у взрослого человека усвоение железа и его потери составляют 1—2 мг/сут, т. е. приблизительно $\frac{1}{4000}$ (0,025%) общего железа в организме [Hersberg S., 1988]. Потери железа организмом в физиологических условиях относи-

тельно постоянны, они не регулируются и связаны с десквамацией клеток эпителия кожи, слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, половых органов, мочевыводящих путей, при этом на долю потерь желудочно-кишечным трактом приходится $\frac{2}{3}$ от всех потерь железа [Harris E., 1992; Dallman P. et al., 1993].

Потери железа с мочой составляют менее 1 мг/(кг·сут). У мужчин суточная потеря железа составляет 1 мг; у 50% женщин эти потери составляют более 1,3 мг, у 10% — более 2,2 мг и у 5% — более 2,4 мг. В период менструаций женщины теряют в среднем 14 мкг/(кг·сут), или 30 мг железа, т. е. количество, равное количеству абсорбированного железа за 1 мес. Прием пероральных контрацептивов снижает потерю железа. При беременности женщина теряет в среднем 800 мг железа. Это связано с тем, что железо передается плоду и хранится в плаценте. В последние два триместра беременности потери железа составляют в среднем 4 мг/сут [Lejeune C. et al., 1998].

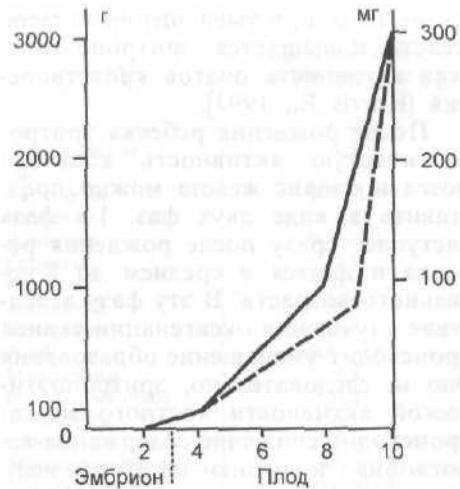
Потребность организма в железе может быть сформулирована как количество железа, которое необходимо для восполнения потерь. В физиологических условиях потребность организма в железе незначительная. Мужчинам требуется 1—2 мг/сут, а женщинам при наличии у них менструальных циклов — в 2 раза больше. В период беременности потребности в железе повышаются за счет передачи железа плоду (около 5 мг/сут) и накопления микроэлемента в плаценте (800 мг), а также кровопотери при родах (около 500 мг). Для фетоплацентарного резерва требуется 1—1,3 г железа, т. е. количество, эквивалентное абсорбции железа в течение 2—3 лет. Потребность в железе особенно возрастает во II—III триместре беременности. При неосложненном течении

беременности суточная потребность в железе должна быть около 2,5 мг, а при наличии дефицита железа у беременной — 5 мг/сут [Dijk J. van, 1988]. В период лактации также повышается потребность в железе, так как содержание последнего в материнском молоке составляет 0,3—1,5 мг/л.

В организме плода железо накапливается на всем протяжении беременности, но особенно интенсивно (40%) в последнем триместре (рис. 5). Материнское железо в плаценте связывается с Тф плода и транспортируется в ткани, в основном в печень. Уже через 40 мин после введения беременной радиоактивного железа последнее появляется в крови плода, при этом интенсивность передачи железа увеличивается по мере нарастания массы плода [Singla P. et al., 1979]. Положительный баланс железа у плода обусловлен совершенными транспортными механизмами плаценты, позволяющими обеспечивать плод достаточным количеством железа даже при дефиците его у беременной, а также некоторыми особенностями метаболизма железа у плода: более высокая способность фетального Тф насыщаться железом, замедленный расход ферритина в связи с низкой активностью ксантиноксидазы.

Таким образом, у плода имеется положительный баланс железа; транспорт последнего является активным процессом, идущим против градиента концентрации в пользу плода без обратной передачи. К моменту рождения ребенка общий запас железа в его организме составляет 75 мг/кг массы тела; эта величина является константой у доношенного и недоношенного ребенка, но у последнего из-за его низкой массы тела общее количество микроэлемента значительно меньше [Brown M., 1988; Dallman P. et al., 1993].

У детей потребность в железе более высока, чем у здоровых взрос-



5. Связь между массой эмбриона и плода (сплошная линия) и содержанием железа в организме (пунктирная линия).

лых. У грудных детей эта потребность связана с вариациями и эволюцией гемопоэтической активности. У плода аккумуляция гемоглобина, следовательно и железа, происходит очень быстро. Наличие у беременной дефицита железа особенно не отражается на содержании ферритина у новорожденного. Однако снижение содержания ферритина у новорожденного наблюдается при недостаточности плаценты (при наличии у матери преэклампсии, диабета). Установлено, что содержание Тф и ферритина в крови из пуповины коррелируют между собой. На содержание Тф в крови влияет питание плода, но, как правило, главным является поступление крови и оксигенация плода [Méchinaud-Lacroix F., 1995]. У новорожденных детей, родившихся от матерей с артериальной гипертензией и диабетом, наблюдается увеличение содержания Тф и уменьшение количества ферритина. Вероятно, это связано с тем, что плод постоянно испытывает гипоксемию, что приводит к стимуляции образования Эпо;

кроме того, при уменьшении запасов железа повышается эритропоэтическая активность очагов кроветворения [Harris E., 1992].

После рождения ребенка эритропоэтическую активность костного мозга и баланс железа можно представить в виде двух фаз. 1-я фаза наступает сразу после рождения ребенка и длится в среднем до 8-недельного возраста. В эту фазу вследствие улучшения оксигенации тканей происходит уменьшение образования Эпо и, следовательно, эритропоэтической активности костного мозга; происходит снижение содержания гемоглобина в среднем на 10 г/(л·нед). В этот период благодаря депрессии эритропоэза происходит экономия железа, которое переходит в пул хранения. Во 2-ю фазу, наступающую в среднем через 8 нед после рождения ребенка, наблюдается повышение активности эритропоэза, возникает ретикулоцитоз, что позволяет организму ребенка поддерживать содержание гемоглобина на уровне 120 г/л несмотря на то, что масса ребенка в течение первого года жизни утраивается. В течение первого года жизни, когда поступление железа с пищей очень ограничено, запасы микроэлемента сокращаются. Поэтому в возрасте 4—12 мес потребности ребенка в железе составляют 0,8 мг/сут: 0,6 мг необходимо в связи с увеличением массы тела и 0,2 мг для восполнения потерь [Dallman P. et al., 1993]. Поскольку ребенок прогрессивно растет, увеличиваются масса тела и содержание гемоглобина, то для этого необходимо поступление железа, которое обеспечивается пищей. Особенно это требуется в подростковом, юношеском возрасте, в большей степени девочкам. Поэтому в питании следует употреблять продукты, содержащие железо в достаточном количестве. В табл. 11 представлены данные о содержании железа в различных пищевых продуктах. Однако

имеет значение не только количественное содержание микроэлемента в продуктах питания, но и его качество (гемовое или негемовое железо). Несмотря на нормальное питание, теоретически в добавках железа нуждаются 97,5% людей. Рекомендуемые дозы приема железа зависят от его запасов, возраста, пола, физиологического состояния организма (рост, беременность, лактация и др.). При назначении препаратов железа следует учитывать характер питания, коэффициент абсорбции железа из пищи; при этом ВОЗ рекомендует адаптировать это к конкретной стране [Méchinaud-Lacroix F., 1995]. В табл. 12 и 13 представлены данные о рекомендуемых дополнительных дозах назначения железа с учетом возраста и режима питания. Для изучения обмена железа в организме F.Méchinaud-Lacroix (1995), C.Lejeune и соавт. (1998) рекомендуют использовать следующие лабораторные тесты:

1) определение содержания железа в сыворотке крови, общей железосвязывающей способности сыворотки крови, коэффициента насыщения Тф;

2) определение содержания цинк-протопорфирина в Эр; цинк-протопорфирин образуется на конечной стадии биосинтеза гема, когда цинк включается в протопорфирин IX под влиянием феррохелатазы; в норме содержание цинк-протопорфирина составляет 38—104 ммоль/моль гема; содержание цинк-протопорфирина увеличивается при дефиците железа, когда затруднен перенос железа в костный мозг, при интоксикации, анемии воспалительного происхождения;

3) определение содержания sТфР; их содержание в сыворотке крови пропорционально количеству ТфР на клетках и отражает активность эритропоэза; в норме (метод ELISA) содержание sТфР составляет

ТАБЛИЦА 11. Содержание железа в различных пищевых продуктах

| Продукт | Содержание железа, мг/100 г продукта | Продукт | Содержание железа, мг/100 г продукта |
|----------------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|
| Печень | 8—18 | Фасоль | 1,4—9,6 |
| Чечевица | 7 | Мясо куриное | 1,5 |
| Желток куриного яйца | 5,8 | Рис | 1,3 |
| Крупа овсяная | 4,3 | Картофель | 0,8—1,7 |
| Мука кукурузная | 3—3,4 | Капуста | 1,1 |
| Мука гречневая | 3,2 | Виноград | 0,8—2,1 |
| Говядина | 2,9—5,6 | Гранаты | 0,8 |
| Хлеб зерновой (мука) | 2,2—3,6 | Морковь | 0,7 |
| Яйца | 2—2,6 | Земляника | 0,7 |
| Шпинат | 1,7—4,4 | Помидоры | 0,6 |
| Яблоки | 2,5 | Хлеб | 0,4—0,8 |
| Шоколад | 1,6—2,4 | Мандарины | 0,4 |
| Смородина черная | 2,1 | Масло сливочное | 0,2 |
| Баранина | 2,9—5,6 | Апельсины | 0,1 |
| Икра кетовая | 1,8 | Сливки | 0,1 |
| Рыба | 1,4 | Молоко женское | 0,07—0,15 |
| Крупа манная | 1,6 | Молоко коровье | 0,03—0,05 |

ТАБЛИЦА 12. Рекомендуемые дозы железа для профилактики истощения его запасов в зависимости от содержания этого микроэлемента в пище (по S.Herberg, 1988)

| Возраст и пол | Рекомендуемые дозы железа (мг/сут) при коэффициенте абсорбции железа из пищевых продуктов | | |
|----------------------|---|-----|-----|
| | менее 5% | 10% | 15% |
| 4—12 мес | 20 | 12 | 6 |
| 13—24 мес | 12 | 6 | 4 |
| 2—5 лет | 14 | 7 | 5 |
| 6—11 лет | 24 | 12 | 8 |
| 12—16 лет (девочки) | 42 | 21 | 14 |
| 12—16 лет (мальчики) | 36 | 18 | 12 |
| Мужчины взрослые | 23 | 11 | 8 |
| Женщины: | | | |
| детородного возраста | 48 | 24 | 16 |
| кормящие | 26 | 13 | 9 |
| в период менопаузы | 19 | 9 | 6 |

ТАБЛИЦА 13. Рекомендуемые дозы железа (рекомендации ВОЗ, 1970)

| Возраст | Добавки железа (мг/сут) в зависимости от доли животных продуктов питания в рационе (по энергии) | | |
|-------------------------|---|--------|-----------|
| | Менее 10% | 10—25% | Более 25% |
| 0—4 мес | Достаточно материнского молока | — | — |
| 5—12 мес | 10 | 7 | 5 |
| 1—12 лет | 10 | 7 | 5 |
| 13—16 лет, мальчики | 18 | 12 | 9 |
| 13—16 лет, девочки | 24 | 18 | 12 |
| Взрослые: | | | |
| мужчины | 9 | 6 | 5 |
| женщины без менструаций | 9 | 6 | 5 |
| женщины с менструациями | 28 | 19 | 14 |

(20 ± 5) нмоль/л; при дефиците железа отмечается увеличение содержания sТfР, а при анемиях, связанных с воспалительным процессом, содержание sТfР — в пределах нормы [Flowers C. et al., 1989];

4) определение резервов железа; о состоянии резервов железа в организме можно судить:

а) по содержанию ферритина в сыворотке крови, которое изменяется параллельно с резервами железа в организме и служит параметром для оценки запасов железа; гипоферритинемия является более ранним и более чувствительным тестом дефицита железа, чем определение содержания сывороточного железа; однако определение сывороточного ферритина у детей не является убедительным маркером дефицита железа, поскольку у них происходит медленная мобилизация резервного железа; это же положение относится и к пожилым людям, у которых нередко наблюдаются признаки воспалительного процесса; содержание ферритина в сыворотке крови повышается при лизировании клеток (острый гепатит, инфаркт миокарда, миелопролиферативный синдром и др.), синдроме воспаления, злокачественных новообразованиях, гемохроматозе, гемосидерозе;

б) по окраске костномозговых клеток ферроцианидом для выявления в них негемового железа в виде синих зерен; в физиологических условиях 10—20% эритрокариоцитов содержат по 1—3 зерна (сидеробласты); при перегрузке организма железом увеличено как число сидеробластов, так и количество зерен в каждой клетке;

в) по десфераловой пробе; десферал мобилизует железо из депо, и оно выделяется с мочой; вводят десферриоксамин из расчета 10 мг/кг и проводят сбор суточной мочи, в которой определяют количество железа; снижение количества выделен-

ного железа свидетельствует об истощении его запасов в организме, а значительное его увеличение — о перенасыщении организма железом; в приложении 21 представлены нормальные показатели;

5) определение абсорбции железа; для этого используют нуклидный метод; радиоактивный кобальт (^{57}Co) абсорбируется так же, как и железо, и элиминируется с мочой; после приема per os радиоактивного кобальта в суточной моче определяют его радиоактивность; у детей метод не используют, а у взрослых его применяют крайне редко;

б) изучение активности эритропоэза; для этого внутривенно вводят ^{59}Fe , и это позволяет судить о способности Тф связываться с железом, времени появления радиоактивного железа в костном мозге; из крови ^{59}Fe исчезает быстро ($T_{1/2}=90$ мин) вследствие его захвата клетками; при дефиците железа ^{59}Fe исчезает быстрее из крови; через 3—4 дня после внутривенного введения до 80% ^{59}Fe определяется в Эр циркулирующей крови; при дефиците железа увеличено включение ^{59}Fe в клетки эритроидного ряда, а при недостаточности эритропоэза оно уменьшено.

Об активности эритропоэза можно судить по радиоактивности на уровне крестца: ее снижение указывает на недостаточность эритропоэза, а увеличение — на сидеропению. В детской практике метод не используют.

В приложении 20 представлены основные параметры, отражающие обмен железа у человека.

По данным L.Zacharski и соавт. (1998), содержание ферритина в сыворотке крови резко возрастает у мужчин в позднем юношеском возрасте, а у женщин — после менопаузы.

Содержание ферритина выше у чернокожих, чем у представителей белой расы и испанцев. Таким обра-

зом, железо играет важную роль в жизнедеятельности организма.

До 80—90% железа, переносимого Тф, используется для синтеза гемоглобина.

ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНАЯ АНЕМИЯ

Среди различных анемий ЖДА является наиболее распространенной во всех регионах земного шара, охватывая все возрастные группы лиц вне зависимости от их пола и этнической принадлежности. Во всем мире ЖДА наблюдается у 500 млн человек [Provan D. et al., 2000]. По данным Н.Н.Филатова (1999), в Москве за период с 1993 по 1997 г. число больных детей с ЖДА увеличилось с 5,38% до 8,2%. Это же явление наблюдается и у детей Республики Беларусь [Климкович Н.Н. и др., 1998]. В разных регионах мира дефицит железа наблюдается у 20—50% людей; у каждой восьмой женщины в возрасте 18—30 лет отмечается дефицит железа [Milman N. et al., 1998; Saloojee H. et al., 2001].

Причины развития ЖДА разнообразны. Это могут быть:

— «бедность» депо железа при недостаточном его поступлении с пищей;

— повышенная потребность организма в железе;

— недостаточное усвоение железа в желудочно-кишечном тракте;

— избыточная потеря железа организмом;

— другие причины.

«Бедность» депо железа при его недостаточном поступлении с пищей. Как было отмечено исходя из физиологии обмена железа у человека (более подробно см. раздел «Обмен железа в организме в физиологических условиях»), у взрослого только 5% железа, необходимого для синтеза гемоглобина, должно поступать извне, тогда как остальные 95% железа

реутилизируются за счет распада Эр. Напротив, у новорожденных детей до 30% железа должно поступать извне с пищей, чтобы обеспечить увеличение массы тела ребенка и количества Эр.

У новорожденных детей резервы железа относительно постоянны, что связано с процессом рециклизации железа вследствие уменьшения эритропоэтической активности костного мозга в постнатальном периоде по сравнению с периодом внутриутробного развития.

На показатели резервов железа влияют масса тела ребенка при рождении, недоношенность — чем ниже масса тела и чем больше недоношен ребенок, тем меньше запасы железа, и, следовательно, по мере развития ребенка они быстрее истощаются. Поэтому детям с малой массой тела необходима более интенсивная доставка железа. Риск развития дефицита железа увеличивается у детей из многоплодной беременности. В возникновении дефицита железа имеет значение характер питания и другие факторы, так как вещества из материнского молока лучше усваиваются, чем из коровьего; молочные и другие пищевые смеси, используемые для кормления новорожденных детей и детей первого года жизни, более обогащены железом. Раннее введение в питание коровьего молока является фактором риска развития дефицита железа. У новорожденных детей дефицит железа возникает обычно вследствие кровотечений (фетофетальное, фетоматеринское, из пуповины и др.).

Хронические фетоматеринские кровотечения, т. е. хроническое трансплацентарное проникновение Эр плода в кровь матери может приводить к тяжелой ЖДА у плода. Около 50% беременностей протекают с переходом в том или ином количестве клеток крови плода в кровь матери, но только 1% из всех этих

случаев приводят к хронической кровопотере, к анемии. Нередко дети рождаются преждевременно, со сниженной массой тела. Они бледны, но достаточно активны. Гепатоспленомегалия отсутствует. Гематологически у этих детей определяется снижение содержания гемоглобина, иногда до 61 г/л, ретикулоцитоз. Средний объем Эр и среднее содержание гемоглобина в одном Эр повышены. Характерно снижение содержания ферритина в сыворотке крови [Weaver D. et al., 1990]. Диагностика в целом трудностей не вызывает. Некоторую помощь может оказать определение фетальных Эр у матери с использованием иммуноцитохимических и иммунофлюоресцентных методов. Наличие у матери в крови 1% фетальных Эр указывает на потерю плодом 50 мл крови [Gass C. et al., 1998]. При наличии анемии показаны гемотрансфузии. Прогноз благоприятный, но обычно у таких детей может наступать ЖДА до 6-месячного возраста.

Кровотечения от плода к плоду (близнец близнецу) наблюдается при наличии у плодов единой общей плаценты. При этих состояниях (нераспознанных) наблюдается относительно высокая смертность; по данным A.Rausen и соавт. (1965), она составляла 66% у аффектных детей. У новорожденных развиваются анемия и дефицит железа [Ходасевич Л.С. и соавт., 1981].

Причиной ЖДА у новорожденных детей могут быть фетоплацентарные кровотечения, кровотечения из пуповины и др. [Brown M., 1988].

Другой причиной, способствующей развитию ЖДА, является *повышенная потребность организма в поступлении железа извне*. У детей повышенная потребность в железе возникает в препубертатном и пубертатном периоде, а у женщин — в период беременности и лактации. Особенно резко возрастает потребность в же-

лезе у детей, начиная с 9 лет, и достигает максимальных значений у девочек в период начала менструаций [Демихов В.Г. и др., 2001; Halterman J. et al., 2001].

К дефициту железа может привести *недостаточное усвоение железа в желудочно-кишечном тракте*. Это может быть обусловлено как относительно небольшим содержанием железа в большинстве пищевых продуктах (см. табл. 11), так и особенностями его усвоения. У детей с 4-месячного возраста запасы железа оказываются исчерпанными и возникает потребность в ежедневном введении с пищей железа (приложение 20). С другой стороны, пищевой режим детей грудного возраста ограничен, поступление железа с пищей незначительно. Наши исследования показали, что корректирование питания не ликвидирует дефицит железа, и для его исчезновения требуется введение препаратов железа.

Недостаток усвоения железа в желудочно-кишечном тракте зависит не только от количества железа, находящегося в пище, но и от того, в какой форме оно находится. Поступление железа с пищей, содержащей гемовую форму (мясо, рыба, печень и др.), аскорбиновую кислоту (соки фруктов) увеличивают абсорбцию железа. Напротив, фосфаты, фитаты, танин, кофе блокируют абсорбцию железа. Непереносимость белков коровьего молока также нарушает всасывание железа [Alar N. et al., 1998]. Это обусловлено тем, что у больных имеется иммунокомплексный гастроинтестинальный синдром. Причиной его развития является появление АТ типа IgG и IgM к некоторым белкам коровьего молока. Возникающие при этом иммунокомплексы могут повреждать клетки слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и приводить как к мальабсорбции, так и к скрытому кровотечению [Méchin-ud-Lacroix F., 1995].

Нарушения абсорбции железа могут быть обусловлены врожденными и приобретенными заболеваниями желудочно-кишечного тракта (целиакия, энтериты различного происхождения, спру, резекции желудка и тощей кишки, хронический панкреатит, болезнь Крона и др.).

Исходя из сказанного выше, становится очевидным, что развитие железодефицитного состояния при недостаточном усвоении железа в желудочно-кишечном тракте может зависеть от поступления бедной железом пищи, от неблагоприятного сочетания пищевых ингредиентов, от дефицита хлористоводородной кислоты (гипохлоргидрия) и нарушений абсорбционной способности клетками слизистой оболочки кишечника при врожденных и приобретенных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

К дефициту железа и ЖДА приводит также избыточная потеря железа организмом. Как уже было отмечено, физиологические потери железа составляют 1—2 мг/сут, или $1/4000$ от всего запаса этого микроэлемента в организме. Однако при наличии патологических изменений в организме эти потери могут многократно увеличиваться. Это наблюдается при острых и хронических оккультных кровотечениях вследствие язвенного процесса в желудочно-кишечном тракте, наличия полипов, аденокарциномы, диафрагмальной грыжи, портальной гипертензии, болезни Крона, дивертикулов, гематурии, при кровотечениях, спровоцированных некоторыми лекарственными препаратами (антикоагулянтами прямого и непрямого действия), паразитировании некоторых гельминтов-геофагов, таких как анкилостома, потребляющая в день 0,15—0,2 мл крови, *Necator americanus* (0,02—0,1 мл/день), власоглав (0,002—0,01 мл/день), при экссудативном-катаральном диатезе, когда потеря же-

леза происходит вместе со слищивающимся эпителием, особенно при диспепсических расстройствах и при обширных кожных проявлениях, и при других причинах [Scrimshaw N., 1991; Harford J. et al., 1994; Ong M. et al., 1998]. Женщины и девочки в физиологических условиях при менструациях теряют 30—50 мл крови, т. е. 0,5 мг железа в день. Причиной дефицита железа могут быть мено- и метроррагии, фиброма матки. Редко дефицит железа обусловлен рецидивирующими носовыми кровотечениями (при болезни Рандю — Осера), у доноров, при идиопатическом гемосидерозе легких вследствие рецидивирующих внутриальвеолярных кровотечений [Lejeune C. et al., 1998].

Некоторые хронические заболевания сопровождаются дефицитом железа, обусловленным различными механизмами. К их числу относятся хроническая почечная недостаточность, при которой проводится лечение гемодиализом, приводящее к потере железа; больные с цианозом, кардиопатией и эритроцитозом, вследствие повышенной эритропоэтической активности костного мозга; больные с внутрисосудистым гемолизом, пароксизмальной ночной гемоглобинурией, при которых потеря железа происходит вследствие гемоглобинурии, при механическом гемолизе, как это имеет место при наличии сердечных и сосудистых клапанов и др.

Как было отмечено выше, в физиологических условиях количество железа, поступающего в организм, уравнивается с его потерями. При нарушении этого равновесия развивается дефицит железа, который последовательно проходит три стадии, в конечном итоге приводя к ЖДА.

В первой стадии происходит уменьшение количества резервного железа. Поскольку железа поступает в организм недостаточно, то исполь-

зуется резервное железо, которое поступает в циркулирующую кровь. Первоначально используется ферритин из макрофагов, как более мобильная фракция, а затем — гемосидерин, компартмент железа, более медленный для обмена. Отрицательный баланс железа приводит к усилению абсорбции микроэлемента в кишечнике и увеличению синтеза Тф. Освобождаемое железо из резервного компартмента позволяет поддерживать содержание железа в сыворотке крови на нормальном уровне. В этой стадии содержание ферритина в сыворотке крови ниже 12 мкг/л.

Если в первой стадии дефицит железа не восполняется, то наступает вторая стадия. В этой стадии уменьшается содержание железа в сыворотке крови с истощением запасов железа, увеличивается способность Тф связывать железо, уменьшается коэффициент его насыщения. Итогом этого является снижение доставки железа в костный мозг для синтеза гемоглобина, что приводит к увеличению содержания протопорфирина в Эр. Развивается тенденция к микроцитозу Эр, их гипохромия, увеличиваются митотическая активность эритробластов и образование Эпо.

В третьей стадии наблюдается анемия, увеличение интенсивности неэффективного эритропоэза, снижение длительности жизни Эр. Недостаток железа приводит к уменьшению количества веществ, содержащих гемовое железо (миоглобина, цитохромов митохондриальных, каталазы, пероксидазы), которые определяют клинические негематологические признаки дефицита железа.

Клинические проявления ЖДА определяются общеанемическими симптомами, обусловленными недостатком кислородпереносящего пигмента — гемоглобина — и причинами, вызывающими анемию. Следует принять во внимание, что анемия развивается на фоне общего сниже-

ния содержания железа в организме, которое ведет к значительным нарушениям внутриклеточных обменных процессов [Lejeune C. et al., 1998].

Практически четкой корреляции между содержанием гемоглобина и клиническими проявлениями ЖДА почти никогда не бывает. Это объясняется тем, что при постепенном снижении содержания гемоглобина организм легко приспосабливается к небольшим степеням кислородного голодания. Пожалуй, лишь бледность будет относиться к постоянным проявлениям анемии, сочетаясь даже при легких формах заболевания с повышенными утомляемостью и раздражительностью.

Клинические симптомы анемии становятся более разнообразными в случае присоединения дефицита витаминов, белков и других веществ (сухая кожа, дерматит, кардинальский язык, койлонихия, анасарка, депигментация, алопеция, дисхромотрихия, *pica chlorotica* и др.). Частота симптомов при ЖДА располагается следующим образом (по убыванию частоты): нарастающая бледность (46%), рецидивирующие заболевания легких (39%), функциональный шум в сердце (33%), лихорадка (30%), общая слабость (21%), отставание в массе тела и росте (13%), потеря аппетита (9%), нарастающее возбуждение и тремор (9%), *pica chlorotica* — извращение вкуса (2%), койлонихия — ложкообразные ногти (2%).

Вследствие развития анемии снижается оксигенация тканей, уменьшается работоспособность. Дефицит железа приводит к изменению содержания миоглобина и цитохромов, вследствие чего уменьшается толерантность к физической нагрузке. При дефиците железа страдает и психомоторное, и интеллектуальное развитие ребенка, причем чем длительнее период гипосидерии, тем более выражены эти изменения, и тем мед-

леннее происходит восстановление этих параметров после устранения дефицита железа [Walter T. et al., 1989]. Снижение памяти, интеллекта, внимания при дефиците железа обусловлено тем, что клетки головного мозга содержат меньшее количество этого микроэлемента, необходимого для активности ряда ферментов (тироксингидроксилазы, триптофангидроксилазы, моноаминоксидазы), участвующих в проведении импульсов в нервной системе, нарушается функция рецептора дофамина [Cook J. et al., 1987; Bothwell T. et al., 1989].

Экспериментально доказано, и это подтверждается клиническими наблюдениями, что дефицит железа угнетает пролиферацию лимфоцитов и нарушает фагоцитарную и бактерицидную функции нейтрофилов, и это клинически проявляется в виде склонности больных к инфекционным заболеваниям [Walter T. et al., 1989; Dallman P. et al., 1993].

При выраженной сидеропении у некоторых детей наблюдается ночное недержание мочи, появление днем императивных позывов на мочеиспускание, неспособность удержать мочу при кашле, смехе. Для ЖДА нехарактерно увеличение печени и селезенки, наличие увеличенных этих паренхиматозных органов является симптомом другого заболевания. Исключение составляют дети грудного возраста, у которых при тяжелой форме анемии редко, но может быть увеличение печени и селезенки. Это же относится и к лимфоаденопатии. У новорожденных детей наблюдается корреляция между снижением запасов железа и частотой развития гипогликемии [Amarnath U. et al., 1989].

Гематологически для ЖДА характерно снижение содержания гемоглобина и Эр в периферической крови. Однако образование Эр не страдает столь сильно, как синтез гемоглобина, поэтому цветовой показатель

снижается до 0,6—0,8, а иногда и ниже. Может наблюдаться некоторое увеличение содержания ретикулоцитов до 2—3%, реже выше. Наряду с уменьшением числа Эр, соответствующие изменения претерпевают и эритроцитометрические показатели: средний объем Эр снижается до 70 фл и ниже, среднее содержание гемоглобина в Эр в соответствии с уменьшением цветового показателя уменьшается (менее 320 г/л), а средняя концентрация гемоглобина в Эр колеблется от 25 до 30%, снижаясь в очень тяжелых случаях до 22%, уменьшаются деформабельность мембраны и длительность жизни Эр.

Таким образом, отличительными чертами ЖДА являются микроцитоз и гипохромия. Наряду с этими изменениями, всегда имеет место пойкилоцитоз, анизоцитоз, иногда встречаются мишеневидные Эр. Число лейкоцитов и тромбоцитов обычно нормальное, иногда повышенное. В редких случаях отмечается тромбоцитопения [Berger M. et al., 1987].

При ЖДА костномозговое кроветворение характеризуется напряженностью эритропоэза с преобладанием полихроматофильных нормобластов с уменьшенным содержанием цитоплазмы. Число сидеробластов снижено, иногда они полностью отсутствуют. При наличии сидеробластов последние представлены клетками, содержащими 1—2 сидеросомы.

Поскольку все вышеперечисленные данные свойственны анемии как таковой, необходимо проведение специальных методов исследования для установления ее железодефицитного характера. Установление диагноза возможно лишь на основании комплексного исследования, включая и биохимические, которые должны засвидетельствовать:

- 1) снижение содержания железа в сыворотке крови, взятой в 8—9 ч утра, когда концентрация железа максимальная;

2) снижение насыщения Тф;

3) повышение содержания Тф (общей железосвязывающей способности сыворотки крови).

Однако в диагностике степени дефицита железа более информативными являются определение содержания ферритина в сыворотке крови, количественное определение сидероурии — десфераловый тест; в диагностике может помочь определение количества ТФР в сыворотке крови, которое увеличивается при дефиците железа [Tan D. et al., 1997].

Международными ассоциациями — NHANES (Second National Health and Nutrition Examination Survey), AAP (Le Comite de l'association), F.Oski (1993) предложены нижние границы показателей для диагностики дефицита железа в возрасте 1—5 лет (табл. 14 и 15).

Изучения перечисленных выше лабораторных показателей, которые являются специфичными и вполне приемлемыми в повседневной практике, достаточно для диагностики дефицита железа. Радионуклидный

ТАБЛИЦА 14. Нижние границы гематологических показателей, рекомендованные NHANES и AAP для диагностики дефицита железа у детей в возрасте 1—5 лет

| Показатель | Возраст | Величина показателя по рекомендациям | |
|------------------------------|---------|--------------------------------------|----------------------|
| | | NHANES | AAP |
| Содержание гемоглобина | 1—2 | <107 г/л | <110 г/л |
| | 3—5 | <109 г/л | <110 г/л |
| Гематокритное число | 1—2 | <0,32 | <0,33 |
| | 3—5 | <0,32 | <0,34 |
| Средний объем Эр | 1—2 | <67 мкм ³ | <70 мкм ³ |
| | 3—5 | <73 мкм ³ | <73 мкм ³ |
| Средняя концентрация Нв в Эр | 1—2 | <320 г/л | — |
| | 3—5 | <320 г/л | — |
| Среднее содержание Нв в Эр | 1—2 | <22 пг | — |
| | 3—5 | <25 пг | — |

ТАБЛИЦА 15. Значения биохимических показателей, рекомендованные для диагностики дефицита железа у детей в возрасте 1—5 лет

| Показатель | Возраст, лет | Величина показателя, при которой диагностируют дефицит железа |
|---|--------------|---|
| Содержание железа в сыворотке крови | 1—2 | <5,4 мкмоль/л |
| | 3—5 | <5,4 мкмоль/л |
| Общая железосвязывающая способность сыворотки крови | 1—2 | >86 мкмоль/л |
| | 3—5 | >84 мкмоль/л |
| Коэффициент насыщения трансферрина | 1—2 | <8% |
| | 3—5 | <9% |
| Содержание протопорфирина в эритроцитах | 1—5 | ≥0,62 мкмоль/л в цельной крови |
| | | ≥1,6 мкмоль/л в Эр |
| | | ≥3,0 мкг на 1 г Нв |
| Содержание ферритина в сыворотке крови | 1—5 | 8—12 мкг/л |

метод изучения всасываемости и кинетики железа используют исключительно редко и только у взрослых, поскольку ^{59}Fe имеет длительный период полураспада, что небезразлично для растущего организма ребенка.

Клиническая картина дефицита железа, протекающего без гематологических признаков, напоминает таковую при ЖДА, но частота различных симптомов значительно реже, и чаще всего дефицит является случайной находкой, особенно у больных, часто болеющих респираторными заболеваниями.

У детей старшего и юношеского возраста (14—19 лет) может отмечаться редко встречающаяся в последнее время особая форма ЖДА — так называемый ювенильный хлороз. Его патогенез выходит за рамки чистого дефицита железа и заставляет рассматривать хлороз как сложный синдром, при котором сочетаются дефицит железа с неблагоприятными условиями окружающей среды (доместикация, гипокинезия) и дисфункцией эндокринной системы. У таких больных (в основном женского пола) наблюдается «алебастровая» бледность кожи, часто с зеленоватым оттенком, отсутствие гелиоксантоза, нередко наблюдаются рвота, запоры, олиго- или аменорея. В периферической крови — выраженная анемия и очень низкий цветовой показатель (0,4—0,3). Имеются налицо все лабораторные признаки дефицита железа.

Трудности в диагностике могут возникнуть при наличии тяжелой приобретенной микроцитарной гипохромной анемии, при которой в сыворотке крови наблюдается повышенное содержание железа и нормальное содержание Тф. У таких больных в костном мозге отсутствуют сидеробласты и сидероциты, повышено содержание плазматических клеток, а в крови — IgM. Патогенез

развития этой формы анемии связан с наличием АТ к ТфР на эритроидных клетках.

Некоторые трудности в диагностике ЖДА могут возникнуть при диморфной анемии, когда, наряду с дефицитом железа, имеется дефицит витамина B_{12} и(или) фолиевой кислоты. В этих случаях морфологические гематологические признаки Эр при ЖДА могут быть стерты, поскольку дефицит витамина B_{12} и фолатов вызывает макроцитоз Эр. В этих ситуациях известную помощь оказывают исследования костномозгового кроветворения и определение содержания в плазме крови и в Эр витамина B_{12} и фолатов.

Известные трудности в диагностике дефицита железа могут возникнуть при анемии, связанной с хроническими воспалительными процессами, цитоллизе гепатоцитов, гипертиреозидизме, при которых клинические и гематологические признаки (гипохромная микроцитарная анемия) напоминают таковые при ЖДА, но с другой стороны — имеет место ферритинемия. При воспалительных процессах в организме железо перераспределяется, отмечается аккумуляция микроэлемента в клетках СМФ без вторичного его освобождения (более подробно см. раздел «Анемия при воспалении»).

Лечение и излечение больного может быть успешным, если соблюдены два условия: 1) выяснены и устранены причины, вызвавшие дефицит железа, и 2) назначено патогенетически обоснованное лечение.

Лечение ЖДА будет малоэффективным и болезнь будет рецидивировать, если не устранены причины, вызвавшие гипосидерию. Поэтому необходимо тщательно изучить анамнез, исключить оккультные кровотечения (из десен, желудочно-кишечного тракта и из других источников и санировать последние). Необходимо организовать правильный режим и

питание. Однако собственный опыт подтверждает, что даже правильно назначенный рацион питания не устраняет дефицит железа в организме, он может только приостановить прогрессирование дефицита железа и снижение показателей красной крови. Поэтому патогенетически обоснованным лечением является назначение препаратов железа, при этом следует помнить о том, что выбор метода введения (per os или парентерально) препаратов железа определяется как индивидуальной переносимостью лекарства, так и причиной, вызвавшей дефицит железа. Если больной не переносит прием препаратов железа per os (тошнота, рвота и др.), то следует либо уменьшить дозу препарата, либо заменить его другим лекарственным средством, а если это не дает положительного результата, то вводить препарат парентерально. Кроме того, если у больного имеется органические изменения желудочно-кишечного тракта, нарушение всасываемости (резекция тонкой кишки, выраженный энтерит и др.), то таким больным лечение следует начинать с парентерального введения препаратов железа.

В настоящее время существуют множество различных препаратов, содержащих железо, используемых per os или парентерально для лечения ЖДА. Условно все препараты можно разделить на лекарственные средства, содержащие только железо (железа сульфат, гемфер, активферрин, ферро-градумент, мальтофер и др.), и препараты, которые, помимо железа, содержат витамин С, фолиевую кислоту, витамин В₁₂, меди глюконат, марганца глюконат и др. (ферро-плекс, фефол-вит, тардиферон, фе-нюльс, активферрин-композитум, иберет-филмтаб и др.). По мнению Т.В.Казюковой и соавт. (2000), все железосодержащие лекарственные препараты можно подразделить на две основные группы: 1) ионные препа-

раты железа, представляющие собой солевые и полисахаридные соединения железа, и 2) неионные соединения, состоящие из гидроксид-полимальтозного комплекса трехвалентного железа (мальтофер, мальтофер фол). Каждая из этих групп препаратов имеет свои преимущества и недостатки.

Большинство ионных препаратов представлены железом в виде двухвалентной формы, которое легко доступно для всасывания в желудочно-кишечном тракте и которое быстро проникает в кровь. Но недостатком этих препаратов является то, что они могут вызывать побочные явления и осложнения (диспепсические явления, металлический привкус во рту, потемнение зубов и десен, редко, но могут наблюдаться некротические изменения слизистой оболочки кишечника и др.). Это может служить препятствием для продолжения приема указанных препаратов per os и диктует необходимость назначения железосодержащих средств для парентерального введения [Дворецкий Л.И., 2001; Самсыгина Г.А., 2001].

Из неионных препаратов заслуживает внимание мальтофер, обладающий высокой эффективностью в лечении дефицита железа при одновременном отсутствии побочных явлений и осложнений. Препарат назначают из расчета 3—5 мг железа на 1 кг массы тела в течение 4—7 нед; доза препарата и длительность его применения зависят от тяжести ЖДА [Казюкова Т.В. и др., 2000].

Суточная доза препаратов двухвалентного железа для приема per os для взрослых составляет 200—300 мг, а для детей — 5—10 мг/кг. ВОЗ (1990) рекомендует назначать препараты железа для приема per os из расчета 3 мг/(кг·сут) до восстановления показателей Нб, а затем препараты железа принимать не менее 2 мес по 1—2 мг/(кг·сут) для

восполнения запасов железа в организме. Не следует забывать, что разные препараты железа для приема per os содержат разное количество Fe^{2+} , поэтому, прежде чем рассчитать дозу, надо ознакомиться с инструкцией по применению конкретного препарата. Суточную дозу принимают дробно в 2—3 приема. Обычно длительность курса лечения зависит от степени истощения запасов железа, но, как правило, она составляет не менее $1\frac{1}{2}$ —2 мес, иногда до 4—6 мес для восполнения запасов железа. Препараты, содержащие сульфат железа, имеют то преимущество перед другими ферросодержащими медикаментами, что железо из них в большом проценте всасывается в кишечнике (более 10%), эти лекарственные средства обладают меньшей токсичностью и реже вызывают побочные явления.

В практике иногда приходится назначать препараты железа внутримышечно или внутривенно. К их числу относятся феррум лек, жектофер, имферон, венофер, феррлецит [Bulvik S. et al., 1997; Stark P. et al., 1998]. Основные показания к их применению парентерально — это необходимость быстрого насыщения организма железом при тяжелых гипосидеремических состояниях, нарушение всасываемости железа из желудочно-кишечного тракта вследствие наличия в нем органических, воспалительных и функциональных изменений, непереносимость большим приемом препаратов железа per os. Курсовую дозу препаратов железа для парентерального введения рассчитывают по формуле:

$$A = 0,066 M (100 - Hb),$$

где A — курсовая доза, мг;
 M — масса тела больного, кг;
 Hb — содержание Hb в крови, г/л.

А.Г.Румянцев и соавт. (2001) приводят формулу расчета курсовой дозы препаратов для внутривенно вве-

дения для восполнения дефицита железа в организме:

$$ОДЖ = 0,24 M (HbN - HbC) + Fe,$$

где ОДЖ — общий дефицит железа в организме, мг;

M — масса тела больного, кг;

HbN — нормальное содержание Hb в крови, г/л;

HbC — содержание Hb в крови у больного, г/л;

Fe — количество депонированного железа, мг.

При массе тела менее 35 кг за нормальное содержание Hb принимают 130 г/л, а количество депонированного железа должно составлять 15 мг/кг. Если масса тела превышает 35 кг, то за нормальное содержание Hb принимают 150 г/л, а количество запаса железа должно составлять 500 мг. Обычно суточная доза препарата детям до 1 года составляет 25 мг, от 1 года до 7 лет — 50 мг, старше 7 лет и взрослым — 50—100 мг. Для выяснения толерантности больного к конкретному препарату железа первоначальная доза должна составлять $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ рекомендуемой суточной дозы. Если после однократного введения препарата реакций и осложнений не было, то дозу увеличивают, достигая желаемой к 3—4-му дню. Оптимальный ритм введения — через 1—2 дня.

Внутривенное введение препаратов железа производят тремя способами:

1) струйно, медленно в течение 5 мин и более, разовая доза не более 100 мг;

2) капельное введение препарата (100—200 мг), растворенного в 100—200 мл изотонического раствора натрия хлорида, в течение 15—60 мин;

3) однократное введение препарата в виде капельной инфузии в общей дозе 500—1000 мг.

При парентеральном введении препаратов железа у больных могут быть тошнота, рвота, диарея, металлический привкус во рту, локально может наблюдаться флебит; могут отмечаться аллергические реакции, вплоть до развития анафилактического

шока. Возможно падение артериального давления [Казакова Л.М., 1997; Петухов В.И. и др., 2001; Lejeune C. et al., 1998]. Для профилактики флебита после внутривенной инфузии препарата железа следует внутривенно ввести 5—10 мл изотонического раствора натрия хлорида или 5% раствора глюкозы.

При лечении препаратами железа уже в течение первых суток отмечается субъективное улучшение самочувствия больного, уменьшается слабость, улучшается аппетит; это связано с тем, что железо поступает в клетки для синтеза ферментов. В последующие 36—48 ч наблюдаются начальные признаки улучшения костномозгового кроветворения. На 3-и сутки появляются первые признаки ретикулоцитоза, достигающего пика к 5—10-му дню от начала ферротерапии. Степень ретикулоцитоза зависит от тяжести анемии, сопровождается увеличением содержания Hb, которое повышается в среднем на 5 г/(л·сут). Ретикулоцитарный криз сопровождается увеличением числа Эр и тромбоцитов. С 4-го дня увеличивается содержание Hb, достигая нормальных значений к концу месяца. Сидеремия восстанавливается быстро, но для накопления запасов железа в организме требуется продолжение приема препаратов железа в течение 2 мес и более [Левина А.А. и др., 2001; Schwartz E., 2000].

Прогноз при ЖДА благоприятный, но зависит от этиологических факторов, вызвавших анемию.

АНЕМИЯ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Эта анемия является гипохромной микроцитарной и может представлять трудности в плане дифференциальной диагностики с ЖДА. В зависимости от этиологии «анемию воспаления» можно подразделить на три группы:

1) анемии при хронических инфекциях (гнойные бронхиты, абсцес-

сы легких, хронический бронхит, инфекция мочевыводящих путей и половых органов, остеомиелит, инфекционный эндокардит, микоз легких и других органов, туберкулез легких и внелегочный, бруцеллез и другие оппортунистические инфекции);

2) анемии при системных заболеваниях (ревматоидный артрит, СКВ, узелковый периартериит, полимиозит, острый ревматоидный артрит, болезнь Крона, саркоидоз и др.);

3) анемии при злокачественных новообразованиях почек, печени, кишечника, болезнь Ходжкина, лимфомы.

Патогенез анемии, связанной с воспалением, комплексный. В ее развитии играют роль многие факторы, но анемия обусловлена недостаточной эритропоэтической активностью костного мозга вследствие освобождения ИЛ-1 и ФНО моноцитами-макрофагами, активированными под влиянием бактериальных эндотоксинов, цитокинов (ИФ), опухолевыми клетками [Sainty D. et al., 1998].

Для анемии воспалительного происхождения характерна постоянная гипосидеремия при отсутствии дефицита железа в организме. Железо депонировано в клетках СМФ без вторичного его высвобождения. В эритроидных клетках костного мозга нарушен процесс синтеза гемоглобина, вследствие чего развивается недостаточность эритропоэза. При хроническом воспалительном процессе снижена абсорбция железа в кишечнике, в крови уменьшено содержание Тф вследствие повышенного его катаболизма и снижения синтеза Тф в печени, повышенной его абсорбции макрофагами.

Вследствие снижения утилизации железа и образования гемоглобина в эритроидных клетках для компенсации гипохромии Эр эритроидные клетки костного мозга увеличивают свою митотическую активность, итогом которой — появление микроцитар-

ных Эр, т. е. при воспалительном процессе первоначально анемия носит нормохромный нормоцитарный характер. Если воспалительный процесс не ликвидируется, прогрессирует, то на следующем этапе возникает гипохромная микроцитарная анемия с умеренными признаками повышенного гемолиза, уменьшением длительности жизни Эр. Увеличивается также фагоцитирующая активность клеток СМФ. Эти признаки усиления гемолиза клинически и биохимически не определяются, но четко установлены при радионуклидном изучении длительности жизни Эр с помощью ^{51}Cr [Méchinaud-Lacroix F., 1995].

Клинические признаки анемии воспалительного происхождения обычно маскируются симптомами основного заболевания и практически всегда выявляются только лабораторными методами исследования. Для установления «анемии воспаления» обычные методы исследования недостаточны, требуется использовать специальные методы, чтобы доказать, что первопричиной этой анемии является воспаление.

Первоначально анемия носит нормохромный нормоцитарный характер. Затем развивается нормоцитарная гипохромная анемия и на завершающем этапе, при длительной сохранности воспалительного процесса — микроцитарная гипохромная анемия. При наличии тяжелой анемии необходимо провести более углубленное гематологическое обследование больного. Обычно количество ретикулоцитов нормальное или сниженное.

Количество Эр обычно снижено в меньшей степени, чем содержание гемоглобина. Может быть лейкоцитоз с нейтрофилезом, число тромбоцитов, как правило, увеличено умеренно — $(500...600) \times 10^9/\text{л}$ [Fitzsimon E. et al., 1998].

При биохимическом исследовании крови отмечается постоянная

гипосидеремия, при этом она выявляется раньше, чем анемия. Содержание Тф в плазме крови снижено, его способность связывать железо нормальная или незначительно снижена. Коэффициент насыщения Тф нормальный или слегка сниженный. Содержание ТфР в плазме крови не увеличено. Концентрация ферритина в сыворотке крови нормальная или снижена, что свидетельствует об отсутствии уменьшения запасов железа в организме [Remacha A. et al., 1998].

Показатели костномозгового кровотока не могут помочь в диагностике «анемии воспаления», поскольку количественно эритроидный росток не изменен, за исключением наличия признаков умеренной гипохромии и некоторого увеличения содержания макрофагов, насыщенных железом. Количество сидеробластов уменьшено либо они полностью отсутствуют.

В диагностике «анемии воспаления», наряду с гипосидеремией, нормального или повышенного содержания резервов железа важное значение приобретают другие лабораторные тесты: наличие гиперфибриногенемии, увеличение содержания α_2 -глобулина, γ -глобулина, гаптоглобина, С-реактивного протеина.

Однако иногда «анемия воспаления» может протекать с дефицитом железа (опухоль желудочно-кишечного тракта с изъязвлением и кровопотерей, при приеме противовоспалительных препаратов возникает кровотечение и др.). Эти состояния обычно протекают с более тяжелой анемией, выражен микроцитоз (менее 70 фл), ферритинемия субнормальная; в костном мозге макрофаги не содержат повышенного количества железа.

Течение анемии определяется прямо пропорционально тяжести и длительности воспалительного синдрома: первоначально наблюдается гипосидеремия, а затем анемия нормо-

ТАБЛИЦА 16. Данные для дифференциальной диагностики дефицита железа и анемии воспаления

| Показатель | Дефицит железа | Анемия воспаления |
|---|-------------------------|---------------------------|
| Содержание гемоглобина | Снижено | Снижено |
| Средний объем Эр | Снижен | Нормальный или снижен |
| Среднее содержание гемоглобина в эритроците | Резко снижено | Нормальное или сниженное |
| Содержание протопорфиринов в эритроцитах | Повышено | Повышено |
| Содержание железа в сыворотке крови | Снижено | Резко снижено |
| Общая железосвязывающая способность сыворотки крови | Повышена | Нормальная |
| Коэффициент насыщения трансферрина | Уменьшен | Нормальный |
| Содержание ферритина в сыворотке крови | Снижено | Нормальное или повышенное |
| Содержание рецептора трансферрина в сыворотке крови | Повышено | Нормальное |
| Содержание железа в макрофагах костного мозга | Снижено, иногда до нуля | Повышено |

хромная нормоцитарная, сменяющаяся гипохромной микроцитарной. При стабилизации воспалительного процесса указанные изменения сохраняются на том же уровне в течение ряда месяцев. При ликвидации основного процесса анемия исчезает.

При дифференциальной диагностике на этапе гипорегенераторной нормохромной нормоцитарной анемии следует исключить анемию, связанную с гемодилуцией, как это имеет место при выраженной спленомегалии, а также анемию при ХПН (см. раздел «Анемия при почечной недостаточности»). В случаях с гипорегенераторной гипохромной и(или) микроцитарной анемии следует исключить ЖДА. В табл. 16 представлены основные дифференциально-диагностические лабораторные тесты дефицита железа и «анемии воспаления».

Лечение препаратами железа, витамином В₁₂, фолиевой кислотой неэффективно, а порой даже вредно. Обычно «анемия воспаления» умеренно выражена, поэтому трансфузий эритроцитной массы не требуется.

При злокачественных новообразованиях использование рекомбинантного Эпо (150 ЕД/кг × 3 раза в неделю) уменьшает частоту применения гемотрансфузий.

ГЕМОХРОМАТОЗ И ГЕМОСИДЕРОЗ

Термин «гемохроматоз» был впервые предложен F. von Recklinghausen в 1889 г. Гемохроматоз — это аномальная аккумуляция железа в различных органах и системах организма, особенно в печени, сердце, поджелудочной железе и в других органах, приводящая к нарушению их функций. Термин «гемосидероз» применяют к состояниям, при которых наблюдается также избыточное накопление железа в различных органах, но при этом в отличие от гемохроматоза повреждения тканей этих органов и нарушения их функций не наблюдается.

Обычно термин «гемохроматоз» чаще используют для обозначения

НГ (син.—идиопатический гемохроматоз, первичный гемохроматоз, генетический гемохроматоз), который является HLA-связанным заболеванием, при котором отмечается аномальное увеличение абсорбции железа из кишечника и который следует отличать от приобретенного гемохроматоза, вызванного различными причинами (неэффективный эритропоэз, хронические заболевания печени, парентеральная перегрузка железом и др.).

В зависимости от этиологии и патогенеза избыточного накопления железа в организме В.Васон и соавт. (1996) предложили классификацию, в которую мы внесли некоторые дополнения.

Классификация

- I. Наследственные формы гемохроматоза.
 1. Наследственный (первичный) гемохроматоз.
 2. Наследственные не HFE формы гемохроматоза (синдром гиперферритинемии и катаракты, ювенильный гемохроматоз, наследственный перинатальный гемохроматоз, наследственная атрансферринемия, НГ, не связанный с мутациями в гене HFE).
- II. Вторичные накопления железа
 1. Неэффективный эритропоэз:
 - а) талассемия мажор;
 - б) сидеробластная анемия.
 2. Хронические заболевания печени:
 - а) алкогольный цирроз;
 - б) хронический вирусный гепатит;
 - в) постпортальная шунт;
 - г) ПКП.
- III. Парентеральная перегрузка организма железом.
 1. Трансфузионная перегрузка железом.
 2. Избыточное парентеральное введение железа.
- IV. Неонатальный гемохроматоз.
- V. Африканский тип перегрузки железом.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ГЕМОХРОМАТОЗА

Эти наследственные формы заболевания характеризуются аномально повышенной аккумуляцией железа в различных органах и системах. Среди наследственных форм наиболее распространенным является НГ (генетический, первичный), связанный с му-

тацией гена наследственного гемохроматоза (HFE). Однако описаны немногочисленные больные с гемохроматозом, болезнь которых также передается по наследству, но она не связана с мутацией гена HFE. К этой группе относятся больные с наследственным неHFE гемохроматозом, пациенты с синдромом гиперферритинемии и катаракты, ювенильным гемохроматозом, наследственным перинатальным гемохроматозом, наследственной атрансферринемией.

Наследственный (первичный) гемохроматоз. Эпидемиологические исследования показали, что НГ широко распространен во многих регионах земного шара. Особенно НГ распространен среди жителей Европы и США и встречается у 1 из 200—300 жителей, а в Северной Европе даже у 1 из 100 [Merryweather-Clatke et al., 2000]. Частота гена НГ составляет 5—7% [Bhavnani M. et al., 1998; Triboute B. et al., 1998]. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно, пенетрация возрастно-зависима, неполная [Barton J. et al., 1998; Rochette J. et al., 1998; Willis G. et al., 1998].

Ген НГ (HFE или HLA-H) был клонирован в 1996 г., и было установлено, что он расположен на коротком плече 6-й пары хромосом и связан с локусом HLA-A главного комплекса гистосовместимости [Gottschalk R. et al., 1997]. В связи с этим НГ ассоциируется со специфическими HLA-A и В-фенотипами: HLA-A3 встречается у 73% больных, HLA-B7 — у 47%, HLA-B14 — у 29%. При НГ наблюдается мутация гена в нуклеотиде 845HFE, итогом которой является замена цистеина на тирозин в аминокислоте 282 (C282Y); эта мутация гена встречается в среднем у 70—90% гомозиготов, однако с различной частотой у лиц, проживающих в различных странах. Так, в США эта мутация наблюдается у 85% больных с НГ, во Франции —

у 91%, в Италии — у 64%, в Греции — у 50%. Мутация гена HFE C282Y отсутствует у лиц всех этнических групп Центральной и Юго-Восточной Азии, Африки [Зборовский С.С. и др., 2001; Kohli M. et al., 1998; Levy J. et al., 1998; Papanikolaou G. et al., 1998]. Среди взрослых людей, проживающих в Северной Европе, 0,5% являются гомозиготами по мутации в гене HFE C282Y, но только у половины из них отмечаются признаки гемохроматоза [Olynyk J. et al., 1999].

Второй по частоте встречаемости является мутация, при которой имеет место замена гистидина на аспаргат в аминокислоте 63 (H63D). Однако клиническое значение этой мутации остается неясным, хотя отмечено, что некоторые гомозиготы C282Y и смешанные гетерозиготы C282Y/H63D подвержены риску аномального накопления железа в организме [Rochette J. et al., 1998; Sham R. et al., 1998]. Частота смешанных гетерозигот C282Y/H63D составляет 4% [Ellervic C. et al., 2000]. У некоторых больных обнаружена также мутация в гене HFE S65C, но ее частота и роль пока что не выяснены; заболевание у больных этой группы протекает в виде умеренной формы гемохроматоза [Muta C. et al., 1999; Sham R. et al., 2000]. Поэтому в диагностике НГ важное значение приобретает генетическое тестирование больных для определения наличия мутации C282Y в гене [Wydro R. et al., 1998].

Патогенез НГ связан с нарушением метаболизма — наблюдается аномальная регуляция абсорбции железа в проксимальной части тонкой кишки. Если у здоровых людей недостаток железа в организме приводит к усилению его абсорбции в тонкой кишке и, напротив, при избытке железа в организме абсорбция снижается, то при НГ, несмотря на высокое содержание железа в орга-

низме (в депо и плазме крови), абсорбция происходит на высоком уровне.

Как в физиологических, так и при патологических состояниях главным депонирующим органом железа является печень. При НГ железо первично депонируется в гепатоцитах, главным образом в перипортальных гепатоцитах (зона I Раппапорта) и в меньшей степени в периферальных гепатоцитах (зона 3). В последующем возникает фиброз, который может приводить к микронодулярному циррозу.

Механизмы, с помощью которых аккумулированное железо повреждает ткани печени, окончательно не выяснены. Экспериментальными исследованиями было установлено, что повреждение печени может быть связано с образующимися свободными радикалами, которые могут быть пусковым механизмом в процессе перекисного окисления фосфолипидов мембраны гепатоцитов с последующим развитием дисфункции митохондрий и лизосом [De Feo T. et al., 1998]. Было также установлено, что индуцированное железом окисление ДНК гепатоцитов может играть важную роль в карциногенезе печени. Эти цитотоксические эффекты железоиндуцированных свободных радикалов, по-видимому, угнетают защитные механизмы гепатоцитов — антиоксиданты, ферменты детоксикации и репаративных процессов, и конечным итогом всего этого является деструкция клеток печени. Возникающий фиброз печени, вероятно, связан с активацией звездчатых клеток печени, стимуляция которых может быть обусловлена как прямым, так и косвенным действием процесса перекисного окисления, индуцированного железом [Tung B. et al., 1999].

Клинические проявления НГ возникают обычно после 40—50-летнего возраста, и эта отсрочка в возник-

новении симптомов зависит от характера питания больного, приема алкоголя, кровопотерь и других факторов. Болезнь раньше проявляется у мужчин (в среднем в 53 года), чем у женщин (в 63 года), так как женщины экскретируют железо в период менструального цикла [Kohli M. et al., 1998]. Однако описаны больные моложе 30 лет и даже дети в одной семье в возрасте 6—13 лет с классической формой НГ [Haddy T. et al., 1988]. Поэтому важное значение приобретает ранняя диагностика заболевания для предупреждения развития развернутой клинической картины НГ.

Больные жалуются на повышенную утомляемость, сонливость, у некоторых наблюдаются артралгии (38%), боли в животе (25%), признаки импотенции и аменореи (25%). Мужчины чаще жалуются на слабость, импотенцию и артралгии [Adams P. et al., 1996].

При объективном обследовании на первый план выступают гепатомегалия (48%), пигментация кожи (40%) и при биопсии печени признаки цирроза (34%); реже наблюдаются артропатия и сахарный диабет (21%), атрофия яичек (12%). Относительно редко наблюдаются спленомегалия (8%), сердечная недостаточность (5%) [Edwards C. et al., 1993; Niederau C. et al., 1996].

При гематологическом обследовании больных с НГ выявляются более высокие эритроцитометрические параметры, чем у здоровых людей: содержание гемоглобина составляет в среднем 150 г/л, СКГЭ — 32,9 пг, ССГЭ — 339 г/л, средний объем Эр — 97,1 фл. Эти показатели более высокие у больных с мутацией гена HFE C282Y. У больных с мутантным белком HFE увеличено насыщение Тф железом, изменена аффинность ТфР с мутантным белком HFE, и оба эти механизма приводят к аномальному дивалентному транс-

порту железа в эритроидные клетки, последствием которых является увеличение эритроцитометрических показателей [Berton J. et al., 1998].

При подозрении на НГ следует исследовать сыворотку крови на содержание в ней железа и ферритина, общую железосвязывающую способность сыворотки крови. Считается, что увеличение коэффициента насыщения Тф у мужчин более 60%, а у женщин более 50% является чувствительным и специфичным тестом для идентификации асимптомных форм НГ, а содержание ферритина в сыворотке крови является менее специфичным тестом для НГ [Remacha A. et al., 1998]. Наличие резко выраженного увеличения содержания железа в сыворотке крови диктует необходимость биопсии печени для гистологического ее исследования на наличие железа и его количественного определения в гепатоцитах. Для НГ характерны наличие участков депозитов железа в перипортальных гепатоцитах и уменьшение содержания депонированного железа в периферических гепатоцитах. Проведение биопсии важно не только для установления диагноза, но и для прогноза — выявление признаков цирроза печени, гепатоцеллюлярной карциномы.

Определение концентрации депонированного железа в биоптате печени является одним из главных тестов в диагностике НГ. У гомозиготов содержание железа превышает 4000 мкг/г печеночной ткани. Для дифференциальной диагностики гомозиготов НГ от больных гетерозиготов или пациентов, страдающих хроническим алкоголизмом, хроническим вирусным гепатитом, большую ценность оказывает определение ИПЖ, который высчитывают путем деления содержания железа в печеночной ткани (в микромолях на 1 г сухого вещества) на возраст больного в годах. Вычисление этого индекса

основано на том, что у больных с НГ гомозиготов железо продолжает накапливаться в печени с возрастом, тогда как у гетерозиготов и у больных с другой этиологией накопления железа этого не происходит. Согласно многочисленным клиническим наблюдениям, у гомозиготов НГ ИПЖ больше 1,9, а при других причинах он меньше 1,9. Однако увеличение этого индекса (более 1,9) не является показательным при дифференциальной диагностике больных с НГ от больных с перегрузкой железом, вызванной парентеральным введением этого микроэлемента.

Не менее ценным диагностическим тестом является определение наличия мутации C282Y в гене HFE, которая отмечается у 82—100% больных с НГ. Определение наличия мутации H63D в гене HFE также имеет определенную ценность, хотя окончательно не установлено, может ли эта изолированная мутация быть причиной НГ. На схеме 8 представлен алгоритм диагностики и скрининга членов семьи, больных с НГ.

Для прогноза заболевания очень важно раннее определение болезни, в досимптомный период, так как чем позднее поставлен диагноз, тем более глубокие нарушения наблюдаются в различных органах и системах, тем хуже прогноз. Исходя из того, что болезнь наследуется аутосомно-рецессивно, в первую очередь необходимо обследовать сиблингов больного. У всех из них определяют концентрацию железа в сыворотке крови (по крайней мере дважды), при необходимости производят биопсию печени. Для пробандов сиблингов диагностически значимо типирование на HLA-A и HLA-B. Лица, у которых определяются HLA-A- и HLA-B-гаплотипы, относятся к группе риска по чрезмерной аккумуляции железа в организме. Если у сиблинга с пробандом НГ определяется только один гаплотип HLA-A или HLA-B,

то этих людей относят к так называемым мнимым гетерозиготам НГ. У таких людей отмечается умеренное увеличение содержания железа в сыворотке крови и в печени, и с возрастом содержание этого микроэлемента не увеличивается и не развиваются признаки гемохроматоза. Однако рекомендуется повторять эти тесты у указанных лиц каждые 2—3 года во избежание упущения прогрессивной аккумуляции железа в организме. Более точным методом диагностики болезни у «мнимых больных НГ» является определение наличия мутации C282Y в гене HFE, поскольку наличие мутации является более точным методом, чем определение HLA-гаплотипов [Tavill A., 1999].

При наличии гемохроматоза лечение должно быть комплексным. Главная задача терапии — предупреждение и уменьшение функциональных и органических поражений различных органов и систем, обусловленных избыточным накоплением в них железа. Это может быть достигнуто своевременной и ранней диагностикой НГ и назначением лечения, способствующей редукции железа в организме, поскольку на ранних этапах болезни изменения в печени и сахарный диабет являются обратимыми осложнениями НГ. Однако при уже возникших этих осложнениях назначение ферроредукционной терапии не улучшает функцию печени и поджелудочной железы. Хотя отмечено, что если у больных имеется фиброз печени, но нет выраженных признаков цирроза, то кровопускания могут уменьшить фиброз. Если у больных имеется цирроз печени, то мало вероятно, что эксфузии крови уменьшат его, и риск развития гепатоцеллюлярной карциномы увеличивается в 200 раз по сравнению с больными, у которых нет цирроза печени вследствие перегрузки ее железом.

Для лечения гемохроматоза используют два метода: эксфузии крови

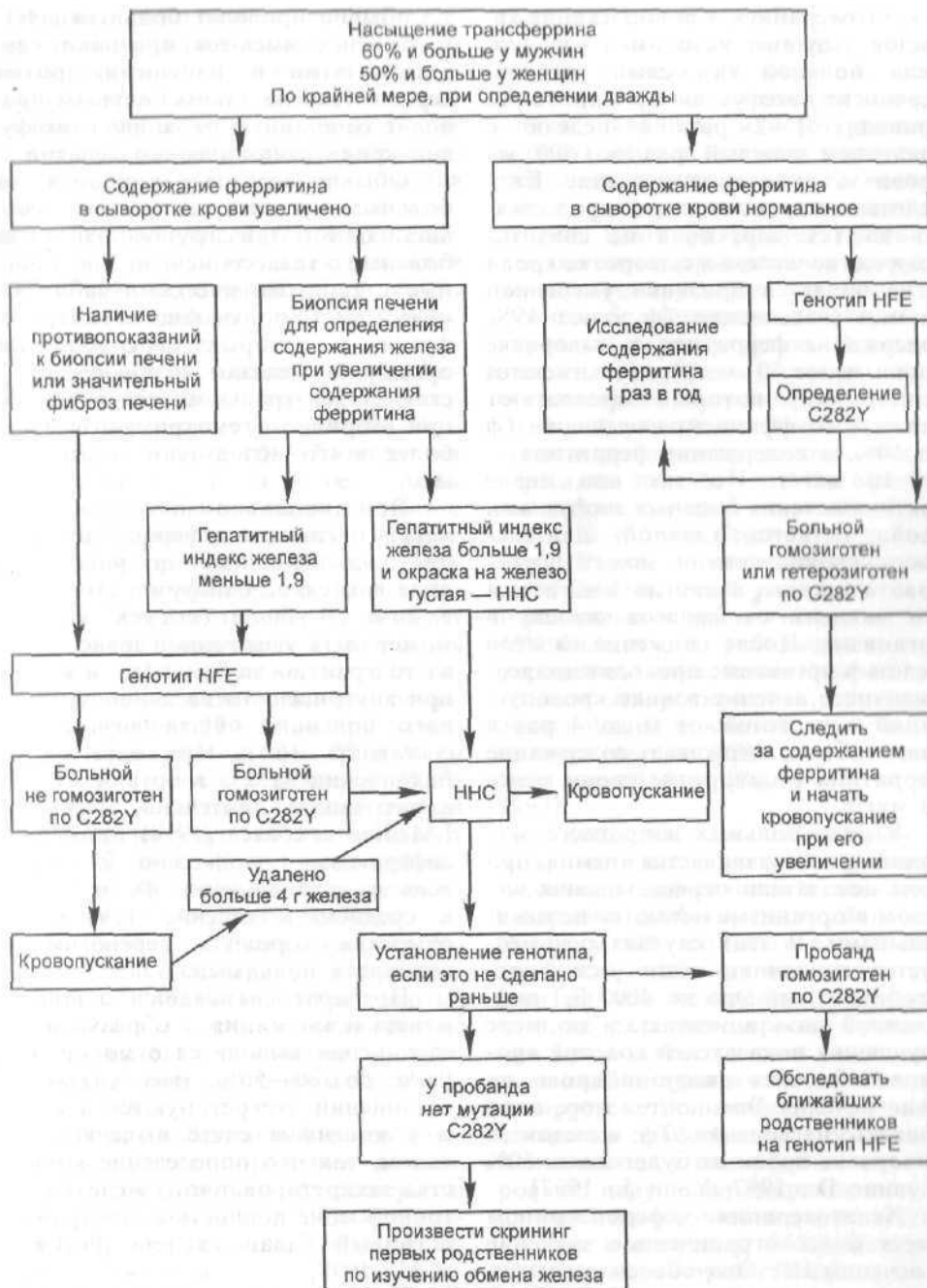


Схема 8. АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ И СКРИННИНГА ЧЛЕНОВ СЕМЬИ БОЛЬНЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ ГЕМОХРОМАТОЗОМ (по V.Tung и T.Kowdley, 1998).

и хелатотерапию. Кровопускание является ведущим методом в лечении. Если больной (взрослый) хорошо переносит эксфузию крови, то ее проводят 1—2 раза в неделю с удалением каждый раз до 500 мл крови за одно кровопускание. Еже-недельные кровопускания продолжают до тех пор, пока не снизится количество железа в сыворотке крови и не появятся признаки умеренной анемии (насыщение Тф менее 45%, содержание ферритина в сыворотке крови менее 50 мкг/л), хотя имеются сторонники, которые предлагают снижать коэффициент насыщения Тф до 10%, а содержание ферритина — до 10 мкг/л. Но так или иначе тактика лечения больных эксфузиями крови остается главной; длительность кровопусканий может потребовать месяцы, а иногда 1—2 лет, и это зависит от запасов железа в организме. После снижения запасов железа в организме проводят поддерживающее лечение в виде кровопусканий с частотой от 0 до 4 раз в год, чтобы поддерживать содержание ферритина в сыворотке крови менее 50 мкг/л.

У ряда больных в процессе эксфузий крови развивается анемия, при этом показатели перенасыщения железом в организме остаются положительными. В этих случаях рекомендуется назначить человеческий рекомбинантный Эпо по 4000 ЕД подкожно 3 раза в неделю, и по мере улучшения показателей красной крови возобновить эксфузии крови на фоне лечения Эпо до тех пор, пока уровень насыщения Тф железом в сыворотке крови не будет менее 50% [Kempe D., 1997; Yoon J., 1997].

Хелатотерапия дефероксаминном имеет более ограниченное значение в лечении НГ. Это объясняется тем, что при ее назначении удаляется значительно меньше железа из организма, чем при кровопускании — около 100 мг/нед (в 10 раз меньше).

Ее обычно проводят больным с НГ, у которых имеются признаки кардиомиопатии и нарушения ритма сердца. Иногда таким больным проводят сочетанную терапию — эксфузии крови с назначением хелатов.

Обычно хелатотерапия показана больным, у которых имеет место анемия. К этой группе относятся больные с талассемией, многие больные с гематологическими заболеваниями, часто получающие гемотрансфузии, у которых перенасыщение организма железом возникло вследствие парентерального его введения, при вторичном гемохроматозе. Наиболее часто используют дефероксамин.

При аномальном накоплении железа в организме дефероксамин вводят подкожно или внутривенно в виде длительных инфузий (10—12 ч) в дозе 20—50 мг/(кг·сут), которая может быть увеличена в зависимости от толерантности больного, и за 24 ч при внутривенном введении у взрослого больного общая доза может составлять 16 г. При избыточном накоплении железа в организме препарат вводят длительно, месяцами. I. Medini и соавт. (1998) применяли дефероксамин подкожно 2 раза в день со средней дозой 48 мг/(кг·сут) в среднем в течение 11½ мес и отмечали хорошую переносимость препарата больными.

Препарат связывается с ионами железа и алюминия, а образующиеся соединения выводятся с мочой. Однако до 30—50% этих связанных соединений экскретируются в желчь и в конечном счете выделяются с калом, так что определение количества экскретированного железа в суточной моче полностью не отражает истинный баланс железа [Porter J. et al., 1998].

Известно, что аскорбиновая кислота увеличивает хелатотерапевтическое действие дефероксамин. Однако, тем не менее, рекомендуется не

назначать ее по двум причинам: 1) может быть усиление кардиотоксичности и 2) витамин С увеличивает абсорбцию железа в кишечнике. Поэтому рекомендуется воздержаться от дополнительного назначения витамина С до тех пор, пока не будет скорректирована аномалия сердца, и лишь после этого аскорбиновую кислоту можно назначать в дозе, не превышающей 200 мг/сут, после приема пищи, чтобы снизить ее действие на абсорбцию негемового железа.

Имеются наблюдения о применении деферипрона (Deferiprone) — хелатора, принимаемого *per os*. Его назначают в дозе 40—120 мг/кг *per os* в течение 3 мес и более. A. Addis и соавт. (1997), суммируя данные о его применении у больных с перенасыщением организма железом, пришли к заключению, что после курсового лечения препарат снижает содержание ферритина в сыворотке крови на 23,5% от исходного; суточная экскреция железа с мочой составляет в среднем 28,8 мг, и при назначении препарата в дозе 75 мг/кг и более в течение 8½ мес у 51,8% больных наступил отрицательный баланс железа. Однако, как отмечают В. Tung и соавт. (1999), хотя деферипрон и эффективен при лечении больных с перегрузкой железом, тем не менее он вызывает тяжелые побочные реакции (агранулоцитоз, артропатии, появление антител, смерть), вызывает удаление из организма не только железа, но и цинка, и меди, ингибирует металлоэнзимы [Grady R. et al., 1998].

К числу осложнений гемохроматоза относятся поражения печени, сердца, поджелудочной железы и других эндокринных желез, артропатия, пигментация кожи, инфекционные осложнения.

Избыточное отложение железа в гепатоцитах может продолжаться в течение длительного времени, никак не проявляясь клинически. Поэтому

важное значение приобретает ранняя диагностика гемохроматоза, до появления гепато- и спленомегалии. Прогноз болезни во многом определяется наличием или отсутствием цирроза печени, так что раннее лечение эксфузиями крови, до наступления цирротических изменений в печени, благоприятствует прогнозу. Тем не менее при наличии цирроза печени кровопускания показаны, так как они благоприятно действуют на портальную гипертензию. В последние годы прогноз гемохроматоза, осложненного циррозом печени, значительно улучшился благодаря внедрению в практику ортотопической пересадки печени — у 54% больных длительность жизни составляет 1 год, а у 43% — 5 лет. Поскольку у больных НГ имеется риск возникновения гепатоцеллюлярной карциномы, которая является причиной смерти 30—45% больных, то у больных следует определять содержания α -фетопропина в сыворотке крови, проводить обследование брюшной полости, используя методы УЗИ и компьютерной томографии [Signori E. et al., 1997].

Другим частым осложнением гемохроматоза является поражение поджелудочной железы с развитием сахарного диабета, который наблюдается у 70% больных с циррозом печени и у 10% при его отсутствии. При раннем выявлении гемохроматоза, до развития цирроза печени, и при правильном лечении гемохроматоза диабет практически полностью санивируется. В патогенезе развития сахарного диабета играет роль отложение железа в панкреатических островках, нарушение клиренса инсулина печенью в сочетании с резистентностью к инсулину. Механизм развития инсулинорезистентных форм сахарного диабета остается неясным [Tung B. et al., 1999].

Лечение сахарного диабета традиционное. Эксфузии крови не при-

водят к обратному развитию инсулинзависимого диабета, но у $1/3$ больных они могут привести к уменьшению дозы вводимого инсулина. Под влиянием кровопусканий инсулинонезависимый диабет обычно стабилизируется, может в некоторой степени регрессировать; однако если процесс гемохроматоза с вовлечением панкреатических островков возник до начала лечения кровопусканиями, то у некоторых больных инсулинзависимый диабет может перейти в инсулинзависимый. Как и у больных без гемохроматоза диабет может приводить к осложнениям — сосудистым заболеваниям, ретинопатии, нефропатии, нейропатии.

При гемохроматозе часто поражаются и другие эндокринные железы. У больных нередко отмечаются признаки импотенции и аменореи, связанные со вторичным гипогонадизмом. У мужчин содержание тестостерона в сыворотке крови снижено, может отмечаться атрофия яичек. Снижено также содержание ЛГ и ФСГ гормонов. При гистологическом исследовании эндокринных желез обнаруживается значительное отложение железа в передней доле гипофиза, особенно в гонадотропных клетках, и относительно меньше депонированного железа в тиреотропных, кортикотропных и соматотропных клетках. Степень атрофии яичек выражена в различной степени у разных больных, типично отсутствие сперматозоидов, уменьшение числа гландулоцитов яичка; значительное отложение железа в тканях яичек отмечается редко. Эксфузии крови не нормализуют содержание тестостерона, ЛГ и ФСГ в сыворотке крови. Иногда может отмечаться положительная динамика при назначении тестостерона внутримышечно.

Клинические проявления гипотиреозидизма и недостаточности надпочечников крайне редки и обусловлены вовлечением в процесс гипофиза, хотя может отмечаться отложение

железа в этих эндокринных железах [Tung B. et al., 1999].

Серьезным осложнением как наследственного, так и вторичного гемохроматоза является поражение сердца, особенно у лиц молодого возраста с развитием сердечной недостаточности, которая является одной из главных причин смерти больного. Вследствие перегрузки железом организма усиливается перекисное окисление мембран миоцитов и нарушается активность респираторных ферментов митохондрий клеток, наблюдается аномальное распределение K^+ и Na^+ в клетках миокарда. Все это способствует возникновению нарушений ритма сердца и его сократительной способности [Hershko C. et al., 1997; Kuryshv Y. et al., 1997]. При гистологическом исследовании тканей сердца установлено, что большая часть железа аккумулирована в саркоплазме, а не в интерстиции миокарда, указывая на то, что в основе заболевания лежит накопительный процесс. Более выраженные депозиты железа определяются в ткани желудочков, в меньшей степени — в миокарде предсердий и в незначительном количестве — в клетках соединительной ткани [Gal M. et al., 1998]. Аккумуляция железа первоначально приводит к утолщению стенки левого желудочка, и в случае прогрессирования процесса это приводит к дилатационной кардиомиопатии с уменьшением фракции изгнания. Изменения на ЭКГ обнаруживаются у 30% больных в виде снижения вольтажа или же неспецифических изменений сегмента ST и зубца T. Клинически у больных могут наблюдаться аритмии, чаще это предсердные тахикардии и реже — желудочковая тахикардия.

Лечение гемохроматоза эксфузиями крови улучшает структуру и функцию сердца, при этом более значительная положительная дина-

мика наблюдается у тех больных, которым лечение, направленное на снижение содержания железа в организме, проводилось до развития кардиомиопатии — уменьшаются левый желудочек и толщина его стенок, увеличивается фракция изгнания, снижается риск развития сердечной недостаточности и сердечных аритмий, улучшаются показатели ЭКГ [Hershko C. et al., 1997, 1998]. Однако некоторым больным эксфузии крови противопоказаны по ряду причин. Таким больным назначают дефероксамин один раз в день подкожно, капельно по 50 мг/кг в течение 8 ч либо 2 раза в день по 25 мг/кг с подкожной инфузией препарата в течение 15—45 мин. При обоих режимах введения препарата экскретлируемое количество железа с мочой одинаково и составляет в среднем 0,21 мг/(кг·сут) [Porter J. et al., 1998; Breuer W. et al., 2001].

Приблизительно у каждого пятого больного течение гемохроматоза осложняется артропатией, которая влияет на качество жизни пациента. Типичным является остеоартритоподобная дегенерация мелких суставов кистей и стоп, хотя возможно поражение суставов запястья, коленных и бедренных, при этом может быть симметричное поражение. Гистологически отмечаются депозиты железа в синовиальных клетках, приводящих к усилению пролиферации хондроцитов, развитию фиброза. На поверхности эрозированного хряща происходит отложение железа, стимулирующего аккумуляцию кристаллов пирофосфата кальция. Для лечения артропатии используют те же средства, что и при терапии дегенеративных остеоартритов — нестероидные противовоспалительные препараты, а если они не помогают, то иногда прибегают к хирургической артропластике [Tung V. et al., 1999].

Осложнением гемохроматоза является и пигментация кожи, более

выраженная на открытых ее участках, а также возможна пигментация мембран видимой слизистой оболочки. Типичная бронзовая болезнь практически исчезла, поскольку улучшилась диагностика гемохроматоза и разработаны эффективные методы лечения. Гистологически в пораженных участках кожи наблюдается отложение меланина в базальной части эпидермиса. Патогенез этого явления полностью не ясен, но установлено наличие прямой и косвенной стимуляции меланоцитов. После кровопусканий пигментация кожи значительно уменьшается.

Не менее серьезным осложнением перегрузки железом организма являются инфекционные заболевания. У больных повышена заболеваемость бактериальными инфекциями. Это связано с тем, что для своей жизнедеятельности и размножения бактерии нуждаются в железе, которое они находят в избыточном количестве в организме больного с гемохроматозом. У больных снижена фагоцитарная активность мононуклеарных фагоцитов. Могут развиваться септицемия с абсцессами в печени, вызванными *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes*. Часто у больных обнаруживаются положительные тесты на наличие хронического вирусного гепатита, HbsAg и анти-HCV. Лечение больных кровопусканиями, пересадками печени снижают частоту инфекционных осложнений [Lejeune M. et al., 1997].

Прогноз болезни при НГ в настоящее время относительно благоприятный, если:

- 1) диагноз поставлен рано, до развития цирроза печени;
- 2) правильно назначено лечение (кровопускание, хелатотерапия, пересадка печени).

Наследственные не НФЕ формы гемохроматоза и гиперферритинемии. Гемохроматоз и гиперферритинемия

могут наблюдаться при ряде состояний, при которых отсутствует мутация гена HFE, и в то же время наблюдается наследственный характер этих заболеваний.

К этой группе болезней относятся НГ, не связанный с мутациями в гене HFE, синдром гиперферритинемии с ранним развитием катаракты, ювенильный гемохроматоз, наследственный перинатальный гемохроматоз и наследственная атрансферринемия.

Наследственный гемохроматоз, не связанный с мутациями в гене HFE. С.С. Camaschella и соавт. (1998) описали 14 больных из 7 неродственных семей, у которых отмечалось раннее развитие гемохроматоза и последний не был связан с мутацией в гене HFE. R. Sham и соавт. (1997) считают, что у таких больных в патологический процесс вовлечены другие гены, пока что не идентифицированные. Большинство из этих больных не являлись выходцами из Северной Европы, и у них распределение железа в плазме крови, гепатоцитах и клетках СМФ отличалось от классического НГ.

A. Pietrangelo и соавт. (1999) описали семью, в которой у 15 был атипичный гемохроматоз с аутосомно-доминантным типом наследования при отсутствии мутации в гене HFE. У больных из этой семьи отмечались перегрузка организма железом, фиброз печени, диабет, аритмии и импотенция. В отличие от классического типа НГ у таких больных наблюдалось раннее начало аккумуляции железа в клетках СМФ, выраженная ферритинемия до насыщения Tf железом. Это заставило авторов предположить, что у больных имеется дефект рециклизации железа Эр через клетки СМФ. Было выяснено, что у таких больных отмечалась мутация гена SLC11A3, который контролирует синтез белка ферропортина 1 (IREG 1, MTP1).

Идентифицированная мутация (A77D), возможно, связана с функцией ферропортина 1 [Montosi G. et al., 2001].

Ферропортин — это трансмембранный белок, который переносит железо из клеток. Он экспрессирован на ряде клеток, играющих роль в метаболизме железа — энтероцитах двенадцатиперстной кишки, гепатоцитах, макрофагах [Donovan A. et al., 2000]. Белок участвует в трансплацентарной передаче железа, в абсорбции этого микроэлемента в кишечнике, освобождает железо из гепатоцитов и клеток СМФ. Ген ферропортина расположен на 2-й паре хромосом (2q32) [McKie N. et al., 2000].

O. Njajon и соавт. (2001) описали семью с аналогичными клинико-биохимическими проявлениями аутосомно-доминантного гемохроматоза, но с другой мутацией в том же гене (N144H). Авторы считают, что накопление железа в организме у этих больных, по-видимому, связано с повышением активности ферропортина.

Исходя из того, что ферропортин 1 играет ключевую роль в двух различных аспектах гомеостаза железа — в увеличении абсорбции микроэлемента энтероцитами и в выделении запасов железа из клеток СМФ, можно полагать, что мутации гена ферропортина вызывают увеличение абсорбции железа в кишечнике. Увеличение экспрессии ферропортина 1 в дуоденальных энтероцитах при классическом НГ способствует накоплению железа.

При НГ, не связанном с мутациями в гене HFE, первопричиной накопления железа в организме более вероятно являются обе мутации в гене ферропортина 1, которые приводят к гипофункции ферропортина 1 в клетках СМФ.

Если при классическом типе НГ повышенная абсорбция пищевого же-

леза приводит к накоплению микроэлемента в гепатоцитах, а затем в клетках СМФ, то при мутации A77D в гене ферропортина 1 накопление железа происходит раньше и преимущественно в клетках СМФ [Fleming R. et al., 2001]. Недостаточность ферропортина 1 снижает абсорбцию пищевого железа и выделение микроэлемента из клеток СМФ. Этим объясняется то, что у больных насыщение Тф снижено, у них развивается анемия и больные очень чувствительны к кровопусканиям (рано появляется анемия). Если происходит мутация обоих аллелей ферропортина у эмбриона, то они погибают, так как нарушается транспорт железа из желточного мешка [Donovan A. et al., 2000].

J.Kato и соавт. (2001) описали больных из одной семьи, у которых отмечался доминантный тип наследования не НFE НГ. У больных имела место мутация в участке IRE мРНК H-субъединицы.

Также описаны больные с не НFE гемохроматозом, у которых наблюдалась мутация (Y250X) в гене ТФР 2 (TFR2 или НFE3), который располагается на 7-й паре хромосом (7q22) [Kato J. et al., 2001]. Этот ген контролирует синтез белка, тесно связанного с ТфР [Camaschella C. et al., 2000; Roetto A. et al., 2001]. Однако функция TFR2 и какова роль этой мутации в возникновении гемохроматоза окончательно не выяснена.

Поскольку в целом группа НГ, связанная с мутациями генов НFE и не НFE, не объясняет причину развития НГ у всех больных, то можно полагать, что мутации других генов могут вызвать гемохроматоз у значительной части коренных жителей Южной Европы [Cassanelli S. et al., 2001].

Лечение этих форм гемохроматоза такое же, как при первичном гемохроматозе.

Наследственная гиперферритинемия с ранним развитием катаракты. Этот синдром впервые описан D.Girelli и соавт. в 1995 г. Впоследствии его описали и другие авторы в разных странах (Италии, Франции, США, Соединенном Королевстве, Германии) [Beaumont C. et al., 1995; Aguillar-Martinez P. et al., 1996; Martin M. et al., 1998, и др.]. К 1998 г. описаны 9 больных из различных семей.

Синдром является наследственным, передается аутосомно-доминантно. Характерным его признаком является высокий уровень ферритина в сыворотке крови и раннее появление двусторонней катаракты без других симптомов. Гиперферритинемия не связана с перегрузкой организма железом, и она персистирует даже при наличии ЖДА после эсфузий крови.

В основе заболевания лежит мутация IRE в гене L-ферритина. Описаны 7 различных мутаций в этом гене, расположенном на 19-й паре хромосом (19q13.3—13.4). Наблюдаемые мутации в гене L-ферритина являются вторичными, вызывая изменения структуры IRE. Это приводит к снижению сродства IRP (Iron Responsive Protein), способности его связываться с IRE, вследствие чего происходит повышенный синтез L-ферритина [Arosio C. et al., 1998; Mumford A. et al., 1998]. L-ферритин аккумулируется во многих клетках организма в виде не функционирующей L-цепочки, в том числе и в хрусталике. Возникновение катаракты является следствием нарушения равновесия между водорастворимыми белками (кристаллинами) и оксидантными свойствами тканей [Levi S. et al., 1998].

У больных отмечается нормальное содержание железа в сыворотке крови при незначительном снижении общей железосвязывающей ее способности. Содержание ферритина в сыворотке крови и в различных тканях увеличено в 5—20 раз. Функ-

циональные пробы печени и данные ее биопсии нормальные.

Лечение проводят эксфузиями крови.

Ювенильный гемохроматоз. Несколько в стороне от указанных выше состояний стоит так называемый ювенильный гемохроматоз — редкое генетическое заболевание с клиническими признаками гемохроматоза, но с более тяжелой клинической течением, ранним появлением симптомов болезни. В отличие от НГ, при котором на первый план выступают признаки поражения печени, при ювенильном гемохроматозе поражаются в основном сердце и эндокринные железы. До настоящего времени нет единой точки зрения в отношении этого заболевания: является ли оно более тяжелой формой взрослой формы НГ или же оно обусловлено другими генетическими нарушениями.

При этом заболевании часто наблюдается родственный брак у родителей больного. Возраст больных к моменту появления симптомов болезни составляет 15—30 лет. Приблизительно у половины больных отмечаются признаки сердечной недостаточности, у женщин — вторичная аменорея; при биопсии печени обнаруживаются признаки фиброза-цирроза.

У всех больных насыщение Тф в сыровотке крови составляет более 75%, а содержание ферритина — 615—4585 мкг/л. У родителей, братьев и сестер больных параметры трансферрина и ферритина — в пределах нормы. У всех больных отсутствуют мутации в гене HFE (C282Y и H63D), болезнь не связана с участком хромосом бр, в котором находится ген HFE. Причина заболевания окончательно не выяснена [Carnaschlla C. et al., 1998]. При наличии у юношей сердечной миопатии, гипогонадизма, аменореи, потери либидо, сахарного диабета и других

эндокринных нарушений, цирроза печени, артритов, наличия у родителей и ближайших родственников НГ и признаков аккумуляции железа неизвестной этиологии следует исключить у этой группы больных признаки гемохроматоза.

Прогноз заболевания неблагоприятный, болезнь характеризуется торпидным течением, рано развиваются симптомы сердечной недостаточности и признаки цирроза печени, нередко в течение одного года с момента установления диагноза, приводящего к летальному исходу.

Для лечения используют хелатотерапию и эксфузии крови.

ГЕМОХРОМАТОЗ НОВОРОЖДЕННЫХ

Гемохроматоз новорожденных включает в себя различные группы заболеваний, различающиеся и по этиологии, и по морфологическим характеристикам пораженных органов. Для этого синдрома характерны задержка развития ребенка, прогрессирование заболевания, приводящего к летальному исходу в течение ближайших дней или недель.

Для гемохроматоза новорожденных характерна аккумуляция железа в паренхиматозных органах в виде гемосидерина, приводящая к нарушению структуры и функции этих органов. Относительно реже избыточное накопление железа отмечается в паренхиматозных клетках эндокринных желез (поджелудочной железе, надпочечниках, щитовидной железе). Морфологические изменения в тканях органов и систем напоминают таковые при НГ у взрослых — фиброз печени с массивной аккумуляцией железа в виде гемосидерина в паренхиме печени, избыточное количество железа в тканях сердца, эндокринных желез, почек и др.

Гемохроматоз новорожденных может быть наследственного харак-

тера, но может также наблюдаться при различных заболеваниях: атрезии желчных путей, врожденных заболеваниях сердца, гепатоме, массивном некрозе печени, наследственной тирозинемии, синдромах Reye, Apert, цереброгепаторенальном, Zellweger, Beckwith, Wardenburg, трисомии 18, некротизирующем энтероколите, вирусной пневмонии, ЦМВ-инфекции и др. Таким образом, этиологические причины неонатального гемохроматоза разнообразны, но патогенез его развития остается неясным.

При лечении гемохроматоза новорожденных на первый план выступает терапия основного заболевания с одновременным назначением хелатотерапии. К сожалению, прогноз плохой, как правило, смерть ребенка наступает в ближайшие дни или недели после установления диагноза (критерии те же, что и при диагностике НГ).

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ПЕРИНАТАЛЬНЫЙ (НЕОНАТАЛЬНЫЙ) ГЕМОХРОМАТОЗ

Наследственный перинатальный гемохроматоз (неонатальная болезнь накопления железа) — это болезнь, фенотипически сходная с НГ, наследуется аутосомно-рецессивно или аутосомно-доминантно с различной пенетрацией. При данном заболевании наблюдаются депозиты железа в печени и в других органах (сердце, поджелудочная, щитовидная и другие эндокринные железы). Болезнь может проявляться у плода 31 нед гестации и приводить либо к смерти ребенка внутриутробно, либо к рождению ребенка с тяжелой печеночной недостаточностью, приводящей к летальному исходу в периоде новорожденности.

Впервые болезнь была описана в 1957 г. H. Cotier, и к настоящему времени описаны около 100 случаев. Обычно заболевание проявляется в

периоде новорожденности, однако первые симптомы могут появиться позднее, через несколько недель. Поражаются мальчики и девочки, более половины детей рождаются недоношенными. Беременность может осложниться задержкой внутриутробного развития плода, поли- или олигогидроамнионом, отеком плаценты [Siguardsson L. et al., 1998].

Клинически к моменту рождения у ребенка отмечаются признаки задержки психомоторного и физического развития, иногда анасарка, дыхательная недостаточность с явлениями гипоксии, часто геморрагический синдром. Наблюдаются симптомы тяжелой печеночной недостаточности с признаками нарушения системы гемостаза, нередко гипогликемия, анемия с эритробластозом, тромбоцитопенией [de Boissieu D. et al., 1990]. Если к моменту рождения ребенка отсутствуют билирубинемия и асцит, то они вскоре появляются [Leonard J. et al., 2000].

Дебют перинатального гемохроматоза обычно возникает внутриутробно. Болезнь может привести либо к гибели плода внутриутробно, либо к рождению ребенка с типичными признаками гемохроматоза с торпидным течением болезни: быстро развиваются асцит, анурия, ацидоз, геморрагический синдром, прогрессирующая летаргия. Снижение синтетической функции печени объясняют коагулопатию, гипофибриногемию и гипоальбуминемию. Последняя приводит к снижению онкотического давления, объема крови, олигурии [Knisely A., 1992]. Вследствие развития отеков и асцита могут развиваться анемия, сердечная недостаточность, портальная гипертензия. Низкие значения активности аминотрансфераз и гипогликемия являются вторичными, обусловлены истощением запасов гликогена.

Патогенез анемии, вероятно, многофакторный и связан с уменьшением

интенсивности эритропоэза в печени, приобретенными дефектами мембраны Эр, гипотрансферринемией и уменьшением содержания Эпо вследствие снижения синтетической функции печени [Murphy K. et al., 2001].

Для диагностики гемохроматоза новорожденных используются те же тесты, что и при верификации НГ у взрослых (семейный анамнез, биопсия печени, определение в сыворотке крови содержания ферритина, Тф и др.). При биопсии печени и на аутопсии гистологически отмечаются нодулярный цирроз и тяжелый холестаза, фиброз. Центральные вены склерозированы, стенки венул утолщены, просвет сосудов сужен. Выражен сидероз клеток. Внутри тубулярных гепатоцитов определяется гемосидерин. Выявляются признаки экстрамедуллярного эритропоэза. Содержание железа в ткани печени колеблется от 240 до 38 200 мкг/г сухого вещества (в норме 250 мкг) [Knisely A., 1992].

Исход болезни практически всегда смертельный, так как большинство больных умирают до распознавания болезни, установления диагноза.

Общепринятые методы лечения гемохроматоза малоуспешны; единственным радикальным методом лечения является пересадка печени [Lund D. et al., 1993; Egawa H. et al., 1996; Sigurdsson L. et al., 1998].

НАСЛЕДСТВЕННАЯ АТРАНСФЕРРИНЕМИЯ

Наследственная атрансферринемия является редким генетическим заболеванием, передающимся ауто-сомно-рецессивно. По-видимому, термин «атрансферринемия» не совсем удачен, поскольку у больных иммунологическими методами, как правило, удается обнаружить небольшое количество Тф и у всех больных

определяется незначительное количество ненасыщенного Тф.

Первое наблюдение атрансферринемии описано в 1961 г. L. Heilmeyer и соавт. у девочки, у которой наблюдалась тяжелая гипохромная анемия в сочетании с избыточным накоплением железа в организме. С тех пор описаны 9 больных в 8 семьях различных стран (Германия, Япония, Самоа, США, Мексика, и др.). Молекулярная основа атрансферринемии не выяснена. E. Beutler и соавт. (2000) провели молекулярный анализ у одного больного и установили, что у него имела место мутация в гене Тф. При врожденной атрансферринемии абсорбция железа увеличена, отмечается ускоренный клиренс железа из плазмы крови, уменьшено включение железа в Нб (7—55% при норме 30—100%), и несмотря на гипо- и атрансферринемиию резко увеличен пул хранения железа в печени при низком содержании железа в сыворотке крови, резко уменьшено освобождение железа в костном мозге и синтез Нб.

С младенческого возраста у ребенка отмечается гипохромная микроцитарная анемия, связанная с неадекватным обеспечением клеток эритроидного ростка железом, т. е. наблюдается парадоксальная ситуация: отсутствие (малое количество) Тф не обеспечивает костный мозг достаточным количеством железа для синтеза гемоглобина и в то же время избыточное количество этого микроэлемента в значительном количестве транспортируется в печень, в большей степени, чем это наблюдается при нормальном содержании Тф. Вероятно, это связано с тем, что клетки печени очень эффективно аккумулируют железо, не связанное с Тф [Harford J. et al., 1994].

Клинически и гематологически наблюдаются, с одной стороны, признаки ЖДА, а с другой — гемосидероза. Число лейкоцитов и лейкоци-

тарная формула нормальные. Печень и селезенка увеличены, но признаков цирроза печени и гиперпигментации кожи не наблюдается [Bernstein S., 1987]. Для больных характерна склонность к инфекционным заболеваниям, возможно развитие артропатии с сидерозом синовиальных оболочек.

Из 9 больных двое умерли в возрасте 7 лет от рефрактерной сердечной недостаточности. На аутопсии — выраженные признаки гемосидероза и фиброза печени, поджелудочной железы, миокарда, почек.

Однако следует помнить о том, что гипо- и атрансферринемия с гипохромной микроцитарной анемией и гемосидерозом может быть не только генетически обусловленной, но и приобретенной. Подобные состояния могут наблюдаться при циррозе печени, нефротическом синдроме, новообразованиях, хронических инфекциях и других состояниях [Morata G. et al., 1982; Huebers H. et al., 1984].

Для лечения вводят плазму крови или очищенный Тф. Уже через 10—14 дней у больных наблюдается ретикулоцитоз, а затем увеличение содержания Нв. Внутривенное введение апотрансферрина проводят по 1—2 г в течение 4—7 дней каждые 3—4 мес [Schwick H., 1977].

При развитии гемосидероза используют хелатотерапию [Dorantes-Mesa S. et al., 1986].

НЕНАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ АККУМУЛЯЦИИ ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ

Повышенная аккумуляция железа в организме наблюдается при ряде состояний, сопряженных с использованием длительных, многократных и массивных гемотрансфузий, при ТКМ, алкоголизме (алкоголь увели-

чивает абсорбцию и отложение железа в 1,5 раза), ПКП, хроническом гемодиализе и др. Так, введение 1 г гемоглобина вызывает увеличение содержания железа в организме на 3,3 мг; одна единица эритроцитарной массы содержит около 200 мг железа. При гемодиализе у 41% больных содержание ферритина в сыворотке крови превышает 2000 мкг/л [Nakim R. et al., 1987], при этом наблюдается выраженный гемосидероз в печени и, что парадоксально, в костном мозге содержание железа снижено либо этот микроэлемент отсутствует [Holland K. et al., 1989].

Больные, получающие 60—100 гемотрансфузий по поводу хронической анемии (АА, рефрактерная анемия, ХПН и др.), являются группой высокого риска развития гемохроматоза в паренхиматозных органах. Ранние признаки гемосидероза печени, эндокринных желез, аритмии сердца наблюдаются при содержании 10 г железа в организме, а признаки сердечной недостаточности — при 75—100 г.

В отличие от НГ при перечисленных выше состояниях первичная аккумуляция железа происходит в клетках СМФ, а не в гепатоцитах. Однако с течением времени при продолжающейся перегрузке организма железом последнее откладывается в тех же органах и системах, как и при НГ (печень, сердце и т. д.), и это особенно наглядно подтверждается у больных с талассемией [Tung B. et al., 1999]. Поэтому при этих состояниях следует исследовать обмен железа, а при массивных и длительных гемотрансфузиях необходимо использовать хелатотерапию для предотвращения появления нежелательных осложнений от гемохроматоза; содержание ферритина в сыворотке крови желательно поддерживать в пределах 500—1000 нг/л [Jackson H. et al., 1997; Medin I. et al., 1998; Tomas J. et al., 1997].

АФРИКАНСКИЙ ТИП ПЕРЕГРУЗКИ ОРГАНИЗМА ЖЕЛЕЗОМ

Африканский тип перегрузки организма железом часто наблюдается у чернокожих жителей Южной Африки. Они потребляют большое количество пива, приготовленного из маиса. Считают, что увеличение де-

понирования железа в организме у этих лиц связано с повышенной абсорбцией микроэлемента, которое усваивается в виде форм, уже подготовленных для абсорбции. Такую форму железа содержит пиво, приготовленное из маиса, так как из последнего в процессе брожения происходит выделение в напиток железа в форме, сравнимой с растворами неорганических солей железа.

АНЕМИЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

По данным В.П.Бисяриной и Л.М.Казаковой, у 59% недоношенных детей отмечается анемия. У них выделяют раннюю и позднюю анемию. Раннюю анемию иногда называют «физиологической» анемией недоношенных детей. Поздняя анемия имеет все клиничко-гематологические черты, свойственные ЖДА, ее патогенез, лечение и профилактика такие же, как при ЖДА доношенных детей, поэтому в данном разделе она не разбирается, мы остановимся лишь на ранней анемии недоношенных детей.

Этиология и патогенез ранней анемии во многом определяются физиологическими и биохимическими особенностями эритрона и его регуляцией у недоношенных детей. Частота развития анемии зависит от степени недоношенности ребенка; при сроках гестации более 34 нед симптомы анемии отсутствуют, а при рождении ребенка ранее 33 нед гестации анемия выявляется у 40% [Brown M., 1988]. Появление «физиологической» анемии у недоношенных детей обусловлено теми же факторами, что и у доношенных детей, но они более выражены, Hb снижается быстрее и до более низких значений [Stoll B. et al., 2000].

При рождении число Эр и содержание Hb у недоношенных детей существенно не отличаются от этих

показателей у доношенных. Вместе с тем отмечено, что чем меньше гестационный срок, тем ниже гематокритное число и более увеличен объем Эр. После рождения в течение первых 2 сут у ребенка отмечается транзиторное увеличение содержания Hb, так как плазма крови переходит в экстраваскулярное пространство (гемоконцентрация). Начиная с конца первой недели жизни количество Эр и содержание Hb уменьшаются, поэтому в первые 2 мес жизни ребенка выявляется анемия. Минимальные значения Hb (70—90 г/л) обычно достигают к 3—6 нед, но у некоторых детей содержание Hb может быть и ниже.

Развитию анемии способствуют ряд факторов, в частности, укороченная длительность жизни Эр. Если у доношенных детей она составляет 60—70 дней, то у недоношенных — 35—50 дней; период полужизни Эр по ^{51}Cr — 23,3 дня (от 13 до 35) и 16,6 дней (от 9 до 26) соответственно. Укорочению длительности жизни Эр могут способствовать особенности строения его мембраны. Так, у недоношенных детей, в отличие от доношенных, отмечается повышенная осмотическая и механическая стойкость Эр; наблюдаются также и более значительные морфологические изменения их — содержание двояковогнутых Эр составляет 43%,

в виде «чаши» — 30%, Эр аномальной формы — 27%, тогда как у доношенных детей — 45%, 41% и 14% соответственно. При фазово-контрастной и электронной микроскопии определяется большое количество Эр, содержащих вакуоли, непосредственно примыкающих к внутренней мембране Эр. Мембрана Эр более текуча, менее деформабельна и менее проницаема для K^+ , что связано с особенностями ее биохимического состава. В Эр увеличено количество общих липидов, фосфолипидов и холестерина, хотя процентное соотношение между ними такое же, как и в Эр взрослых людей. Однако определяется увеличение содержания сфингомиелина и уменьшение лецитина, повышено содержание пальмитиновой, стеариновой и арахидоновой жирных кислот, уменьшено — олеиновой и линолевой. Состав белков мембраны Эр у недоношенных детей и у взрослых одинаков.

Нарушению проницаемости мембраны, приводящему к укорочению длительности жизни Эр, способствует также низкое содержание витамина Е в плазме крови, которое наблюдается у 86% недоношенных детей [Conway S. et al., 1986]. Как указывают Н.Вогт и соавт. (1984), витамин Е локализуется в мембранах и его физиологическая и метаболическая активность реализуется в присутствии селена. Он является синергистом глутатионпероксидазы, способствуя уменьшению остатков водорода пероксида, который не подвергся действию каталазы. В то же время активность супероксидсмутазы в Эр, антиоксидантного фермента, нормальная [Fattal A. et al., 1989]. Поэтому основная функция антиоксидантного комплекса витамин Е — глутатион — селен — это защита мембраны Эр от окисления полиненасыщенных жирных кислот. Поскольку у недоношенных детей уже с рождения определяется дефицит

витамина Е, то происходит перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот с потерей фосфатидилэтаноламина и уменьшение количества сульфидрильных групп в мембране Эр.

Наряду с укорочением длительности жизни Эр развитию анемии способствует снижение их продукции вследствие дефицита железа, нарушения его метаболизма в Эр. Нарушение эритропоэза также связано с изменением выработки Эпо. В первые сутки жизни недоношенного ребенка содержание Эпо в сыворотке крови у него ниже, чем у взрослых, и в последующие дни оно резко снижается; повышение содержания Эпо происходит с 4-недельного возраста ребенка [Zanjani E. et al., 1989]. Недоношенные дети не способны образовывать в достаточном количестве Эпо. Сопоставление содержания Эпо в сыворотке крови недоношенных детей и взрослых с учетом показателей Hb показало, что концентрация Эпо у недоношенных детей составляет половину или $\frac{2}{3}$ от его содержания у взрослых. Хотя Эпо и «контролирует» эритропоэз у недоношенного ребенка, тем не менее указанные данные не объясняют причину снижения концентрации гемоглобина у недоношенных детей в большей степени, чем у доношенных [Doyle J. et al., 1999].

J. Stockman (1977) высказал предположение, что задержка активного эритропоэза связана с тем, что недоношенные дети меньше потребляют кислорода; этим объясняется удовлетворительная толерантность при низком содержании гемоглобина. M. Brown (1988) установил, что средство гемоглобина к кислороду увеличивается у младенцев в постнатальном периоде по мере увеличения фракции HbA и концентрации 2,3-ДФГ, вызывающего снижение сродства HbA к кислороду при высоком содержании HbA. Когда недоношенным детям производят трансфузии крови, взятой от взрослых, которая

содержит в большом количестве НбА, то кривая диссоциации кислорода облегчает освобождение кислорода в тканях. Поэтому при определении анемии и решении вопроса о необходимости проведения гемотрансфузий недоношенным детям следует руководствоваться не только показателями красной крови, но и необходимостью обеспечения кислородом ребенка, и это в большой степени определяется способностью Нб ребенка освобождать кислород в тканях [Schwartz E., 2000]. В развитии ранней анемии недоношенных играет роль и переключение образования Эпо из печени на почки [Erslev A. et al., 1989].

Появлению ранней анемии способствует ускоренный рост ребенка. При быстром увеличении массы тела повышается ОЦК. Это приводит к гемодилюции, при этом содержание гемоглобина либо остается неизменным, либо несколько снижается. В то же время число Эр увеличивается, так как к 6—8-недельному возрасту появляется активный эритропоэз. В развитии анемии существенную роль играет иатрогенная потеря крови, обусловленная частым забором крови для анализов [Skacel P., 1997]. Хотя в лабораторную практику внедрены микрометоды исследования крови, тем не менее, как показали исследования V.Blanchette и соавт. (1984), для лабораторных анализов у недоношенных детей в течение первых 6 нед жизни производится эксфузия в среднем 22,9 мл крови. Если учитывать, что у здоровых недоношенных детей масса Эр составляет (35,2±8,9) мл/кг, то становится очевидным, что взятие 1 мл крови у ребенка с массой 1 кг эквивалентно взятию 70 мл крови у взрослого. Отсюда следует, что взятие капиллярной крови для исследований существенно влияет на показатели красной крови ребенка.

Содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр у недоношенных детей

к моменту их рождения соответствует таковому у взрослых. Низкие значения этого показателя наблюдаются в возрасте 1—2 мес, особенно у детей, родившихся с массой тела менее 1700 г. У большинства детей в этом периоде отмечается повышенная экскреция с мочой формиминолугаминовой кислоты. Несмотря на дефицит в фолатах, явных признаков мегалобластной анемии нет. J.Vehpke и соавт. (1984) считают, что дефицит фолатов не влияет на развитие анемии, так как при их назначении улучшения показателей красной крови не отмечается. Однако при низкой массе тела при рождении (менее 1200 г) у некоторых детей в возрасте 6—10 нед может развиваться мегалобластная анемия. Разумеется, развитию ранней анемии могут способствовать и ряд других неблагоприятных факторов (ГА различной этиологии, кровопотери, врожденная гипопластическая анемия, интеркуррентные заболевания и др.).

Клинически ранняя анемия проявляется бледностью кожи и видимых слизистых оболочек. Самочувствие обычно не страдает, масса тела детей нормально увеличивается. Гематологически определяется нормохромная нормоцитарная анемия и, как указывает V.Blanchette и соавт. (1984), содержание Нб 80 г/л у 4-недельного недоношенного ребенка следует рассматривать как нормальное.

Поскольку раннюю анемию рассматривают как физиологическую, специального лечения она не требует. Тем не менее, до 60—80% детей с массой тела менее 1500 г нуждаются в 1 и более трансфузиях эритроцитарной массы. Дети должны получать полноценное питание, молоко с низким содержанием линоленовой кислоты, так как установлено, что при ее содержании свыше 12% чаще наблюдаются дефицит витамина Е и более выраженная анемия. Добавление к грудному молоку белка из

молока человека значительно улучшает показатели красной крови [Ronnholm K. et al., 1982]. S.Conway и соавт. (1986) доказали, что у большинства детей в возрасте 6—10 нед при такой диете признаков дефицита витамина Е нет и не требуется дополнительного назначения α -токоферола.

Диета должна содержать достаточное количество фолиевой кислоты. По мнению В.П.Бисяриной и соавт. (1979), В.И.Калинической (1983), детям с анемией следует проводить ферротерапию. А.И.Хазанов (1981), Y.Iwai и соавт. (1986) считают, что препараты железа следует назначать после 2-месячного возраста, чтобы предупредить или смягчить развитие поздней анемии. E.Mellhorn и соавт. (1971), M.Williams и соавт. (1975) установили, что раннее назначение препаратов железа, как и повышенное содержание в диете линоленовой кислоты, усиливают анемию. V.Blanchette и соавт. (1984) считают, что в данном случае железо выступает в качестве катализатора в перекисном окислении полиненасыщенных жирных кислот мембраны Эр, приводя к увеличению их деструкции.

К назначению гемотрансфузии следует подходить дифференцированно. У недоношенных детей с массой тела менее 1500 г в первую неделю жизни Hb следует поддерживать на уровне более 130 г/л; однако при наличии поражений сердца и легких, когда нарушена оксигенация крови, этот уровень должен быть не менее 160—170 г/л. Детям с «физиологической» анемией трансфузии не назначают; они необходимы при наличии признаков тканевой гипоксии, задержке развития ребенка, одышке, тахикардии, повышении в крови содержания молочной кислоты [Keyes W. et al., 1989; Skacel P., 1997].

А.Parageoou и соавт. (1999) считают, что показателями к гемотрансфузиям являются:

1) наличие анемии при рождении и(или) гиповолемического шока;

2) замещение, если взято для анализов 10% крови от общего ОЦК;

3) поддержание гематокритного числа в пределах 0,40 в течение 1-й недели жизни и 0,35 — в течение 2-й недели;

4) поддержание гематокритного числа больше 0,40 при наличии тяжелых поражений легких.

В последние годы для лечения и профилактики ранней анемии недоношенных, снижения частоты гемотрансфузий используют рекомбинантный человеческий Эпо (rHuEPO), который назначают по 1250 МЕ/(кг·нед) внутривенно в течение первых 2 нед жизни, а затем в течение 6 нед по 750 МЕ/(кг·нед) подкожно. При такой тактике ведения у детей значительно выше показатели гематокритного числа и содержания ретикулоцитов в крови, хотя потребности в гемотрансфузиях не снижаются [Donato H. et al., 1998; Widness J. et al., 1998]. Особенно показано назначение rHuEPO детям с массой тела при рождении менее 750 г, но улучшение показателей красной крови наступает после 2—3 нед после начала лечения [Skacel P., 1997]. A.Pollak и соавт. (2001) установили, что комбинированное введение rHuEPO по 300 МЕ/(кг·сут) в сочетании с внутривенным введением препаратов железа (Venofer, Vifor Intern.) по 2 мг/(кг·сут) в течение 18 дней значительно повышает содержание Hb, ретикулоцитов, ферритина и растворимых рецепторов Tf в плазме крови недоношенного ребенка.

Комбинированное лечение rHuEPO (по 400 МЕ/кг 3 раза в неделю), железодекстраном (5 мг/кг 1 раз в неделю), витамином Е (15—25 МЕ в день) и фолиевой кислотой (25—50 мкг/сут) стимулировало эритропоэз у детей с массой тела при рождении менее 1250 г [Ohls R. et al., 2001].

Прогноз ранней анемии недоношенных благоприятный.

АНЕМИЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ МЕДИ

Медь является важным микроэлементом и необходима для многих систем; около 30 ферментов используют ее в качестве кофактора. Относясь к группе «следовых» металлов, она в то же время положительно влияет на пролиферацию клеток и на поддержание нормальной метаболической активности организма, на метаболизм железа в нормобластах. В то же время медь является одним из токсичных элементов, поэтому поддержание количества меди в организме в оптимальных пределах в большой степени возлагается на транспортные регуляторные системы этого микроэлемента.

Около 90% меди, находящейся в плазме крови, связано с церулоплазмином, гликопротеином, содержащим 8 атомов меди на одну молекулу церулоплазмينا (слово «cerulo» указывает на небесно-голубую окраску вещества). Церулоплазмин выполняет роль переносчика меди к органам депо, удаляет избыток супероксидных анионов, защищает организм от чрезмерного перенасыщения этим элементом, способствует абсорбции железа из кишечника и освобождению железа из органов депо. Кроме того, церулоплазмин является ферментом, обладающим ферроксидазной, аминоксидазной и супероксиддисмутазной активностями [Harris E., 1991]. Как оксидаза церулоплазмин катализирует передачу 4 электронов от субстрата к молекулярному кислороду. В различных тканях и клетках, включая Эр, эндотелий печени, лимфоциты, моноциты и гранулоциты имеются высокоаффинные участки для церулоплазмينا [Kataoka M. et al., 1985; Saenko E. et al., 1990].

Добавление солей меди в культуру лейкоцитов периферической крови стимулирует образование ФНО и в то же время задерживает секрецию ИЛ-1 β и ИЛ-6; меди сульфат инги-

бирует образование простагландина E₂ макрофагами [Elliott G. et al., 1987; Scuderi P., 1990].

Приблизительно 9% меди, содержащейся в плазме крови, связано с альбумином. Наиболее высокая концентрация альбуминсвязанной меди обнаруживается в крови системы воротной вены печени. Период полужизни альбуминсвязанной меди составляет менее 10 мин, и это может свидетельствовать о том, что в данном случае роль альбумина сводится к транспорту меди от кишечника к печени.

Приблизительно 1—2% меди сыворотки крови связано со свободными аминокислотами. Считается, что альбумин и аминокислоты обеспечивают увеличение «лабильной» формы меди, которая легко усваивается клетками, тогда как церулоплазмин не способен обеспечивать передачу ионов меди аминокислотам. В то же время ионы меди церулоплазмينا связываются с супероксиддисмутазой и цитохромоксидазой [Cousins R., 1985]. По мнению E. Harris (1991), возможно, не все источники транспорта меди идентифицированы.

У здорового взрослого человека общее содержание меди в организме составляет 80—100 мг, и для поддержания этого уровня необходим ежедневный прием 2 мг меди. Наибольшая концентрация ионов меди определяется в печени, почках, головном мозге и поджелудочной железе. Содержание микроэлемента в печени относительно постоянно и поддерживается благодаря экскреции меди печенью и освобождением церулоплазмينا. Ежедневные потери ионов меди составляют в среднем 60 мкг. По мере необходимости ионы меди мобилизуются из печени для использования клетками внепеченочных органов и систем. В приложении 26 представлены данные о содержании

некоторых микроэлементов в сыворотке крови.

Причины дефицита меди в организме разнообразны, описаны случаи наследственной гипоцерулоплазминемии [Edwards C. et al., 1949], наследственная гипокупремия со спленомегалией и тяжелыми неврологическими изменениями (деменция, спастическая дизартрия, парезы, вертикальный нистагм, нарушение походки) [Willvenseseder R. et al., 1973], семейная доброкачественная форма дефицита меди [Mehees K. et al., 1982]. Однако чаще всего дефицит меди является приобретенным.

У недоношенных детей в первые 6 нед жизни отмечается низкое содержание меди в сыворотке крови, и чем меньше масса тела ребенка, тем более выражена гипокупремия. Это связано с тем, что у недоношенных детей снижена способность абсорбировать и мобилизовать ионы меди, повышена потеря микроэлемента с желчью, имеется недостаточность синтеза церулоплазмينا. Риск развития гипокупремии у новорожденных детей резко возрастает при кормлении ребенка коровьим молоком, содержание меди в котором составляет 1—1,5 мг/л, и дефицит меди может выявляться в течение первых 6 мес жизни ребенка [Levy Y. et al., 1985]. Недостаток ионов меди с последующим развитием гипокупремии отмечается у детей и взрослых, длительно находящихся на парентеральном питании, при мальабсорбции, голодании, резекции верхних частей тонкой кишки [Hayton V. et al., 1995]. Повышенная потеря микроэлемента (длительная экссудативная энтеропатия, аномальная повышенная потеря с желчью и др.), прием алкилирующих препаратов и больших доз цинка также способствуют развитию гипокупремии [Tokuda Y. et al., 1986; Symon S. et al., 1988]. Развитие дефицита меди возможно при хроническом гломеруло-

нефрите с почечной недостаточностью [Ruocco L. et al., 1988], отравлении цинком [Summerfield A. et al., 1992].

Медь играет две роли в нормальном гемопоэзе. Исследования на животных показали, что церулоплазмин необходим для транспорта железа Тф. Кроме того, ионы меди участвуют в синтезе гема в митохондриях, они необходимы для усвоения клеткой железа, поэтому дефицит меди в организме приводит к анемии и нейтропении [Summerfield A. et al., 1992; Méchinaud-Lacroix F., 1995].

Проявления дефицита меди возникают у доношенных детей к 6—7 мес жизни, когда истощаются эндогенные запасы этого микроэлемента в печени, а у недоношенных детей раньше — в пределах 3-месячного возраста.

При дефиците меди длительность жизни Эр укорочена. Причиной этого может быть уменьшение в Эр количества цитозольной медьсодержащей супероксиддисмутазы, участвующей в детоксикации супероксидных радикалов. Снижение активности этого фермента приводит к накоплению в Эр кислородных радикалов и увеличению интенсивности перекисного окисления липидов мембраны. Кроме того, дефицит меди снижает активность ацетилхолинэстеразы в плазме крови, вследствие чего в Эр аккумулируются свободный холестерин и фосфатидилхолин.

Дефицит меди не только приводит к изменению гемопоэза, но и отмечаются признаки поражения различных органов и систем. Клинически у больных отмечаются анорексия, слабость, апатия, у каждого 3-го больного наблюдается необъяснимая диарея, а у каждого 4-го — необъяснимые рвоты. Может отмечаться депигментация кожи и волос. Эти симптомы, по-видимому, связаны с недостаточностью поджелудочной железы, поскольку известно, что у

крыс, диета у которых была лишена меди, развивалась атрофия поджелудочной железы [Fell B. et al., 1982]. У детей наблюдаются задержка физического и психомоторного развития, склонность к бактериальным инфекциям. Могут наблюдаться необъяснимые боли в суставах, петехиальная геморрагическая сыпь, замедленное заживление ран [Harris E., 1991]. Характерным признаком является дерматит, у недоношенных детей может быть себорейная сыпь, гипотензия, депигментация кожи и волос, причем последние приобретают «кучерявость», расширение поверхностных вен [Sutton A. et al., 1985]. При гипокупремии у каждого второго ребенка первого года жизни наблюдаются изменения в костях, напоминающие рахитические четки на передней поверхности ребер [Bennani-Smires C. et al., 1980]. Иногда возникают спонтанные переломы ребер, субметафизарные переломы с отделением эпифизов. При рентгенологическом исследовании костей выявляются остеопороз, нечеткие очертания и чашеобразные метафизы; метафизы длинных трубчатых костей напоминают «кубок» с образованием «шпор». Нередко эти изменения костей ошибочно принимают за признаки цинги.

Гематологически у больных наблюдается анемия, которая может быть гипохромной, макроцитарной, нормоцитарной и микроцитарной, отмечается анизо- и пойкилоцитоз Эр, тельца Паппенгеймера в Эр [Phatak P et al., 1997]. Количество ретикулоцитов обычно низкое. У 40% больных анемия сочетается с выраженной нейтропенией [Cotrozzi G. et al., 1985]. Число тромбоцитов нормальное. Редко дефицит ионов меди сопровождается панцитопенией [Ruocco L. et al., 1986].

В пунктате костного мозга количество миелокариоцитов может быть нормальным или сниженным. Мис-

лограмма либо нормальная, либо в ней повышено содержание клеток эритроидного ряда. Иногда отмечаются морфологические изменения гемопозитических клеток — вакуолизация цитоплазмы молодых клеток миелоидного и эритроидного рядов, возможны признаки мегалобластического кроветворения, явления дизэритропоэза, иногда встречаются сидеробласты, микромегакариоциты [Simon S. et al., 1988; Hayton B. et al., 1995]. Однако все эти изменения клеток костного мозга непостоянны и не свойственны исключительно больным с гипокупремией. Вместе с тем появление у некоторых детей с дефицитом ионов меди мегалобластоидных изменений заставляют полагать, что ионы меди участвуют в синтезе РНК и ДНК [Frieden E., 1983]. Содержание железа и общая железосвязывающая способность сыворотки крови нормальные, за исключением случаев, сочетающихся с дефицитом железа. Однако скорость исчезновения из плазмы и включения ^{59}Fe в эритроидные клетки снижена.

Диагноз основывается на клинико-гематологических данных. Однако по своим признакам дефицит ионов меди напоминает по многим параметрам дефицит железа, но при нем отмечается рефрактерность к лечению препаратами железа, поэтому решающим критерием при постановке диагноза является определение содержания меди и церулоплазмينا в сыворотке крови. Однако следует помнить о том, что гипокупремия и гипоцерулоплазминемия могут наблюдаться при гипопротеинемических состояниях [Patterson C. et al., 1988]. В течение первых месяцев жизни ребенка, особенно у недоношенных детей, содержание меди и церулоплазмينا в сыворотке крови низкое. У детей старше 1—2 мес содержание меди менее 400 мкг/л и церулоплазмينا менее 150 мкг/л в сыворотке крови необходимо рассматривать как наличие дефицита меди. В

более старшем возрасте последнее констатируют при содержании меди в сыворотке крови менее 700 мкг/л [Natan S. et al., 1985; Oski F., 1991].

Во избежания развития гипокупремии в пищевом рационе взрослых содержание меди должно составлять не менее 2 мг/сут; для детей при оптимальном питании следует назначать per os 80—90 мкг/(кг·сут), а лицам, находящимся на парентеральном питании, следует добавлять медь из расчета 30—60 мкг/(кг·сут) [Zlotkin S. et al., 1983].

Клинические и гематологические нарушения, вызванные гипокупремией, резистентны к лечению препаратами железа, но легко устраняются при назначении препаратов меди. Хороший эффект получен от назначения больным меди сульфата (10% раствор, который содержит около 25 мг меди в 1 мл). Назначают его

из расчета 0,2 мг меди на 1 кг массы тела ежедневно. После такого лечения в течение первой недели наступает ретикулоцитарный криз, исчезают анемия, лейкопения с нейтропенией, а при наличии тромбоцитопении — и последняя. Следует помнить о том, что препарат нельзя сочетать с одновременным приемом аскорбиновой кислоты, поскольку последняя препятствует усвоению меди из кишечника. Однако спустя 1—2 ч после приема меди желательна назначение аскорбиновой кислоты, которая будет способствовать утилизации меди тканями, и будет заметно увеличена активность медь-зависимых ферментов [Di Silvestro D. et al., 1981]. Нельзя также сочетать прием меди с препаратами железа, поскольку последние препятствуют абсорбции ионов меди [Johnson M. et al., 1987].

АНЕМИИ ПРИ НАРУШЕНИИ СИНТЕЗА ДНК И РНК (МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ)

Мегалобластные анемии — это гетерогенная по этиологии группа заболеваний, общим признаком которых является наличие в костном мозге мегалобластов. Однако патологические изменения не ограничиваются только клетками эритроидного ряда, могут наблюдаться морфологические, функциональные и биохимические изменения других гемопоэтических элементов, клеток различных тканей, некоторых органов и систем. Эти аномалии связаны с изменениями синтеза ДНК, в меньшей степени РНК и белков. В большинстве случаев эти нарушения связаны с дефицитом витамина В₁₂ и(или) фолатов, но могут быть обусловлены врожденными или приобретенными ферментопатиями, блокирующими биосинтез пуринов или пиримидинов, вследствие нарушения

метаболизма тиамина, действия лекарственных, нарушающих синтез ДНК, и другими причинами.

Вне зависимости от этиологии у больных отмечается макроцитарная регенераторная анемия, обычно гиперхромная (в тяжелых случаях цветовой показатель может достигать 1,4 и более), но иногда нормохромная. Эр — овальной или эллиптической формы, крупные (100 фл и более). При наличии дефицита железа макроцитоз менее выражен. Средняя концентрация Hb в Эр больше 28 пг, а среднее содержание Hb в Эр нормальное. Встречаются Эр с базофильной пунктиацией цитоплазмы, во многих из них обнаруживаются остатки ядра (тельца Жолли, кольца Кебота, пылинки Вейдриха). В тяжелых случаях в периферической крови определяются эритрокариоци-

ты. Количество ретикулоцитов обычно менее $20 \times 10^9/\text{л}$. По данным K. Luong и соавт. (1998), в некоторых этнических группах (вьетнамцы) дефицит фолатов и Сb1 может протекать с нормальным и даже сниженным объемом Эр.

У больных отмечается снижение числа лейкоцитов, иногда до $1,5 \times 10^9/\text{л}$. Одним из ранних признаков мегалобластной анемии является наличие полисегментированных нейтрофилов с 5—10, а иногда 16 сегментами. Наблюдаются нейтропения, эозинопения, моноцитопения. Содержание лимфоцитов не изменено. Отмечается также тромбоцитопения, иногда значительная — до $(30 \dots 60) \times 10^9/\text{л}$ — с наличием гигантских тромбоцитов.

В костномозговом пунктате число миелокариоцитов повышено, увеличено содержание клеток эритроидного ряда, которые представлены в основном мегалобластами. Последние более крупные, чем нормальные эритрокариоциты, имеют характерную морфологию ядра. Ядро часто располагается эксцентрично, имеет нежно-сетчатую структуру, по внешнему виду напоминает землю, испещренную каплями дождя. Иногда встречаются клетки с дегенеративно-измененными ядрами в виде тrefового туза, тутовой ягоды и др. Цитоплазма более широкая, чем в нормальных эритрокариоцитах, характеризуется гиперхромией. Вследствие нарушения синтеза ДНК отмечается асинхронизм созревания ядра (более молодое) и цитоплазмы (более зрелая); для цитоплазмы характерна более ранняя гемоглобинизация. Число митозов снижено. Наблюдаются также морфологические изменения в клетках миелоидного ряда и мегакариоцитах.

Отмечается задержка созревания гранулоцитов, наличие гигантских метамиелоцитов с крупным ядром и сохраняющейся базофильной цито-

плазмой, палочкоядерных и полисегментированных нейтрофилов (с 6—10 сегментами), с менее плотной структурой хроматина. По данным W. Thompson и соавт. (1989), гиперсегментация нейтрофилов является более чувствительным признаком дефицита витамина B₁₂, чем показатели красной крови. Число мегакариоцитов нормальное или снижено, зернистость цитоплазмы менее выражена; определяется полиморфизм ядра, структура которого напоминает таковую мегалобластов, отшнурование тромбоцитов менее выражено.

Анемия у больных обусловлена неэффективным эритропоэзом и укорочением длительности жизни Эр. В пользу неэффективного эритропоэза свидетельствуют диссоциация содержания эритрокариоцитов в костном мозге (повышенное), преждевременная гибель эритробластов до их созревания, число ретикулоцитов в периферической крови (сниженное), увеличение содержания железа в сыворотке крови, клиренса железа в плазме крови и его кругооборота в 3—5 раз при одновременном уменьшении включения радиоактивного железа в эритрокариоциты, эритрофагоцитоз макрофагами костного мозга. Характерен экстремедуллярный гемолиз — длительность жизни Эр снижена в 2—3 раза по сравнению с нормой, билирубинемия.

Дефицит фолатов и кобаламина вызывает мегалобластную анемию, увеличивается выработка Эпо, итогом чего является увеличение в костном мозге количества КОЕ-Э и эритробластов, но на поздних стадиях дифференциации эритроидных клеток происходит их апоптоз, связанный с тем, что они не способны поддерживать интегральность ДНК из-за сниженной способности к репликации. Это подтверждается цитогенетическими исследованиями, при которых установлено наличие в гемопозитических клетках большого

количества хромосомных поломок. Фолаты в форме тетрагидрофолатовых (ТНФ) коферментов участвуют в синтезе пуринов и тимидилата и косвенно вовлечены в процесс метилирования цитозинов ДНК. При дефиците фолатов содержание ТНФ коферментов внутри клетки снижается, а при дефиците витамина В₁₂ снижение содержания ТНФ коферментов происходит за счет ингибции фолатов на уровне 5-метилтетрагидрофолата. Все эти нарушения приводят к изменению ДНК, и у больных в клетках происходит либо полная остановка синтеза, либо резкое снижение синтеза ДНК с накоплением клеток в S-фазе. Аккумулированные в S-фазе клеточного цикла эритробласты подвергаются апоптозу. Одним из главных медиаторов апоптоза является сверхэкспрессия гена p53, который регулирует образование белков с различной биологической и биохимической активностью [Silva S. et al., 1998; Коугу М. et al., 2000].

Отмечаются также неэффективный гранулоцито- и тромбоцитопоз, цитопения в периферической крови с преждевременной гибелью гемопоэтических клеток в костном мозге, важная роль в этом процессе принадлежит апоптозу гемопоэтических клеток-предшественниц [Hirase N. et al., 1997]. По данным Z.Сao и соавт. (1998), наиболее интенсивный апоптоз гемопоэтических клеток-предшественниц отмечается в период их пролиферации и дифференциации.

W.Crist и соавт. (1980) установили, что при мегалобластной анемии в период развернутой клинико-гематологической картины заболевания колониеобразующая способность мононуклеарных клеток крови резко повышена, а клеток костного мозга — нормальная или незначительно увеличена; КСА сыворотки крови нормальная, а образование КСА лейкоцитами снижено. Отмечено также, что в колониях наблюдалось нормальное со-

зревание миелоидных элементов. При электронно-микроскопическом исследовании во многих костномозговых макрофагах обнаруживаются фагоцитарные вакуоли, содержащие разрушенные нейтрофилы и фрагменты клеток. Все это подтверждает концепцию о повышенной внутрикостномозговой деструкции гранулоцитов. Несмотря на нейтропению и аномальную структуру нейтрофилов их мембранный потенциал, показатели потребления кислорода и восстановления тетразолия нитросинего, а также фагоцитоз стафилококков не изменены. С.Gogos и соавт. (1986) установили, что у больных с пернициозной анемией уменьшено содержание Т-супрессоров, увеличено соотношение между Т-хелперами и Т-супрессорами. Авторы считают, что эти изменения связаны с иммунологическими аномалиями, в частности с наличием множественных аутоАТ.

Таким образом, при мегалобластной анемии наблюдаются изменения всех трех ростков кроветворения.

Причины развития мегалобластной анемии могут быть связаны с недостатком или аномалией кобаламина и(или) фолатов, врожденного, наследственного или приобретенного характера, а также причинами, не связанными с фолатами и витамином В₁₂.

Мегалобластные анемии можно подразделить следующим образом.

1. Мегалобластные анемии, связанные с недостатком или аномалией кобаламина и фолатов.
 1. Недостаток поступления фолатов и кобаламина.
 2. Мальабсорбция:
 - а) витамина В₁₂ (врожденный дефицит ВФ, болезнь Бирмера, болезнь Иммерлунд — Гресбека, быстрое размножение бактерий);
 - б) фолатов (врожденная мальабсорбция фолатов, поражение проксимальной части тонкой кишки).
 3. Повышенная утилизация или потеря (беременность, гипергемолиз, опухоли, гемодиализ, псориаз и др.).
 4. Нарушение транспорта (дефицит ТК II, аномалия транспорта фолатов).

5. Внутриклеточные нарушения:
 - а) кобаламина (болезни кобаламинов С, D, E, G);
 - б) фолатов (дефицит дегидрофолатредуктазы, метионинсинтетазы, форми-минотрансферазы).
- II. Врожденные мегалобластные и(или) макроцитарные анемии, не связанные с фолатами и витамином В₁₂.
 1. Анемии, связанные с нарушением биосинтеза нуклеиновых кислот:
 - а) врожденная оротовая ацидурия;
 - б) синдром Леша — Нихена.
 2. Тиаминзависимая мегалобластная анемия.
 3. Синдром Pearson.
- III. Другие мегалобластные анемии.

ВИТАМИН В₁₂-ДЕФИЦИТНЫЕ АНЕМИИ

Витамин В₁₂-дефицитные анемии — это гетерогенная группа заболеваний, которая включает в себя врожденные, наследственные и приобретенные формы.

МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА В₁₂ В ОРГАНИЗМЕ

Термином «кобаламины» (Сbl), или витамином В₁₂, обозначают различные Сbl, имеющие общее строение — тетрапирроловое кольцо, в центре которого располагаются кобальт и собственный радикал или лиганд в каждом из них (нитрил, гидроксид, метил и дезоксиаденозил), благодаря которым различают цианокобаламин, гидроксикобаламин, метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин.

Первые две формы характеризуются стабильностью и используются в терапевтической практике, а две последние определяются в тканях, сыворотке крови, но они не стабильны. Кроме того, в организме существуют физиологически неактивные Сbl, отличающиеся нуклеотидной частью.

Витамин В₁₂ играет важную роль в синтезе ДНК во всех клетках, в

том числе и в гемопоэтических, и при его недостатке у людей возникает макроцитарная анемия с мегалобластическим типом кроветворения, и морфологические изменения клеток эритроидного ряда указывают на нарушения синтеза ДНК.

Витамин В₁₂ не синтезируется в организме, он попадает исключительно с белками животного происхождения (мясо, печень, яйца, молоко и др.). Наиболее богаты витамином печень, говядина, ракообразные, меньше всего его содержится в яйцах, молочных продуктах. В продуктах растительного происхождения витамин полностью отсутствует. Суточная потребность в витамине составляет 2—3 мкг, тогда как при нормальном сбалансированном питании с пищей поступает до 50 мкг/сут.

Под влиянием кулинарной обработки и действия протеолитических ферментов и хлористоводородной кислоты в желудке витамин В₁₂ освобождается и сразу же связывается с белковыми лигандами — ТК I и III, называемыми кобалофилинами, гаптокорринами или протеинами R (R — гапиде, быстрый, белки, названные за их большую электрофоретическую подвижность), и с ВФ, который является гликопротеином, секретируется париетальными клетками дна и тела желудка после стимуляции гастрином. В кишечнике под действием протеолитических ферментов панкреатического сока происходит диссоциация комплекса витамина В₁₂ — гаптокоррина с освобождением витамина В₁₂, который соединяется с ВФ. Комплекс Сbl — ВФ поступает в подвздошную кишку, фиксируется на энтероците, имеющем специфические рецепторы, быстро нейтрализуется путем эндоцитоза и поступает в везикулы клетки, где происходит расщепление комплекса на витамин В₁₂ и ВФ; последний не абсорбируется. Витамин В₁₂ в присутствии Са²⁺ и pH 7,0 проникает в

митохондрии эритроцита, а затем через несколько часов проникает в кровь системы воротной вены печени [Kuzminski A. et al., 1998; Nexo E., 1998].

Перенос Сbl кровью осуществляется специфическими транспортными белками — ТК: ТК I, ТК II и ТК III. Наиболее важным является ТК II, который синтезируется гепатоцитами, эритроцитами, макрофагами, клетками костного мозга, но главным образом эндотелиальными клетками сосудов и в меньшей степени — фибробластами. Ген ТК II был клонирован в 1995 г., находится на хромосомах 22-й пары, состоит из 9 экзонов и 8 интронов [Regee A. et al., 1995]. ТК II связывается с Сbl на уровне эритроцита и транспортирует его к клеткам, которые утилизируют витамин. Эти клетки имеют специфические рецепторы для комплекса витамин В₁₂ — ТК II, в частности на эритроблестах. Комплекс, фиксируясь к клетке с помощью рецептора, проникает внутрь ее путем эндоцитоза, и под действием процесса гидролиза витамин В₁₂ освобождается из комплекса. Большая часть ТК II подвергается перевариванию в лизосомах, а Сbl внутри клетки превращается в активную форму после перехода атома кобальта из 3-валентной формы в моно- и дивалентную. Редуцированная форма Сbl может фиксировать специфические радикалы — метил- или аденозил-коферменты, которые связываются со специфическими ферментами внутри клетки. ТК II также депонирует в большом количестве витамин В₁₂ в печени. С помощью ТК II транспортируются до 20—30% всех циркулирующих кобаламинов [Nanop F. et al., 2001].

В сыворотке крови человека существуют 4 фенотипа ТК — X, S, M и F. Но до сих пор неясно существует ли связь между фенотипами ТК и их функциональными свойствами [Nansen M., 1990].

ТК I и ТК III — это гликопротеины, синтезируемые гранулоцитами, ко-

торые близки к протеинам R. Они участвуют также в транспорте витамина В₁₂, но откладывают его в организме в виде резерва, в печени, но не участвуют в доставке витамина клеткам-потребителям. Большую часть (до 80%) перенос Сbl осуществляет ТК I. При поступлении большого количества витамина В₁₂ в организм около 1% его может проникать в кровь путем пассивной диффузии.

Главным делом витамина является печень, в 1 г которой содержится до 1 мкг витамина В₁₂. У здоровых доношенных детей резервы в печени составляют 20—25 мкг; они обусловлены трансплацентарной передачей от матери плоду. У взрослого человека резерв Сbl составляет 3—4 мг, что обеспечивает жизнедеятельность организма на протяжении 3—4 лет. Суточная потребность ребенка в витамине составляет 0,1 мкг, а взрослого — 5—7 мкг. В 100 мл женского молока содержится 0,11 мкг витамина В₁₂.

Витамин В₁₂ выделяется в основном с желчью, и его потеря происходит с калом. В сутки теряется около 0,1% от всего депонированного витамина. Доказано существование кишечного-печеночного кругооборота витамина — приблизительно 3/4 выделяемого с желчью витамина вновь реабсорбируется. Этим объясняется то, почему мегалобластная анемия вследствие дефицита витамина В₁₂ развивается не раньше, чем через 1—3 года после полного прекращения поступления витамина в организм. Физиологические потери витамина с мочой крайне незначительны, поскольку он связан с белками.

У человека известны две биохимические реакции, в которых необходимо участие коферментов витамина В₁₂ — 5'-дезоксаденозилкобаламина и метилкобаламина. В первой реакции при распаде жирных кислот образуется пропионовая кислота. В процессе метаболизма последней образуются ряд промежуточных продуктов, в частности метилмалоновая кислота,

которая под влиянием метилмалонил CoA-мутазы и кофермента витамина В₁₂ (5'-дезоксаденозилкобаламина) превращается в янтарную кислоту. При отсутствии или недостаточности этого фермента отмечаются метилмалоновая ацидемия и ацидурия, нарушается синтез жирных кислот, но признаков мегалобластной анемии нет.

Во второй реакции, обеспечивающей нормальное эритробластическое кроветворение, участвует метилкобаламин. В состав ДНК входит тимидинмонофосфат, синтез которого происходит из уридинмонофосфата, для этой реакции необходима активная коферментная форма фолиевой кислоты — 5,10-метилентетрагидрофолиевая кислота. Из последней образуется 5-метилтетрагидрофолиевая кислота. При участии коферментной формы витамина В₁₂ — метилкобаламина из 5-метилтетрагидрофолиевой кислоты образуется тетрагидрофолиевая кислота; эта реакция одновременно генерирует метионин из гомоцистеина. Для синтеза ДНК в эритроблестах тетрагидрофолиевая кислота важнее, чем 5-метилтетрагидрофолиевая кислота. Из тетрагидрофолиевой кислоты может вновь образоваться 5,10-метилентетрагидрофолиевая кислота, которая вновь

участвует в синтезе тимидинмонофосфата. При дефиците витамина В₁₂ не образуется тетрагидрофолиевая кислота, накапливается 5-метилтетрагидрофолиевая кислота, уменьшается образование фолатов, необходимых для синтеза пуринов и пиримидинов. Это объясняет, почему при дефиците Сbl в Эр снижено содержание фолатов. Нарушение образования тимидина приводит к нарушению синтеза ДНК, деления клетки, появлению мегалобластного типа кроветворения.

Метилкобаламин является коферментом метионинсинтетазы, которая способствует превращению гомоцистеина в метионин. При дефиците витамина В₁₂ уменьшается синтез метионина и аденозилметионина, веществ, необходимых для синтеза миелина. Это приводит к нарушениям в нервной системе из-за нарушения нормального синтеза миелина. На схеме 9 и в табл. 17 представлены данные об участии витамина В₁₂ и фолатов в синтезе ДНК, и функции коферментов с соответствующими ферментами.

Принципиально можно выделить пять механизмов, вызывающих витамин В₁₂-дефицитную анемию:

1) недостаток поступления в организм витамина В₁₂;

ТАБЛИЦА 17. Функции коферментов фолатов и кобаламина, участвующих с соответствующими ферментами (по G.Zittoun, 1995)

| Кофермент | Ферменты | Функция |
|-----------------|--|---|
| 5,10-метиленТНФ | Тимидилатсинтетаза | Синтез тимидилата |
| 10-формилТНФ | GAP-, AICAR-трансформилаза | Синтез пуринов ядра клетки |
| 5-формилТНФ | 5,10-метилнл-ТНФ-синтетаза | Превращение фолиниевой кислоты непосредственно в активные формы |
| 5-формиминвоТНФ | Формиминотрансфераза — циклодезаминаза | Катаболизм гистидина |
| 5-метилТНФ | Метионинсинтетаза | Синтез метионина, начиная с гистидина |
| МетилСbl | Метионинсинтетаза | То же |
| АденозилСbl | Метилмалонил-КоА-мутаза | Превращение метилмалоновой кислоты в сукциниловую кислоту |

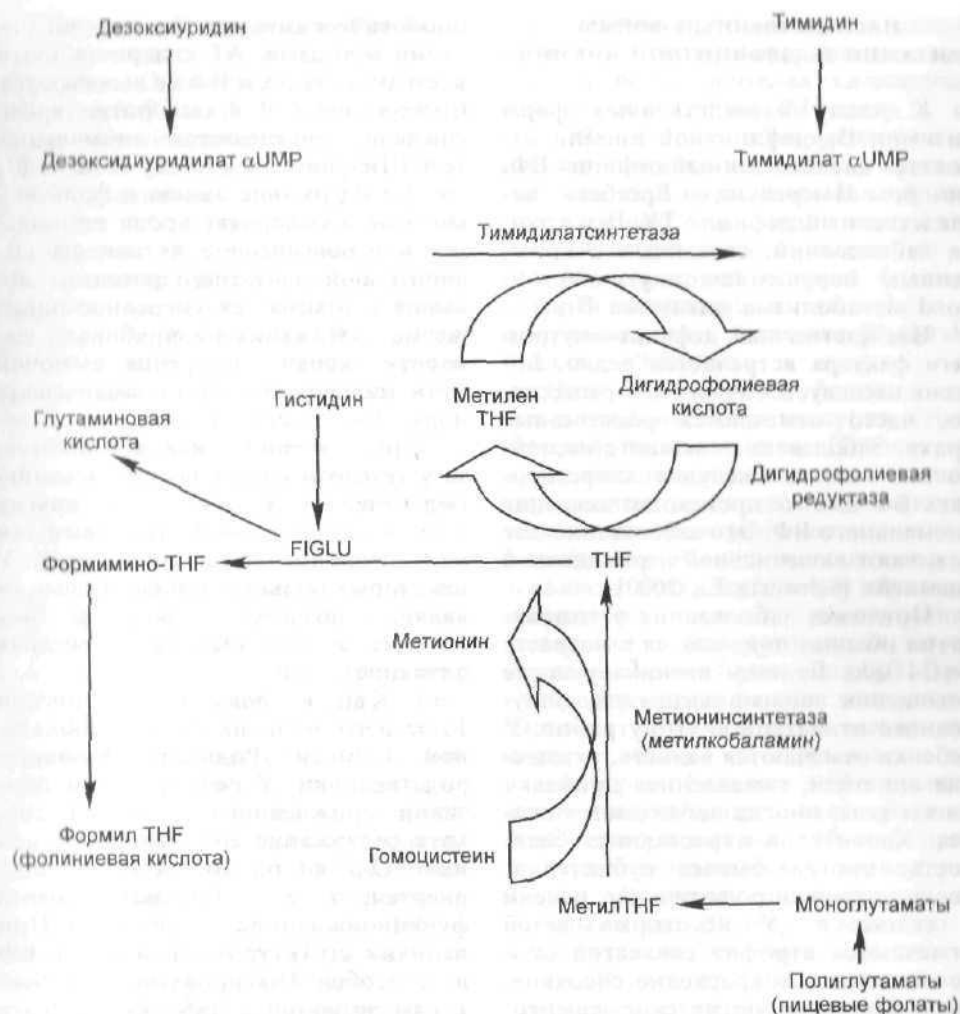


Схема 9. ДЕЙСТВИЕ ВИТАМИНА В₁₂ И ФОЛАТОВ НА СИНТЕЗ ДНК (по D.Sainty, 1998).

2) мальабсорбция витамина В₁₂ (дефицит ВФ, болезнь Бирмера, болезнь Иммерсунд — Гресбека);

3) повышенная утилизация или потеря витамина В₁₂ (беременность, гемолиз, пролиферация опухолевых клеток, гемодиализ, псориаз и др.);

4) нарушение транспорта витамина В₁₂ (дефицит, дефект ТК II);

5) внутриклеточные нарушения метаболизма кобаламинов (недоста-

точность синтеза аденозил-Сb₁, метил-Сb₁, снижение выделения Сb₁ лизосомами и др.).

В приложении 22 представлены данные о содержании витамина В₁₂ и его метаболитов в сыворотке крови здоровых людей.

Причины развития витамин В₁₂-дефицитной анемии могут быть врожденными (наследственными) и приобретенными.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ВИТАМИН В₁₂-ДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

К числу наследственных форм витамин В₁₂-дефицитной анемии относятся наследственный дефицит ВФ, синдром Имерслунд — Гресбека, наследственный дефицит ТК II и группа заболеваний, связанных с врожденным нарушением внутриклеточного метаболизма витамина В₁₂.

Наследственный дефицит внутреннего фактора встречается редко. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно, часто отмечаются родственные браки. Заболевание связано с неспособностью клеток желудка секретировать ВФ или же происходит секрция аномального ВФ. Это заболевание еще называют «ювенильной пернициозной анемией» [Schwartz E., 2000].

Признаки заболевания у гомозиготов обычно появляются в возрасте 7—24 мес. Болезнь возникает после истощения запасов витамина, полученного от матери внутриутробно. У ребенка отмечаются вялость, ухудшение аппетита, замедленная прибавка массы тела, иногда наблюдается диарея. Характерна нарастающая бледность, иногда бывает субиктеричность; возможно увеличение печени и селезенки. У некоторых детей отмечаются атрофия слизистой оболочки языка, покраснение сосочков, стоматит; неврологические симптомы variabelны — снижение спинальных рефлексов, атаксия, нарушения речи, парестезии, умственная отсталость. Анемия носит макроцитарный характер с преобладанием макро-овалоцитов, наличием крупных гиперсегментированных нейтрофилов; в тяжелых случаях отмечаются нейтропения и тромбоцитопения.

Секрция пепсина, хлористоводородной кислоты нормальная, хотя возможна переходящая гипохлоргидрия. При фиброгастроскопии слизистая оболочка желудка нормальная. Активность ВФ не определяется ни

биологическими, ни иммунологическими методами. АТ к париетальным клеткам желудка и ВФ не выявляются. Содержание Сbl в сыворотке крови снижено, определяется аномальный тест Шиллинга [Saudubray J.-M. et al., 1995]. Содержание железа и фолиевой кислоты в сыворотке крови нормальное или повышенное, активность сывороточной лактатдегидрогеназы повышена, отмечается умеренное повышение содержания билирубина в сыворотке крови. Экскреция с мочой метилмалоновой кислоты увеличена (в норме 0—3,5 мг/сут).

При изучении семейного анамнеза у гетерозиготных по заболеванию родителей и у некоторых других членов семьи выявляются признаки нарушения абсорбции кобаламина. У некоторых больных заболевание проявляется позднее — в возрасте 14—18 лет. У них имеется сниженная активность ВФ.

М.Катц и соавт. (1972) описали 13-летнего мальчика с мегалобластной анемией. Родители — кровные родственники. У ребенка были признаки врожденного дефицита ВФ, хотя содержание его было нормальным. Однако биологически он был инертен, т. е. у больного имелся функционально неактивный ВФ. При наличии структурных изменений ВФ не способен фиксироваться к рецепторам энтероцита либо может быть усиленная дегградация ВФ в желудке, либо ВФ не способен связываться с витамином В₁₂ [Zittoun J., 1995].

Для лечения используют препараты Сbl для внутримышечного введения. Первоначально вводят 1 мг гидроксикобаламина; на 2—4-й день наступает ретикулоцитарный криз. При отсутствии неврологических осложнений эту дозу вводят не менее 2 нед ежедневно, а затем переходят на поддерживающее лечение этой же дозой препарата 1 раз в месяц. Больные нуждаются в поддерживающей терапии всю жизнь.

Синдром Иммерслунд — Гресбека. Впервые синдром был описан в Норвегии O.Imerslund (1959) и в Финляндии R.Gräsbeek и соавт. (1960). С тех пор описаны большое число больных во многих странах, включая СССР [Левицкая С.В. и др., 1963; Полищук Р.С. и др., 1986]. Синдром наследуется аутосомно-рецессивно (болеют лица обоего пола), характеризуется мегалобластной анемией, обусловленной селективной мальабсорбцией CbI , и персистирующей протеинурией. Обычно первые признаки синдрома появляются в возрасте 7—24 мес, но могут наблюдаться и позднее. Клинические признаки синдрома — как при врожденном дефиците ВФ.

Секреция хлороводородной кислоты и ВФ в желудке нормальные, тест Шиллинга указывает на мальабсорбцию, не корригируемую экзогенным введением ВФ. Содержание витамина B_{12} в сыворотке крови резко снижено.

Причина селективной мальабсорбции витамина B_{12} полностью не ясна. У больных нормально образуется комплекс ВФ — CbI . Гистологически клетки слизистой оболочки тонкой кишки несут специфические рецепторы для комплекса ВФ — витамин B_{12} , гомогенат слизистой оболочки нормально связывает этот комплекс. Возможно, мальабсорбция при этом синдроме связана с нарушением фиксации комплекса на рецепторе и проникновения витамина в эритроцит. По данным J.Burman и соавт. (1982), при синдроме анемия обусловлена неустойчивой связью рецепторов клеток слизистой оболочки кишки с комплексом ВФ — витамин B_{12} . E.Schwartz (2000) указывает на то, что синдром связан с дефектом гена CUBN, расположенного на хромосомах 10-й пары (10p12.1), вследствие чего снижается экспрессия активного рецептора для комплекса ВФ — витамин B_{12} . Усвое-

ние, перенос внутрь клетки и связывание этого комплекса происходит при участии белка эпителия кишечника, называемого Cubilin [Moestrup S. et al., 1998]. Cubilin обнаруживается в клетках эпителия кишечника, желточного мешка и проксимальных tubules, т. е. в тканях, обладающих способностью связываться с комплексом ВФ — CbI . Молекулярной основой болезни является нарушение синтеза cubilin и его связывания с лигандом [Kozuyaki R. et al., 1998].

Помимо анемии, у больных нередко отмечается протеинурия, генез которой также не ясен. Показатели функционального состояния почек нормальные, хотя возможно незначительное уменьшение почечной фильтрации. В моче определяются в основном белки средне- и низкомолекулярные, но в небольшом количестве могут обнаруживаться высокомолекулярные белки типа IgG. При ультраструктурном исследовании биоптата почек патологические изменения обычно не выявляются, но у некоторых больных наблюдались незначительные признаки хронической гломерулопатии. Обычно протеинурия уменьшается в период ремиссии. Длительное наблюдение за больными (до 20 лет) не выявило у них признаков почечной недостаточности. У некоторых больных может отмечаться персистирующаяся аминоацидурия.

Существуют варианты этого синдрома. Так, S.Urban и соавт. (1981) описали троих детей (двое из них — братья) с селективной мальабсорбцией CbI , но болезнь протекала без протеинурии. I.Auchterlonic и соавт. (1985) описали 7-месячного ребенка, у которого первые признаки мальабсорбции проявились в виде рвоты, задержки развития, протеинурии, метилмалоновой ацидурии, макроцитоза Эр, но без анемии. В последующем у ребенка развилась анемия. После лечения цианокобаламином исчезли

рвота, масса тела стала увеличиваться, исчезла метилмалоновая ацидурия, но сохранялась протеинурия.

Лечение проводят парентеральным введением Сб₁. После наступления ремиссии всю жизнь проводят поддерживающее лечение, как и при врожденном дефиците ВФ.

Наследственный дефицит и функциональные аномалии транскобаламина II. Это редкое аутосомно-рецессивно наследуемое заболевание. В 1971 г. N.Накаму и соавт. впервые описали дефицит ТК II у двоих младенцев 3- и 5-недельного возраста с мегалобластной анемией. В последующие годы число описанных больных пополнилось [Mayes J. et al., 1987; Arrabal M. et al., 1988]. У гетерозиготов содержание ТК II составляет 50% от нормы, у них нет клинических и гематологических признаков заболевания. У гомозиготов полностью отсутствует ТК II [Schwartz E., 2000]. Его отсутствие вызывает глубокий дефицит витамина В₁₂ в клетках, однако в сыворотке крови его содержание остается нормальным. Это объясняется тем, что в сыворотке крови определяется как свободный цианокобаламин, так и связанный с ТК I. Вследствие внутриклеточного дефицита цианокобаламина нарушается процесс метилирования гомоцистеина с синтезом de novo метионина, происходит перестройка метилмалонил-СoA в сукцинил-СoA [Reges A. et al., 1997].

При дефиците ТК II дети рождаются с нормальными показателями крови. В период новорожденности нередко отмечаются общие признаки соматического неблагополучия (вялость, плохой аппетит, замедленное увеличение массы тела), могут быть рвота, диарея, склонность к инфекциям. Инфекционные осложнения (респираторные, легочные, кишечные, стоматит и др.) могут протекать очень тяжело. Эти инфекции являются отражением иммунологических

нарушений, которые нередко сопутствуют дефициту ТК II: гипо- и агаммаглобулинемия, нарушения фагоцитарной и бактерицидной функций нейтрофилов, корригируемые лечением витамином В₁₂. Если новорожденным не назначали Сб₁, то в возрасте 2—6 мес, а иногда и раньше у них развивается типичная картина мегалобластной анемии (глоссит, поражение нервной системы, анемия, лейкопения с нейтропенией, тромбоцитопения).

Описаны дети с дефицитом ТК II, у которых в костном мозге отмечалась гипоплазия эритроидного и мегакариоцитарного ростков в сочетании с увеличением содержания молодых форм миелоидного ряда, и картина костномозгового пунктата симулировала ОЛ [Zittoun J., 1995].

Диагноз устанавливают на основании типичной клинико-гематологической картины, верифицируют путем определения содержания ТК II. Обычно содержание фолатов и кобаламина в сыворотке крови нормальное.

Описаны дети, у которых его концентрация была низкой [Carmel R. et al., 1984; Saudubray J.-M. et al., 1995]. Увеличение содержания ТК II отмечается при системных заболеваниях соединительной ткани, миеломной болезни и др. [Reges A. et al., 1997].

Помимо больных с истинным дефицитом ТК II, встречаются больные с функциональным дефицитом, обусловленным наличием аномальной молекулы белка (дисфункциональная форма), вследствие чего не происходит фиксация комплекса ТК II — витамин В₁₂ к специфическим рецепторам клеток. Клинико-гематологические проявления у таких больных не отличались от таковых у больных с отсутствием ТК II. О первом подобном больном сообщили F.Naugani и соавт. (1979). У девочки 12 лет отмечалась панцитопения,

мегалобластная анемия. Лечение фолиевой кислотой и кобаламином нормализовало клиническое состояние ребенка.

Содержание витамина В₁₂ в сыроворотке крови было повышено. При иммунологическом исследовании содержание ТК II было нормальным, но он не обладал способностью связываться с кобаламином. Этот вариант ТК II назван «Кардеца».

В наблюдении P.Seligman и соавт. (1980) у девочки с 6-месячного возраста отмечались панцитопения, мегалобластная анемия; содержание фолатов и витамина В₁₂ в сыроворотке крови было нормальным. У больной был иммунореактивный ТК II, не обладавший способностью связываться с витамином В₁₂. Ребенок был двойным гетерозиготом — у отца отсутствовал ТК II, а у матери определялся аномальный ТК II. S.Rana и соавт. (1983) описали больного с панцитопенией и гипопластическим костным мозгом, у которого определялась дисфункциональная форма ТК II.

Описаны больные с врожденным дефицитом ТК I и ТК III. Они не сопровождаются гематологическими изменениями; исключение составляет наблюдение J.Zittoun и соавт. (1995), когда у больного имелось сочетание с дефицитом ВФ.

Лечение проводят парентеральным введением больших доз витамина В₁₂ (для восполнения его дефицита в тканях) — назначают по 1000 мкг гидроксикобаламина 2 раза в неделю парентерально. После нормализации клинической и гематологической картины заболевания проводят поддерживающее лечение — по 250—1000 мкг витамина В₁₂ ежемесячно в течение всей жизни. H.Zeitlin и соавт. (1985) описали ребенка, которому противорецидивное лечение с успехом проводилось гидроксикобаламином по 2 мг per os ежедневно.

Врожденные нарушения внутриклеточного метаболизма витамина В₁₂. В

последние годы было установлено, что нарушения обмена кобаламина могут отмечаться при нормальном содержании витамина В₁₂ в крови и протекать при отсутствии классических признаков мегалобластной анемии и нейропатии. При этих состояниях может изменяться содержание метаболитов в плазме крови — метилмалоновой кислоты и гомоцистеина, которые являются маркерами функции Cbl в тканях. Это связано с тем, что Cbl является кофактором ферментов метилмалонил коэзим А мутазы и метионинсинтетазы и изменения их каталитической активности приводит к аккумуляции в организме метилмалоновой кислоты и гомоцистеина [Ueland P. et al., 1993; Morsen A.-L. et al., 2001].

Нарушения внутриклеточного метаболизма витамина В₁₂ приводит к заболеваниям, отличающимся по клиническим проявлениям. Эти нарушения внутриклеточной утилизации Cbl связаны со снижением синтеза или задержкой образования одного или двух активных ферментов, или с дефицитом ферментов. Существуют несколько классов мутаций Cbl, которые в зависимости от их функций обозначают латинскими буквами от А до G. Однако только мутации, вовлеченные в процесс синтеза метилкобаламина, вызывают мегалобластную анемию; это относится к мутациям C, D, E, G [Schwartz E., 2000].

К этой группе относятся:

- 1) недостаточность (или задержка) синтеза аденозил-Cbl;
- 2) недостаточность (или внутриклеточная задержка) синтеза аденозил-Cbl и метил-Cbl;
- 3) недостаточность (или задержка) синтеза метил-Cbl;
- 4) снижение выделения Cbl лизоСОМАМИ.

Недостаточность (или задержка) синтеза аденозил-Cbl. Недостаточность (или за-

держка) синтеза аденозил-Cbl (син. — болезнь кобаламина А и В) связана с мутациями Cbl A и Cbl B. Эти мутации Cbl A и Cbl B соответствуют двум различным генетическим anomalies: мутация Cbl A может быть связана с дефицитом активности редуктазы митохондрий, а мутация Cbl B обусловлена дефицитом специфической аденозилтрансферазы. Следствием мутаций Cbl является то, что клетки неспособны синтезировать или же поддерживать на нормальном уровне аденозил-Cbl. Это приводит к тому, что происходит массивная экскреция с мочой метилмалоновой кислоты и по клинико-лабораторным проявлениям напоминает состояние, при которых имеется дефицит метилмалонил CoA мутазы. Содержание витамина B₁₂ в сыворотке крови нормальное, метаболизм метионина не изменен.

Болезнь не сопровождается мегалобластной анемией. Диагноз устанавливают на основании изучения фибробластов в культуре — в них снижены включение пропионата и синтез аденозил-Cbl.

Недостаточность (или внутриклеточная задержка) синтеза аденозил-Cbl и метил-Cbl. Болезнь связана с мутациями Cbl C и Cbl D (болезнь кобаламина C и D). Эта anomaly возникает на уровне первых этапов синтеза активного Cbl. Это приводит к тому, что у больных наблюдаются снижение содержания метионина в крови, гомоцистенурия и метилмалоновая ацидурия.

Мутация Cbl C и Cbl D относится к двум различным генетическим anomalies.

Дети, у которых наблюдается мутация Cbl C, уже с момента рождения или вскоре после него находятся в состоянии летаргии, возникают большие трудности в их кормлении. Они бледны, могут отмечаться судороги, ретинопатия, интерстици-

альная пневмония, миокардиопатии. Возможны внутриутробные нарушения развития плода, задержка роста, микроцефалия. Однако описаны больные, у которых клиническая симптоматика возникала в более позднем возрасте и даже в подростковом в виде анорексии, летаргии, деменции, психоза.

Если клинические проявления возникают рано, то часто отмечается мегалобластная анемия с тромбоцитопенией; нередко отмечается ГА с явлениями почечной недостаточности. У таких больных на аутопсии имеются признаки поражения сосудов почек, напоминающие ГУС [Sadubray J.-M. et al., 1995].

Лечение болезни Cbl C проводят путем парентерального введения гидроксикобаламина по 1 мг сначала ежедневно, а затем еженедельно, один раз в месяц. Под влиянием такого лечения признаки мегалобластной анемии, гомоцистенурии и метилмалоновая ацидурия регрессируют, уменьшаются психические нарушения, но миелопатия обычно персистирует.

Дети с мутацией Cbl D менее поражены. Клинически у них обычно выявляются признаки задержки умственного развития, психические нарушения. Мегалобластная анемия отсутствует [Carmel K. et al., 1982; Schuh S. et al., 1984].

Дефицит (или задержка) синтеза метил-Cbl. Эти болезни Cbl E и Cbl G связаны с наличием мутаций этих кобаламинов. Они обусловлены различными генетическими anomalies, которые выявляются комплементарными тестами и при определении активности метионинсинтетазы: при болезни Cbl E оба теста нормальные, а при болезни Cbl G — снижены.

При Cbl E происходит уменьшение восстановления Cbl. In vitro в культуре фибробластов выявляется снижение синтеза метил-Cbl при нор-

мальной активности метионинсинтетазы. Клинические проявления заболевания выявляются в первые недели жизни ребенка; отмечаются затруднения в кормлении, рвоты, задержка физического и психомоторного развития, склонность к инфекционным заболеваниям; признаки мегалобластной анемии с панцитопенией. При биохимическом исследовании крови выявляется снижение гомоцистеина и метионина, с мочой повышена экскреция гомоцистеина.

Для лечения болезни Cbl E используют парентеральное введение больших доз гидроксикобаламина (до 1 мг), под влиянием которого происходит регрессия клинических симптомов, нормализация содержания гомоцистеина в крови и исчезает гомоцистеинурия [Saudubray J.-M. et al., 1995].

При болезни Cbl G отмечаются те же клинико-гематологические и биохимические признаки, что и при болезни Cbl E, непостоянная гомоцистеинурия. Но в отличие от последней при болезни Cbl G наблюдаются снижение синтеза метилкобаламина в эритроблестах и уменьшение активности метионинсинтетазы, связанная с мутацией гена этого фермента [Rosenblatt D. et al., 1985; Schwartz E., 2000].

Снижение выделения Cbl лизосомами. Эта болезнь связана с наличием мутантной формы кобаламина — Cbl F. Болезнь встречается крайне редко. Описаны двое детей, у которых отмечалось накопление цианокобаламина в лизосомах клеток без его выделения в цитоплазму клеток. У одного младенца отмечались затруднения в кормлении, стоматит, судороги, общая гипотония и метилмалоновая ацидурия при отсутствии признаков мегалобластной анемии. У другого ребенка также наблюдалась метилмалоновая ацидурия, повышенное содержание гомоцистеина в крови, незначительная

анемия. Назначение гидроксикобаламина per os по 1 мг в день вызывало обратное развитие клинических симптомов и исчезновение метилмалоновой ацидурии [Zittoun J., 1995].

ПРИОБРЕТЕННЫЕ ФОРМЫ ВИТАМИН В₁₂-ДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

Приобретенные формы дефицита витамина В₁₂ отмечаются значительно чаще, чем наследственные формы, и обусловлены различными причинами. К их числу относятся: 1) дефицит витамина В₁₂ у матери; 2) недостаточность поступления витамина В₁₂ с пищей; 3) мальабсорбция витамина В₁₂; 4) повышенная утилизация Cbl.

Дефицит витамина В₁₂ у матери может протекать субклинически, но у ребенка в течение первых недель жизни развиваются мегалобластная анемия, задержка развития, неврологические симптомы (вялость, сонливость, гипертония мышц, хаотичные движения конечностей и др.). Как правило, при дефиците витамина В₁₂ у матери мегалобластная анемия у ребенка возникает в возрасте 7—24 мес, но может и раньше [Luong R. et al., 1998; McMullin M. et al., 1998]. Клинико-гематологическая симптоматология обычно сопровождается метилмалоновой ацидурией, гомоцистеинурией. Своевременное лечение Cbl быстро ликвидирует эти аномальные признаки дефицита витамина. В.Lampkin и соавт. (1966) описали 4-месячного мальчика с тяжелой мегалобластной анемией, находящегося на грудном вскармливании. У матери была субклиническая форма пернициозной анемии, содержание кобаламина в грудном молоке было снижено. После назначения витамина В₁₂ все патологические изменения у ребенка исчезли. Сходный случай описали M.Higgenbottom и соавт. (1978) у 6-месячного ребенка, у которого мегалобластная анемия

протекала с метилмалоновой ацидурией и гомоцистеинурией.

Недостаточность поступления витамина В₁₂ с пищей наблюдается редко, главным образом у вегетарианцев.

Мальабсорбция витамина В₁₂. Эта приобретенная форма дефицита витамина может возникать вследствие:

1) приобретенного дефицита ВФ (пернициозная анемия, резекция желудка, тощей кишки);

2) хронических и опухолевых заболеваний желудка, тощей кишки, поджелудочной железы, болезни Крона;

3) наличия конкурирующих паразитов (широкий лентец, синдром «слепой кишки»);

4) длительного приема медикаментов (неомицина сульфата, циметидина, метформина, ПАСК — натрия).

По данным I. Palva (1962), при инвазии широким лентецом у 38% больных отмечается субнормальное содержание витамина В₁₂ в сыворотке крови, признаки мегалобластной анемии — у 9%, развернутая картина мегалобластной анемии — у 2%. S. Wright и соавт. (1977) указывают, что у 50% пациентов с лямблиозом имеется мальабсорбция Сbl, которая проходит после лечения лямблиоза. По-видимому, это связано с воздействием лямблий на энтероцит. Синдром «слепой кишки» — это состояние, связанное с анатомическим изменением тонкой кишки (стриктура, дивертикулы, анастомозы, слепые отростки), вследствие чего пища туда не попадает. Большое количество микроорганизмов поглощают витамин В₁₂, в результате чего возникает дефицит Сbl. Сходная картина отмечается при целиакии.

При повышенной утилизации Сbl развивается дефицит витамина В₁₂. Это наблюдается при злокачественных новообразованиях, гипертиреозидизме и др. [Murphy M. et al., 1986; Fossat C., 1998; Carlsson A. et al., 2001].

Пернициозная анемия (болезнь Бирмера). Пернициозная анемия обусловлена неадекватной секрецией ВФ. Имеется четкая зависимость ее частоты от возраста. Так, в возрасте от 6 мес до 1 года она наблюдается у 1 ребенка на 1 млн детей; от 1 года до 10 лет — 1 на 10 000, от 30 до 40 лет — 1 на 5000 жителей и в возрасте 60—70 лет — 1 на 200 [Herbert V., 1985]. Заболевание чаще наблюдается у жителей Северной Европы (1:10 000), семейная предрасположенность, иногда дизиммунные состояния (диабет, тиреозидит Хашимото, моноклональная гаммапатия, синдром Шегрена и др.) [Goh B. et al., 1997].

Причины дефицита ВФ могут быть разнообразными. Часто отмечается синдром мальабсорбции, связанный с атрофией слизистой оболочки желудка, низким уровнем секреции ВФ, пепсина и хлористоводородной кислоты. У больных часто обнаруживаются АТ к цитоплазме и АГ мембраны париетальных клеток желудка, которые могут быть причиной развития атрофии слизистой оболочки желудка, снижения секреции ВФ [Aizpurua H. et al., 1985]. Другой причиной дефицита ВФ могут быть обнаруживаемые у 90% больных аутоАТ, «блокирующие» ВФ или комплекс Сbl—ВФ, или «связывающиеся» с ним. Это приводит к ингибированию процесса абсорбции витамина в подвздошной кишке, а в некоторых случаях — синтеза ВФ. Появление сывороточных АТ к ВФ и отсутствие последнего в желудке новорожденного ребенка может быть следствием трансплацентарной передачи матерью плоду [Goldberg L., 1967]. Однако в наблюдении P. Charache и соавт. (1968) наличие материнских анти-ВФ АТ у ребенка не сопровождалось изменением количества ВФ в желудке. Нередко у больных и у членов семьи отмечаются нарушения функции эндокрин-

ных желез (щитовидной, паращитовидной, надпочечников, яичников) с появлением аутоАТ к клеткам этих желез, кандидоз, иммунологические нарушения [Chal J. et al., 1998]. Аутоиммунные заболевания с появлением цитотоксических аутоАТ наблюдаются у 50% лиц с болезнью Бирмера [Fossat C., 1998]. Исходя из этого, можно полагать, что у ряда больных имеется генетическая предрасположенность к развитию органоспецифических АТ. У некоторых больных в развитии витамин В₁₂-дефицитной анемии имеют значения иммунные механизмы.

Клинические проявления пернициозной анемии у детей развиваются после 2-летнего возраста, чаще во второй декаде жизни, а у взрослых — после 50 лет. Симптомы болезни появляются постепенно. Первоначально отмечаются ухудшение аппетита, отвращение к мясу, иногда тошнота, рвота и другие диспепсические явления. Затем появляются повышенная утомляемость, головокружение, сердцебиение, афтозный стоматит, атрофия сосочков языка, может отмечаться «лакированный» язык. Больные имеют одутловатый вид, кожа и видимые слизистые оболочки бледные, нередко с субиктеричным оттенком. Отмечаются трофические изменения — сухость кожи, ломкость ногтей и волос. Редко наблюдаются кровоизлияния на коже, незначительное увеличение печени и селезенки, поражение нервной системы (парестезии, нарушение чувствительности, изменения рефлексов, признаки полиневрита). При ходьбе у больных может быть ощущение «ватных» ног. Чаше неврологическая симптоматика выявляется при исследовании функций нижних конечностей, но при прогрессировании процесса отмечается восходящее распространение процесса. Редко возможны психические нарушения (галлюцинации слуховые и зритель-

ные, бред и др.). Поражение нервной системы связано с нарушением синтеза миелина.

Диагноз основывается на клинических данных, но решающими являются лабораторные показатели, указывающие на характерные признаки мегалобластной анемии в крови и костном мозге. При этом для ранней диагностики важное значение имеет не столько количественные, сколько качественные изменения гемопоза, морфологические изменения (макроцитоз и гиперхромия Эр, наличие в них телец Жолли, гиперсегментация ядер нейтрофилов и др.), снижение числа ретикулоцитов. Часто выявляется нейтро- и тромбоцитопения, значительно повышено количество апоптозных клеток в костном мозге. Следует помнить о том, что назначение витамина В₁₂, фолиевой кислоты, переливания крови, инфекция и др. до установления диагноза может «стусевать» важный диагностический признак — мегалобластные изменения в костном мозге (в окрашенных мазках костный мозг «синий», эритрокарициты составляют 35—40% и более и др.). Содержание Сbl в сыворотке крови снижено, за исключением случаев, обусловленных дефицитом ТК II. Содержание фолатов в сыворотке крови нормальное, но в Эр снижено. Концентрация билирубина и железа в сыворотке крови обычно несколько повышена, что связано с увеличенной деструкцией эритробластов в костном мозге. Отмечается метилмалоновая ацидурия. В норме за 24 ч с мочой экскретируется 0—3,5 мг метилмалоната, а при дефиците Сbl его экскреция возрастает в несколько десятков раз. В отличие от фолиево-дефицитной анемии при пернициозной анемии наблюдается увеличение содержания β-лейцина [Poston J., 1980].

Для уточнения причины дефицита необходимо исследовать желудочно-

кишечный тракт (секрецию желудочного сока, его состав и кислотность, произвести фиброгастроскопию, биопсию слизистой оболочки желудка и др.). При пернициозной анемии у больных отмечается атрофия слизистой оболочки желудка, особенно в области дна; при гистологическом исследовании — атрофия, инфильтрация ее лимфоцитами и плазматическими клетками, отмечается ахилия и ахлоргидрия. Тест Шиллинга аномален — с мочой выделяется 5—10% радиоактивного Сb1 и более, что свидетельствует о мальабсорбции витамина В₁₂. Используют также специальные методы исследования — определение активности ферментов, участвующих во внутриклеточном метаболизме витамина В₁₂, содержание последнего в сыворотке крови, определение ТК II, АТ к париетальным клеткам, ВФ, комплексу ВФ — Сb1 и др.

У 80% больных с пернициозной анемией в сыворотке крови обнаруживаются АТ к париетальным клеткам (неспецифические), а у 50% — специфические АТ к ВФ. Эти IgG АТ могут быть двух типов: тип I — блокирующие место фиксации витамина В₁₂ к ВФ, тем самым ингибирующие образование комплекса ВФ — Сb1; тип II — преципитирующие АТ, которые фиксируются на ВФ и препятствуют прикреплению комплекса ВФ — Сb1 к рецепторам клеток слизистой оболочки кишки. Кроме того, в желудочном соке могут обнаруживаться АТ к париетальным клеткам и анти-ВФ II типа, которые относятся к IgG или образуются локально и относятся к IgA.

При неадекватной абсорбции витамина В₁₂ у больных, по данным V. Herbert (1985), последовательно развиваются следующие признаки: в течение 1—2 лет после возникновения мальабсорбции отмечаются снижение содержания витамина В₁₂ в сыворотке крови (менее 200 нг/л при норме более 250 нг/л), ранние

изменения морфологии клеток крови и костного мозга (гиперсегментация нейтрофилов, увеличение среднего объема Эр), метилмалоновая ацидурия, повышенная экскреция с мочой формиминоглутамата; через 1½—2 года появляются ранние признаки поражения спинного мозга; через 2—3 года содержание Сb1 в плазме крови менее 150 нг/л, связанного с белками плазмы — менее 10% (в норме 40% ± 10%), мегалобластный костный мозг, содержание фолатов в Эр снижено, в сыворотке крови нормальное или повышенное; через 2½—3 года — признаки тяжелого поражения нервной системы.

Лечение витамин В₁₂-дефицитной анемии комплексное. При приобретенных формах необходимо устранить причины, вызвавшие дефицит (рациональное вскармливание, отмена лекарств, дегельминтизация, антибактериальная терапия, хирургические вмешательства и др.). Для лечения используют цианокобаламин и гидроксикобаламин. Предпочтение отдают последнему, так как его максимальная концентрация в крови достигается через 2 ч после введения, он прочнее связывается с белками сыворотки крови, в меньшей степени экскретуруется с мочой. Лечебная доза составляет 200—1000 мкг (в зависимости от возраста), препарат вводят один раз в день в течение 10 дней. После наступления ретикулоцитарного криза дозу Сb1 вводят через день до полной нормализации гематологических показателей, а затем 1 раз в месяц, может быть пожизненно, в зависимости от этиологии болезни. При отмене поддерживающего лечения рецидив возникает в течение 4 лет. Эффективность лечения определяется рядом показателей. Так, уже через 48—72 ч происходит смена мегалобластного на нормобластический тип кроветворения. Наряду с этим отмечается снижение содержания билирубина в сы-

воротке крови. На 3—5-е сутки от начала лечения повышается количество ретикулоцитов, достигающее максимума на 4—10-й день. Повышение показателей красной крови происходит с конца первой недели лечения, увеличение числа Эр происходит со скоростью $(0,5...1) \times 10^{12}/л$ в неделю. Макроцитоз Эр исчезает постепенно. Изменения гранулоцитарного и тромбоцитарного ростков происходит медленнее. В период восстановления эритропоэза повышается потребление железа, вследствие чего может развиваться гипосидеремия с гипохромией Эр, иногда может отсутствовать ретикулоцитоз. В этих случаях следует назначить препараты железа в дополнение к терапии Сb1. Обычно достижение нормальных показателей Эр, лейкоцитов и тромбоцитов происходит к концу 2-го месяца лечения. В период лечения возможно повышение в сыворотке крови и в моче содержания мочевой кислоты, снижение содержания железа в сыворотке крови. Иногда у больных развивается гипокалиемия, приводя к внезапной смерти, поэтому необходим контроль за содержанием K^+ в сыворотке крови, при развитии гипокалиемии проводят заместительную терапию. При введении витамина В₁₂ возможны анафилактические реакции, которые представляют большую проблему при лечении таких больных, поэтому во избежании этих осложнений для профилактики рекомендуется введение дексаметазона [Guillevin L., 1998].

Лечение фолиевой кислотой неэффективно. Более того, отмечено, что при наличии неврологической симптоматики последняя может прогрессировать. Трансфузии эритроцитарной массы используют только при наличии гемодинамических расстройств, коме.

При фуникулярном миелозе эффективен кобаламид, являющийся коферментной формой витамина В₁₂.

Обычно нейроанемический синдром является следствием запущенности процесса, когда вовремя не предпринято патогенетическое и этиологическое лечение. Этот синдром проявляется в виде склеротических изменений в костном мозге в сочетании с синдромом пирамидных нарушений (гиперрефлексов, симптом Бабинского двусторонний и др.), парестезий нижних конечностей, нарушений походки, чувствительности и др. Под влиянием лечения синдром регрессирует, но очень медленно, сохраняются остаточные явления. Хотя основные клинические признаки со стороны желудочно-кишечного тракта исчезают, но сохраняются ахилия, ахлоргидрия, недостаток ВФ.

Имеются указания, что при наличии аутоАТ к ВФ эффективно применение кортикостероидов, способствующих обратному развитию клинических проявлений пернициозной анемии, снижению содержания АТ к ВФ в сыворотке крови, появлению ВФ в желудочном секрете [Rodbro P. et al., 1967].

При своевременной диагностике и правильном лечении, включая противорецидивную терапию, прогноз при пернициозной анемии благоприятный. Но следует помнить о том, что атрофия слизистой оболочки желудка предрасполагает к развитию рака [Macukanovic-Golubovic V. et al., 1998]. Отсутствие эффекта от лечения Сb1 указывает на неправильный диагноз.

МЕГАЛОБЛАСТНАЯ АНЕМИЯ, СВЯЗАННАЯ С ДЕФИЦИТОМ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ

Вне зависимости от причин, вызвавших дефицит фолиевой кислоты, у больных развивается мегалобластная анемия; это могут быть врожденные и приобретенные состояния.

МЕТАБОЛИЗМ ФОЛАТОВ В ОРГАНИЗМЕ

Под фолатами подразумевают фолиевую кислоту и ее дериваты. Фолиевая кислота — это птероилглутаминовая кислота. Биологически активными формами являются восстановленные формы: дигидрофолиевая кислота (DHF) и тетрагидрофолиевая кислота (THF) и ее дериваты — метил-, метилен- и формилTHF. Последние периодически переходят одна в другую, но цикл всегда проходит через THF. Фолаты не синтезируются в клетках и тканях животных, они термолабильны, легко разрушаются при кипячении, при оксигенации, являются водорастворимыми. В пищевых продуктах и в клетках организма содержатся производные фолиевой кислоты — фолиевокислые соли. Последние представлены в виде полиглутаматов. Фолатами наиболее богата говяжья печень (107 г/кг), куриная печень (3,6 г/кг), салат (20 г/кг), спаржа (11 г/кг); в коровьем и женском молоке их содержание 50 мкг/кг, в козьем — 6 мкг/кг. Полиглутаматы — это естественные формы, а фолиевая и фолиниевая кислоты (формилTHF) — терапевтические формы.

Суточная потребность в фолатах составляет 40—100 мкг, а у здорового человека при нормальном питании с пищей в сутки поступает 0,5—1 мг. Потребность в фолатах детей до одного года составляет около 50 мкг, но она выше у недоношенных детей. Полиглутаматы, находящиеся в пищевых продуктах, под действием конъюгазы абсорбируются в проксимальной части тощей кишки; под действием птероилглутаматгидролазы или конъюгазы в энтероците полиглутаматы расщепляются на моноглутаматы. Если при этом под влиянием дигидрофолатредуктазы образуется 5-метилтетрагидрофолат (5-MTHF), то он непосредственно поступает в кровь. Другие формы

трансформируются в 5-MTHF. Этот кофермент фолиевой кислоты является преобладающей формой в циркулирующей крови. При поступлении большого количества фолиевокислых солей возможна пассивная диффузия моноглутамата в кровь. Всасывание фолатов происходит в двенадцатиперстной кишке и проксимальной части тощей кишки. У детей грудного возраста абсорбция фолатов может увеличиваться за счет ВФ, находящегося в грудном и коровьем молоке [Colman N. et al., 1981]. 5-MTHF, поступивший в кровь, соединяется с различными белками (α_2 -макроглобулином, альбумином, Тф и др.), но часть фолатов остаются свободными. В циркулирующей крови фолаты находятся обычно в форме моноглутамата, преимущественно в виде 5-MTHF, и транспортируются к утилизующим его клеткам, которые быстро пролиферируют, в частности к костномозговым. Проникновение фолиевой кислоты в клетки происходит путем активного энергозависимого механизма с помощью специфического мембранного белка. В клетке 5-MTHF расщепляется на метил, который является источником синтеза метионина, и тетрагидрофолат (THF), который под влиянием полиглутаматсинтетазы полиглутаминизируется. Если процесс абсорбции фолатов не зависит от наличия витамина В₁₂, то процесс проникновения фолатов через мембрану и их накопления в клетке является витамином В₁₂-зависимым; поэтому при дефиците витамина В₁₂ отмечается высокая концентрация фолатов в сыворотке крови и низкая в Эр. Часть фолатов откладываются в виде запасов, в основном в печени и в небольших количествах в почках и поджелудочной железе. Резерв составляет 10—15 мг, и его достаточно для восполнения потребности организма не более, чем на 4 мес. Резерв в фолатах у новорожденных детей

обеспечивается поступлением от матери трансплацентарным путем, т. е. запасы у новорожденного определяются обеспеченностью фолатами организма матери. Минимальное количество фолатов (менее 10 нг/сут) экскретируется с мочой и калом.

У взрослых содержание фолатов в сыворотке крови составляет 6—20 мкг/л, а в Эр — 160—640 мкг/л. Содержание фолатов в сыворотке крови выше у пожилых людей, чем у молодых [Wald N. et al., 2001]. У новорожденных детей (доношенных и недоношенных) содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр значительно выше, чем у взрослых. В течение первых недель жизни содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр снижается, достигая показателей у взрослых, и в течение первого полугодия это снижение продолжается. Начиная со второго полугодия содержание фолатов постепенно увеличивается, достигая нормальных значений у взрослых в юношеском возрасте, однако в этом возрасте у 9% мальчиков и 4,7% девочек имеются промежуточные значения фолатов в сыворотке крови. В приложении 23 и 24 представлены данные о содержании фолатов в сыворотке крови и Эр у здоровых людей.

Еще менее устойчив баланс фолатов у недоношенных детей. Поскольку количество депонированных фолатов у них меньше, чем у доношенных, то снижение содержания фолатов в плазме крови и в Эр у них происходит раньше. Это связано как с повышенным потреблением фолатов в связи с интенсивным увеличением массы тела ребенка, так и, возможно, с увеличенной экскрецией с мочой.

Чем меньше масса тела ребенка при рождении, тем раньше (в возрасте 1—2 мес) и более выражен дефицит — отмечается резкое снижение содержания фолатов в плазме крови и в Эр, нередко наблюдается

экскреция формиминоглутаминовой кислоты. Более того, у некоторых детей развивается мегалобластная анемия.

Таким образом, у здоровых детей первого года жизни имеется более низкое содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр, и любые патологические состояния могут увеличить имеющийся дефицит.

ФУНКЦИЯ ФОЛАТОВ

И витамин В₁₂, и фолаты относятся к витаминам группы В. Оба они выполняют функцию коферментов и вместе со специфическими ферментами участвуют во многих метаболических реакциях, необходимых для синтеза тимидилата, пуринов, метионина, превращения метилмалоновой кислоты в сукциниловую кислоту.

Фолаты участвуют в синтезе тимидилатмонофосфата (dTMP), который включается в ДНК клеток, вызывая метилирование дезоксиридилатмонофосфата через 5-МТНФ. На уровне ТНФ и 5-МТНФ фолаты участвуют в биосинтезе аденила и гуанидина. Фолаты участвуют в катаболизме гистидина: формиминоглутаминовая кислота катаболизирует гистидин с превращением его в глутаминовую кислоту, а также в синтезе метионина, способствуя регенерации ТНФ и метионина. Поскольку фолаты являются коферментом витамина В₆, они обеспечивают взаимодействие между глицином и серином.

Фолаты, как и витамин В₁₂, участвуют в синтезе ДНК. Для синтеза ДНК необходимы пуриновые и пиримидиновые основания; синтез тимидилата непосредственно зависит от фолиевого кофермента (5-МТНФ) и косвенно от метилкобаламина. Их дефицит (одного или другого, или обоих) приводит к нарушению синтеза тимидилата, а следовательно,

ДНК. Фолаты (5-МТНФ) необходимы для превращения дезоксиуридина в тимидилат. Витамин В₁₂ участвует в восстановлении активных фолатов (ТНФ, начиная с 5-МТНФ).

Причины развития дефицита фолатов в организме могут быть врожденными, наследственными и приобретенными. Но в основном это приобретенные формы. К числу причин дефицита относятся: 1) недостаток поступления фолатов с пищей; 2) мальабсорбция; 3) повышенная потребность в фолатах; 4) повышенная потеря фолатов; 5) внутриклеточный дефицит ферментов, участвующих в метаболизме фолатов.

Недостаток поступления фолатов с пищей. Как указывают V.Herbert (1985), в 95% всех наблюдений дефицит фолатов связан именно с этой причиной. Это отмечается при соблюдении диеты с определенными ограничениями, вызванными физиологическими или патологическими состояниями (питание новорожденных детей доношенными и недоношенными детьми различными смесями, молоком, ограничения или исключения из пищевого рациона овощей, яиц, мяса и других продуктов, содержащих в досточном количестве фолаты); неправильной кулинарной обработке продуктов, специальной диете, назначенной при фенилкетонурии, хронических заболеваниях печени, при которых исходно уже имеется дефицит; длительное парентеральное питание.

Недостаточность фолатов всегда отмечается у недоношенных детей и новорожденных, родившихся от матерей с дефицитом фолиевой кислоты. Поэтому беременной в течение III триместра следует назначать ежедневно прием фолиевой кислоты по 1—5 мг; это благоприятно действует на ребенка и массу его тела. Кормление грудным молоком также может усиливать дефицит фолиевой кислоты в организме, особенно если у матери имеется недостаток фолатов.

Мальабсорбция чаще всего связана с поражением кишечника, врожденным и приобретенным. Уменьшение всасываемости фолатов наблюдается при хронической диарее, энтеропатии, целиакии, недостаточности поджелудочной железы, тропической и нетропической спру, частичной резекции тощей кишки, дерматите герпетиформном, синдроме «слепой кишки», опухолевых заболеваниях кишечника, системных инфекциях и др.

При целиакии недостаточность фолиевой кислоты часто сопровождается лейкопенией, нейтропенией и тромбоцитопенией, отмечается не только недостаточность фолатов, но и гипосидерия. В связи с этим анемия может быть нормохромной нормоцитарной. Диагностику болезни проводят с помощью теста с использованием D-ксилозы, который аномален, производят также биопсию слизистой оболочки тонкой кишки, при гистологическом исследовании которой выявляется атрофия ворсинок [Zittoun J., 1995; Carlsson A et al. 2001].

Повышенная потребность в фолатах наблюдается у детей любого возраста, но особенно у недоношенных детей и детей первого года жизни, у беременных женщин (особенно при многоплодии), при хронических ГА (врожденные и приобретенные ГА, талассемия, различные типы гемоглобинопатии), хронических воспалительных процессах (туберкулез, экфолиативный дерматит, ревматоидный артрит и др.), неопластическом процессе (лейкозы, рак и др.), гипертиреозидизме и др.

При регенераторных ГА любой этиологии имеется повышенная потребность в фолатах. При их недостатке может отмечаться панцитопения, аплазия костномозгового кроветворения. Поэтому при этих состояниях рекомендуется ежедневный прием фолиевой кислоты. Тяжелые ин-

фекционные заболевания могут вызывать у больных острый недостаток фолатов, особенно при несбалансированном питании, мальабсорбции и наличии других причин, способствующих повышенному потреблению (потере) фолатов. Этот острый недостаток всегда наблюдается у больных, которым оказывают реанимационные мероприятия. У таких больных с недостатком фолатов наблюдаются признаки мегалобластной анемии с выраженной тромбоцитопенией и геморрагическим диатезом. Таким больным необходимо рекомендовать ежедневные инъекции фолиевой кислоты в больших дозах, иногда до 50 мг [Di Gialluly E. et al., 1987].

Злокачественные образования (солидные опухоли, острый лейкоз, миелопролиферативные заболевания и др.) нередко сопровождаются дефицитом фолатов. Однако назначение фолиевой кислоты несет риск увеличения пролиферации злокачественных клеток.

Повышенная потеря фолатов происходит при почечной и сердечной недостаточности, хроническом гемодиализе, некрозе печени, псориазе и др.

Внутриклеточный дефицит ферментов, участвующих в метаболизме фолатов, может быть наследственного (дигидрофолиевой редуктазы, 5-метилтетрагидрофолаттрансферазы, формиминотрансферазы) и приобретенного характера — при приеме антагонистов фолиевой кислоты (метотрексат, бактрим, хлоридин, тримтерен и др.), пероральных контрацептивов, антиэпилептических (гидантоин, фенобарбитал) [Føssat C., 1998].

Клинические признаки дефицита фолиевой кислоты у детей младшего возраста характеризуются нарастающей вялостью, анорексией, задержкой увеличения ростовесовых показателей, склонностью к желудочно-

кишечным расстройствам. Могут отмечаться глоссит, учащение инфекций. Недостаток фолатов в организме может вызвать появление неврологических симптомов — периферической нейропатии, атаксии, которые регрессируют после лечения фолиевой кислотой. Судорожные кризы, задержка психомоторного развития наблюдаются при нарушениях метаболизма фолатов, поскольку последние влияют на развитие и созревание ЦНС [Hall C., 1990; Abkowitz J. et al., 1992]. Отмечено также, что при наличии психоневрологических нарушений (эпилепсия, шизофрения) дефицит усугубляет их течение. Гематологически определяются признаки мегалобластной анемии, пик которых возникает в возрасте 4—7 мес, иногда раньше, чем ЖДА.

Динамика появления клинических, гематологических и биохимических изменений в процессе развития дефицитного состояния у взрослого прекрасно описана V. Herbert (1962) у добровольца — врача, которому была назначена диета с низким содержанием фолиевой кислоты (5 мкг при суточной потребности 50—100 мкг). Через 3 нед после начала опыта у обследуемого отмечено низкое содержание фолатов в сыворотке крови (менее 3 мкг/л), в пунктате костного мозга увеличились размеры нормобластов. Через 5 нед в пунктате костного мозга появились гиперсегментированные нейтрофилы. Через 7 нед последние обнаруживались в периферической крови, а в костном мозге было повышено количество аномально митотически делящихся клеток, выявлялись базофильные мегалобласты. Через 10 нед в пунктате костного мозга определялись гигантские метамиелоциты и полихроматофильные мегалобласты. Через 13 нед в моче обнаруживалась формиминоглутаминовая кислота, а через 14 нед в пунктате костного мозга определялись оксифильные ме-

галобласты, к 17 нед отмечалось низкое содержание фолатов в Эр. Через 18 нед — макрооцитоз Эр, в пунктате костного мозга большое количество гигантских метамиелоцитов. Спустя 18—20 нед после начала опыта выявлена развернутая картина мегалобластной анемии. После назначения фолиевой кислоты *per os* все симптомы быстро исчезли.

Установить дефицит фолиевой кислоты можно с помощью следующих диагностических критериев:

1) анемия макроцитарная, снижено число ретикулоцитов; может быть нейтро- и тромбоцитопения, гиперсегментация нейтрофилов;

2) наличие мегалобластов в пунктате костного мозга, могут обнаруживаться и в периферической крови;

3) раннее начало болезни у детей в течение первых 3—6 мес жизни;

4) анамнез — нарушения в диете, мальабсорбция, прием медикаментов и др.;

5) низкое содержание фолатов в сыворотке крови, особенно показательное — снижение в Эр, повышенная экскреция с мочой формиминоглутаминовой кислоты после приема гистидина;

6) повышенное содержание ненасыщенных R-биндеров, а иногда и ТК II в плазме крови;

7) полный терапевтический эффект при назначении физиологических доз кислоты фолиевой [Lewis M. et al., 1985; Schwartz E., 2000].

Лечение дефицита фолатов должно быть комплексным. Назначают диету, соответствующую возрасту, исключают факторы, спровоцировавшие дефицит. Фолиевую кислоту назначают *per os* по 200 мкг/сут или парентерально (при плохой переносимости). При эффективном лечении гематологическое улучшение наступает через 72 ч, ретикулоцитарный криз, повышение числа лейкоцитов и тромбоцитов наблюдается к концу

1-й недели; со 2-й недели исчезают гиперсегментированные нейтрофилы, увеличивается содержание Нв и число Эр. Лечение продолжают в течение 3—4 нед.

При беременности у 25% женщин отмечается низкое содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр; поэтому с начала беременности назначают ежедневно до 400 мкг фолиевой кислоты, чтобы предупредить дефекты развития нервной системы у плода. Хотя у матери имеется дефицит фолатов, тем не менее у ребенка запас их нормальный, так как передача фолатов плоду происходит против градиента через рецепторы фолатов плаценты [Marti-Cfrvajal A. et al., 1998; Mc Mullin M. et al., 1998]. При диффузных воспалениях и дегенеративных изменениях тонкой кишки снижены активность кишечной птероилглутаматгидролазы и абсорбция фолатов, поэтому при приеме *per os* фолиевой кислоты следует назначать более высокие дозы (до 1 мг/сут) либо вводить ее парентерально.

Профилактика дефицита должна включать в себя рациональное питание. При наличии отягчающих моментов (инфекция, мальабсорбция, недоношенность и др.) следует назначать фолиевую кислоту в дозе 20—50 мкг.

ВРОЖДЕННАЯ МАЛЬАБСОРБЦИЯ ФОЛАТОВ

Это редкое аутосомно-рецессивно наследуемое заболевание характеризуется мальабсорпцией фолатов, вследствие чего развивается мегалобластная анемия.

Впервые это состояние было описано A.Luhby и соавт. в 1961 г. Все больные — девочки. Первые признаки заболевания у них возникли в возрасте 3 мес в виде тяжелой мегалобластной анемии, персистирующей

диарей, анорексии, стоматита, глосситы. Отмечалась задержка психомоторного развития. Двое из четверых детей были сиблинги [Luhby A. et al., 1961, 1965]. У одного ребенка на фоне тромбоцитопении было кровоизлияние в головной мозг, у другого наблюдалась эпилепсия [Lanzkowsky P., 1970].

При данном заболевании имеется нарушение абсорбции фолатов в кишечнике, нарушен транспорт из кишечника в плазму крови и из последней через гематоэнцефалический барьер. В норме содержание фолатов в спинномозговой жидкости в 2—3 раза выше, чем в плазме крови. Проявления болезни возникают в течение первых недель жизни ребенка в виде мегалобластной анемии, физической и умственной отсталости, общей гипотонии, судорог, появления кальцификатов в головном мозге. У всех больных отмечается низкое содержание фолатов в крови. Эр и спинномозговой жидкости. Абсорбция жира, глюкозы, витаминов А и В₁₂ не нарушена; данные гистологического исследования биоптата слизистой оболочки тощей кишки — нормальные. При приеме per os повышенных доз фолатов их содержание в сыворотке крови в 20—100 раз ниже ожидаемого [Santiago-Borrero P. et al., 1973]. Назначение Сb1 и ВФ не дает никакого эффекта на клинико-гематологические показатели.

Для раннего и интенсивного лечения необходимо вводить внутримышечно фолиевую кислоту (5-формилтетрагидрофолат). Мегалобластная анемия хорошо корригируется внутримышечным введением фолиевой и фолиниевой кислотами. После лечения неврологические симптомы регрессируют непостоянно, с большой трудностью удается поддерживать нормальное содержание фолатов в спинномозговой жидкости, так что дозу препарата следует под-

бирать индивидуально [Zittoun J., 1995]. Для профилактики рецидива назначают препарат внутримышечно по 15 мг каждые 3—4 нед, пожизненно [Schwartz E., 2000].

НАСЛЕДСТВЕННАЯ МЕГАЛОБЛАСТНАЯ АНЕМИЯ ВСЛЕДСТВИЕ ДЕФИЦИТА АКТИВНОСТИ ДИГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ

Дигидрофолатредуктаза (DHFR) участвует в восстановлении дигидрофолиевой кислоты (DHF) в тетрагидрофолиевую (THF), в меньшей степени — фолиевой кислоты в DHF. При приобретенных формах дефицита DHFR является мишенью для антифолиевых лекарственных препаратов (метотрексат, триметаприм, пириметамин и др.).

Наследственная мегалобластная анемия, обусловленная дефицитом активности дигидрофолатредуктазы, встречается редко. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно.

Первые проявления заболевания могут отмечаться уже в период новорожденности, иногда в первые месяцы жизни. Клинические признаки variabelы — задержка физического и психомоторного развития, неврологические симптомы. В прошлом некоторые больные умирали в период новорожденности или же через несколько месяцев при картине мегалобластной анемии с панцитопенией. Гетерогенность проявлений болезни, по-видимому, связана с различными мутациями фермента. Характерными признаками болезни являются анемия, лейкопения и тромбоцитопения при отсутствии гиперсегментации нейтрофилов. В сыворотке крови определяется нормальное содержание фолатов и витамина В₁₂. Увеличена экскреция с мочой формиминоглутаминовой кислоты после дачи гистидина. Признаков оротовой ацидурии нет. В пунктате

костного мозга — типичные изменения мегалобластной анемии. Активность фермента в клетках биоптата печени резко снижена [Walters T., 1967; Schwartz E., 2000].

Лечение витамином В₁₂, фолиевой кислотой неэффективно. Показана терапия фолиновой (5-формилтетрагидрофолиевой) кислотой, которую назначают парентерально по 3 мг; назначение per os менее эффективно. После 4—7 инъекций наблюдается ретикулоцитарный криз, исчезают лейкопения, тромбоцитопения, анемия и мегалобласты в костном мозге. Поскольку дефицит фермента врожденный, то лечение пожизненное.

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ДЕФИЦИТ АКТИВНОСТИ 5,10-МЕТИЛЕНТЕТРА- ГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ

Фермент 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза является коферментом тимидилатсинтетазы; он способствует восстановлению 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, кофермента метионинсинтетазы. Этот наследственный дефицит передается аутосомно-рецессивно и наиболее часто встречается среди дефицитов, участвующих в метаболизме фолатов.

При дефиците этого фермента в клинической картине доминируют неврологические симптомы в виде общей гипотонии, судорожных кризов, наблюдается задержка умственного развития разной степени выраженности, психические нарушения. Отмечается большая гетерогенность как в клинических проявлениях болезни, так и в сроках появления первых симптомов.

Содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр низкое, однако признаков мегалобластной (макроцитарной) анемии нет. Несмотря на отсутствие гематологических признаков дефицита фолатов, у больных резко выражены аномалии метаболизма фолатов — наблюдаются гомоци-

стеинемия, гомоцистеинурия и гипометионинемия.

Фермент участвует в метаболизме гомоцистеина. Мутации гена этого фермента и других генов, участвующих в метаболизме гомоцистеина, способствуют увеличению концентрации последнего в крови. Существуют генотипы 677СТ/1298СС и 677ТТ/1298СС метилентетрагидрофолатредуктазы, которые играют потенциальную роль в жизнеспособности плода [Isolato P. et al., 2000]. По данным A.Molloy и соавт. (1997), 5—15% лиц на Западе являются гомозиготами по точечной мутации 677СТ, вследствие чего у них имеется частичный дефицит этого ключевого фермента фолатов — 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы. Лечение проводят сочетанным использованием фолиевой кислоты, метионина, витаминов В₆ и В₁₂, бетаина. После лечения степень гомоцистеинурии уменьшается, но клинические признаки болезни регрессируют не всегда [Zittoun J., 1995].

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ДЕФИЦИТ МЕТИОНИНСИНТЕАЗЫ

Метионинсинтетаза является цитоплазматическим ферментом, способствующим синтезу метионина, начиная с уровня гомоцистеина; она является коферментом 5-метилтетрагидрофолата и метилкобаламина.

Наследственный дефицит метионинсинтетазы встречается редко. Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Уже в течение первых недель жизни ребенка наблюдается задержка психомоторного и физического развития, нередко возникают судороги. Часто имеются признаки иммунодефицита клеточного типа, вследствие чего у ребенка возникают рецидивирующие респираторные инфекции.

Гематологически отмечаются признаки мегалобластной анемии.

Содержание фолатов в сыворотке крови и в Эр нормальное, но может быть даже повышено. Обычно имеет место увеличение в плазме крови концентрации гомоцистеина и повышенной экскреции последнего с мочой.

Диагноз верифицируют путем определения активности фермента в клетках биоптата печени, костного мозга, в лимфоцитах. Следует помнить о том, что снижение активности метионинсинтетазы может быть при аномалии биосинтеза активных форм кобаламина (см. «Врожденные внутриклеточные нарушения метаболизма витамина В₁₂»).

Лечение фолиевой и фолиниевой кислотами дает нестойкий эффект [Zitoun J., 1995].

НАСЛЕДСТВЕННАЯ МЕГАЛОБЛАСТНАЯ АНЕМИЯ ВСЛЕДСТВИЕ ДЕФИЦИТА АКТИВНОСТИ ФОРМИМИНОТРАНСФЕРАЗЫ — ЦИКЛОДЕЗАМИНАЗЫ

Формиминотрансфераза и циклодезаминаза являются ферментами, которые несут на окончаниях молекулы белка два активных участка. Формиминотрансфераза участвует в катаболизме гистидина, способствует образованию формиминотетрагидрофолата; последний под влиянием циклодезаминазы превращается в метилтетрагидрофолат.

Заблевание встречается редко, по данным В.Капен и соавт. (1981), опубликованы данные о 12 больных. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. Проявления дефицита ферментов гетерогенны как по своим клиническим признакам, так и по времени их появления. Описаны больные, у которых заблевание проявилось как в течение первых месяцев жизни, так и в зрелом возрасте. В наблюдениях Т.Аракава и соавт. (1963, 1970) у детей на первом году

жизни отмечались задержка психомоторного развития, изменения на электроэнцефалограмме, расширение желудочков и атрофия головного мозга.

Может наблюдаться задержка развития речи или только общая гипотония; дефицит ферментов может протекать и без клинических проявлений.

Гематологические признаки при дефиците также переменны. У некоторых больных наблюдалась гиперсегментация нейтрофилов, нормоцитарная анемия, в пунктате костного мозга определялись мегалобласты. Мегалобластная анемия исчезала после лечения фолиевой кислотой. В других наблюдениях гемограмма была нормальной.

У всех больных отмечается высокая концентрация фолатов в крови и в Эр, нормальное содержание кобаламина в сыворотке крови. Резко увеличена экскреция формиминоглутаминовой кислоты после приема гистидина, снижена активность формиминотрансферазы в клетках биоптата печени (14—50% от нормы). Отсутствует корреляция между степенью увеличения экскреции с мочой формиминоглутаминовой кислоты и уровнем активности фермента [Zitoun J., 1995].

Т.Аракава и соавт. (1968) описали двух сиблингов, у родителей которых не было клинических проявлений болезни, но отмечался незначительный макроцитоз Эр, увеличенная экскреция формиминоглутаминовой кислоты.

Дефицит фермента описан также у 42-летней женщины [Herman R. et al., 1969].

При наличии мегалобластной анемии последняя купируется назначением фолиевой или фолиниевой кислоты по 50 мг в день. После этого лечения иногда уменьшается экскреция с мочой формиминоглутаминовой кислоты [Rosenblatt D., 1989].

ВРОЖДЕННЫЕ МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ И МАКРОЦИТАРНЫЕ АНЕМИИ, НЕ СВЯЗАННЫЕ С ФОЛАТАМИ И ВИТАМИНОМ В₁₂

Это гетерогенная группа заболеваний, при которых мегалобластная и(или) макроцитарная анемия не связана с дефицитом фолатов или Св1. К этой группе относятся:

- 1) анемии, связанные с нарушением биосинтеза нуклеиновых кислот (врожденная оротовая ацидурия, синдром Леша — Нихена);
- 2) тиаминзависимая мегалобластная анемия;
- 3) синдром Pearson.

ВРОЖДЕННЫЕ МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЯМИ БИОСИНТЕЗА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

К этой группе анемий относятся мегалобластная анемия, вследствие дефицита ферментов, участвующих в метаболизме оротовой кислоты, и синдром Леша — Нихена.

Наследственная мегалобластная анемия вследствие дефицита ферментов, участвующих в метаболизме оротовой кислоты. Это редкое генетическое заболевание, впервые описанное С. Huguley и соавт. (1959), характеризуется задержкой физического и умственного развития ребенка, мегалобластной анемией, значительным увеличением экскреции оротовой кислоты. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно. У гетерозиготов заболевание клинически не проявляется [Schwartz E., 2000].

Патогенез заболевания заключается в том, что у больных нарушается синтез уридин-5'-монофосфата из оротовой кислоты, вследствие чего не образуется достаточного количества пиримидина для синтеза нуклеи-

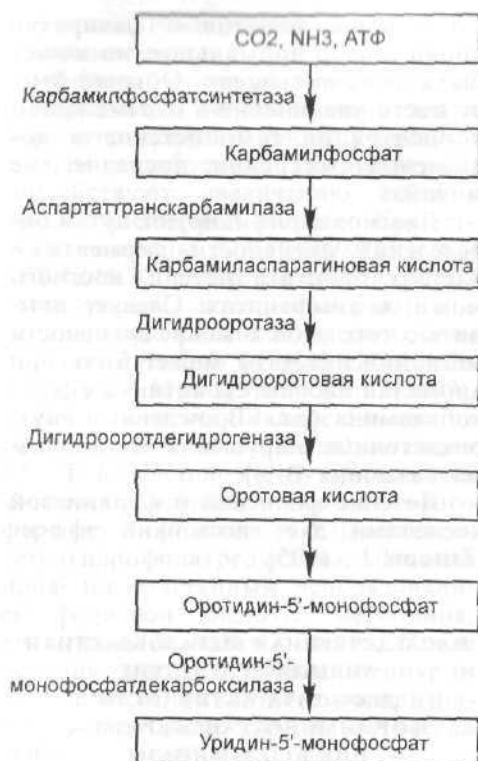


Схема 10. БИОСИНТЕЗ УРИДИН-5'-МОНОФОСФАТА.

новых кислот, развивается мегалобластная анемия. Нарушение синтеза уридин-5'-монофосфата обусловлено дефицитом ферментов — оротатфосфорибозилтрансферазы и(или) оротидин-5'-монофосфатдекарбоксилазы. Оба фермента содержатся в бифункциональном белке УМФ-синтетаза, который перегруппировывает активность этих ферментов, контролирующих переход оротовой кислоты в уридин-5'-монофосфат (схема 10). Ген УМФ-синтетазы расположен на длинном плече хромосом 3-й пары (3q13). Высказывают предположение, что мутации вызывают образование нестабильного белка или же белка с аномальной кинетикой. Вследствие дефицита активности

УМФ-синтетазы в клетках организма происходит аккумуляция оротовой кислоты с последующим ее выделением с мочой — оротовая ацидурия. Дефицит активности фермента наблюдается в клетках печени, Эр, лейкоцитах, лимфобластах, фибробластах [Fernandes J. et al., 1990; Harris J., 2000].

Различают два типа заболевания. При 1-м типе отмечается дефицит двух ферментов — оротатфосфорибозилтрансферазы и оротидин-5'-монофосфатдекарбоксилазы; при 2-м типе обнаруживается дефицит только последнего фермента. Клинически оба типа неразличимы. Большинство из описанных детей с оротовой ацидурией относятся к 1-му типу.

Клинически у детей с первых месяцев жизни отмечается задержка физического и психомоторного развития, у них редкие волосы, наблюдается гипоплазия ногтей. У больных часто возникают тяжелые инфекции, связанные с клеточным иммунодефицитом. У некоторых детей отмечаются увеличение селезенки, пороки развития сердца, косоглазие, дегенеративные изменения сетчатки глаза, частичная обструкция мочевыводящих путей. Если вовремя не предпринято лечение, то наблюдается умственная отсталость [Saudubert J.-M. et al., 1995].

С 2—7-месячного возраста появляется макроцитарная анемия, обычно гипохромная, несмотря на нормальное содержание железа в сыворотке крови. Может быть лейкопения, число тромбоцитов в пределах нормы. В пунктате костного мозга — все признаки мегалобластического типа кроветворения. Содержание витамина В₁₂ и фолиевой кислоты в сыворотке крови повышено. Функция почек нормальная, в осадке мочи определяются кристаллы оротовой кислоты.

Диагноз основывается на наличии массивной экскреции с мочой оротовой кислоты — в 200—1000 раз

больше, чем в норме (у взрослых в норме 1—1,5 мг/24 ч). Желательно определение активности ферментов (оротатфосфорибозилтрансферазы и оротидин-5'-монофосфатдекарбоксилазы) в Эр.

Лечение препаратами железа, Св₁, витамином В₆ и фолатами неэффективно. Анемия хорошо корригируется уридином, назначаемым per os. Первоначальная суточная доза составляет 100—150 мг/кг, разделенная на 2—3 приема; в последующем дозу подбирают индивидуально с учетом выраженности оротовой ацидурии. После такого лечения улучшаются не только гематологические показатели, но и физическое и психомоторное развитие больного, уменьшается оротовая ацидурия [Zittoun J., 1995].

Наследственная мегалобластная анемия при синдроме Леша — Нихена. Синдром является редким наследственным заболеванием, обусловленным нарушением метаболизма пуринов, связанного с полным или частичным дефицитом гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы. Этот фермент имеется во всех клетках, но больше всего его в клетках головного мозга и в базальных ганглиях. У больных отмечаются церебральные параличи, хореоатетоз, спастические явления, нарушения интеллекта, избыточное образование мочевой кислоты; больные нередко наносят себе травмы.

Заболевание наследуется рецессивно, сцеплено с хромосомой X.

По данным J.Stanburi (1983), частота классического синдрома составляет 1 на 100 000 жителей, в США — 1 : 380 000. По данным D.Sinnett и соавт. (1988), синдром встречается с частотой 5,2 на 1 млн родившихся мальчиков. Ген расположен на длинном плече хромосомы X (Xq26—q27), содержит 9 экзонов. Болеют в основном мальчики, редко девочки при инактивации у них хромосомы X. При классическом синдроме от-

сутствует активность фермента, при частичном дефиците активности фермента (больше 1,5—2%) наблюдается синдром Kelley — Seegmiller, сопровождающийся гиперурикемией и вариабельной неврологической симптоматикой [Harris J., 2000].

Вследствие отсутствия или дефицита фермента нарушается нормальный метаболизм гипоксантина, итогом чего является избыточное образование мочевой кислоты с клиническими симптомами подагры. Гипоксантин, но не мочевая кислота, аккумулируется в спинномозговой жидкости; мочевая кислота не образуется в головном мозге и не проникает через гематоэнцефалический барьер. При гистологическом и электронномикроскопическом исследовании ткани головного мозга патологических изменений не выявляется. При магнитно-резонансном исследовании головного мозга отмечается уменьшение объема базального ядра ганглий, поражение каудального ядра, putamen и nucleus accumbens. Возможно, имеются нейрохимические изменения, связанные с функциональной аномалией из-за уменьшения дендритических разветвлений, реже — с потерей клетки [Fernandes J. et al., 1990].

Уже с рождения у ребенка отмечаются аномальные признаки метаболизма пурина, приводящие к гиперурикемии, появлению в моче кристаллов мочевой кислоты. Это в конечном счете в более позднем возрасте приводит к подагре, почечнокаменной болезни. К моменту рождения ребенка неврологические симптомы отсутствуют. Они появляются с 3—4-месячного возраста в виде рецидивирующих рвот, гипотонии, задержки психомоторного развития; к 8—12 мес жизни у ребенка появляются неврологические нарушения (парезы, параличи, хореоатетоз, дизартрия, спастические движения и др.). Дети наносят себе травмы на теле, слизистой оболочке

полости рта. Развивается умственная отсталость, речь неясная [Ogasawara N. et al., 1989; Skopek T. et al., 1990].

Иногда, наряду с характерными клиническими признаками, у больных могут быть изменения крови и костного мозга в виде мегалобластной или макроцитарной анемии с мегалобластозом в костном мозге. При этом морфологические изменения гемопоэтических клеток в костном мозге могут наблюдаться даже при отсутствии анемии [Kelley W. et al., 1983]. Иногда отмечается типичная мегалобластная анемия (появляется обычно после 2-летнего возраста) при сниженном содержании фолатов в сыворотке крови, которая не поддается лечению витамином В₁₂ и фолиновой кислотой [Chanagin I., 1983]. В Эр повышена активность глутатионпероксидазы.

Диагноз основывается на определении уровня мочевой кислоты в сыворотке крови и моче. Гиперурикемия больше 600 мкмоль/л, а выделение мочевой кислоты с мочой составляет больше 120 мкмоль/л. Диагноз верифицируют путем определения активности в Эр — при классическом типе синдрома активность фермента 0%, а при частичном дефиците — 1,5—60%.

Патогенез мегалобластной анемии окончательно не установлен. Высказывают следующую гипотезу. Фибробласты с дефицитом гипоксантинфосфорибозилтрансферазы для своего роста требуют повышенное количество аденина, которое может быть удовлетворено высокой концентрацией фолиевой кислоты. Ускоренный синтез пуринов *de novo* также приводит к повышенному потреблению фолатов, необходимых в качестве кофактора. Аденин превращается в адениловую кислоту, а затем в инозиновую. Эти пуриновые нуклеозиды по механизму обратной связи ингибируют амидофосфорибозилтрансферазу и таким образом синтез

пуринов *de novo* уменьшается и, вероятно, одновременно снижается утилизация фолатов.

Исходя из этих предпосылок В. van der Zee и соавт. (1968) впервые использовали аденин (по 250 мг 6 раз в день) 9-летнему мальчику с указанным синдромом и получили хороший результат — отмечался ретикулоцитарный криз, повысилось содержание гемоглобина, исчезли мегалобласты в костном мозге. С тех пор этот метод получил признание. Для предупреждения развития почечной недостаточности назначают аллопуринол. Используют также ТКМ, но после нее улучшения неврологической симптоматики не наступало [Saudubray J.-M. et al., 1995; Zitto- un J., 1995; Harris J., 2000].

ТИАМИНЗАВИСИМАЯ МЕГАЛОБЛАСТНАЯ АНЕМИЯ

Это заболевание встречается редко, возникает обычно до 10-летнего возраста, наследуется аутозомно-рецессивно. Оно характеризуется триадой: глухотой, инсулинзависимым сахарным диабетом и макроцитарно-мегалобластной анемией; у некоторых больных отмечают атрофия зрительного нерва, параличи, органические поражения сердечно-сосудистой системы, изменения сосудов головного мозга, задержка психомоторного развития, смерть [Lo Curto M. et al., 1986; Poggi V. et al., 1989].

Впервые это заболевание было описано в 1969 г. L.Rodgers и соавт. В двух семьях родители были двоюродными братом и сестрой. В одной семье две сестры матери больного умерли в детстве от анемии. У большинства больных (у 5) анемический синдром выявлялся до 3-летнего возраста, из них у 3 — до года; у двоих других детей — в возрасте 6 и 11 лет. Дети поступали в клинику по поводу прогрессирующей слабости, бледно-

сти; некоторые — в связи с пневмонией и дизентерией. Клинически определялись бледность, одутловатость, сухость кожи, а у двоих — экхимозы. Увеличение печени наблюдалось у 2 из 5 больных, при этом у одного из них это можно было объяснить сердечной недостаточностью. За исключением одного больного интеллект у всех — нормальный.

При данном заболевании у больных гематологически выявляется типичная мегалобластная анемия, тенденция к лейкопении без патологических сдвигов в лейкограмме. Иногда может быть резко выраженная гиперсегментация нейтрофилов. Количество тромбоцитов от суб- до тромбоцитопении — $(30...160) \times 10^9/\text{л}$, встречаются макротромбоциты. Количество ретикулоцитов снижено. В костном мозге — мегалобластный эритропоэз; встречаются сидеробласты с кольцевидным расположением гранул. Содержание фолатов и кобаламина в сыворотке крови нормальное. Признаков дефицита тиамин нет. Активность тиаминзависимых ферментов не нарушена [Saudubray J.-M. et al., 1995].

Исследование колониеобразующей способности клеток периферической крови показало, что рост эритроидных колоний резко снижен, при этом добавление *in vitro* тиамин не корригирует этот показатель. R.Rotoli и соавт. (1986) считают, что это может быть связано с тем, что: 1) активной молекулой является не тиамин, а метаболит, не образующийся *in vitro*, или 2) активность тиамин опосредуется через другие тиаминчувствительные клетки, которые отсутствуют в изучаемой системе, или не могут проявить свое действие в этой системе, или 3) тиаминчувствительные клетки являются более ранними предшественницами. При данном заболевании отмечается снижение активности тиаминпирофосфоки-

назы. Исследованиями J.Fleming и соавт. (1998) было установлено, что в основе заболевания лежит первичное нарушение транспорта тиаминна в клетки. При наличии экспрессии ТН 110 (ген транспорта тиаминна) в фибробластах большого жизнеспособность клеток в среде, лишённой тиаминна, резко возрастает, а при отсутствии экспрессии этого гена апоптоз фибробластов происходит в среднем через 9½ дня (в норме фибробласты растут неограниченно длительно).

Лечение фолиевой кислотой, витамином В₁₂ неэффективно. Показано назначение тиаминна per os в дозе 50—100 мг в день. После нормализации клинико-гематологических показателей назначают поддерживающее лечение этим препаратом по 25 мг в день, на всю жизнь. Отмечено, что при отмене препарата рецидив возникает в среднем через 3 мес. У некоторых детей под влиянием лечения исчезает диабет, но слух не восстанавливается [Rindi G. et al., 1992; Zittoun J., 1995].

СИНДРОМ PEARSON

Эта митохондриальная цитопатия была впервые описана H.Pearson и соавт. в 1979 г. у ребенка грудного возраста, у которого отмечалась рефрактерная макроцитарная анемия с большим количеством сидеробластов, вакуолизацией клеток-предшественниц гемопоэза в костном мозге и разной степенью выраженности лейко- и тромбоцитопении, нарушение экзокринной функции поджелудочной железы.

Болезнь спорадическая, семейных случаев не описано. Она проявляется в грудном возрасте, чаще в течение первых недель жизни, в виде нарушений функции желудочно-кишечного тракта, рвот, диареи, гипотрофии, задержки ростовесовых показателей, недостаточности функции поджелудочной железы, печени, появления

анасарки, диабета, тубулопатии, пигментной ретинопатии [Werlin S., 2000].

В периферической крови выявляются макроцитарная анемия с сидеробластозом, которая корригируется только гемотрансфузиями, лейкопения и(или) тромбоцитопения.

В диагностике синдрома важное место занимает изучение костномозгового пунктата. Обычно количество миелокариоцитов нормальное, но у некоторых больных может быть несколько снижено. Патогномичным признаком является наличие внутрицитоплазматических вакуолей в клетках-предшественниках эритропоэза (эритроблестах и базофильных нормоцитах) и в миелоблестах и промиелоцитах. В 2—6% эритробластов в цитоплазме отмечаются единичные, но иногда множественные вакуоли, сливающиеся друг с другом. Среди клеток эритроидного ряда наблюдаются макроформы, с мегалобластическими признаками. Отмечается пластинчатое строение цитоплазмы, базофильная пунктация, фрагментированные ядра, чаще обнаруживаемые в полихроматофильных и оксифильных нормоцитах. Повышено содержание сидеробластов (до 15—30%). В гранулоцитах вакуоли менее выражены, никогда не наблюдаются в клетках мегакариоцитарного ряда. При биохимическом исследовании крови обнаруживается значительное увеличение содержания молочной кислоты, увеличено соотношение лактат/пируват, метаболический ацидоз [Saudubray J.-M. et al., 1995].

Считается, что синдром обусловлен дефицитом респираторной цепочки в геноме либо ядра, либо митохондрий. В митохондриальной ДНК имеются две популяции: одна ДНК нормальная, а другая — аномальная, и это обнаруживается в клетках всех тканей. Однако соотношение между нормальной ДНК и ДНК с делецией в разных тканях у разных больных варьируемо, что объясняет полимор-

физм клинических проявлений. Так, в клетках костного мозга аномальная ДНК составляет до 80%, а в мышцах — до 50% [Baerlocher K. et al., 1992].

Обычно у больных с возрастом тяжесть течения болезни нарастает, усиливаются диарея и стеаторея. У некоторых детей появляются неврологические симптомы, атаксия, судороги, развивается умственная отсталость, может быть наружная офтальмоплегия, птоз, пигментный ретинит, атрофия коры головного мозга, синдром Кируса — Сейра (пигментная ретинопатия, птоз, атриовентрикулярный блок) [Niaudet P. et al., 1994]. Дети живут до 2—3-летнего возраста, и, как правило, причиной смерти является печеночная недостаточность или сепсис [Rötig A. et al., 1990, 1995].

Лечение синдрома симптоматическое, радикальных методов и средств лечения нет. Назначают гемотрансфузии, экстракты панкреатического сока, жирорастворимые витамины (А, D, Е, К), проводят коррекцию метаболического ацидоза. Диета должна содержать уменьшенное количество жиров.

Возможна антенатальная диагностика — для этого исследуют клетки хориона и амниотической жидкости [Zittoun J., 1995].

ДРУГИЕ МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ

При ряде патологических состояний, приеме лекарств могут отмечаться макроцитарные и(или) мегалобластные анемии. Они наблюдаются при многих гемопатиях, эритробластопении, аплазии костного мозга, миелодиспластическом синдроме, ВДА и др. При регенеративных анемиях (врожденных и приобретенных ГА, ЖДА) на первых этапах лечения анемий фолиевой кислотой или витамином В₁₂ может наблюдаться макроцитоз Эр за счет повышенного количества ретикулоцитов, гиперлей-

коцитоз. Макроцитарная анемия может отмечаться при гипотиреозе, протекающем с гепатопатией.

Некоторые медикаменты могут индуцировать макроцитарную (мегалобластную) анемию. К ним относятся аналоги пуринов и пиримидинов (цитозин-арабинозид, 6-меркаптопурин и др.), которые ингибируют ДНК-полимеразу и ДНК-лигазу, включаются в ДНК клеток. Другие лекарственные препараты ингибируют ключевые ферменты биосинтеза ДНК: гидроксимочевина блокирует рибонуклеотидредуктазу. Некоторые медикаменты блокируют абсорбцию фолатов, а колхицин — абсорбцию витамина В₁₂.

Ряд лекарственных средств ингибируют ферменты, участвующие в метаболизме фолатов, в частности дигидрофолатредуктазу. К ним относятся метотрексат, пириметамин, триметоприм и др. Закись азота блокирует метионинсинтетазу и может вызвать мегалобластную анемию.

При наличии у больного макроцитарной и(или) мегалобластной анемии следует тщательно опросить больного для выявления сопутствующих заболеваний, приема медикаментов. Обычно эта анемия преходящая, не требует вмешательства, если в ее основе не лежит тяжелое заболевание [Savage D. et al., 1998].

ТЕСТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МЕГАЛОБЛАСТНЫХ АНЕМИЙ

Диагностика мегалобластных анемий основывается на совокупности анамнестических, генетических, клинических и лабораторных данных [Saudubray J.-M. et al., 1995; Fossat C., 1998; McMullin M. et al., 1998; Sainti D., 1998]. Для этого используют следующие лабораторные тесты:

1) определение содержания витамина В₁₂ в сыворотке крови (радио-

иммунологический метод); в норме содержание Сbl у детей выше, чем у взрослых; у здоровых взрослых оно составляет 200—500 нг/л; содержание Сbl в сыворотке крови выше у мужчин, чем у женщин, а также у чернокожих и американцев азиатского происхождения, чем у белых [Carmel R. et al., 1998]; повышение содержания Сbl в сыворотке крови (больше 1000 нг/л) отмечается при миелопролиферативных заболеваниях; определение содержания Сbl в сыворотке крови мало специфично; считается, что определение содержания гомоцистеина и метилмалоновой кислоты в плазме крови более информативно, они являются более чувствительными тестами при дефиците витамина В₁₂, чем определение содержания Сbl в сыворотке крови [Sabloff M. et al., 1998 ; Hvas A.-H. et al., 2001];

2) радиоиммунологический метод определения содержания фолатов в сыворотке крови (в норме 5—15 нг/л) и в Эр (в норме больше 200 нг/л); у новорожденных детей содержание фолатов в обеих средах выше, чем у взрослых, снижаясь до уровня взрослых к концу первого года жизни; при дефиците Сbl содержание фолатов в сыворотке крови нормальное, а в Эр — снижено; определение содержания фолатов в Эр более точно определяет их резерв;

3) определение абсорбции витамина В₁₂ (тест Шиллинга); метод основан на том, что больному вводят внутримышечно Сbl в дозе 1000 мкг для насыщения резерва в печени, а затем дают 0,5—2 мкг радиоактивного Сbl, маркированного ⁵⁸Со; в суточной моче определяют радиоактивность; у здоровых лиц радиоактивность будет меньше 10% от введенной дозы, так как у них имеется ВФ, и абсорбированный витамин откладывается в печени в виде резерва; если у больного имеется дефицит ВФ, то меченый витамин В₁₂ не будет абсорбироваться, а выделя-

ется с калом, а с мочой меньше 3%; чтобы убедиться в том, что основной причиной мальабсорбции является отсутствие ВФ, больному повторно вводят меченый витамин В₁₂ с добавлением 30 мг ВФ;

4) определение мальабсорбции фолатов; больному делают две инъекции фолиевой кислоты по 5 мг с интервалом в 24 ч, чтобы восполнить резерв; затем назначают для приема per os раствор фолиевой кислоты из расчета 40 мкг на 1 кг массы больного и через 1 ч после этого определяют содержание фолатов в плазме крови; содержание фолатов в плазме меньше 40 мкг/л указывает на мальабсорбцию фолатов;

5) определение содержания ВФ и АТ к нему; после стимуляции путем подкожного введения пентагастрина по 6 мкг/кг определяют содержание ВФ в желудочном соке; концентрация ВФ меньше 40 ЕД/мл или меньше 2000 ЕД/ч свидетельствует о сниженной секреции ВФ; АТ к ВФ и к париетальным клеткам желудка определяют в сыворотке крови;

6) определение в сыворотке крови ТК II;

7) определение активности ферментов, участвующих в метаболизме фолатов и Сbl и в биосинтезе активных форм Сbl (метил- и аденозилкобаламинов); это проводят в лимфоцитах, стимулированных ФГА, или в фибробластах в культуре; метод позволяет проводить антенатальную диагностику, а в качестве объекта изучения используют трофобласт и амниоциты;

8) тест угнетения дезоксиуридина; используются клетки костного мозга, которые предварительно инкубируют с дезоксиуридином; после этого клетки инкубируют с ³Н-тимидином и подсчитывают в мазках количество клеток с радиоактивной меткой (метод авторадиографии); угнетение включения в ДНК метки наблюдается при дефиците фолатов и Сbl;

9) определение гомоцистеина в сыворотке крови; при аномалии синтеза метионина количество гомоцистеина повышено, но с помощью этого метода нельзя установить этиологию недостатка — связано ли это с недостатком фолатов или же с *Cbl*, хотя М. McMullin и соавт. (1998) считают, что увеличение содержания гомоцистеина является надежным индикатором дефицита фолиевой кислоты; содержание гомоцистеина в сыворотке крови у лиц старше 60 лет зависит от пола (у мужчин выше, чем у женщин), этнического происхождения (у белых выше, чем у чернокожих, латиноамериканцев и американцев азиатского происхождения) [Carmel R. et al., 1998; Stabler S. et al., 1998];

10) определение в моче некоторых метаболитов фолатов и *Cbl*; увеличение экскреции метилмалоновой кислоты является специфичным тестом для определения дефицита витамина B_{12} , при врожденной метилмалоновой ацидурии, дефиците метилмалонил-*CoA*-мутазы и при недостатке биосинтеза метил-*Cbl*; повышенная экскреция формиминоглутаминовой кислоты в настоящее время не считается специфичным тестом при дефиците фолатов, и сейчас обычно этот тест в ведущих гематологических клиниках не используют; тест положителен при болезнях печени, беременности и других состояниях.

Наряду с классическими тестами определения содержания фолатов и *Cbl* в сыворотке крови и Эр принципиально важными являются биохимические тесты, позволяющие диагностировать этиологию анемии. Так, с помощью хроматографии и других методов можно определить содержание аминокислот в моче и

крови, органических кислот в моче, мочевой кислоты в крови и моче, молочной кислоты и др. Наличие гомоцистенемии и гомоцистенурии с гипометионинемией характерно для состояний, сопровождающихся нарушением метаболизма кобаламинов внутри клеток. Поскольку часто количество аккумулированного гомоцистеина незначительно, то при подозрении на его аккумуляцию следует определять его методом хроматографии. Определение экскреции метилмалоновой кислоты и гомоцистеина с мочой очень важно для диагностики нарушений метаболизма витамина B_{12} . Метилмалоновая ацидурия и гомоцистенурия никогда не наблюдаются при классическом синдроме Иммерслунд — Гресбека.

Определение содержания оротовой кислоты в моче позволяет установить диагноз оротовой ацидурии, связанной с дефицитом УМФ-синтетазы; умеренная оротовая ацидурия отмечается при врожденной мальабсорбции фолатов, при которой наблюдается аномальная экскреция с мочой формиминоглутаминовой кислоты. При дефиците метаболизма *Cbl* (*Cbl* C) часто отмечается метаболитический ацидоз. Сочетание увеличенного содержания молочной кислоты в крови с метаболитическим ацидозом свойственно синдрому Pearson, при котором имеются делеция ДНК митохондрий, вакуолизация клеток-предшественниц гемопоэза. Определение ряда других биохимических показателей (содержания глюкозы в крови, ТК II, активности дигидрофолатредуктазы и др.) важны для верификации этиологического диагноза мегалобластной анемии и назначения соответствующего лечения.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДИЗЭРИТРОПОЭТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

Наследственные дизэритропоэтические анемии — это гетерогенная группа заболеваний, характеризующаяся неэффективным эритропоэзом с выраженными диспластическими признаками эритроидных клеток-прешественниц, значительным увеличением содержания в костном мозге клеток эритроидного ростка со специфической морфологией, вторичным гемохроматозом и, как правило, рефрактерностью к лечению.

В 1967 г. F.Wendt и соавт. для обозначения указанной формы заболевания ввели термин «врожденная дизэритропоэтическая анемия» (ВДА). В 1968 г. H.Heimpel и соавт. на основе морфологических изменений эритрокариоцитов выделили три типа ВДА: I, II и III. J.Crookston и соавт. (1969) для II типа ВДА предложили название HEMPAS (Hereditary Erythroblastic Multinuclearity Associated with a positive Acidified-Serum Test — наследственная многоядерность эритробластов с положительным кислотно-сывороточным тестом). В последующем описаны разновидности II типа, но классификация, предложенная H.Heimpel и соавт., не только не утратила своего значения, но и была подтверждена данными ультраструктурных, серологических и биохимических исследований.

ВРОЖДЕННАЯ ДИЗЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ I ТИПА

Она впервые описана F.Wendt и соавт. в 1967 г. Хотя заболевание носит врожденный характер, диагноз чаще всего устанавливают после 15 лет и даже у взрослых [Tchernia G., 1995]. ВДА I типа составляет около 15% от всех случаев ВДА.

Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно. Начальные клинические признаки заболевания могут отмечаться в первые дни жизни ребенка в виде желтухи, затем развивается анемия, но иногда оба симптома развиваются одновременно. Характерно, что большинство детей рождаются с низкой массой тела. В последующие годы отмечают гепато- и спленомегалию, у некоторых больных — калькулезный холецистит, явления гемохроматоза, который может быть причиной смерти больного. Гемохроматоз отмечается не у всех больных, и его отсутствие, по-видимому, обусловлено повышенной гемосидеринурией. Иногда наблюдается задержка психического и физического развития ребенка. Редко у больных могут отмечаться аномалии развития пальцев, пигментация кожи и др. Описана женщина, у которой были ВДА I типа и α -талассемия [Mori P. et al., 1986; Antenolon M. et al., 1998].

Анемический синдром может наблюдаться с рождения, иногда несколько позднее. Характерны анизопойкилоцитоз, гипохромия и макроцитоз Эр, наличие в них базофильной пунктации, может быть овалоцитоз, наличие дакроцитов, Эр с кольцами Кебота. Содержание ретикулоцитов нормальное либо незначительно повышенное. Осмотическая резистентность Эр не изменена. Редко в периферической крови обнаруживаются эритрокариоциты. Морфологически нейтрофилы и тромбоциты не отличаются от нормальных, но у некоторых больных может быть субтромбоцитопения и лейкопения, обусловленные гиперспленизмом [Conde E et al., 1983; Freiberg A. et al., 1998]. Выявляется умеренно выраженная билирубинемия. Содержание витамина B₁₂ и фолиевой кислоты в сыворотке крови нормальное, но концентрация фолатов в Эр может

быть нормальной или повышенной. У некоторых больных обнаруживается АГ I в Эр. Кислотно-сывороточный титр Хема отрицательный. Длительность полужизни Эр по ^{51}Cr снижена, период кругооборота ^{59}Fe плазмы повышен, $T_{1/2}$ исчезновения ^{59}Fe из плазмы укорочен, утилизация эритроидными клетками ^{59}Fe снижена. Все это указывает на неэффективный эритропоэз с укорочением длительности жизни Эр. При электрофорезе белков мембраны в полиакриламидном геле аномальностей не выявляется. Число БОЕ-Э, образующихся из клеток крови в культуре, может быть нормальным или сниженным, однако размер колоний больше, чем в норме. Ультроструктурно эритрокардиоциты из колоний представлены аномальными клетками, при этом их число увеличивается по мере созревания клетки.

Диагностически важными являются данные исследования пунктата костного мозга. Отмечается увеличение содержания клеток эритроидного ростка. Морфологически эритробласты неотличимы от нормальных. Характерные изменения морфологии наблюдаются в базофильных, особенно в полихроматофильных и оксифильных нормоцитах, которые напоминают мегалобласты. Среди этих элементов 4—10% клеток содержат по 2 ядра и более, иногда соединенных между собой хроматиновыми мостиками разной длины. Структура хроматина ядра изменена — иногда она стертая либо пористая, губчатого вида. Ядро нечетко ограничено от цитоплазмы; в других клетках хроматин утолщен, распределен неравномерно, отмечается асинхронизм созревания ядра и цитоплазмы нормоцитов. Содержание сидеробластов повышено. Среди гранулоцитов могут встречаться гигантские мегамиелоциты и палочкоядерные.

При исследовании эритрокардиоцитов в электронном и сканирующем микроскопах отмечается нарушение

ядерной мембраны вследствие недостатка хроматина. Это приводит к вогнутости, иногда к разрыву мембраны ядра с проникновением цитоплазмы в ядро либо поступлением ядерных частиц, нуклеол в цитоплазму. Наблюдается большое количество рибосом, склонных к образованию агрегатов, многочисленные мостики в ядерном хроматине. Структура ядра может напоминать «швейцарский сыр» [Phatak P. et al., 1997].

Этиология заболевания неизвестна. Генетическая основа ВДА I типа неясна и неизвестен кандидат гена этого заболевания. Н. Tamary и соавт. (1998) обследовали 25 больных бедуйнов из четырех родственных семей и установили, что заболевание связано с маркерами хромосом 15-й пары (15q15.1—q15.3). Авторы провели типирование 14 маркеров (D15S129—D15S161) в пределах интервала 12cM и установили, что существуют 8 различных гаплотипов. Ген основного гаплотипа локализован между D15S779 и D15S778, т. е. ген ВДА I типа расположен в пределах 0,5cM интервала. Последовательный анализ участка, кодирующего протеин 4.2, не выявил каких-либо изменений у больных ВДА I типа [Tamary N. et al., 1998].

Цитокинетические и спектрофотометрические данные указывают на нарушение синтеза нуклеопротеинов, вследствие чего происходит аномальное деление клеток. N. Alloisio и соавт. (1982) отметили нарушение синтеза α -цепей спектрина и белков мембраны Эр. Появление аномальных ядер, возможно, связано с повышенной конденсацией ядерного хроматина, которая может быть связана с увеличением ядерных гистонов. Первичные нарушения эритрокардиоцитов связаны либо с наличием аномальной молекулы нуклеопротеина, либо с уменьшением синтеза специфического нуклеопротеина. Это может приводить к вторичным изменениям — нарушению пролиферации эритрокардиоцитов, недостаточности

синтеза ДНК, РНК и белка, несбалансированному синтезу глобиновых цепей с резким увеличением синтеза α -цепей, хотя известно, что первичный дефект связан с мембраной ядра, допускается возможность, что эта аномалия связана с изменениями взаимодействия между нуклеопротеинами и ядерной мембраной. Ни в одном из описанных наблюдений кариологических изменений не отмечено.

Специфическое лечение ВДА I типа не разработано; по мере необходимости назначают трансфузии эритроцитарной массы, проводят терапию хелатами для предупреждения развития гемохроматоза. При наличии гиперспленизма показана спленэктомия. Возможно, найдены пути подхода специфического лечения ВДА I типа рекомбинантным интерфероном альфа (ИФ α). Больному с гепатитом С и ВДА I типа был назначен этот препарат. После лечения у больного улучшились показатели красной крови. A. Shamseddine и соавт. (1998) успешно лечили ИФ α (по 3 млн ЕД в день, подкожно) двух больных с ВДА I типа. У одного больного содержание Hb повысилось с 80 до 120 г/л, но после отмены лечения через 3 мес оно снизилось до 90 г/л. У второго больного также повысилось содержание Hb с 86 до 110 г/л, но после отмены лечения через 5 мес оно снизилось до 85 г/л. A. Freiberg и соавт. (1998) лечили девочку в возрасте 22 мес, которая

была трансфузионно-зависима, интерфероном α (Intron A) по 1 млн ЕД/м² 3 раза в неделю, подкожно в течение 4 нед, а затем в течение 3 нед той же дозой. Уже после введения первой дозы препарата ребенку не требовались гемотрансфузии, и после прекращения курса лечения содержание Hb у больной сохранялось в пределах нормальных значений в течение 12 мес, а затем наступил рецидив. Через 5 мес после начала лечения в костном мозге уменьшились признаки дизэритропоэза, АТ к ИФ не обнаруживались.

При культивировании клеток костного мозга больных в метилцеллюлозе в присутствии ФСК, КОЕ-ГМ, ИЛ-3 с добавлением Эпо в кондиционную среду или без него под влиянием лечения ИФ α у больных на 40% снижалось число БОЕ-Э с одновременным уменьшением размеров эритроидных колоний и соотношения БОЕ-Э : КОЕ-Э с 1,8 до 1,3. По мнению A. Shamseddine и соавт. (1998), лечение ВДА I типа ИФ α эффективно, препарат ингибирует эритропоэз *in vitro*, заставляя полагать, что он действует косвенно или через модуляцию стромы или иммунной системы. Возможно, что развитие цитопении может быть связано с деструкцией клеток в увеличенной селезенке. Для решения вопроса следует ли рассматривать назначение ИФ больным ВДА I типа как стандартное лечение, необходимо накопить больший клинический опыт [Freiberg A. et al., 1998].

ВРОЖДЕННАЯ ДИЗЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ II ТИПА (HEMPAS)

Она составляет 60% от всех случаев ВДА, выявляется обычно в юношеском возрасте. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. По данным Международного регистра СДА II (99 больных), заболевание в 1,5 раза чаще встречается у жен-

щин, чем у мужчин, и наиболее часто у жителей Южной Италии [Jolascon A., 2001].

Клинические проявления сходны с таковыми при I типе, однако желтуха и спленомегалия наблюдаются чаще. Анемически синдром яв-

является важным признаком болезни, протекает более тяжело, для коррекции анемии требуются более частые гемотрансфузии. Описаны дети, у которых в период новорожденности отмечалась симптоматика, сходная с таковой при ГБН, и таким больным требовались обменные гемотрансфузии. Анемия, в отличие от ВДА I типа, является нормохромной, нормоцитарной или умеренно макроцитарной, отмечается анизопойкилоцитоз. Содержание ретикулоцитов нормальное, иногда незначительно повышено [Majeed H. et al., 1989].

Для этого типа ВДА характерны определенные серологические находки. Так, при добавлении анти-I-сыворотки к Эр здоровых взрослых людей отмечается резко положительная реакция агглютинации Эр, а при смешивании крови с анти-i-сывороткой эта реакция очень слабая. Эр больных ВДА II типа обладают высокой агглютинационной способностью в присутствии обеих сывороток. Другим характерным признаком является положительный кислотно-сывороточный тест Хема, который выявляется у всех больных при добавлении к их крови свежей аллогенной сыворотки и у $1/3$ больных при добавлении аутологичной сыворотки [Baines A. et al., 1982; Phatak P. et al., 1997]. Эта реакция обусловлена наличием специфического АГ на поверхности Эр, называемого АГ НЕМ-PAS, а выявляющие его IgM АТ — анти-HEMPAS АТ.

Биохимическая природа АГ НЕМ-PAS неизвестна. В Эр больных ВДА II типа значительно снижено количество полилактозоаминогликанов, которые соприкасаются с Band 3 и Band 4.5, отмечается аккумуляция этих гликанов на гликолипидной мембране Эр. Также изменена структура АГ системы групп крови — Colton (Co), Indian (In) [Cartton J.-P., 2000]. При изучении кинетики железа отмечаются признаки неэффективно-

го эритропоза, повышенное содержание депонированного железа; наблюдается снижение длительности жизни ретикулоцитов, их секвестрация в селезенке [Cazzola M. et al., 1982, 1983; Amendola G. et al., 1998]. У больных в сыворотке крови наблюдается высокая концентрация ферритина, растворимого ТфР (в 3—12 раз выше нормы) и Эпо (40—3620 МЕ/мл). Степень насыщения Тф железом зависит от степени анемии, но не коррелирует с содержанием Эпо в сыворотке крови. Последнее коррелирует с содержанием sТфР [Cazzola M. et al., 1998]. В костномозговом пунктате значительно увеличено число клеток эритроидного ряда. Морфология эритробластов, как правило, не отличается от таковой аналогичных клеток здоровых людей. Изменения касаются в основном полихроматофильных и оксифильных нормоцитов. Около 35% этих клеток содержат по 2 ядра различной формы, но иногда 3—7 ядер и более (округлой, в виде трилистника, туговой ягоды, формы S). В оксифильных нормоцитах часто наблюдается кариорексис. Между ядрами нет соединительных хроматиновых мостиков [Tcherpia G., 1995]. При электронно-микроскопическом исследовании в эритрокариоцитах определяется двойная мембрана, которая в некоторых клетках образует овальные включения («цистерны»), располагающиеся параллельно мембране и, возможно, являющиеся дериватом эндоплазматического ретикулула. В эритрокариоцитах определяется положительная ШИК-реакция. Двойная мембрана определяется в некоторых Эр. В костномозговом пунктате у некоторых больных обнаруживаются макрофаги с повышенным в них содержанием гемосидерина, фагоцитирующие эритрокариоциты, Гоше-подобные клетки гистиоциты цвета «морской синевы» [Roodman G. et al., 1982].

Патогенез болезни неясен, первичный дефект не известен, но предполагают, что главная причина связана с аномалией мембраны клеток эритроидного ростка. В мембране имеется аномальный гликопротеин. Для Эр НЕМPAS характерно нарушение гликолиза гликопротеинов лактозоаминогликанами; морфологически это проявляется в виде двойной мембраны [Fukuda M. et al., 1986]. Другой особенностью Эр является отрицательный поверхностный заряд, возникающий, по-видимому, вследствие дефицита сиаловой кислоты, связанной в норме с трансмембранным белком — гликофорином. W.Mawby и соавт. (1983) установили, что молекулярная масса гликофорина А и белка, транспортирующего через мембрану анионы, в Эр НЕМPAS ниже нормы. Уменьшение содержания сиаловой кислоты в мембране и(или) протеинов, обуславливает укорочение длительности жизни Эр.

К настоящему времени установлено, что: 1) при ВДА II типа белок мембраны Эр аномален — снижена гликолизация Band 3; 2) имеются нарушения гликолиза, в том числе дефицит активности ферментов α -маннозидазы II и N-ацетилглюкозаминтрансферазы II, двух ключевых ферментов, участвующих в биосинтезе N-гликанов [Gasparini P. et al., 1997], и эта ферментативная недостаточность приводит к аномальности олигосахаридов на поверхностных протеинах Эр. Исследуя геном у больных из 6 семей, в которых два члена одной семьи и более были больными, A.Iolascon и соавт. (1997, 1998) пришли к заключению, что ген ВДА II типа расположен на длинном плече хромосом 20-й пары (20q11.2). Но наблюдаются семьи, у членов которой ВДА II типа не была связана с локусом гена CDAN2, и это лишний раз подчеркивает гетерогенность болезни.

При исследовании клеток периферической крови в культуре образующиеся колонии БОЕ-Э состоят из многоядерных эритрокариоцитов. Костномозговые клетки в культуре дают рост колоний, которые состоят из нормальных и многоядерных эритрокариоцитов. Это указывает на то, что имеется внутренний дефект на уровне клеток-предшественниц эритропоэза, а нормальные клетки возникают из того же аномального клона клеток-предшественниц [Roodman G. et al., 1982]. По мнению G.Ucci и соавт. (1985), при ВДА II типа имеется снижение пролиферации эритрокариоцитов.

Для коррекции анемии назначают трансфузии эритроцитной массы; при тяжелом течении анемии с успехом используют спленэктомия [Barosi G., 2001]. Течение заболевания осложняется вторичным гемохроматозом, вызванным гемотрансфузиями [Tchernia G., 1995], но описаны больные с одновременным сосуществованием ВДА 2-го типа и НГ [Fargion S. et al., 2000].

ВРОЖДЕННАЯ ДИЗЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ III ТИПА

Этот тип является более редкой (менее 15% всех случаев ВДА) и наименее изученной формой, и большинство больных относятся к шведскому анклаву. Диагностируется чаще в юношеском возрасте и у молодых людей [Tchernia G., 1995]. Наследуется аутосомно-доминантно.

Клинические проявления болезни сходны с таковыми двух предыдущих форм. У всех больных наблюдается высокая активность тимидинкиназы в сыворотке крови. Среди больных отмечается высокая частота моноклональной гаммапатии (4 : 30) и миеломной болезни (1 : 30). У боль-

ных часто наблюдается дегенерация пята и испещренность сосудов сетчатки. Сочетание ВДА III типа с изменениями сосудов сетчатки и моноклональной гаммапатией заставило высказать предположение, что синдром вызван мутацией гена на хромосомах 15-й пары (15q21—q25), который экспрессирован на В-клетках, клетках сетчатки и эритроидных клетках [Wahlin A. et al., 1998].

В отличие от ВДА I и II типов при ВДА III типа анемия носит макроцитарный характер, определяются фрагментированные Эр. В эритроидных клетках отмечается несбалансированный синтез глобиновых цепочек [Wickramasinghe S. et al., 1987]. Отмечается выраженная агглютинабельность Эр при добавлении анти-*i*-сыворотки. В костном мозге, наряду с увеличением содержания клеток эритроидного ряда, наблюдается отчетливая их аномалия: эритрокариоциты большого размера (диаметр 50—60 мкм и более), получившие название «гигантобластов», многоядерные (до 10—12 ядер и более). Методом комбинированной микроспектрофотометрии и автордиографии установлена высокая скорость распада «гигантобластов». Только в некоторых многоядерных эритрокариоцитах наблюдается синтез ДНК; в клетках, не синтезирующих ДНК, ядра отличались изменением электронной плотности гетеро- и эухроматина, иногда ячеистым строением [Phatak P. et al., 1997].

Течение заболевания типичное, развивается вторичный гемохроматоз вследствие неэффективного эритропоэза. Поэтому в комплексе лечения назначают хелатотерапию (см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»). Для купирования анемии назначают гемотрансфузии. Иногда отмечаются положительные результаты от спленэктомии. Специфическое лечение не разработано [Phatak P. et al., 1997].

Описаны больные с промежуточными формами ВДА, которые по клинико-гематологическим признакам напоминают II тип болезни, но, возможно, являются двойными гетерозиготами.

Кроме того, описаны больные, заболевание у которых по ряду признаков нельзя отнести ни к одному из известных типов ВДА. G.Sansone (1978) наблюдали 6-летнего мальчика с тяжелым прогрессирующим течением анемии и резко выраженным неэффективным эритропоэзом. При электронно-микроскопическом исследовании эритрокариоцитов в них определялись ядра с большим количеством гетерохроматина и незначительным количеством эухроматина. Поры ядерной мембраны были резко расширены, местами мембрана отсутствовала, и цитоплазма проникала в ядро. В цитоплазме определялись вакуоли, обилие рибосом, сниженное количество митохондрий. «Цистерны», характерные для ВДА II типа, не обнаружены.

R.Harlow и соавт. (1982) описали больного с большим числом нормоцитов в периферической крови, значительным количеством Эр, гранулоцитов и тромбоцитов с аномалиями и дефектами мембран. При электронно-микроскопическом исследовании в цитоплазме Эр и во многих гранулоцитах отмечались многочисленные «цистерны», располагающиеся по периферии клетки или около ядра; в некоторых тромбоцитах наблюдалась редупликация мембраны. Хотя Эр был присущ генотип *Ii*, тем не менее кислотно-сывороточный тест был отрицательным.

A.Bird и соавт. (1986) описали 9-летнюю девочку с нормохромной нормоцитарной анемией, незначительной желтухой и гепато- и сплено-мегалией. Отмечались следующие изменения морфологии Эр: анизопойкилоцитоз, сфероцитоз, мегалобластоз. Содержание ретикулоцитов

0,5—4,5%, но обычно 1%. Серологические тесты отрицательные. В костном мозге эритрокарициты содержали по 2 ядра и более, но при электронно-микроскопическом исследовании они отличались от клеток I и II типов ВДА. После спленэктомии отмечалось незначительное улучшение. Сходный случай описан N. Bet-henfalvai и соавт. (1985).

C. Carter и соавт. (1989) описали новорожденную девочку с *hydrops foetalis* с выраженной анемией (70 г/л), макроцитозом и гепато- и спленомегалией. Ребенка наблюдали и обследовали в течение 3 лет — тест Хема всегда отрицательный. В костном мозге — выраженное увеличение клеток эритроидного роста с признаками дизэритропоэза, эритробласты двуядерные. Кариотип нормальный. При исследовании эритробластов в трансмиссионном микроскопе в этих элементах обнаружены различные аномалии — нечеткие очертания клеток, наличие крупных сидеросом, явления кариорексиса, удлиненные межъядерные впадины и др. По всем параметрам большая укладывалась в ВДА, но тип не классифицирован. Авторы считают, что, возможно, ребенок был гомозиготом по редкому аутосомно-рецессивному гену, так как родители были двоюродными братом и сестрой.

P. Bianchi и соавт. (1998) описали двоих больных, у которых наблюдались умеренно выраженная анемия, ретикулоцитоз, увеличение в сыворотке крови содержания неконъюгированного билирубина; среди Эр отмечалось большое количество сфероцитов, осмотическая резистентность Эр снижена. Тесты на нестабильный

Hb и Кумбса — отрицательные. Тест Хэма дважды отрицательный при использовании аутологичной сыворотки крови и сывороток крови от 50 доноров. Белки мембраны Эр нормальные. При исследовании сДНК Band 3 и гликофорина А мутаций не выявлено. С помощью Western Blot analysis установлено, что мембрана Эр содержит GRP78, PD1 и calreticulin, которые являются маркерами ВДА II типа [Aloisio N. et al., 1996]. Изучение Эр в трансмиссионном микроскопе показало, что 10% их имеют двойную цитоплазматическую мембрану. В пунктате костного мозга 30% клеток эритроидного роста содержали по два ядра и более.

Подобные наблюдения, не укладывающиеся в типичные случаи I—III типов ВДА, описаны и другими авторами [Pothier B. et al., 1987; Ohisalo J. et al., 1988; Wickramasinghe S. et al., 1998]. Эти наблюдения указывают на то, что группа наследственных дизэритропоэтических анемий гетерогенна, классические общепринятые тесты не всегда помогают установить истинный диагноз, иногда его устанавливают лишь на основании углубленных биохимических исследований.

При легких формах лечение не требуется. Витамин B₁₂ и фолиевая кислота неэффективны. При необходимости назначают трансфузии эритроцитарной массы. Поскольку у больных имеется склонность к гемохроматозу, то периодически проводят хелатотерапию. В тяжелых случаях осуществляют спленэктомию, дающую частичный гематологический эффект.

ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ, СВЯЗАННЫЕ С ИЗМЕНЕНИЯМИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Как было отмечено, в состав мембраны Эр входят белки и липиды, потому эту группу анемий можно условно разделить на две подгруппы: анемии, связанные с нарушениями белков мембраны Эр, и анемии, обусловленные нарушением структуры липидов мембраны Эр.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЯМИ БЕЛКОВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Цитоскелетные белки мембраны Эр играют существенную роль в поддержании различных функций Эр, обеспечивают нормальную их жизнедеятельность и длительность жизни. Потеря количества или функций цитоскелетных белков, или же того и другого приводит к нарушению деформабельности и(или) снижению механической стабильности мембраны Эр, конечным итогом этого является преждевременная гибель Эр.

Нарушения цитоскелетных белков мембраны Эр наблюдаются:

1) при наследственных ГА, связанных с генетическим дефектом белков мембраны Эр; к ним относятся наследственный сфероцитоз, наследственный эллиптоцитоз, наследственный овалоцитоз, НПП, наследственный стоматоцитоз (гидроцитоз), наследственный ксероцитоз, синдром дефицита Rh и McLeod;

2) при изменении некоторых компонентов Эр, главным образом при наличии аномального Нв или его продуктов;

3) при старении Эр, когда изменяются белки мембраны, особенно Band 3 (протеин 4.3), следствием этого является секвестрация и деструкция Эр;

4) при ГА, сопровождающихся наличием аномальных мембранных АГ.

Наследственные ГА, связанные с нарушениями белков мембраны Эр, — это гетерогенная группа как по клиническим проявлениям, так и по молекулярному дефекту. С другой стороны, между различными формами этих анемий имеется много общего и по клинической картине, и по генетическим аспектам. Так, у некоторых больных с НПП в крови часто обнаруживаются эллиптоциты; в некоторых семьях у их членов в крови выявляются только эллиптоциты, а в других семьях у одних членов семьи наблюдается эллиптоцитоз в периферической крови, а у других — пиропойкилоциты. Эти факты в совокупности с появлением новых данных относительно функции, структуры, биогенеза и молекулярной патологии белков мембраны Эр создают известные трудности в создании простой классификации. Примером этого может служить то обстоятельство, что мутации спектрина могут играть роль в патогенезе наследственных сфероцитоза, эллиптоцитоза и пиропойкилоцитоза, и наоборот, НС может быть обусловлен дефектами спектрина, протенна 4.2, анкерины или протеина 3.

Наследственный сфероцитоз. НС известен также под названием болезни Минковского — Шоффара, по фамилиям авторов, внесших вклад в описание этой болезни. Эта наследственная ГА наиболее распространена среди всех форм ГА, встречается повсеместно, у лиц обоего пола, чаще у людей белой расы. Ее частота

составляет 1:(4000...5000) [Becker P. et al., 1995; Lux S. et al., 1995]. Клинически болезнь характеризуется анемией с микросфероцитозом и снижением осмотической стойкости Эр, желтухой и спленомегалией.

По клиническим проявлениям, молекулярной основе болезни и характеру наследования НС гетерогенна [de Jong K. et al., 1998]. У 75% больных тип наследования болезни аутосомно-доминантный, а у остальных 25% — либо рецессивный, либо НС возникает спонтанно [Tse W. et al., 1997]. «Недоминантный» тип наследования может быть связан либо с новой мутацией гена, либо свидетельствовать о вариабельности пенетрации. Больные с недоминантным НС представляют большую нерешенную проблему при генетическом консультировании. Спорадические случаи встречаются во всех этнических группах, но тенденция к более высокой частоте отмечается у жителей Северной Европы и Западного полушария.

Общими признаками НС является значительное уменьшение поверхности Эр, связанное с уменьшением содержания всех липидных компонентов мембраны. Вследствие уменьшения площади поверхности мембраны Эр приобретают меньшую способность увеличивать свой объем в гипоосмолярных растворах, тем самым у Эр появляется пониженное сопротивление разрыву (осмотическая стойкость). Потеря части поверхности мембраны приводит к тому, что Эр становятся менее деформируемыми, теряют двояковогнутую форму, с трудом проникают сквозь мелкие капилляры, травмируются в них и становятся объектом захвата макрофагами в синусах селезенки. Это приводит к полнокровию селезенки, увеличению времени контакта Эр с макрофагами селезенки, происходят дальнейшее повреждение поверхности Эр и потеря мембраны.

Все эти изменения кумулируются и приводят к преждевременной секвестрации и деструкции Эр макрофагами селезенки, печени, возможно и других органов, и в конечном итоге у больного развивается анемия.

Сравнительно недавно было установлено, что НС связан с мутацией генов, ответственных за образование белков мембраны Эр. Исследования на мышах, страдающих тяжелым рецессивным сфероцитозом, позволили понять причину болезни [Peters L. et al., 1993]. Были установлены 6 аутосомно-рецессивных аллелей, находящихся в трех локусах гена: Sph (от spherocytosis — сфероцитоз), ja (от jaundice — желтуха) и nb (от normoblastosis — нормобластоз). Мутации генов Sph, Sph2BC и Sph2J являются аллельными, и у гомозиготных мышей с этой мутацией не происходит синтез α -цепочки спектрина (отсутствует мессенджер РНК), в мембране Эр полностью отсутствуют цепочки α -спектрина, что, в свою очередь, приводит к почти полному вторичному дефициту β -цепочки спектрина у мышей породы Sphha/ha (от hemolytic anemia), и избытку нестабильного спектрина, неспособного включаться в скелет мембраны. У мышей породы ja/ja не синтезируются β -цепочки спектрина, что приводит к полному отсутствию β -цепочек спектрина и вторично — к отсутствию α -цепочки спектрина. У мышей породы nb/nb наблюдается дефицит анкирина, что приводит к вторичному дефициту спектрина [Riel G. et al., 1998].

Эти фундаментальные исследования были положены в основу аналогии изменений при НС у человека, и предложена классификация заболевания, в которой учтены наблюдаемые дефицитные белки и гены, которые, возможно, за это ответственны. Изучения белков мембраны Эр, проведенные у больных в различных семьях с НС, позволили выделить

6 групп больных с наследственным сфероцитозом [Dhermy D., 1995; Pelissero G. et al., 1997]:

1) с изолированным дефицитом спектрина;

2) с дефицитом анкирина в сочетании с дефицитом других белков мембраны;

3) с дефицитом протеина band 3;

4) с дефицитом протеина 4.2;

5) с необычными комбинациями дефицитных белков мембраны;

6) с отсутствием дефицита белков мембраны.

По данным D.Dhermy (1995), G.Pelissero и соавт. (1997), A.Zanella и соавт. (1997), **первичный изолированный дефицит спектрина в мембране Эр** встречается у 11,8—45,5% больных с НС. Содержание спектрина в Эр снижено и составляет 17—40% от нормы при нормальном или повышенном содержании анкирина. В этой группе у 40% больных — доминантный тип наследования, у 40% — рецессивный и у остальных характер наследования не установлен.

У больных с доминантным типом наследования заболевание характеризуется доброкачественным течением. Геном, ответственным за эту форму болезни, по-видимому, является ген β -спектрина (SPTB). Описаны немногочисленные мутации гена β -цепи спектрина. Рецессивная форма НС протекает тяжело; этот типа заболевания, по-видимому, обусловлен мутацией гена α -спектрина (SPTA1) [McMullin M., 1999].

Тяжесть гемолитического процесса коррелирует со степенью дефицита спектрина в мембране Эр [Agre P. et al., 1989; Wandersee N. et al., 1998]. В большинстве семей с частичным дефицитом спектрина в мембране Эр (10—30%) недостаток этого белка является вторичным и коррелирует с дефицитом анкирина. Среди этой группы больных доминантный тип наследования НС отмечен у 66%, рецессивный — у 22%, а у остальных

характер наследования установить не удается. По-видимому, за возникновение этого типа заболевания ответствен ген анкирина.

Иногда удается четко установить вовлечение гена β -спектрина в патогенез развития сфероцитоза: при точечной мутации в конце β -цепочки в области соприкосновения спектрина с актином в Эр нарушается образование комплекса спектрин — актин — протени 4.1. Мутации β -спектрина вблизи С-терминального участка вызывают тот же эффект, что и мутации α -спектрина в области amino-терминального участка. Не исключена возможность, что ген α -спектрина является носителем тяжелой рецессивной формы сфероцитоза с выраженным дефицитом спектрина (50% и более) [Agre P., 1989]. По данным E. Miraglia del Giudice и соавт. (1997), при недоминантных формах НС у 18% гетерозиготных больных наблюдаются *de novo* мутации т-спектрина, а у некоторых больных обнаруживается α -спектрин^{L_{Erp}a}.

По мнению авторов, увеличение доли недоминантных случаев НС обусловлено повышением частоты *de novo* мутаций спектрина, и менее чем у 10% больных наследование истинно рецессивное, обусловленное дефицитом аллеля α -спектрина. При наличии α -спектрина^{L_{Erp}a} болезнь наследуется рецессивно, и *de novo* инаktivация аллеля β -спектрина отмечается у 13% больных; при отсутствии одного аллеля β -спектрина болезнь протекает от легкой до умеренной степени тяжести [Miraglio del Giudice E. et al., 1998].

При недоминантной форме НС, связанной с выраженным дефицитом α -спектрина, у больных, начиная с периода новорожденности, болезнь протекает тяжело. В основе заболевания лежит точечная мутация в кодоне 970 гена α -спектрина, при этом у $2/3$ больных отмечается α ^{III}.

вариант спектрина, состоящего из 5 аллелей; 25% из этих больных являются гомозиготами, а остальные — двойными гетерозиготами по α^{BII} -аллелю и аномальному гену α -спектрина [Tse W. et al., 1997].

При НС у больных в крови, наряду со сфероцитами, иногда могут встречаться акантоциты или овалоциты. Изучение гена β -спектрина у таких больных показало, что у них имеет место мутация гена с образованием мутантных форм, названных β -спектрин *S^{ta} Barbara*, β -спектрин *Promissao* и β -спектрин *San Paulo*. При наличии этих форм спектрина болезнь протекает с умеренно выраженной анемией, значительным ретикулоцитозом, с желтухой и увеличенной селезенкой [Basseres D. et al., 1998].

Наследственный сфероцитоз, обусловленный изолированным дефицитом анкирина или в сочетании с дефицитами других белков мембраны, встречается в 13—20% семей больных, хотя некоторые авторы [Sébahoun G., 1998] приводят более высокие показатели — до 60%. Изолированный дефицит анкирина в мембране встречается редко (1,6%), чаще он сочетается с дефицитом спектрина (4,9—7,5%) и очень редко в сочетании с дефицитом band 3 (0,8%) и протеином 4.2 (0,8) [Zanella A. et al., 1997; Pelissero G. et al., 1998]. По мнению R.Ozcan и соавт. (1997), у 30—50% больных с НС имеется дефект гена анкирина 1 (эритроцитарного анкирина, ANK1).

Аномалии анкирина могут быть связаны с многочисленными мутациями в генах анкирина (ANK1), приводящих к недостаточности синтеза анкирина, нестабильности образовавшейся молекулы, нарушению способности анкирина связываться с другими белками мембраны Эр. Мутированные гены анкирина могут наследоваться как доминантно, так и рецессивно. A.Kanzaki и соавт. (1997) установили, что у лиц белой

расы в 60% НС обусловлен мутацией гена анкирина, а у японцев подобная мутация наблюдается только у 10%, т. е. этническое происхождение играет существенную роль в патогенезе НС.

Установлена статистически достоверная связь между тяжестью течения болезни и полиморфизмом гена анкирина [Costa F. et al., 1990]. При выраженном дефиците анкирина в мембране Эр описаны больные с тяжелым течением НС и нарушением психомоторного развития, с делецией или транслокацией хромосомы 8. Полная делеция гена анкирина на хромосоме 8 у больных с НС сопровождается умственной отсталостью [Lux S. et al., 1990; Cohen H. et al., 1991].

Кариотипическими, биохимическими, молекулярно-генетическими исследованиями установлено, что locus гена сфероцитоза (SPH2) является геном анкирина [Lux S. et al., 1990]. При тяжелом течении болезни отмечается выраженный дефицит анкирина — спектрина в мембране Эр со снижением содержания анкирина до 50% от нормы [Hanspal M. et al., 1991; Yawata A. et al., 1998].

Первоначально предполагали, что главную роль в патогенезе НС играет дефицит спектрина в Эр. Однако последующие исследования показали, что у некоторых больных с доминантным типом наследования болезни дефицит спектрина в мембране Эр является вторичным. У таких больных могут быть цитогенетические аномалии, снижение содержания анкирина [Savvides P. et al., 1993; Saad S. et al., 1994] и его синтеза [Hanspal M. et al., 1991], отсутствие одного гаплоидного анкирина [McMullin M., 1999], наличие усеченных вариантов анкирина — анкирин Прага [Jarolim P. et al., 1995]. Это дало основание считать, что эти изменения обусловлены первичными изменениями в гене ANK1. Мутации

в гене анкирина крайне гетерогенны. Доминантные формы НС обычно сопровождаются структурными изменениями гена либо проявляются в виде незначительных мутаций [Morle L. et al., 1997; Ozcan R. et al., 1997]. Эти мутации у 20% больных приводят к отсутствию мРНК в одном из аллелей ANK1 [Jarolim P. et al., 1995]. Напротив, у больных с рецессивным типом заболевания имеются более глубокие изменения в виде замещения одной аминокислоты в гене ANK1 или же в промотере, опосредующего ген анкирина [Eber S. et al., 1996; Basseres D. et al., 1998; Gallagher P. et al., 1998].

Наследственный сфероцитоз, обусловленный дефицитом протеина 3, наблюдается у 15—30% больных, при этом дефицит белка в мембране Эр может составлять 15—60% от нормы. У большинства больных (71%) отмечается доминантный тип наследования болезни, а у 7% — рецессивный, и у 22% больных характер наследования не установлен [Dhermy D., 1995; Sébahoun G., 1998]. Если дефицит белка в мембране Эр незначителен, то трудно определить, является ли этот дефицит band 3 первичным или же вторичным [Yawata A. et al., 1998].

Дефицит band 3 (Anion exchanger, AE1) в Эр описан при гомозиготных состояниях у породы японских кошек и мышей. При полном или почти полном отсутствии AE1 в Эр наблюдается их тяжелый сфероцитоз с летальным исходом при отсутствии негематологических симптомов (ацидоза, который обусловлен отсутствием АТ1 в клетках дистальных отделов почечных канальцев). К счастью, у человека полное отсутствие AE1 не описано, но N. Alloisio и соавт. (1997) наблюдали семью с НС с вариантом этого белка AE1, который являлся следствием мутации Coimbra (V4-88M). В этой семье двое детей погибли от *hydrops foetalis*, третий

ребенок родился почти доношенным после кесарева сечения, но у него отмечалась тяжелая ГА, анасарка, в крови — выраженный эритробластоз, пойкилоцитоз, в мембране Эр полностью отсутствовали белки AE1 и 4.2. В 3-месячном возрасте наблюдался метаболический ацидоз, явления нефрокальциноза. К 8 мес развивается нормально, но постоянно получал гемотрансфузии и ежедневно натрия гидрокарбонат.

Клинико-гематологические проявления полного отсутствия в Эр Band 3 у человека сравнимо с таковыми у животных; это состояние совместимо с жизнью при условии регулярных гемотрансфузий, но в целом прогноз неблагоприятен из-за развития почечной недостаточности [Ribeiro M. et al., 1997]. Хотя приблизительно у 25% больных с доминантной формой НС болезнь связана с мутацией в гене AE 1, тем не менее ацидофикация мочи в основном нормальная [Jarolim P. et al., 1997].

При НС дефект гена Band 3 приводит к уменьшению количества белка этого типа в мембране Эр. Снижение содержания протеина в мембране Эр может быть следствием либо отсутствия мутантной мРНК из-за ее нестабильности, либо вследствие точечных мутаций в гене, приводящих к аномальному включению белка в мембрану или же аномальному соединению с плазматической мембранной Эр [Tanner M., 1998]. Мутации Band 3 отмечаются у 30% больных белой расы и у 40% японцев [Kanzaki A. et al., 1997]. Дефицит Band 3 может приводить к вторичному уменьшению содержания белка 4.2, еще более ухудшая свойства мембраны и поддержания нормальной функции Эр [Perrota S. et al., 1997].

При наличии дополнительной мутации не в гене AE 1 течение болезни у больных с доминантной формой НС более тяжелое. Так, при варианте

Band 3 Okinawa со сложной мутацией (G714R, K56E и P854/G130R) число копий АЕ 1 составляет 40—49,8% от нормы и наряду с этим наблюдается полное отсутствие белка 4.2. Электронно-микроскопически установлено, что при этом варианте АЕ 1 уменьшено количество внутримембранных частиц (Intramembrane Particles, IMP), главным образом Band 3, и отмечается выраженная олигомеризация IMP со значительным разрушением цитоскелета Эр. Уменьшение содержания белка Band 3 в сочетании с полным отсутствием протеина 4.2, которое было индуцировано мутациями Band 3, является главной причиной глубоких изменений функций Эр [Yawata Y. et al., 1998]. Вариант Band 3 Fukuoka:130R характеризуется умеренными проявлениями НС с минимальными ультраструктурными изменениями мембраны несмотря на выраженный дефицит белка 4.2 [Inoue T. et al., 1998]. При варианте АЕ 1 Neapolis имеется нарушение последовательности нуклеотидов в ДНК Band 3. При этом варианте НС гомозиготы могут быть жизнеспособны [Perrota S. et al., 1998].

A.Zanella и соавт. (1997) описали больных из трех семей, у которых белок Band 3 мембраны Эр характеризовался быстрой электрофоретической подвижностью, но высоким уровнем фосфорилиции тирозина белка Band 3 при отсутствии аномальности сДНК Band 3. У таких больных имелся первичный дефект гликофорина А, который приводил к вторичному изменению протеина Band 3, и это являлось причиной НС.

Наследственный сфероцитоз, обусловленный дефицитом протеина 4.2. Протеин 4.2 является главным компонентом плазматической мембраны Эр; прикрепляясь к плазматическому участку Band 3, он способствует поддержанию стабильности и целостности Эр. Полное или частичное отсутствие белка 4.2 приводит к развитию НС.

Ген протеина 4.2 редко вовлечен в патологический процесс у больных с НС (2—5,5%) [Pellissero G. et al., 1998], хотя, по данным A.Zanella и соавт. (1997), он вовлечен у 11,4% больных. Чаще наблюдается комбинация его дефицита с недостаточностью спектрина или анкирина. Как правило, рецессивная форма НС отмечается у японцев с полным дефицитом белка 4.2.

Как известно, экспрессия гена контролируется функциями участка промотера, который регулируется процессом метилирования, различными активаторами, ингибиторами и др. Аномальности в содержании белков мембраны могут быть связаны с функциональным состоянием участков промотера гена белков мембраны. По данным Y.Yawata и соавт. (1998), у больных с НС с полным дефицитом белка 4.2 в мембране Эр отсутствует процесс метилирования специфических участков промотера гена Band 3, и это связано с различными мутациями гена протеина 4.2 (ELB42). У гомозиготов с дефицитом белка 4.2 типа Nippon (A142T/A142T) имеется точечная мутация гена белка [Bonhassira E. et al., 1992]. Этот тип белка впервые был описан у больного итальянского происхождения и редко, но встречается у жителей Португалии и Туниса, но в основном его наличие характерно для больных с НС японского происхождения [Perrota S. et al., 1997]. У гомозиготов с дефицитом протеина 4.2 Komatsu (D175Y/D175Y) и у смешанных гетерозиготов протеин 4.2 Shiga (A142T/R317C) также наблюдается дефект метилирования в специфических участках промотера гена белка Band 3, однако в гене протеина 4.2 per se не отмечено изменений процесса метилирования [Yawata Y. et al., 1998].

Не все дефициты протеина 4.2 связаны с мутацией гена белка 4.2. Так, у некоторых больных глубокий

дефицит этого протеина связан с точечной мутацией в цитозольном фрагменте белка Band 3, который является местом прикрепления белка 4.2 к мембране [Rybicki A. et al., 1993; Tanner M., 1998]. Частичный дефицит протеина может быть также обусловлен точечной мутацией цитозольного фрагмента белка Band 3 [Jarolim P. et al., 1992]. Установлено также, что не все дефициты белка 4.2 сопровождаются НС. Так, тяжелый дефицит этого протеина выявлен у двоих близнецов с тяжелой несфероцитарной анемией [Ghanem A. et al., 1990]; он может встречаться при овалоцитозе-стоматоцитозе [Yawata Y. et al., 1990].

Исходя из того, что мембрана Эр представляет билипидный слой и учитывая все вышесказанное, патогенез НС можно представить следующим образом. Как известно, взаимодействие белков на уровне скелета мембраны происходит горизонтально и вертикально. При НС происходит нарушение вертикального взаимодействия белков между Band 3, анкирином и β -цепочкой спектрина. Различные аномалии (дефицит, неполноценность) этих белков мембраны приводят к снижению плотности скелета мембраны; это способствует возникновению нестабильности билипидного слоя мембраны, на поверхности Эр образуются микровезикулы, лишенные спектрина, которые утрачиваются. Итогом этого является снижение соотношения поверхности и объема Эр, т. е. происходит образование сфероцитов. Снижение содержания анкирина приводит к двойному дефициту анкирина и спектрина. Аналогичные изменения возникают и при дефиците протеина Band 3 и спектрина, при этом может снижаться плотность скелета мембраны со вторичным дефицитом белков разной выраженности. Количественное уменьшение каждого из этих белков может сопровождаться непо-

средственным дефицитом мембраны Эр, вовлекая другие механизмы или взаимодействия между анкирином и протеином Band 3.

Для сфероцита характерно уменьшение поверхности мембраны, приводящее к изменению объема Эр. Уменьшение поверхности мембраны связано с потерей мембраны, которая усиливается при его прохождении в венозных синусах селезенки, это приводит к уменьшению размеров Эр — микросфероцитозу. Стаз микросфероцитов в селезенке ухудшает метаболические процессы в Эр, и этим ускоряется их деструкция.

На схеме 11 представлены данные общей патофизиологии НС.

Клинические признаки НС могут проявляться в любом возрасте и характеризуются триадой: желтухой, анемией и увеличенной селезенкой. Но не всегда у больных имеют место все эти признаки одновременно.

У новорожденных детей НС может проявиться по типу ГБИ, при этом нередко в тяжелой форме, требующей обменных гемотрансфузий. Диагноз НС в период новорожденности нередко поставить трудно, и в этом вопросе большую помощь может оказать выяснение семейной анамнеза. Обычно у таких детей в последующих периодах детства наблюдаются признаки хронического гипергемолиза с резко выраженной анемией, желтухой, гепато- и спленомегалией.

В своей практике мы наблюдали ребенка, у которого с момента рождения и до 8-месячного возраста постоянно отмечались выраженная желтуха, отставание в психомоторном и физическом развитии, гепато- и спленомегалия (нижний полюс обоих паренхиматозных органов спускался в малый таз), полилимфоаденопатия (диаметр от 2 до 5 см). Несмотря на систематические гемотрансфузии постоянно прослеживались анемия (содержание Hb 30—40 г/л), ретикулоцитоз (13,7—19%). Необычной была картина белой крови: число лейкоцитов колебалось в пределах $(100 \dots 120) \times 10^9/\text{л}$, лейкограмма напоминала таковую при хроническом миело-

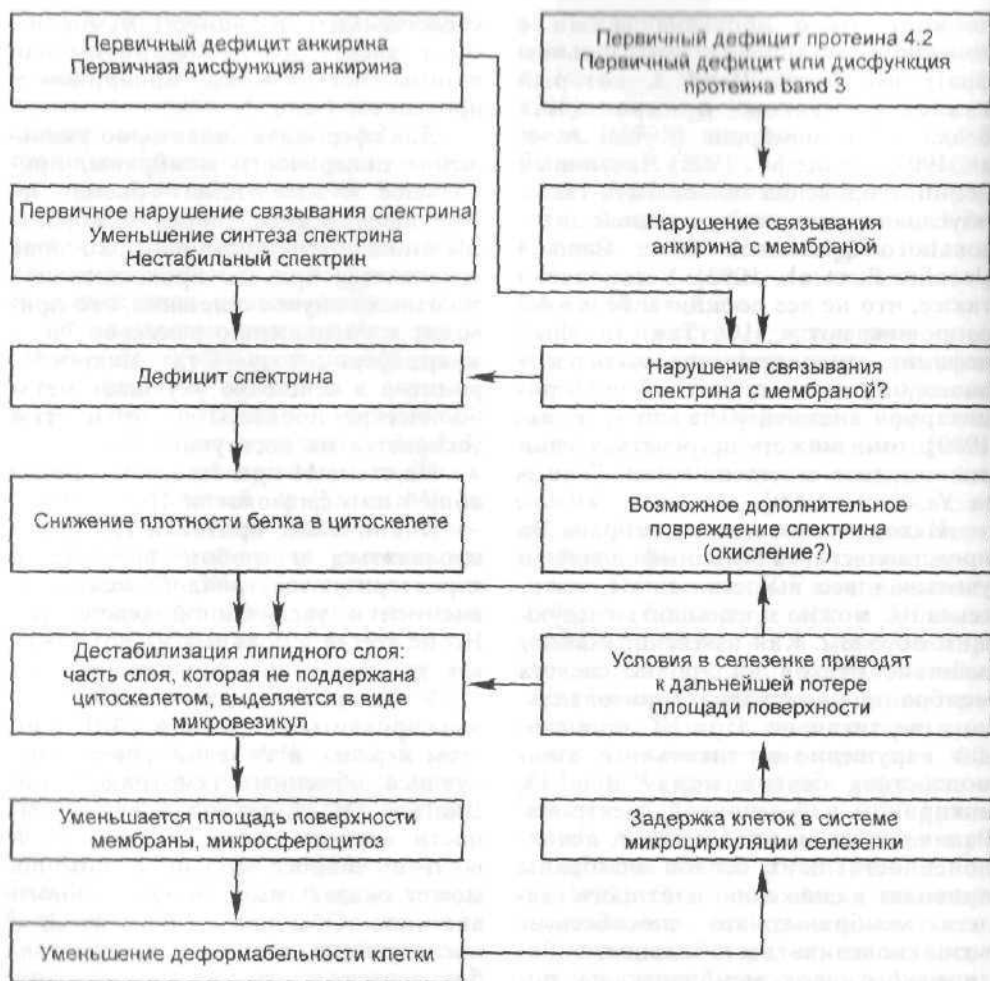


Схема 11. РАЗВИТИЕ ДЕФИЦИТА СПЕКТРИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ, ПРИВОДЯЩИХ К ДЕСТАБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАНЫ И ПОТЕРЕ ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОМ (по J.Palek, 1990).

лейкозе со сдвигом влево, вплоть до миелобластов (1,5—2,5%) и промиелоцитов (5,5—7,5%). У некоторых врачей возникала мысль о наличии двух заболеваний: НС и хронического миелолейкоза. Однако в данном случае не было необходимости искать два заболевания, так как, исходя из особенностей гемопоэза у детей младенческого возраста, у них легко происходит возврат к антенатальному типу кроветворения. Учитывая декомпенсированную форму заболевания, ребенку произведена спленэктомия, и уже в течение первой недели после операции гемограмма

достигла нормальных значений и исчезла лимфоаденопатия. В данном случае у ребенка возникли очаги экстрамедуллярного кроветворения в ответ на выраженный патологический гемолиз, и возникшая анемия не могла быть компенсирована эритропоэзом костного мозга.

У 60—70% больных течение болезни протекает с умеренной анемией, компенсированным гемолизом, но иногда это спокойное течение забо-

левание нарушается появлением гемолитических или апластических кризов, спровоцированных инфекцией, беременностью [Grajo E. et al., 1998]. Обычно по тяжести течения НС классифицируют на легкую, среднюю, умеренно тяжелую и тяжелую формы [Miraglio del Guidice E. et al., 1998]. При легкой форме наблюдается компенсированный гемолиз, без анемии. При средней степени тяжести гемолиз не полностью компенсируется, отмечается незначительная анемия, содержание гемоглобина в пределах 80—100 г/л; при умеренно тяжелой — анемия более выражена (Hb 60—80 г/л, ретикулоциты — 10%). При тяжелой степени отмечается опасная для жизни анемия, падение содержания Hb до 60 г/л и менее, трансфузионная зависимость больного.

У 65% больных первые признаки НС проявляются уже в период новорожденности, чаще всего в виде затянувшейся желтухи, требующей использования фототерапии, но иногда приходится применять обменные гемотрансфузии [Pinto L. et al., 1995]. Усиление гемолиза в неонатальном периоде частично связано с наличием свободного 2,3-ДФГ, который дестабилизирует цитоскелет мембраны Эр. Усиление желтухи вследствие преждевременной гибели микросфероцитов также обусловлено сниженной глюкоуронконъюгационной способностью печени у новорожденных [Lux S. et al., 1995]. Кроме того, у 2—3% людей имеются наследственные нарушения метаболизма печеночного билирубина (синдром Жильбера) [Bosma P. et al., 1995; Monaghan G. et al., 1996], и это может способствовать усилению желтухи при НС не только в период новорожденности, но и в последующие годы, предрасполагать к развитию желчнокаменной болезни [Polascon A. et al., 1998; Miraglia del Guidice E. et al., 1998].

Однако чаще НС проявляется после 3-летнего возраста, при этом

клиническая симптоматика постоянная — желтуха, анемия, увеличенная селезенка, но степень их выраженности варьирует от случая к случаю. Чем раньше проявляется болезнь, тем более значительны изменения в костной системе — башенный череп, высокое небо, неправильное расположение зубов, микрофтальмия, западение переносицы, поли- и синдактилия и др. Однако эти признаки свойственны любой хронической ГА, начавшейся в детском возрасте.

Иногда первые проявления НС являются в виде регенераторного криза (см. раздел «Эритробластопению»). Первоначальная диагностика может быть затруднена, так как доминируют бледность, адинамия, плохой аппетит, сонливость и другие признаки анемического синдрома, тогда как желтуха отсутствует, а увеличение селезенки может быть незначительным.

Некоторые больные жалуются на боли в правом подреберье, выявляются признаки калькулезного холецистита. У детей это наблюдается относительно редко, обычно это чаще отмечается у взрослых при тяжелом течении ГА.

Иногда течение болезни осложняется развитием гемохроматоза. Этому способствуют два обстоятельства: во-первых, перегрузка железом вследствие частых гемотрансфузий и, во-вторых, некоторые больные являются гомозиготами наследственного гемохроматоза; подобных больных необходимо обследовать на носительство этого состояния и обязательно проводить лечение для уменьшения пула хранения железа [Fairbanks V. et al., 1997] (см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»). Описаны случаи сочетания НС с миеломной болезнью [Granjo E. et al., 1998].

В классических случаях установление диагноза НС нетрудно. Может быть нормохромная микросфероцитарная анемия различной выраженности (от 40 до 110 г/л). Ретикулоцитоз — от умеренной до выражен-

ной степени, и его содержание зависит от степени выраженности гемолиза и его компенсированности, но обычно число ретикулоцитов увеличено, а в период гемолитического криза может достигать 10% и более (до 40—50%). Наблюдается снижение осмотической резистентности Эр. Средний диаметр Эр снижен (6,2—6,7 мкм), а средний объем нормальный или несколько увеличен. Сферический индекс Эр снижен, цветовой показатель в пределах нормы. В периферической крови могут обнаруживаться эритрокарициты (менее 10%). Длительность жизни Эр укорочена. В период усиления гемолиза может быть умеренный лейкоцитоз с нейтрофилезом и сдвигом влево, число тромбоцитов нормальное.

В костном мозге число миелокарицитов и мегакарицитов нормальное, наблюдается увеличение процента клеток эритроидного ряда с умеренной задержкой созревания на уровне полихроматофильных нормоцитов. В период гемолитического криза изменения в эритроидном ростке костного мозга более выражены.

У больных имеют место увеличение содержания непрямого билирубина, гипогантоглобинемия, степень выраженности которых зависят от интенсивности гемолиза. В период гемолитического криза концентрация билирубина в сыворотке крови увеличивается в 5 раз и более по сравнению с физиологической нормой, а вне криза, при компенсированном гемолизе, приближается к нормальным значениям. Однако степень билирубинемии зависит и от конъюгационной способности печени, особенно выражена гипербилирубинемия у больных при наличии у них синдрома Жильбера (подробнее см. раздел «Синдром Жильбера») [Polascon A. et al., 1998; Miraglia del Giudice E. et al., 1998].

Под влиянием различных экзогенных факторов, чаще при инфекции, вызванной парвовирусом В19,

у больных развивается эритробластопения (апластический криз, арегенераторный криз), который характеризуется определенной клинико-гематологической симптоматикой (подробнее см. раздел «Эритробластопении»).

В целом совокупность типичных клинико-гематологических данных, семейного анамнеза не вызывает трудностей в постановке диагноза НС, однако у 20—30% больных возникают определенные трудности.

Одним из главных аргументов в пользу диагноза НС является наличие сфероцитов в периферической крови. Но следует помнить о том, что наличие сфероцитов — это не синоним заболевания наследственным сфероцитозом. Сфероциты обнаруживаются при ряде ГА, когда Эр частично утрачивают вещества мембраны. Это наблюдается при тяжелой АИГА, при ГА, сопровождающейся наличием телец Гейнца в Эр, при шистозитозе, поэтому у больных обязательно следует исследовать тест Кумбса для исключения АИГА.

Хотя и при НС, и при АИГА наблюдаются сфероциты, структурные изменения, лежащие в основе изменений мембраны Эр при этих двух патологических состояниях, различны. Если при НС наблюдается мутация белков мембраны Эр, то при АИГА потеря мембраны связана с частичным ее фагоцитозом в АТ-связанных Эр. При НС нарушения образования мембраны, уменьшение поверхности и изменение объема Эр происходят на стадии ретикулоцита, тогда как при АИГА уменьшение поверхности Эр и их дегидратация являются признаками только зрелых Эр [Dacosta L. et al., 1998]. Выявить эти различия в структурной основе образования сфероцитов можно с помощью определения среднего объема ретикулоцитов и среднего содержания Нв в Эр при НС и АИГА. Необходимо отметить, что очень высокий ретикулоцитоз может мас-

кировать обнаружение сфероцитов. Напротив, при малом проценте сфероцитов (10—20%) они могут выглядеть как сферо-стоматоциты.

Другим важным диагностическим тестом, подтверждающим НС, является определение осмотической резистентности Эр. В гипоосмолярных растворах Эр разбухают и разрушаются. У 20—30% больных этот тест может быть отрицательным или сомнительным, поэтому во избежание ошибок следует изучать осмотическую резистентность Эр после аутоинкубации их при 37°C в течение 24 ч. Снижение метаболизма в Эр приводит к их сферичности, и в этих случаях тесты будут тоже положительными, как при НС. При постановке теста на аутогемолиз Эр инкубируют в собственной плазме при 37°C; при сфероцитозе наблюдается выраженный аутогемолиз через 24—48 ч после начала инкубации. При НС тест на аутогемолиз корректируется глюкозой, но при высоком содержании микросфероцитов эта коррекция выражена слабо.

Следует отметить, что с помощью анализа SDS—PAGE не всегда удается установить нарушения, лежащие в основе НС. По данным G. Pelissero и соавт. (1998), у всех больных с НС, которым проведена спленэктомия, обнаружены изменения, тогда как до операции эти изменения, лежащие в основе болезни, выявлялись только у 63% больных, и лишь после спленэктомии выявлена аномалия цитоскелетных белков (анкирина, спектрина). Это обстоятельство указывает на то, что определение аномалии с помощью анализа SDS—PAGE более эффективно в постспленэктомическом периоде.

Диагностически важным (у детей не используется) является тест преимущественной секвестрации Эр. Разрушение Эр в селезенке является убедительным аргументом в пользу НС, так как НС является практически

единственной наследственной ГА, при которой секвестрация Эр происходит отчетливо и исключительно в селезенке. Однако в редких случаях может быть смешанная секвестрация, когда разрушение Эр происходит и в печени, и в селезенке. Однако подобные наблюдения не исключают НС.

Важное значение имеет и выяснение семейного анамнеза, однако следует помнить о том, что у 20—30% больных выявить семейный характер болезни не удастся.

Таким образом, если анамнестические, семейные, клиничко-лабораторные тесты, этиологические моменты гемолиза укладываются в картину НС, и все другие причины, вызывающие сфероцитоз, исключены, то может быть установлен диагноз НС.

Лечение больных с НС особых трудностей не вызывает. Основным методом лечения является спленэктомия, после которой, как правило, исчезают признаки гипергемолита, восстанавливаются показатели периферической крови, исчезает желтуха. Показаниями к ее применению являются тяжелое течение болезни с постоянным гипергемолитом и частыми кризами. Желательно, по возможности, оперативное вмешательство у детей проводить не ранее 7 лет, но если течение болезни очень тяжелое, то отдалить сроки операции не следует, так как у ребенка возникают побочные явления и осложнения (задержка психомоторного и физического развития, выраженные изменения скелета, желчнокаменная болезнь и др.). Хотя после спленэктомии признаки гипергемолита исчезают, но в крови сохраняются микросфероциты, пониженная осмотическая резистентность Эр, в них обнаруживаются тельца Жолли, сидероциты. Если имеются признаки тяжелой желчнокаменной болезни, то оправданно одновременное проведение холецистэктомии. Иногда используют суб-

тотальную спленэктомию, но длительное наблюдение за этой группой больных показало, что у них гемолиз персистирует от незначительной до умеренной степени выраженности, но при этом сохраняется фагоцитарная функция селезенки [Bader-Meunier V. et al., 2001].

Следует помнить о том, что спленэктомированные больные (независимо от причины удаления селезенки) подвержены риску появления различных инфекций, особенно пневмококковой, иногда являющейся причиной смерти больных, поэтому необходимо обязательно проводить вакцинацию против пневмококковой инфекции [Dhermy D., 1995; Waghorn D., 2001].

Назначение витамина В₁₂, фолиевой кислоты, препаратов железа, глюкокортикоидов не улучшает течение болезни; их можно использовать при наличии апластического криза. Трансфузии эритроцитной массы показаны при снижении содержания Hb менее 80—90 г/л. Следует помнить о том, что при каждой трансфузии больной получает избыточное количество железа, депонирование которого ухудшает функцию различных органов и систем, поэтому при трансфузионной терапии следует одновременно проводить и хелатотерапию (см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»). При трансфузионной терапии каждый врач должен знать, что Эр больных с НС содержат приблизительно в 2 раза меньше участков Rh-(D)-АГ, чем Эр у здоровых людей, и незнание этого может привести к неправильной оценке принадлежности больного по Rh-фактору со всеми вытекающими отсюда последствиями при гемотрансфузии. Возможно, это касается и других Rh-АГ [Szymanski I. et al., 1989]. В эксперименте на мышах породы nb/nb успешно проведена генотерапия, но у людей ее пока что не использовали [Riel G. et al., 1998].

Течение болезни во многом определяется генотипом. При отсутствии одного аллеля анкирина или β-спектрина и при доминантной форме течение НС легкое или среднетяжелое. При недоминантной форме, рецессивной течение более тяжелое, нередко проявляется в младенческом возрасте, требуются частые гемотрансфузии и более ранняя спленэктомия [Agre P. et al., 1986; Tse W. et al., 1997; Miraglio del Giudice E. et al., 1998].

Прогноз болезни благоприятный.

Наследственный эллиптоцитоз (овалоцитоз). Это аутосомно-доминантная аномалия Эр, обусловленная нарушением структуры мембраны. По клиническим проявлениям она гетерогенна.

Впервые эллипсоидные Эр у человека описал M.Dresbach в 1904 г. Эллиптоцитоз встречается в эмбриональном периоде; у новорожденных овалоциты могут составлять до 5% от всей популяции Эр, а в более старшем возрасте их не более 1%. Наследственный характер носительства этой аномалии установлен W.Hunter и соавт. в 1929 г. Эллиптоцитоз встречается во всех этнических группах у 0,025—0,05% жителей, но большая частота (0,6—3%) наблюдается у чернокожих жителей Африки [Lux S., 1983; Lecomte M. et al., 1988].

ГА может наблюдаться не только у гомозиготов, но и у гетерозиготов. При наличии у больных анемии длительность жизни Эр укорочена; секвестрация Эр происходит в селезенке. Анемия может быть обусловлена как усиленным гемолизом, так и неэффективным эритропоэзом.

Благодаря прогрессу в области изучения биохимии и молекулярной генетики белков мембраны Эр выяснены многие стороны патогенеза НЭ. Молекулярная основа НЭ гетерогенна, и на основе молекулярных исследований выделяют дефекты и дефи-

цты белков мембраны скелета Эр, приводящие к ослаблению образования комплексов, необходимых для структурной интеграции спектриновой решетки [Feddal S. et al., 1992; Gallagher P. et al., 1993; Carpari P. et al., 1998]. К числу этих нарушений и дефицитов относятся:

- 1) дефицит или аномальная функция протеина 4.1;
- 2) нарушение образования тетрамеров спектрина;
- 3) изменения спектрина вследствие аномальной связи с протеином 4.1 или анкирином;
- 4) дефицит гликофорина C;
- 5) аномальность протеина 4.2.

Дефицит или аномальная функция протеина 4.1 при НЭ обычно наблюдается у лиц белой расы и связана с мутациями в гене белка (EPB41) [DeLaunay J., 2001]. У гетерозиготов при наличии у них выраженного эллиптоцитоза в периферической крови заболевание протекает доброкачественно, но у редко встречающихся гомозиготов (полное отсутствие в Эр протеина 4.1) болезнь протекает в виде тяжелой ГА. Молекулярные основы, обуславливающие дефицит протеина 4.1, могут быть различными: это может быть связано с мутацией кодона АТG-инициатора или же делеции эксона, ответственного за место фиксации белка 4.1 к спектрину [Chasis J. et al., 1992; Conboy J. et al., 1993]. Нарушение образования тетрамеров спектрина приводят к нестабильности мембраны Эр с образованием эллиптоцитов. Хотя количество спектрина может быть нормальным или незначительно сниженным (73—86% от нормы), но при этом повышено содержание димеров спектрина до 70% при норме 30% [Carpari P. et al., 1998].

Эллиптоцитоз наблюдается у лиц всех этнических групп, но особенно часто он отмечается среди пациентов африканского происхождения, у ко-

торых часто отмечается мутация α -спектрина. Функциональная аномалия связана со структурными изменениями NH_2 -окончания α -цепочки, главным образом участка $\alpha 1$ и в меньшей степени — $\alpha 11$; редко могут быть структурные аномалии COOH -окончания β -цепочки. Эти структурные изменения косвенно проявляются в виде повышенной аномальной чувствительности участков $\alpha 1$ и $\alpha 11$ при действии трипсина с появлением новых пептидов с меньшей молекулярной массой. Делеция $\alpha 11$ спектрина в мембране Эр приводит к изменению содержания димеров и снижению связывания спектрина с анкирином [Burke J. et al., 1997].

Методы молекулярной биологии позволили охарактеризовать эти генетические мутации. Наблюдаются мутации в гене SPTA1 (спектриновая цепочка, 5'-участок) и в гене SPTB (спектриновая цепочка, 3'-участок). Описаны по меньшей мере 20 мутаций в гене α -спектрина (обозначают как L^{HE}), отмечаются мутации в гене β -спектрина [McMullin M., 1999; DeLaunay J., 2001]. В большинстве случаев это точечные мутации. Некоторые идентичные белковые варианты могут быть обусловлены различными мутациями. Так, вариант $\alpha 1/74$ может наблюдаться при точечной мутации NH_2 -окончания α -цепочки, а также в случаях мутации COOH -окончаний β -цепочки. Однако наличие точечных мутаций в β -спектрине может не сопровождаться появлением типичных эллиптоцитов [Tse W. et al., 1990; Dhermy D. et al., 1998]. У некоторых больных может отмечаться усеченная форма β -спектрина в сочетании с аномальностью протеина 4.1 либо укорочение цепочки β -спектрина. В итальянских семьях, в отличие от семей других стран Европы, эллиптоцитоз чаще связан с дефектами β -спектрина [Carpari P. et al., 1998].

Многофакторный анализ, включавший клинические данные, реоло-

гические, биохимические и генетические данные, проведенный у большой когорты лиц — носителей аномалии спектрина, позволил выявить определенную корреляцию. Так, степень недостаточности соединения димера спектрина, определяемая содержанием димера в мембране Эр (в норме менее 3%), прямо пропорционально зависит от количества мутированного спектрина и от природы характера мутации — варианты $\alpha I/78$ и αII являются наиболее тяжелыми. При этом установлено, что тяжелые варианты течения болезни связаны с мутациями, возникающими на уровне участков образования тетрамеров. Если же мутации находятся в отдалении от этих участков, то процесс образования тетрамеров менее нарушен [Dhermy D., 1995]. Тяжесть гемолиза и уменьшение механической резистентности мембран Эр коррелируют со степенью снижения ассоциации димера спектрина. У больных, которым проведена спленэктомия в связи с тяжелой ГА, содержание димеров спектрина было очень высоким [Lecompte M. et al., 1993].

С другой стороны, было отмечено, что деформабельность Эр, как и количество эритроцитов в периферической крови, не коррелирует со снижением функции Эр, а определяется вариантом спектрина. Так, менее деформабельные Эр и большой процент эритроцитов определяются у больных, Эр которых содержат $\alpha I/65$ -вариант спектрина; у больных, имеющих этот вариант спектрина в Эр, клинические проявления ГА незначительные или даже отсутствуют, функция спектрина снижена минимальна.

Вариабельность экспрессии аллельного гена эллиптоцитоза (α^{HE}) хорошо проявляется как параметр, важный в различных клинических проявлениях болезни. Изучение большого количества семей с эллиптоцитозом показало, что одна и та же мутация гена эллиптоцитов может

клинически проявляться как тяжелым, так и доброкачественным эллиптоцитозом [Garbarz M. et al., 1990]. Эта вариабельность экспрессии аллеля спектрина (α^{HE}) связана с тем, что в участках trans или cis могут отсутствовать или же определяться аллели со слабо выраженной экспрессией (α^{LE} — Low expressed) [Delaupay J. et al., 1993]. Один из этих аллелей (α^{LELY}) наблюдается в Эр у 20—30% лиц белой расы и у чернокожих. Отсутствие спектринового аллеля α^{LELY} у гетерозиготов по аллелю α^{HE} приводит к тому, что у них эллиптоцитоз клинически протекает доброкачественно, как и при мутации аллеля спектрина α^{HE} . С другой стороны, если аллели спектрина α^{LELY} обнаруживаются в участке trans аллеля α^{LE} в Эр, то НЭ протекает в виде тяжелой ГА и при них отмечается фенотип спектрина $\alpha I/78$ и $\alpha I/74$. Напротив, если аллели спектрина α^{LELY} определяются в cis аллеле α^{HE} , то эллиптоцитоз протекает асимптомно [Wilmotte R. et al., 1993; Basseres D. et al., 1998].

Эпидемиологические исследования, проведенные M.Lecompte и соавт. (1988) среди жителей Кот Д'Ивуара, Буркино-Фасо, Того и Бенина, показали, что частота эллиптоцитоза у лиц этих стран составляет 1—3%. Исследования белков мембраны Эр у этих носителей показали, что у 70% из них наблюдается наличие $\alpha I/65$ -варианта спектрина с дубликацией в кодоне лейцина 154. Этот вариант спектрина также распространен у людей, проживающих в зонах Сахары, Северной Африки и на юге Италии. Другой вариант спектрина — $\alpha I/46$ наиболее распространен среди жителей с эллиптоцитозом Центральной и Восточной Африки, черных Северной Америки и Антильских островов, особенно у лиц, проживающих на юге Того и Бенина. Молекулярные исследования спектрина Эр у людей этой группы

показали, что имеется точечная мутация спектрина (Leu260Pro). Кроме того, при этом варианте спектрина ($\alpha 1/46$) наблюдается нарушение связи между двумя полиморфными участками, которые несут αII - и αIII -спектрины. Как и при варианте спектрина $\alpha 1/65$, носительство этого варианта спектрина протекает асимптомно у взрослых гетерозиготов [Gallagher P. et al., 1992].

Экспрессия гликофоринов С и D играет важную роль в регуляции стабильности, деформабельности и очертания мембраны Эр. Гликофорин С (син.— сиалогликопротеин b, гликоконектин, молекулярная масса 30 килодальтон) и гликофорин D (23 килодальтона) являются носителями АГ группы крови Gerbich. Ген, ответственный за синтез гликофоринов, расположен на 2-й паре хромосом (2p14—q21) [Carton J.-P., 1997].

Мембрана Эр человека содержит по крайней мере четыре сиалогликопротеина — α , β , γ и δ . При отсутствии β - и γ -сиалогликопротеинов в мембране Эр отмечается Leach-фенотип крови, снижается механическая стабильность мембраны Эр, способность ее к деформации, и Эр принимают форму эллипса [Carton J.-P., 1997]. Эллиптоцитоз у таких лиц, носит, как правило, наследственный характер, но имеются наблюдения, когда после лечения ревматоидного артрита препаратами золота у больных с анемией возникал переходящий эллиптоцитоз, связанный с появлением АТ к β -сиалогликопротеину (гликофорины С) [Beattle K. et al., 1987; Daniels G. et al., 1988].

Дефицит гликофоринов С приводит к вторичному дефициту протеина 4.1, отсутствию мембранного протеина p55 (Х-связанный), вследствие чего нарушается образование соединительного комплекса спектрин — актин — протеин 4.1 — протеин 4.2. Дефицит гликофоринов С, как и недостаток протеина 4.2, сопровожда-

ется эллиптоцитозом, но клинически он не сопровождается ГА. Мутации гликофоринов С являются следствием делеции гена в эксонах 3 и 4 либо связаны с изменениями в кодонах 44 и 45 [Benz E., 1994; McMullin M., 1999].

В стабилизации комплекса спектрин — актин — протеин 4.1 важную роль играет протеин 4.2. Его дефицит или же дефекты вызывают формирование эллиптоцитов. При эллиптоцитозе большинство мутаций этого белка являются точечными [Schwartz R. et al., 1991].

Таким образом, у большинства больных количество спектрина нормально, но имеются качественные его изменения, которые не обеспечивают образование нормальных соединений комплексов цитоскелета с липидным слоем мембраны. Это приводит к тому, что мембрана Эр становится более уязвимой к постоянной «пластической» деформации вследствие потери ее эластичности, и все это приводит в конечном итоге к преждевременной гибели Эр.

Считается, что более высокая распространенность эллиптоцитоза среди чернокожих объясняется тем, что эти Эр являются своеобразной защитой против инвазии малярии *Pl. falciparum*. Изучение *in vitro* внутриэритроцитарного цикла *Pl. falciparum* в эллиптоцитах с мутациями спектрина показали, что инвазия паразитов в эти Эр уменьшена и при этом отмечается нарушение их цикла созревания [Schulman S. et al., 1990; Lecompte M. et al., 1991].

Клинические проявления НЭ весьма гетерогенны — от бессимптомного носительства до тяжелой формы ГА, требующей гемотрансфузий и脾эктомии. Большинство гетерозиготных форм НЭ клинико-гематологически проявляются доброкачественно, гемолиз выражен умеренно, анемия отсутствует вследствие компенсации гиперретикулоцитозом. НЭ

может протекать бессимптомно, без признаков усиленного гемолиза и диагностируется случайно при проведении анализа крови и выяснении семейного анамнеза [Sébahoun G., 1998].

У некоторых больных НЭ протекает в виде тяжелой ГА, при которой наблюдается большое количество фрагментированных Эр, граничащих с пойкилоцитозом, в периферической крови. Среди этих тяжелых форм НЭ можно выделить два особых клинико-гематологических состояния [Dhermy D., 1995]:

1) эллиптоцитоз с гемолизом и транзиторным пойкилоцитозом у детей младенческого возраста, гетерозиготов; отмечается ГА, иногда протекающая в тяжелой форме и требующая для коррекции анемии проведение гемотрансфузий; с увеличением возраста ребенка клинико-гематологические проявления НЭ регрессируют, и ко второму году жизни болезнь переходит в доброкачественный фенотип эллиптоцитоза; это связывают с тем, что в течение первого года жизни HbF в Эр замещается HbA; это фенотипическое «переключение» является следствием того, что HbF связывается с 2,3-ДФГ в меньшей степени, чем с HbA, а 2,3-ДФГ ослабляет образование белковых комплексов цитоскелета [Mentzer W. et al., 1987; Dhermy D. et al., 1998];

2) эллиптоцитоз у гомозиготов также может протекать в виде тяжелой ГА у новорожденных детей с пойкилоцитозом Эр; это наблюдается при полном отсутствии в Эр протенна 4.1, при наличии мутации спектрина, вызывающей нарушение образования тетрамеров (при двойной гетерозиготности).

Клинические проявления аномалии Эр у детей до 4–6-месячного возраста могут не выявляться, поэтому нередко диагностика в первом полугодии жизни ребенка затруднена. Так, R.Austin и соавт. (1969)

описали 3 новорожденных детей, у которых клинические и гематологические признаки напоминали ГБН; морфологически Эр напоминали таковые при детском пикноцитозе. После обменных трансфузий состояние детей улучшилось, и к месячному возрасту в крови появились типичные эллиптоциты.

В более старшем детском возрасте и у взрослых можно выделить несколько форм заболевания:

1) эллиптоцитоз как аномалия Эр без признаков гемолиза; диагноз устанавливается при исследовании периферической крови, случайно; осмотическая резистентность Эр нормальная; признаки гемолиза отсутствуют; при обследовании родителей выясняется, что у одного из них в крови выявляются эллиптоциты; термостабильность Эр нормальная или сниженная; снижена и устойчивость мембраны эллиптоцитов к механическому воздействию;

2) эллиптоцитоз с ГА легкой степени; эта форма встречается наиболее часто; у больных наблюдается субиктеричность кожи и видимых слизистых оболочек, селезенка не увеличена; иногда определяются незначительная нормохромная анемия и билирубинемия; осмотическая стойкость Эр нормальная, термостабильность их либо снижена, либо нормальная, а механическая резистентность снижена; у одного из родителей в крови обнаруживаются эллиптоциты;

3) эллиптоцитоз со спорадическим гемолизом; может быть разной выраженности, провоцируется инфекцией (вирусной, бактериальной, простейшими), дефицитом витамина B₁₂; отмечаются анемия, ретикулоцитоз, пойкилоцитоз, билирубинемия; в большинстве случаев осмотическая резистентность Эр нормальная, но их термостабильность снижена; у одного из родителей определяется эллиптоцитоз;

4) эллиптоцитоз с хроническим гемолизом; встречается редко; по клиническому течению напоминает НС с умеренно выраженными признаками гемолиза; в крови, наряду с эллиптоцитами, могут обнаруживаться пойкилоциты; осмотическая резистентность Эр нормальная или повышенная, термостабильность их снижена; обычно у одного, редко — у обоих родителей имеется эллиптоцитоз;

5) сфероцитарный эллиптоцитоз; наблюдается редко; проявляется ГА различной выраженности [Palek J., 1992]; отмечается полный или частичный дефицит протеина 4.1, в крови определяются микросфероциты и овалциты; процент типичных эллиптоцитов варьирует, но встречаются несколько округлые эллиптоциты, микроовалциты; осмотическая резистентность Эр снижена или нормальная, термостабильность их нормальная; эллиптоцитоз определяется в крови у одного или обоих родителей;

6) стоматоцитозный эллиптоцитоз; встречается часто среди жителей Юго-Восточной Азии и редко у жителей других регионов; Эр имеют чашкообразную, овалцитарную форму с признаками стоматоцитоза; это обусловлено мутацией белка Band 3, отмечается делеция 9 аминокислот в области соединения цитозольного участка и мембраны Эр [Grimber G. et al., 1992; Chamber E. et al., 1999]; молекулярной основой болезни является делеция в гене AE1, точечная мутация; мутации приводят к нарушению транспорта анионов сквозь мембрану Эр, нарушению образования тетрамеров, ригидности Эр [O'Donnell A. et al., 1998; Cartgon J.-P., 2000]; клинические и гематологические признаки гемолиза отсутствуют или выражены незначительно у гомозиготов; по мнению S.Mgone и соавт. (1996), по-видимому, большинство гомозиготов погибают *in utero*; осмотическая резистентность Эр нормальная или сни-

женная; вследствие мутации протеина 3 увеличивается плотность связи между этим белком и анкирином и спектриновой решеткой, вследствие чего овалциты становятся ригидными; мутации возникают либо в участке петли, либо в участке, вовлеченном в связывание анкирина [Mochandes N. et al., 1992; Burke J. et al., 1998]; в отличие от других форм НЭ при данной форме наследование может быть как аутосомно-доминантным, так и аутосомно-рецессивным; высокая частота (до 30%) встречаемости данной формы среди жителей в регионах Малайзии и Новой Гвинеи Папуа, возможно, связано с тем, что в этом регионе высока частота заболеваемости малярией; однако окончательная причина этого явления не ясна [Palek J. et al., 1992; McMullin M., 1999];

7) наследственный гемолитический овалцитоз с неэффективным эритропозом; впервые был описан G.Torlontano и соавт. в 1979 г.; у некоторых больных отмечается компенсированный гемолиз, у других — ГА; осмотическая резистентность нормальная; овалциты составляют 25—88%, длительность жизни Эр укорочена, отмечается неэффективный эритропоз; может наблюдаться также умеренная степень дефекта функции тромбоцитов [Benz T., 1994].

Диагноз основывается на данных семейного анамнеза, исследовании периферической крови, в которой овалцитов 15% и более. Но необходимо помнить, что повышение количества эллиптоцитов в периферической крови может отмечаться при ЖДА, НС, дефиците Г-6-ФД в Эр, макроцитарных анемиях, талассемии [Caprari P. et al., 1998; Sébahoun G., 1998]. Течение болезни благоприятное.

Лечения при асимптомном носительстве аномалии не требуется. При наличии ГА показаны трансфузии эритроцитарной массы, при тяжелых

формах — спленэктомия. После операции морфологические аномалии Эр сохраняются, но ГА исчезает [Sébahou G., 1998].

Наследственный пиропойкилоцитоз. НПП впервые был описан H. Zarkowski и соавт. в 1975 г. у новорожденного ребенка. Заболевание характеризуется тяжелой ГА с внутриклеточным гемолизом и обусловлено нарушением структуры белков мембраны Эр. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно. Обычно у обоих родителей клинических проявлений заболевания нет. Редко у одного из родителей больного с НПП отмечается ГА легкой степени, в крови определяются эллиптоциты. НПП встречается у лиц негроидной расы, хотя единичные наблюдения описаны у людей белой расы [McMullin M., 1999].

НПП и НЭ — это взаимосвязанные заболевания, иногда встречаются в одной и той же семье [Palek J. et al., 1992]. У одних членов семьи наблюдается НПП, протекающий в виде тяжелой формы ГА, а у других — отмечаются признаки НЭ с умеренно выраженной ГА [Perrotta S. et al., 2001].

НПП представляет собой смешанное гетерозиготное состояние, при котором клинические проявления ГА более тяжелые, так как имеется дефицит спектрина вследствие нарушения его биосинтеза, а также наличие его мутаций, приводящих к функциональному дефекту спектрина [Gallagher P. et al., 1990]. Итогом этого является то, что в Эр увеличено количество димеров спектрина и снижено образование тетрамеров, денатурация спектрина происходит при более низких температурах, чем у здоровых людей. Это приводит к тому, что Эр становятся менее деформабельными и менее резистентными, увеличивается фрагментация их мембраны. Количественные и качественные изменения цитоскелета

Эр приводят к изменению свойств последних, снижению длительности их жизни, повышенному разрушению и развитию анемии. Но следует заметить, что при некоторых тяжелых формах НЭ при наличии сходных мутаций спектрина Эр у больных может наблюдаться пойкилоцитоз в сочетании с термолабильностью Эр, которая характерна для НПП. Эритрокарициты и ретикулоциты имеют нормальную морфологическую характеристику, что свидетельствует в пользу того, что приобретение аномальной морфологии Эр происходит в циркулирующей крови [Benz E., 1994].

НПП у двойных гетерозиготов и гомозиготов может быть связан с мутацией спектринов $\alpha 1/74$ и $\alpha 1/50a$ [Dhermy D., 1995]. В большинстве случаев отмечается незначительная мутация в N-терминальном участке α -цепочки спектрина. В типичных случаях НПП у больных в Эр наблюдается сниженный дефект экспрессии α -спектрина на другом аллеле [Lorenzo D. et al., 1993]. Обычно наблюдается низкая экспрессия α^{LELY} аллеля спектрина, приводящая к уменьшению количества спектрина при нормальном количестве мРНК. Но описаны больные, у которых в Эр полностью отсутствовал спектрин α^{LELY} [Boemmer D. et al., 1997; Perrotta S. et al., 2001].

Клинические проявления болезни наблюдаются, как правило, у новорожденных детей уже в первые сутки после рождения в виде выраженной желтухи. Иногда амниотическая жидкость окрашена в желтушный цвет. Иктеричность сочетается с бледностью видимых слизистых оболочек, гепатомегалией. Увеличение селезенки обычно отмечается у детей после 1 года. У новорожденных наблюдаются выраженная анемия (содержание Hb снижается до 47—109 г/л), анизохромия, анизоцитоз и пойкилоцитоз Эр, эритробластоз, ретикуло-

цитоз, билирубинемия, гемоглобинурия. Клинические и гематологические признаки напоминают таковые при ГБН. У детей более старшего возраста постоянно отмечаются иктеричность кожи, гепато- и спленомегалия разной выраженности, анемия, ретикулоцитоз, пойкилоцитоз, фрагментация Эр, их базофильная пунктация, наличие эритрокариоцитов в периферической крови. Осмотическая и механическая резистентность Эр снижена. Описаны больные, у которых наблюдался НПП в сочетании с серповидно-клеточной анемией, болезнью НбН [Al-Momen A. et al., 1998].

Диагноз ставят на основании клинико-гематологических данных и семейного анамнеза. Патогномоничным признаком является выраженная чувствительность Эр к нагреванию — при нагревании крови до 43...46°C резко увеличиваются пойкилоцитоз и фрагментация Эр, тогда как у здоровых людей это наблюдается только при 49°C [Lecomte M. et al., 1990; Sebahoun G., 1998].

НПП протекает в виде постоянной ГА с различной выраженностью гемолиза.

Лечение новорожденных такое же, как при ГБН. В более старшем возрасте для купирования анемии используют трансфузии эритроцитарной массы. W.Mentzer и соавт. (1984) указывают на то, что при назначении преднизолона наблюдается некоторое увеличение концентрации гемоглобина без снижения ретикулоцитоза. Спленэктомия дает частичный эффект — увеличиваются показатели красной крови, снижаются ретикулоцитоз и билирубинемия, но полной нормализации этих показателей не происходит.

Наследственный стоматоцитоз. Наследственный стоматоцитоз — это аутосомно-доминантно наследуемая аномалия Эр, наблюдаемая при ксероцитозе, гидрoцитозе, болезнях

Rh_{null} и Rh_{mod}. Но стоматоциты (до 50%) могут встречаться и при негематологических заболеваниях, в частности при псевдогомозиготном типе II гиперхолестеринемии, приобретенных заболеваниях печени [Stewart G. et al., 1987]. Общим для всех заболеваний наследственным стоматоцитозом является определенная морфология Эр — в их центре отмечается неокрашенный участок линейной формы в виде отверстия рта (отсюда название «стоматоцит»). Термин «стоматоцит» был впервые предложен S.Lock и соавт. в 1961 г. Наследственный стоматоцитоз — это группа наследственных ГА, при которых происходит аномальное проникновение моновалентных катионов через мембрану Эр [McMullin M., 1999].

Наследственный ксероцитоз (дегидратированный наследственный стоматоцитоз). Это заболевание впервые было описано B.Glander и соавт. в 1974 г. Эта редкая болезнь может протекать в виде ГА, обусловленной первичным дефектом Эр. Наследуется аутосомно-доминантно. Ген дегидратированного наследственного стоматоцитоза (DHS) располагается на хромосомах 16-й пары (16q23—qter) [Carella M. et al., 1998; Iolascon A. et al., 1999].

Патогенез болезни окончательно не выяснен. В Эр — пассивное увеличение потери K⁺ (258%) превосходит над пассивным притоком Na⁺. Приток Na⁺ составляет в среднем (2,8±0,8) мкмоль/ч, а потери этого катиона — (5,4±2,5) мкмоль/ч; содержание Na⁺ в Эр составляет (15±6) мкмоль, а K⁺ — (82±7) мкмоль [Yawata Y. et al., 1997]. Несмотря на повышение производительности K-Na-насоса в 2—6 раз, изменяется общее содержание моновалентных катионов в Эр и как следствие этого — отмечается их дегидратация, снижение осмотической резистентности, потеря деформабельности [Palek J.,

1990]. Это приводит к деструкции ксероцитов в органах СМФ (селезенка, печень, костный мозг). Дегидратация Эр, возможно, связана со вторичной сверхактивностью Na^+ - K^+ -АТФазы. Поскольку натриевые насосы выталкивают из Эр три атома Na^+ на поступление каждого двух атомов K^+ , то происходит потеря Na^+ и наступает дегидратация Эр [Benz E., 1994; Delaunay J., 2001].

При исследовании периферической крови в сухих мазках определяются стоматоциты (25—50% и более), ксероциты, в небольшом количестве (1—2%) обнаруживаются клетки-мишени, сфероциты; количество дегидратированных Эр резко увеличивается, если до приготовления мазков крови Эр помещают в гипотонический раствор натрия хлорида. При исследовании в сканирующем микроскопе в мазках из свежей крови преобладают стоматоциты. В Эр содержание холестерина и фосфолипидов нормальное, а фосфатидилхолина — повышено. Состав протеинов и гликопротеинов мембраны Эр не изменен.

У большинства носителей аномалии клинических проявлений нет, однако при обследовании выявляют нерезко выраженную желтушность кожи, незначительное увеличение селезенки. В периферической крови определяются стоматоцитоз и ретикулоцитоз при отсутствии или умеренно выраженной анемии. Редко у новорожденных заболевание протекает по типу ГБН. Описаны *hydrops foetalis* у детей с наследственным ксероцитозом [Entezami M. et al., 1996; Rodriguez V. et al., 1997], нередко наблюдается асцит, патогенез развития которого неясен и который спонтанно исчезает к 6-месячному возрасту ребенка [Grootenboer S. et al., 1997]. Сочетание наследственного дегидратированного стоматоцитоза с перинатальным отеком обозначают как синдром PE^{DHS} . В

более старшем возрасте клиническая картина напоминает наследственный сфероцитоз. Усиление гемолиза часто наблюдается в период интеркуррентных заболеваний. У 50% больных отмечается легочная гипертензия с эмболией [Yawata Y. et al., 1997]. S.Grootenboer и соавт. (2000) обследовали 10 семей с наследственным ксероцитозом и установили, что в некоторых семьях это заболевание может быть частью плеотропного синдрома: наследственный ксероцитоз + перинатальный отек, наследственный ксероцитоз + псевдогиперкалиемия или наследственный ксероцитоз + перинатальный отек + псевдогиперкалиемия.

Лечения при бессимптомном носительстве гена не требуется. При ГА назначают трансфузии эритроцитарной массы. Спленэктомия малоэффективна. Более того, установлено, что после спленэктомии повышается риск тромбоземболии; поэтому спленэктомия противопоказана [Stewart G. et al., 1996; Delaunay J. et al., 1999].

Возможна пренатальная диагностика заболевания: для этого исследуют кровь плода (гемоглобин, осмотическую стойкость Эр, содержание катионов в Эр). При наличии асцита у плода рекомендуется проводить внутриматочные обменные трансфузии крови, удаление фетального асцита (иногда до 900 мл) [Young I., 1992; Entezami M. et al., 1996].

Наследственный гидроцитоз. Это заболевание проявляется от умеренной до тяжелой гемолитической анемии. Заболевание наследуется аутосомно-доминантно. Как и при ксероцитозе, имеется первичное нарушение проницаемости мембраны Эр для моновалентных катионов. В Эр более чем в 10 раз увеличивается активный транспорт Na^+ и K^+ , вследствие чего интрацеллюлярное содержание катионов увеличивается, при

том превалирует содержание Na^+ . Это приводит к гидратации Эр (увеличение интрацеллюлярного содержания воды в Эр является кардинальным признаком), уменьшение ССЭ, осмотической резистентности Эр. Предполагают, что внутриэритроцитарное увеличение катионов связано с повышением числа K^+ -, Na^+ -АТФазных насосов в Эр, а также со стимулированием работы насосов. Однако это не обеспечивает исчезновения дисбаланса моновалентных катионов. Нарушение проницаемости мембраны и гидроцитоз обусловлены не только внутриэритроцитарным увеличением содержания Na^+ , но, по-видимому, и дисбалансом фосфолипидов мембраны — фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина. Во влажных мазках периферической крови при фазово-контрастной микроскопии гидроциты напоминают чашу, в сухих мазках — стоматоциты, как бы «раздувшиеся» Эр. Липидный слой мембраны и ее поверхность увеличены [Benz E., 1994].

Дефицит протеина 7.2b (стоматин), являющегося фосфопротеином, в мембране Эр часто наблюдается при наследственном стоматоцитозе, сопровождающий аномалии проницаемости для Na^+ и K^+ в Эр [Morle L. et al., 1989; Gallagher P. et al., 1998]. W.Mentzer и соавт. (1998) считают, что первичным модулятором фенотипа стоматоцита является не сам белок 7.2b, а специфический связывающий белок, который удерживает стоматин в мембране Эр. Ген протеина 7.2b располагается на хромосомах 9-й пары (9q33—q34). Известно также, что аквафорины (AQP) контролируют осмолярность в Эр путем ограничения или увеличения тока воды через мембрану Эр. Установлено, что AQP1 связан с АГ группы крови Colton, и при группе крови Colton_{null} AQP1 отсутствует [Chretien S. et al., 1998], и установлена связь между указанным АГ и наследствен-

ным стоматоцитозом [Cartron J.-P., 2000].

Клинические проявления разнообразны — от бессимптомного носительства гена до выраженной ГА. У новорожденных детей может наблюдаться гипербилирубинемия, нередко требующая обменных гемотрансфузий.

В последующем у ребенка отмечаются симптомы хронической ГА (бледность и желтушность кожи и видимых слизистых оболочек, спленомегалия, реже — увеличение печени, анемия, ретикулоцитоз и др.).

Лечения при бессимптомном носительстве гена не требуется. При гипербилирубинемии в неонатальном периоде можно рекомендовать обменные гемотрансфузии, фототерапию и другие мероприятия, которые используются при лечении ГБН. При наличии хронической ГА эффективна спленэктомия, но J.Delanay (2001) считает, что удаление селезенки при данном заболевании противопоказано, так как в постспленэктомическом периоде у больных часто возникают тромбоземболические осложнения.

Гемолитическая болезнь, связанная с наследственным отсутствием антигенов системы Rh в Эр. К ней относятся болезнь Rh_{NULL} и Rh_{MOD}.

Rh-АГ — это комплекс полипептидов мембраны (Rh, Rh-АГ, CD47, LW, GPB), которые собраны нековалентной связью на поверхности Эр. При отсутствии одной субъединицы белка — Rh или Rh-АГ (син. Rh50), 30 и 50 килодальтон соответственно, белки не образуют комплекса и не перемещаются на поверхность Эр. Эти белки имеют 12 трансмембранных участков в Эр и тесно связаны со скелетом мембраны. Генетический локус Rh30 полипептидов и Rh гликопротеина расположен на хромосомах 1-й пары (1p34—p36) и 6-й пары (6p12—p21) соответственно [Avent N.

et al., 2000; Huang C. et al., 2000]. RH-локус включает в себя два высокомолекулярных гена, относящихся к RHD и RHCE-RHD, которые экспрессируют D АГ, а локус RHCE — АГ сЕ, сЕ, Се или СЕ аллельные комбинации. Rh50 гликопротеин является продуктом RH50-локуса гена и не несет Rh-АГ, но играет роль коэкспрессора путем образования мембранного комплекса с Rh30. Гены RHD и RHCE состоят из 10 экзонов и они ответственны за образование Rh, несущих АГ D и СеЕе соответственно.

В 1961 г G.Vox и соавт. описали 37-летнюю женщину, у которой в Эр не определялись АГ системы резус. Клинических и гематологических нарушений у нее не было. В последующем были описаны больные, у которых в Эр, наряду с отсутствием Rh-Hg-детерминант, включая и фактор Ландштейнера — Винсера, отмечалась компенсированная форма гемолитической болезни. Это состояние P.Schmidt и соавт. (1971) назвали «болезнью Rh_{NULL}». Болезнь Rh_{NULL} обусловлена наследственным отсутствием Rh-АГ, проявляется ГА от умеренной до средней степени выраженности, наличием стоматоцитов и сфероцитоза в периферической крови. Клинически болезнь гетерогенна, наследуется аутосомно-рецессивно. Большинство случаев заболевания связаны с мутациями гена Rh-АГ (RH50) [Huang C.-H. et al., 1998].

Rh_{NULL}-фенотип встречается редко, по данным S.Seidle и соавт. (1972), — у 1 из 6 млн. Носители этого фенотипа имеют неопределенные нарушения мембраны Эр, сочетающиеся с различной степенью выраженности стоматоцитоза, сфероцитоза, снижением осмотической стойкости Эр и ГА [Huang C. et al., 1998]. При Rh_{NULL}-болезни уменьшено количество АГ Ss, Uu и Duclos. Возникновение Rh_{NULL}-фенотипа связано с гомозиготностью по неактивно-

му аллелю локуса, контролирующего биосинтез фактора-предшественника, общего для АГ Rh и LW. Белки Rh (молекулярная масса 32 килодальтона) являются составными структурными компонентами мембраны Эр, обеспечивающими поддержание нормальной структуры и функции Эр и их мембраны, выполняя роль транспортеров и каналов [Cartron J.-P., 2000]. Классически заболевание возникает двумя различными механизмами. При регуляторном типе наследования наблюдается мутация гена на уровне сепаратного супрессорного локуса, не связанного с локусом RH. При аморфном типе наследования отмечается мутация в гене локуса RH30; при этом типе наблюдается наличие «безмолвного» аллеля локуса RH, вследствие чего происходит угнетение функции гена [Huang C.-H. et al., 1998; Nyland C. et al., 1998].

Rh_{NULL} регуляторного типа встречается чаще, связан с гомозиготностью супрессорного гена (X^hr). При всех Rh_{NULL}-типах, включая Rh_{MOV}, отмечается мутация гена Rh-АГ, но не RH. Эти мутации, делеции нуклеотидов в гене Rh-АГ приводят к резкому снижению или полному отсутствию Rh-АГ гликопротеина. Молекулярные исследования показали, что для образования Rh-комплекса нет необходимости в наличии акцессорных субъединиц белков (LW, CD47 или GPB, который является носителем АГ Ss), а также CD47, так как все эти белки не являются абсолютно решающими для экспрессии АГ Rh. Аморфный тип болезни встречается редко, и к 1998 г. описаны только 7 больных. При нем также отсутствует или снижена экспрессия гликопротеинов (Rh50, CD47, LW и гликофорина B), отмечается мутация в гене RHCE [Chérif-Zahar B. et al., 1998; Cartron J.-P., 2001].

При болезни Rh_{NULL} в Эр в 1,4—1,8 раза увеличен активный и пассивный приток K⁺, повышена

Na^+ , K^+ -АТФазная активность мембраны на 35—45%, увеличено число катионных насосов, нарушена текучесть мембраны. Содержание белков и гликопротеинов мембраны не изменено. Содержание липидов нормальное, но в отличие от состава жирных кислот нормальных Эр у больных в Эр повышено содержание стеариновой кислоты и уменьшено олеиновой и линоленовой кислот. Эти нарушения указывают на то, функция мембраны аномальная, что АГ Rh являются интегральной частью мембраны, играют роль и в стабилизации мембраны, и в регуляции объема Эр.

Заболевание характеризуется компенсированной ГА (содержание гемоглобина — в пределах нижней границы нормы). Анемия нормохромная, нормоцитарная. Отмечается ретикулоцитоз, может быть персистирующая билирубинемия, незначительное увеличение селезенки. Период полужизни Эр по ^{51}Cr укорочен. Осмотическая стойкость Эр снижена, аутогемолиз повышен, корригируется глюкозой. Морфологически среди Эр определяются стоматоциты, могут наблюдаться сфероциты. W. Weise и соавт. (1981) описали двух новорожденных девочек, у которых с рождения была гипербилирубинемия, ретикулоцитоз, сниженная осмотическая стойкость Эр, стоматоцитоз, у одного ребенка была анемия.

Лечение болезни Rh_{NULL} не разработано. Поскольку, как правило, гемолитический процесс компенсирован, то заместительной гемотрансфузионной терапии не требуется. S. Seidle и соавт. (1972) описали двоих взрослых, одному из которых была сделана спленэктомия; в постспленэктомическом периоде показатели красной крови были в пределах нормы, снизился ретикулоцитоз, увеличилась длительность жизни Эр. Однако периодически в ответ на стресс у больного усиливалась желтуха.

Прогноз при болезни Rh_{NULL} благоприятный.

Болезнь Rh_{MOD} по клинико-гематологическим проявлениям сходна с болезнью Rh_{NULL}. Большинство авторов объединяют фенотипы Rh_{NULL} и Rh_{MOD}, сочетающиеся с ГА, в одну болезнь.

В 1971 г. В. Chow и соавт. описали больную, у которой в Эр была низкая экспрессия АГ Rh, симулировавшего gGr^G . В отличие от Эр Rh_{NULL} у этой больной АГ-состав был LW^+ , S^+ s^- и U^+ . У больной периодически наблюдали усиление желтухи, билирубинемия, темную мочу. Больные с подобным фенотипом были описаны и другими авторами [Nash R. et al., 1987].

Клинические и гематологические признаки при ГА, сочетающейся с Rh_{MOD}, сходны с болезнью Rh_{NULL}. У больных отмечается компенсированная ГА; показатели гемоглобина и числа Эр в периферической крови — в пределах возрастной нормы, отмечается выраженный ретикулоцитоз (3,3—27%), незначительная билирубинемия. Осмотическая стойкость Эр снижена, тест на аутогемолиз увеличен, корригируется добавлением глюкозы. Стоматоцитоз. Редко отмечаются гемолитические кризы.

При Rh_{MOD} наблюдается депрессия, но не отсутствие АГ Rh. Угнетение экспрессии АГ Rh связано с влиянием супрессорного гена. При анализе генов, ответственных за синтез Rh-полипептидов (Rh30) и Rh-связанных гликопротеинов (Rh50), у больных с болезнью Rh_{MOD} не было обнаружено аномальностей ни в структуре, ни в экспрессии генов Rh30, включая RhD и RhCE. В то же время при транскрипционном анализе Rh50 у больных наблюдаются изменения нуклеотида G на T в 3-й позиции в начале кодона ATG (ATG—ATT) [Huang C.-H. et al., 1997].

При наличии анемии проводят заместительное лечение эритроцитной массой. Спленэктомия приводит к положительным результатам.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ
АНЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ
НАРУШЕНИЯМИ СТРУКТУРЫ
ЛИПИДОВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

В состав мембраны Эр входят липиды, которые составляют до 40% от всего состава мембраны. Эр не способен синтезировать *de novo* ни липиды, ни белки, поэтому отсутствие того или иного ингредиента нельзя восполнить никаким путем. Однако существует динамическое равновесие между некоторыми липидами мембраны Эр и плазмы. Свободные жирные кислоты, входящие в состав мембраны Эр в небольшом количестве, подвергаются быстрому метаболизму, но большинство липидов обновляются медленно. Так, неэстерифицированный холестерин, составляющий 25% от всех липидов мембраны Эр, обновляется приблизительно 3 раза в день, а из фосфолипидов обновляются только 0—20%. При этом обмен липидами между мембраной Эр и плазмой крови происходит без значительных изменений в общем составе липидов Эр. Изменения как количественного, так и качественного состава липидов плазмы крови может приводить к изменениям химического состава мембраны Эр. Это, в свою очередь, приводит к изменению формы Эр, соотношения площади к объему, осмотической резистентности. Пассивное изменение в содержании липидов в мембране Эр снижает их толерантность к аутооксидации и это способствует гемолизу.

Нарушения структуры липидов мембраны Эр могут быть наследственного и приобретенного характера (гиповитаминоз Е, острый гепатит, цирроз печени и др.). Наследственные и приобретенные изменения количества и состава липидов мембраны Эр проявляются в виде морфологической аномалии Эр, и клинически это может проявляться ГА раз-

личной выраженности. Большинство приобретенных аномалий, связанных с нарушениями липидного состава мембраны Эр, являются признаками определенной болезни и могут свидетельствовать о прогрессировании процесса в различных органах и системах.

Появление аномальных клеток, клеток-мишеней является следствием увеличения соотношения поверхности Эр к его объему; это может быть обусловлено либо вследствие увеличения поверхности мембраны, либо связано с уменьшением объема Эр. Часто клетки-мишени наблюдаются при заболеваниях печени с внутрипеченочным холестазом, и это связано с тем, что в мембране Эр увеличивается содержание липидов. У больных этой группы мембрана Эр усиленно усваивает свободный холестерин и фосфолипиды из плазмы крови и это приводит к тому, что в мембране Эр увеличивается соотношение холестерина : фосфолипиды : белки, вызывая аномальное содержание липопротеинов низкой плотности. Следствием этого является увеличение поверхности мембраны Эр с нормальным или незначительным увеличением его объема. Эти Эр имеют нормальную длительность жизни, но их осмотическая резистентность снижена.

Акантоцитоз. Акантоцитоз — гетерогенная группа заболеваний, различающихся по патогенезу, клинико-гематологическим проявлениям, прогнозу и лечению. Общим для всей этой группы болезней является наличие в периферической крови Эр своеобразной формы — акантоцитов (от греч. *ακαντα* — шип, колючка). В акантоцитах отмечается наличие шиповидных выступов мембраны Эр.

Впервые название «акантоцит» ввели К. Singer и соавт. в 1952 г. Акантоциты наблюдаются при ряде заболеваний и состояний, многие из которых сопровождаются аномаль-

ным составом липидов мембраны и нарушением распределения липидов между наружным и внутренним слоями мембраны Эр. Следует различать акантоцитоз наследственного, семейного характера и приобретенного, наблюдаемого у людей при ряде заболеваний и состояний (аногехия perovosa, микседема, болезни печени, дефицит витамина E, недоношенные дети и др.) [Brownlee N., 1977; Willegas A. et al., 1987]. В случаях приобретенного состояния при эффективном лечении акантоциты из периферической крови исчезают.

При приобретенных состояниях акантоциты, как клетки-мишени, образуются вследствие повышенного накопления свободного холестерина в мембране Эр из плазмы крови, что приводит к увеличению соотношения холестерин : липопротеины. Так, при тяжелых заболеваниях печени отмечается высокий показатель соотношения свободного холестерина и фосфолипидов в липопротеинах; свободный холестерин связывается с наружным слоем оболочки мембраны Эр, вследствие чего мембрана становится менее текучей. Попадая в селезенку, такие слабо деформирующиеся Эр испытывают трудности в преодолении узких синусоидов системы микроциркуляции и легко разрушаются.

Появление акантоцитов в периферической крови у больных с заболеваниями печени свидетельствует об ухудшении функции печени. Наличие акантоцитозной анемии является угрожающим клиническим признаком терминальной стадии заболевания печени, и в прошлом до применения ортотопической трансплантации печени больные с этим синдромом редко жили более нескольких недель [Benz E., 1994].

Наследственная абетапопротеинемия. Наследственная абетапопротеинемия (син. — наследственный акантоцитоз, синдром

Бассена — Корнцвейга) — это ауто-сомно-рецессивно наследуемое заболевание, при котором может наблюдаться ГА, отмечаются выраженный акантоцитоз, прогрессирующие неврологические нарушения, дегенеративные изменения сетчатки глаза и другие изменения в различных системах.

В 1950 г. F. Bassen и A. Kornzweig описали девушку 18 лет, еврейку, у которой имелись пигментный ретинит, атаксия и Эр зазубренной формы. У больной с 2-летнего возраста отмечался синдром целиакии. Подобная же картина болезни отмечалась у ее брата, у которого синдром целиакии был диагностирован в 9-месячном возрасте, в возрасте 9 лет — ретинит, а в 11 лет — атаксическая нейропатия.

Патогенез заболевания связан с нарушениями липидного обмена, больные не способны секретировать апоβ-липопротеиды. Это не связано с вовлечением в патологический процесс гена аполипопротеида В [Gal-tud P. et al., 1988]. У больных содержание β-липидов в плазме крови снижено в 2 раза по сравнению с нормой, а фосфолипидов — до 75%. При этом резко уменьшено содержание фосфатидилхолина (до 15—20% от нормы), а количество сфингомиелина снижено в меньшей степени — до 50%. Это приводит к изменению соотношения фосфатидилхолина и сфингомиелина — 5 : 4 при норме 3 : 1. В 1960 г. H. Salt и соавт. обнаружили у девочки значительное снижение в плазме крови содержания холестерина в связи с отсутствием β-липопротеинов, и ввели термин «абетапопротеинемия», чтобы описать ассоциацию неврологических расстройств с акантоцитозом. Отмечается также вторичное снижение активности ЛХА.

У здоровых людей существуют две различные формы ЛХА: αЛХА эстерифицирует свободный холесте-

рин липопротеинов высокой плотности, а β ЛХА эстерифицирует липопротеины очень низкой и низкой плотности. Установлено, что секреция этого фермента связана с липопротеинами очень низкой плотности, но поскольку больные с абеталипипротемией не способны образовывать хиломикроны и липопротеины очень низкой плотности, то, вероятно, секреция этих триглицерид-обогащенных липопротеинов не является необходимой предпосылкой для секреции β -ЛХА [Holmquist L. et al., 1989].

Изменения содержания триглицеридов в плазме, холестерина, фосфолипидов и др. отражаются на липидном составе мембраны Эр. Так, в них снижена концентрация фосфатидилхолина и лецитина, в наружном слое мембраны повышено содержание сфингомиелина; содержание холестерина либо нормальное, либо увеличено, а содержание фосфолипидов нормальное или уменьшено, вследствие чего соотношение холестерина и фосфолипидов увеличено [Illingworth D. et al., 1980]. Увеличение соотношения сфингомиелинов и лецитинов в Эр способствует снижению текучести мембраны, что приводит к изменению формы Эр. Эритрокарициты и ретикулоциты не имеют форму акантоцитов; при переливании больному с абеталипипротемией нормальных Эр последние приобретают форму акантоцитов. Это свидетельствует о том, что дефект не связан собственно с Эр.

При абеталипипротемии может наблюдаться нормохромная нормоцитарная анемия. Генез ее сложен. Уменьшение деформабельности мембраны в связи с ее ригидностью может способствовать повышенному гемолизу. Под влиянием жирорастворимых окислителей в Эр уменьшается содержание фосфолипидов в ненасыщенных жирных кислотах, таких как фосфатидилэтаноламин и фосфати-

дилсерин, происходят повреждение белков мембраны и гемолиз. Гемолиз увеличивается в 5—10 раз. Возможно, это связано с гиповитаминозом Е, так как при добавлении токоферола фосфата *in vitro* аутогемолиз снижается с 90% до 10%; уменьшение аутогемолиза отмечалось также у больных при назначении им витамина Е внутримышечно. Однако витамин Е не изменяет ни морфологию Эр, ни содержание в них липидов.

Клинические проявления абеталипипротемии отмечаются с рождения ребенка. Наблюдаются мальабсорбция жира, плохой аппетит, срыгивание и рвота, диарея и стеаторея, замедленное увеличение массы тела. Синдром диагностируется в возрасте 4—6 нед [Saudubray J.-M. et al., 1995]. При эндоскопическом исследовании определяется желтушное окрашивание слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Клетки слизистой оболочки тощей кишки вакуолизованы, в них значительно повышено содержание липидов. Это объясняется отсутствием у больных апопротеина В. Мальабсорбция жира приводит к снижению образования хиломикронов, в результате чего у больного прогрессирует дефицит жирорастворимых витаминов — А, Е и К. Уже с рождения ребенка определяется гипохолестеринемия, а в периферической крови — акантоцитоз.

Другим патогномоничным признаком болезни являются нервно-мышечные нарушения. Уже в неонатальном периоде у детей отмечается замедленное увеличение массы тела и роста, могут быть признаки задержки психомоторного развития. У $1/3$ больных нервно-мышечные изменения возникают в первом десятилетии жизни. Первоначально у детей наблюдается снижение рефлексов с последующим развитием полной арефлексии, изменяется походка, появляются тремор рук, нарушение коор-

динации, атаксия, у некоторых больных — неясная речь [Saudubray J.-M. et al., 1995].

Третий характерный признак болезни — ухудшение зрения, которое возникает обычно позднее неврологических расстройств и связано с дегенеративными изменениями сетчатки. Первоначально больной плохо видит ночью, затем развивается полная слепота.

У больных размеры печени, селезенки, лимфатических узлов обычно нормальные, хотя D. Illingworth и соавт. (1980) описали мальчика, у которого с 2-летнего возраста отмечалась гепатомегалия; при гистологическом исследовании биоптатов печени выявлены жировая трансформация паренхимы и фиброзные изменения печени.

У детей нередко наблюдается нормохромная нормоцитарная анемия, при этом содержание гемоглобина иногда снижается до 40—80 г/л. Акантоциты составляют 50—90% от всей популяции Эр. Длительность жизни Эр несколько укорочена, но может быть и нормальной. Отмечается ретикулоцитоз (2,2—7%). Осмотическая резистентность Эр нормальная или слегка снижена. В сыворотке крови может быть увеличено содержание свободного билирубина, снижена концентрация гаптоглобина; в костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ряда. Количество лейкоцитов и тромбоцитов — в пределах нормы. Вследствие нарушения всасываемости витамина К может отмечаться повышенная кровоточивость.

Лечение должно быть комплексным. Поскольку имеются нарушения липидного обмена, то следует назначать диету с ограничением жиров. Желательно назначать триглицериды, содержащие среднецепочечные жирные кислоты. Детям до 10 лет рекомендуется ограничить количество жира в диете до 8—20 г/сут и

компенсировать поступление общей энергии за счет белков и углеводов. Такая тактика не увеличивает частоту стеатоза печени. D. Illingworth и соавт. (1980) считают, что жиры в пище должны покрывать 8—12% всей энергии. Рекомендуется также назначение витамина Е в качестве антиоксиданта — при добавлении этого витамина резко снижается аутогемолиз. D. Muller и соавт. (1977) назначали 8 больным в возрасте от 3 до 16 лет диету с ограничением жиров, витамин А по 50 000 ЕД/сут, витамин Е по 60—110 мг/сут, витамин К по 2,5 мг/сут. Авторы отметили, что такой режим лечения больных способствовал предотвращению прогрессирования неврологических и офтальмологических симптомов. Такая тактика даже предупреждает развитие неврологической симптоматики, ребенок может расти и развиваться нормально. R. Glickman и соавт. (1979) описали 24-летнюю женщину, которой диагноз абеталипопротеинемии был поставлен в возрасте 12 лет. После назначения указанного лечения прогрессирования болезни было незначительным, и она родила здорового мальчика.

Семейная гипобеталипопротеинемия. Семейная гипобеталипопротеинемия — это генетическое, аутосомно-доминантно наследуемое заболевание. Так же, как и при абеталипопротеинемии при рассматриваемой форме имеются изменения в липидном обмене, выраженность которых различна у гетеро- и гомозиготов. Как указывают D. Illingworth и соавт. (1980), у гомозиготов количественные и качественные изменения липидов, липопротеинов и аполипопротеинов плазмы крови не отличаются от таковых при абеталипопротеинемии; гомозиготы не способны вырабатывать хиломикроны. Хиломикроны, липопротеины очень низкой и низкой плотности в плазме крови отсутствуют, аполипопроте-

ин В не определяется иммунологически, выявляются следы триглицеридов. Гетерозиготная форма гипобеталипопротеинемии встречается с частотой 1:1000 в общей популяции [Breslow J., 1989]. У гетерозиготов в плазме крови содержание липидов снижено или нормально, триглицеридов снижено, а количество жирных кислот нормально. Резко уменьшено содержание липопротеинов низкой плотности (до 25% от нормы). Изучение метаболизма последних показало, что у больных снижен синтез липопротеинов низкой плотности, но их катаболизм нормален.

Ген семейной гипобеталипопротеинемии располагается на хромосомах 3-й пары (3p21.1—22), а ген β -аполипопротеина — на 2-й паре (2p23—24). Молекулярной основой болезни является мутация гена семейной гипобеталипопротеинемии (3p21.1—22) [Yuan B. et al., 2000]. В плазме крови существуют две формы аполипопротеина В — В100 и В48, которые играют важную роль в метаболизме липопротеинов. Обе формы аполипопротеина В являются продуктом гена, располагающегося на хромосомах 2-й пары [Barni N. et al., 1986].

Клинические проявления семейной гипобеталипопротеинемии характеризуются некоторым сходством с абеталипопротеинемией — наблюдается плохая переносимость жирной пищи. Однако абсорбция жира в кишечнике у гетерозиготов нормальная; гомозиготы не способны вырабатывать хиломикроны. При гомозиготном состоянии наследственной гипобеталипопротеинемии у больных отмечаются те же клинические и биологические признаки, как и у больных с абеталипопротеинемией. У гомозиготов наблюдается снижение в плазме крови содержания витаминов А и Е, отмечается стеатоз печени. Неврологические нарушения отсутствуют. Очень редко имеет ме-

сто незначительно выраженный пигментный ретинит. У больных со сниженным содержанием в плазме холестерина определяются в небольшом проценте акантоциты; последние приобретают нормальную форму при их помещении в сыворотку крови людей с гиперлипемией или гиперхолестеринемией. У гомозиготов определяются типичные акантоциты. Химический состав последних не отличается от такового Эр больных с типичной абеталипопротеинемией.

G.Richet и соавт. (1969) обследовали 3 поколения больных, а G.Sigurdsson и соавт. (1977) родителей и 6 детей, у которых биохимически отмечались признаки гипобеталипопротеинемии, но клинически и гематологически это никак не проявлялось.

Лечение проводится как при абеталипопротеинемии.

Наследственный акантоцитоз с неврологическими нарушениями и нормальным содержанием липопротеинов в плазме крови. Это редкое заболевание может наследоваться доминантно и рецессивно. Начальные симптомы болезни возникают у взрослых (после 20-летнего возраста) в виде прогрессирующей роталицевой дискинезии и хореоподобных движений конечностей, нарушений проводимости периферических нервов, наличия в периферической крови акантоцитов. Поэтому это заболевание еще называют наследственной хореей — акантоцитозом [Villegas A. et al., 1987]. Молекулярной основой болезни является мутация гена хорей — акантоцитоза, располагающегося на 9-й паре хромосом (9q21) [Rubio J. et al., 2001].

Клинические проявления характеризуются неврологическими нарушениями разной выраженности (тики, гримасничание, непроизвольные движения конечностей, деменция и др.). Размеры печени и селезенки нормаль-

ные. В сыворотке крови содержание холестерина, фосфолипидов, триглицеридов, липопротеинов низкой (β) и высокой (α) плотности нормальны. Липидный состав мембраны Эр нормальный, но отмечается уменьшение текучести мембраны [Saudubray J.-M. et al., 1995].

Гематологические показатели (содержание гемоглобина, Эр, тромбоцитов и лейкоцитов, а также ретикулоцитов) нормальные. Акантоциты в периферической крови составляют 0,2—10,6%. Отмечаются незначительное снижение осмотической стойкости Эр, нарушение их деформабельности и увеличение аутогемолиза. Длительность жизни Эр нормальная [Clark M. et al., 1989].

Причина акантоцитоза неизвестна. В гематологическом лечении больные не нуждаются.

Наследственный акантоцитоз в сочетании с фенотипом Мак-Лауда. При наличии у больных Эр с фенотипом Мак-Лауда у них может наблюдаться наследственная ГА с акантоцитозом с укорочением длительности жизни Эр [Lee S. et al., 2000].

В 1961 г. F.Allen и соавт. описали фенотип Эр, который слабо реагировал с антисывороткой Kell, и назвали его фенотипом Мак-Лауда. С группой Kell ассоциированы 18 эритроцитарных АГ. Один из них — K_x , продукт X-связанного гена, — является предшественником в биосинтетическом пути образования белка Kell. Низкое содержание K_x в клетках является результатом наследования вариантного аллеля в X-связанном локусе, и это обуславливает фенотип Мак-Лауда. По мнению J.-P.Cartron и соавт. (2000), молекулы белка K_x (молекулярная масса 37 килодальтон) входят в состав мембраны Эр, но окончательно роль белка K_x не определена. АГ Kell состоит из двух компонентов: протеина с молекулярной массой 37 килодальтон, носите-

ля АГ K_x , который является источником для экспрессии других белков, и белка с молекулярной массой 93 килодальтона, который несет АГ группы крови Kell [Benz E., 1994]. Так, если отсутствует протеин K_x , то Эр экспрессируют низкий уровень АГ Kell, имеется частичный дефицит белка 93 килодальтон, и Эр морфологически и функционально аномальны (синдром Мак-Лауда). Полагают, что белок K_x , вероятно, необходим для транспорта белка Kell на поверхность Эр, и его отсутствие приводит к изменению морфологии Эр (акантоцитозу) с умеренной ГА, а в более поздний период жизни у больных возникают мышечные и неврологические изменения [Palek J., 1990].

Хотя собственно ген Kell является аутосомным, но фенотип Мак-Лауда возникает вследствие наследования сцепленного с полом гена, а не вследствие наследования вариантного гена на аутосомном локусе Kell. К группе с относительно большой делецией Xp21.1 относятся больные с хронической гранулематозной болезнью, с мышечной дистрофией Дюшенна и пигментным ретинитом и без них [Orkin S., 1989; Ivankovic C. et al., 2000].

Природа нарушений мембраны и связанного с ним изменения формы Эр и ГА окончательно не установлена. Акантоцитоз не связан с изменением химизма плазмы крови; состав липидов мембраны Эр, ее вязкость и транспорт электролитов не изменены. Однако проницаемость мембраны для воды снижена приблизительно на 30% от нормы. Не отмечено изменений во внутриклеточной активности ферментов и концентрации АТФ. Вместе с тем увеличена фосфорилизация липидов мембраны и протеина 3. По мнению C.Redman и соавт. (1989), акантоцитоз обусловлен уменьшением внутреннего липидного слоя мембраны Эр. В Эр увеличено перемещение фосфатидилхолина че-

рез билипидный слой мембраны; Эр обладают сниженной способностью к деформации, они напоминают дегидративные Эр, хотя осмотическая стойкость последних нормальная [Cartron J.-P., 2000].

Клинически у больных может быть субиктеричность. Обычно анемии нет, хотя у детей первого года жизни она может наблюдаться. Постоянно определяется ретикулоцитоз (3—13%). Содержание акантоцитов колеблется в пределах 8—85%. Осмотическая резистентность Эр может быть нормальной или несколько сниженной. Тест на аутогемолиз снижен, корригируется глюкозой. Содержание билирубина в крови — на верхней границе нормы или несколько повышено, гаптоглобина — снижено. Длительность жизни Эр по ^{51}Cr незначительно укорочена. Количество лейкоцитов и лейкоцитарная формула нормальные. В костном мозге отмечается увеличение содержания клеток эритроидного ряда [Bertelson C. et al., 1988; Saggese G. et al., 1990].

У гетерозиготов анемии нет, акантоциты в периферической крови определяются от единичных до 10%, ретикулоцитоз (3,5—4,7%).

У 73% больных в 6—13 раз повышена активность креатинфосфокиназы в сыворотке крови, наблюдаются изменения в мышцах [Marsh W. et al., 1981].

Как правило, больные в гематологическом лечении не нуждаются. W.Symmans и соавт. (1979) описали больного, которому проведена спленэктомия в связи с наличием ГА. В постспленэктомическом периоде показатели гемограммы нормальные, акантоциты составляли 30%.

Прогноз заболевания благоприятный.

Наследственная гемолитическая анемия, обусловленная дефицитом активности лецитинхолестеринацилтрансферазы. Это аутосомно-рецессивно наследуемое заболевание впервые

описано K.Nogum и соавт. в 1967 г. Оно характеризуется комбинированными нарушениями — легкой степенью ГА, помутнением роговицы, протеинурией, гиперлипемией, ранним развитием атеросклероза [Scriver C. et al., 1989]. Заболевание выявлено во многих странах Европы, в Индии, Японии, Северной Америке как у детей, так и у взрослых [Weber P. et al., 1987].

В основе заболевания лежит дефицит активности ЛХА. Этот фермент катализирует процесс эстерификации свободного холестерина липопротеинов плазмы крови. Предполагают, что мутация гена, ответственного за синтез фермента и располагающегося на хромосомах 16-й пары, приводит к синтезу неактивного фермента. Следствием этого у больных наблюдается уменьшение содержания эстерифицированного холестерина и лизолецитина, увеличение концентрации холестерина, фосфатидилхолина в плазме крови. В составе эстерифицированного холестерина отмечается повышенное содержание пальмитиновой и олеиновой кислот и сниженное линолевой. Несмотря на гипертриглицеридемию пре- β -липопротеин отсутствует.

Изменения содержания липидов в плазме крови приводят к аккумуляции неэстерифицированного холестерина в различных органах, тканях и клетках (почки, роговица, Эр и др.), вызывая нарушения их функции. В мембране Эр увеличено содержание холестерина и фосфатидилхолина, но общее содержание фосфолипидов нормально, так как количество сфингомиелина и фосфатидилэтаноламина снижено. Это приводит к появлению клеток-мишеней в периферической крови, укорочению длительности их жизни, ГА. Поскольку может быть поглощение липопротеинов клетками, то в костном мозге, селезенке, почках и других органах могут наблюдаться «пенистые» клетки, ги-

тиоциты «морской синевы». Отложение холестерина в роговице вызывает ее помутнение.

В почках обнаруживается субэндотелиальное отложение липидов в артериях и артериолах, наблюдается протеинурия, возможно развитие почечной недостаточности [Saudubert J.-M. et al., 1995].

Клинически дефицит фермента у детей протекает малосимптомно. В раннем детстве отмечается помутнение роговицы.

У большинства больных анемия выражена незначительно, нормохромная, наблюдается ретикулоцитоз, снижение осмотической резистентности Эр. Не отмечено повышенной секвестрации Эр в селезенке. У большинства больных отмечается протеинурия (0,5—1,5 мг/мл мочи), сохраняющаяся в течение многих лет и увеличивающаяся по мере развития почечной недостаточности. В осадке мочи определяются Эр, гиалиновые цилиндры.

Диагноз основывается на клинических данных, результатах исследования липидного обмена, определения активности фермента, которая может отсутствовать при химическом и радиохимическом методах изучения, но определяться при иммуноэлектрофорезе. Это особенно важно при выявлении гетерозиготов. У гетерозиготов уровень эстерификации холестерина не отличается от здоровых людей, но у них выше содержание триглицеридов, апо-β-липопротеидов и ниже — липопротеинов высокой плотности [Froehlich J. et al., 1988].

Лечения анемии, как правило, не требуется, так как показатели красной крови близки к нормальным. Проводились попытки возместить активность фермента путем трансфузий плазмы и крови. Было отмечено, что трансфузии плазмы резко увеличивают содержание в плазме крови больного эстерифицированного холе-

стерина (в 9 раз) и фосфатидилхолина (в 2 раза) и снижают содержание неэстерифицированного холестерина в Эр в 1,5 раза. Однако инфузии плазмы не влияли на содержание других фосфолипидов, показатели красной крови и протеинурию. Указанные изменения отмечаются немедленно после трансфузии и постепенно снижаются до исходного уровня через 2 нед.

В связи с тем, что у больных прогрессируют изменения в почках, приводящие к почечной недостаточности, осуществляют пересадку почек. После трансплантации активность фермента и патологические изменения в липидах и липопротеинах сохраняются. Как указывают A.Flatt и соавт. (1977), E.Myhre и соавт. (1977), через 4 и 14 мес после пересадки изменения в трансплантированной почке были такими же, как и в удаленной.

Наследственная несфероцитарная гемолитическая анемия, обусловленная увеличением в мембране эритроцитов содержания фосфатидилхолина (лецитина). Заболевание характеризуется хронической несфероцитарной ГА, наследуется аутосомно-доминантно, хотя отмечаются спорадические случаи.

Болезнь впервые описана E.Jaffé и соавт. в 1968 г. Авторы обследовали 21 члена семьи и у 8 из них выявили определенные изменения. В последующем (1969—1971) эта семья подробно обследована S.Shoheit и соавт.

Наследственная ГА, обусловленная высоким содержанием в мембране Эр фосфатидилхолина, характеризуется:

- 1) аутосомно-доминантным типом наследования;
- 2) некомпенсированным гипергемолизом с умеренным ретикулоцитозом;
- 3) стоматоцитозом с пойкилоцитозом Эр, включая клетки-мишени;

4) выраженным увеличением содержания липидов в мембране Эр, особенно фосфатидилхолина и свободного холестерина;

5) увеличением транспорта через мембрану Эр, включая увеличение притока Na^+ и потерю K^+ .

У больных содержание в плазме крови липидов, таких как общего холестерина, свободного холестерина, холестерина высокой плотности значительно снижено, а содержание жирных кислот не изменено. Концентрация апопротеинов, особенно Апо-I и Апо-II, и β -липопротеинов в плазме крови снижена.

При данной ГА обнаруживаются значительные изменения содержания липидов в мембране Эр — в них значительно увеличено содержание свободного холестерина и фосфолипидов, в основном за счет увеличения содержания фосфатидилхолина; повышено также содержание фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола. Содержание в мембране Эр фосфатидилэтаноламина, сфингомиелина и лизофосфатидилхолина не изменено [Butikofe P. et al., 1989]. Повышенное содержание лецитина в мембране Эр повреждает их структуру, способствуя увеличению проницаемости для катионов в 3—5 раз по сравнению с нормой, изменяя соотношение Na^+/K^+ (до 1:1 при норме 3:2) в Эр, увеличивая производительность катионного насоса в 4 раза. У больных поступление Na^+ в Эр составляет $(3,1 \pm 0,6)$ мкмоль/ч, а потеря — $(7,2 \pm 2,7)$ мкмоль/ч [Yawata Y. et al., 1997]. Активность Na^+ - и K^+ -АТФаз не изменена. Все это приводит к дегидратации Эр, укорочению длительности их жизни с преимущественной секвестрацией в селезенке. Однако механизм гемолиза при данном заболевании окончательно не выяснен [Otsuka A. et al., 1990].

Клинические проявления заболевания могут выявляться в периоде новорожденности в виде затянувшейся

желтухи с нерезко выраженной анемией. В более старшем возрасте и у взрослых у большинства больных наблюдаются иктеричность, тошнота, иногда рвота, незначительное увеличение селезенки и печени; у некоторых больных выявляются признаки калькулезного холецистита.

Гематологически у больных анемия непостоянная, чаще выражена умеренно с ретикулоцитозом (7—15%); средний объем и средняя концентрация гемоглобина в Эр увеличены, что указывает на их гидратацию. Осмотическая резистентность Эр снижена. При морфологическом исследовании периферической крови наблюдается резкое снижение количества Эр дискоидной формы (в 15—20 раз) при одновременном увеличении содержания стоматоцитов (диско-стоматоцитов, стоматоцитов, сферо-стоматоцитов, мишеневидных Эр), которые могут составлять до 90% от всех Эр в периферической крови (в среднем $28,7\% \pm 5,6\%$). Количество лейкоцитов и тромбоцитов не изменено. В костном мозге отмечается увеличение числа клеток эритроидного ряда без изменения их морфологии. Наблюдаются билирубинемия, гипогантоглобинемия. Тест на аутогемолиз повышен, корригируется глюкозой [Yawata Y. et al., 1997].

D. Godin и соавт. (1980) сравнивали это заболевание с наследственной ГА, связанной с дефицитом активности ЛХА, и пришли к заключению, что оба эти патологических состояния хотя и имеют сходные черты, но молекулярная основа их различна.

Лечение не разработано. При необходимости переливают эритроцитную массу. Попытки лечения ГА спленэктомией успехом не увенчались. Более того, отмечено что после операции клинические проявления болезни ухудшаются [Otsuka A. et al., 1990].

ДЕТСКИЙ (ИНФАНТИЛЬНЫЙ) ПИКНОЦИТОЗ

В 1959 г. P. Tuffy и соавт. описали у новорожденных детей синдром, при котором отмечались желтуха, значительное увеличение печени и селезенки и ГА. Этот синдром сочетался с наличием в периферической крови сморщенных, шиповидных Эр неправильной формы, названных авторами пикноцитами.

Этиология синдрома неизвестна. Установлено, что у здоровых доношенных детей содержание в периферической крови пикноцитов составляет 0,3—1,9% от всей популяции Эр, а у недоношенных детей несколько больше — 0,3—5,6%. У родителей и сиблингов больных пикноциты не выявляются. При переливании крови больным донорские Эр принимают форму пикноцитов; это указывает на то, что дефект экстракорпускулярный. Длительность жизни Эр укорочена.

Острота клинических проявлений заболевания переменна. У некоторых больных детей содержание гемоглобина снижалось до 46 г/л, ретикулоцитов повышалось до 15—20%, отмечалась билирубинемия. Содержание пикноцитов колебалось от 6 до 50%. У ряда больных клинико-гематологические проявления напоминали таковые при ГБН, требовались обменные трансфузии крови. У другой группы детей пикноциты исчезали из периферической крови спонтанно к 4—6-месячному возрасту ребенка.

Высказывается предположение, что инфантильный пикноцитоз — это не самостоятельная нозологическая единица, а синдром, наблюдаемый при ряде состояний. Пикноциты могут отмечаться при почечной недостаточности, у недоношенных детей после ГА, у доношенных детей с дефицитом активности Г-6-ФД в Эр, при инфекциях. Возможно, пикноцитоз связан с дефицитом витамина E.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯМИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В ЭРИТРОЦИТАХ

Наличие различных ферментов в Эр позволяет поддерживать в них градиент ионов, форму и эластичность, функциональное состояние гемоглобина. Аномальности метаболизма в Эр, вызванные изменениями активности тех или иных ферментов вследствие мутации генов, вызывают дестабилизацию обменных процессов в Эр, приводя к преждевременной их гибели. Детальные биохимические исследования, внедрение методов молекулярной биологии позволили установить, что дефицит активности различных ферментов гетероген по этиологии, характеру мутаций и их распределению в различных популяциях клеток.

Ферментопатии в Эр наблюдаются как у детей, так и у взрослых. В процессе развития ребенка активность ферментов в Эр изменяется и приблизительно к двум годам жизни ребенка она соответствует таковой у взрослых людей. Динамика изменения активности ферментов в Эр у детей и у взрослых находит отражение в нарушениях функций в зависимости от возраста больного.

Большинство ферментопатий в Эр могут проявляться у детей уже в период новорожденности, но, как правило, диагноз устанавливают в юношеском возрасте или у взрослых. Исключение составляет дефицит активности ТФИ.

Практически при всех эритроцитарных ферментопатиях нет специфических клинико-гематологических признаков, а если они и имеются, то малоспецифичны. Но иногда некоторые признаки и симптомы могут ориентировать в отношении диагноза. Так, наличие телец Гейнца или

гемолитических кризов после приема медикаментов или при контакте с некоторыми химическими веществами может направить мысль клинициста на возможность наличия у больного изменения активности Г-6-ФД или же ферментов Эр, участвующих в метаболизме глутатиона. Сочетание хронической ГА с нервно-мышечными симптомами, изменениями сердца, наличием рецидивирующих инфекций заставляет подумать о дефиците активности триозофосфатизмеразы в Эр. Обнаружение базофильной пунктации в Эр при наличии признаков хронической гемолитической несфероцитарной анемии может ориентировать врача в отношении наличия у больного дефицита активности П-5'-Н в Эр.

Однако все эти признаки являются косвенными, они могут лишь направить мысль врача на возможность наличия заболевания и на необходимость соответствующих анализов. Единственным критерием, позволяющим объективно и с уверенностью поставить правильный диагноз, является определение активности ферментов в Эр *in vitro*. Но следует помнить о том, что у детей до 2-летнего возраста активность некоторых ферментов в Эр отличается от таковой у взрослых, поэтому данные по определению активности ферментов у больного следует сопоставлять с результатами, полученными у здоровых детей этого же возраста. Кроме того, необходимо помнить о том, что в молодых Эр, в ретикулоцитах активность ферментов выше, особенно это касается таких ферментов, как ПК и ГК (см. приложения).

В какой-то степени в диагностике ферментопатий Эр может помочь изучение семейного анамнеза для установления типа генетической трансмиссии. За исключением дефицита активности Г-6-ФД и ФГК в Эр, наследование которых связано с по-

лом, все остальные эритроцитарные ферментопатии наследуются ауто-сомно.

Патологический гемолиз проявляется в виде хронической несфероцитарной ГА. Гемолитические кризы при ней возникают в ответ на стрессовые состояния, при приеме лекарств, бобов, возникновении инфекций и др. Клинико-гематологические признаки патологического гемолиза общие — желтуха, снижение показателей красной крови, ретикулоцитоз и билирубинемия (исключая регенераторные кризы), снижение содержания гаптоглобина, иногда может быть увеличение печени и селезенки. Таким образом, клинико-гематологические и лабораторные данные как у детей, так и у взрослых одинаковые. Но следует помнить о том, что у новорожденных детей печень обладает пониженной конъюгационной способностью и у них содержание гаптоглобина очень низкое, так что определение этого показателя у новорожденных детей не информативно в отношении наличия патологического гемолиза.

Патологический гемолиз при измененной активности ферментов Эр может быть обусловлен либо вследствие недостаточности восстановленного глутатиона, либо из-за недостаточности образования АТФ.

Патологический гемолиз при дефиците глутатиона восстановленного обусловлен тем, что в Эр недостаточно образуются НАДФ·Н и глутатион. Важную роль в этом процессе играет Г-6-ФД, первичный продукт НАДФ·Н в пентозо-фосфатном шунте и ферменты, участвующие в метаболизме глутатиона. Дефицит образования восстановленного глутатиона относительно редок и может проявляться клинико-гематологически в виде форм заболевания по типу:

1) хронической несфероцитарной ГА;

2) ГА в сочетании с признаками метаболического ацидоза, неврологических нарушений и иногда умственной отсталости.

Второй причиной патологического гемоллиза при изменениях активности ферментов может являться недостаточная генерация АТФ. Это наблюдается при изменении активности большинства эритроцитарных ферментов, связанных с процессом гликолиза (путь Эмбдена — Мейергофа), т. е. тех ферментов, которые изменяют метаболизм нуклеотидов, исключая дефицит П-5'-Н. Дефицит этих ферментов приводит к уменьшению образования АТФ. Парадоксально, но повышенная активность этих же ферментов приводит к тому же результату. Это относится к аденозиндезаминазе, повышение активности которой способствует увеличению деградации АТФ [Kanno H. et al., 1988].

Таким образом, как правило, каких-либо патогномоничных признаков, указывающих на конкретную ферментопатию Эр, у больного нет. Главным критерием в постановке диагноза нарушения активности определенного фермента является оценка его активности в Эр.

Установление диагноза имеет важное значение как для прогноза, так и для назначения соответствующего лечения.

Все наследственные ГА, обусловленные изменениями активности ферментов в Эр, условно можно разделить на 3 группы:

1) наследственные ГА, обусловленные изменениями активности ферментов Эр гликолитического цикла;

2) наследственные ГА, обусловленные изменениями активности ферментов, участвующих в метаболизме нуклеотидов;

3) наследственные ГА, обусловленные изменениями активности ферментов глутатионового цикла с дефицитом образования глутатиона.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯМИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЭРИТРОЦИТОВ ГЛИКОЛИТИЧЕСКОГО ЦИКЛА

Среди всех наследственных несфероцитарных ГА наибольшую долю составляют анемии, связанные с недостаточной активностью ферментов, участвующих в пути Эмбдена — Мейергофа (ГК, ГФИ, альдолаза, ТФИ и др.) и пентозо-фосфатного шунта (Г-6-ФД, ферменты глутатионового цикла).

Вследствие изменения активности ферментов Эр в последних не происходит достаточной выработки АТФ и глутатиона либо происходит деградация этих веществ, необходимых для жизнедеятельности Эр. Итогом этого является преждевременная гибель Эр.

Наследственный дефицит активности многих ферментов гликолитического цикла в Эр клинико-гематологически проявляется в виде несфероцитарной ГА, которая отличается от НС нормальной морфологией и осмотической резистентностью Эр. Однако дефицит активности ферментов гликолитического цикла может протекать без клинико-гематологических проявлений либо сопровождаться другой симптоматикой, без гемоллиза.

Известно, что 2,3-ДФГ регулирует сродство Hb к кислороду, и при дефиците ДФГМ, снижающей содержание 2,3-ДФГ в Эр, может возникать эритроцитоз. Увеличение активности ФГК в Эр приводит к увеличению в них содержания АТФ и уменьшению 2,3-ДФГ, и это способствует возникновению эритроцитоза.

При изменении активности некоторых гликолитических ферментов, наряду с возникновением ГА, может наблюдаться вторичное вовлечение в патологический процесс других тканей. Так, дефицит активности ТФИ

может отмечаться не только в Эр, но и во всех тканях, и клинически течение болезни у больных характеризуется нейромышечной дегенерацией, которая заканчивается обычно летальным исходом в течение первого десятилетия жизни больного.

Дефицит активности М-субъединицы ФФК вызывает отложение гликогена в мышечной ткани, иногда в сочетании с ГА, так как наблюдается низкое содержание 2,3-ДФГ вследствие блокады метаболизма. Дефицит активности ФГК сопровождается аномалией мышечной ткани в сочетании с эмоциональными нарушениями и иногда ГА.

Дефицит в Эр активности НАДФ-диафоразы, фермента, участвующего в переносе электронов от НАДФ к цитохрому b_5 в метаболическом пути восстановленного метгемоглобина, вызывает метгемоглобинемию. Если же недостаточная активность этого фермента не ограничивается только Эр, а носит более генерализованный характер, то у больных наблюдается умственная отсталость.

Установлено, что дефицит активности некоторых ферментов гликолитического цикла клинически и гематологически протекает бессимптомно. Так, почти полное отсутствие активности Н-субъединицы лактатдегидрогеназы протекает без клинических проявлений. Умеренный дефицит глицеральдегидфосфатдегидрогеназы также не сопровождается какими-то функциональными нарушениями.

Таким образом, дефицит активности различных ферментов гликолитического цикла в Эр клинически и гематологически протекает разнообразно, от бессимптомного течения до тяжелых состояний, несовместимых с жизнью больных. Среди всех эритроцитарных ферментопатий гликолитического цикла, вызывающих ГА, на первом месте по частоте стоит дефицит Г-6-ФД.

Наследственный дефицит активности Г-6-ФД в эритроцитах. Г-6-ФД участвует в метаболизме глюкозы в гексозо-монофосфатном шунте, в процессе которого образуется НАДФ-Н в Эр, который необходим для синтеза нуклеотидов для восстановления окисленного глутатиона, возможно и сульфгидрильных групп белка. Таким образом, гексозомонофосфатный шунт играет жизненно важную роль в метаболизме глюкозы в Эр, и ключевую роль в этом пути метаболизма, катализирующую первую ступень гликолиза, играет Г-6-ФД, которая защищает Эр от окислительного повреждения.

Фермент состоит из 515 аминокислотных субъединиц, имеет молекулярную массу 59 256 килодальтон. Активация неактивных мономеров в каталитически активных димеры и другие формы требует наличия НАДФ. Последний связывается с Г-6-ФД и, по сути дела, НАДФ является структурным компонентом фермента и в то же время субстратом для реакции. Место связи (или связей) кофермента не установлено на биохимическом уровне, но при изучении мутантных форм Г-6-ФД установлено, что, по-видимому, аминокислоты 386 и 387 связывают один из фосфатов НАДФ.

Ген Г-6-ФД расположен в телометрической части длинного плеча хромосомы X (Xq28) [Luzzato L. et al., 1989]. Он имеет длину 20 kb и состоит из 13 экзонов. Идентифицированы более 300 аллелей, которые связаны с точечными мутациями в гене Г-6-ФД [Cocco P. et al., 1998]. Недостаточность активности Г-6-ФД передается по наследству как неполный доминантный сцепленный с полом признак. Поскольку ген расположен на хромосоме X, болеют мальчики. Кондуктором заболевания являются матери, как правило, гетерозиготы. Однако женщины-кондукторы не всегда являются бессимптом-

ными носителями дефектного гена — это подтверждается наличием гомозиготного состояния, а также может быть объяснено с позиций теории «инактивации хромосом X». Согласно этой теории у женщины в каждой клетке только одна хромосома X является активной, а инактивация другой хромосомы X происходит случайно, на раннем этапе развития плода. Этот процесс является необратимым, и клетки сохраняют ту же «интензию», заложенную внутриутробно, в процессе их деления на всем протяжении постнатальной жизни. Этим объясняется то обстоятельство, что у здоровых людей уровень активности фермента одинаков у лиц обоего пола, хотя женщины являются носителями двух хромосом X. У женщин-гетерозигот, с точки зрения хромосом X, наблюдается мозаицизм, при котором существуют две популяции клеток: в одной определяется нормальная активность фермента, а в другой активность отсутствует. Исходя из этого, у женщины-гетерозиготы активность фермента в Эр составляет 50% от нормы [Ashum R. et al., 1986].

Выявление высокой частоты дефицита активности Г-6-ФД в Эр, а иногда и в лейкоцитах в некоторых этнических группах людей предполагает, что этот ген селективно приобретен людьми, проживающими в тропических зонах, где широко распространена малярия (*Pl. falciparum*). Наблюдения E. Roth и соавт. (1983) показали, что Эр гетерозигот по дефициту Г-6-ФД меньше поддерживают внутри себя рост плазмодий, чем Эр с нормальной активностью фермента, т. е. для этнических групп людей, проживающих в малярийных регионах, наличие дефицита Г-6-ФД в Эр является благом делом, оно повышает резистентность к возбудителям малярии [Carrado M. et al., 1998].

Дефицит активности Г-6-ФД в Эр распространен широко и, по данным

R. Rosa (1995), выявляется у 400 млн людей, т. е. практически у каждого шестого. В разных странах и регионах частота дефицита активности Г-6-ФД колеблется от 5 до 25% от всех жителей. С наибольшей частотой этот дефицит обнаруживается у коренных жителей Африки, Среднего Востока, тропической Азии, субтропических зон и Средиземноморья. Относительно нечасто дефицит активности фермента обнаруживается у коренных жителей Европы и Северной Америки. В некоторых республиках бывшего СССР дефицит распространен в отдельных районах Закавказья, особенно в Азербайджане, Средней Азии. Среди русского населения дефицит активности Г-6-ФД в Эр наблюдается не более чем у 2% [Идельсон Л.И., 1985].

Описаны и охарактеризованы более 400 вариантов Г-6-ФД, различающихся по электрофоретическим и кинетическим параметрам [Rosa R., 1995]. Согласно рекомендациям ВОЗ (1967), предложены критерии для стандартизации различных вариантов Г-6-ФД. Всего выделяют 5 классов.

1-й класс. К нему относятся варианты Г-6-ФД, которые вызывают хроническую несфероцитарную ГА вне зависимости от активности фермента в Эр (обычно активность составляет 0—35% от нормы). Это варианты Alhambra, Andalus, Iowa, Loma, Linda, Wayne и др. [Hirono A. et al., 1988; Vives-Corrons J.-L. et al., 1990; Beutler E. et al., 1991, 1992].

2-й класс. При нем наблюдается выраженный дефицит активности фермента в Эр (0—10% от нормы). У больных отмечается клинко-гематологическая картина острого гемолитического криза, вызванного приемом лекарств, фавизм. К этому классу относятся варианты Г-6-ФД Gaohe, Greece, Kaiping, Mediterranean, Taiwan-Hakka и др. [Vullifvi T. et al., 1988; Zuo L. et al., 1990; Chao L. et al., 1991; Beutler E. et al., 1992].

3-й класс. Активность фермента в Эр умеренно снижена (10—60% от нормы), возможны острые гемолитические кризы после приема лекарств. К этому классу относятся Г-6-ФД Chatham, Pehsa, Mahidol, Montalbono, Ube и др. [Vullifvi T. et al., 1988, 1989; Viglietto G. et al., 1990; Hiro-no A. et al., 1994].

4-й класс. К нему относятся лица с нормальной или почти нормальной активностью фермента в Эр (более 60% от нормы). Это Г-6-ФД A⁺, Malta 1 и др. [Takizawa T. et al., 1987; Greech G. et al., 1997].

5-й класс. При нем активность Г-6-ФД в Эр высокая, иногда выше нормы в несколько раз. Это Г-6-ФД Hektoen [Dern R. et al., 1969].

Как было отмечено, существуют более 400 вариантов Г-6-ФД, которые обусловлены генетическими мутациями. Наиболее частой аномальностью в гене Г-6-ФД является точечная мутация с заменой одной аминокислоты другой; описаны также 5 небольших делеций в гене фермента [McMullin M., 1999].

Различия в мутациях гена определяют гетерогенность течения заболевания. Активность фермента в Эр может быть нормальной (+) или сниженной (—). Среди больных людей наиболее распространены два типа фермента, различающихся между собой по физико-химическим свойствам: А и В. Тип А Г-6-ФД встречается у лиц африканского происхождения и его еще называют «Африканским типом». Тип В Г-6-ФД наиболее часто встречается у лиц Средиземноморского бассейна поэтому его называют еще «Средиземноморским типом»; он наиболее распространен в мире.

Тип А Г-6-ФД встречается у 30% людей, отличаясь от типа В заменой одной аминокислоты (Asn 126 → Asp) в ферменте вследствие замены одного нуклеотида в гене фермента.

Африканский тип фермента подразделяется на два варианта:

1) Г-6-ФД A⁺ имеет быструю электрофоретическую подвижность и нормальную активность;

2) Г-6-ФД A⁻ также обладает быстрой электрофоретической подвижностью, но активность фермента снижена.

Г-6-ФД A⁺ характеризуется G → A мутацией в нуклеотиде 376 гена фермента, а Г-6-ФД A⁻ характеризуется той же мутацией, но, кроме того, очень часто при этом варианте имеется мутация и в нуклеотиде 202 либо в нуклеотидах 680, или 968, или 542 гена фермента [Beutler E. et al., 1989, 1991; Sheth S. et al., 1998]. Мутация гена в области нуклеотида 376 вызывает дефицит активности Г-6-ФД, а при наличии мутации гена в области нуклеотида 202 активность фермента нормальная, но если мутация отмечается в комбинации с мутацией в области нуклеотида 376, то активность фермента снижена.

Таким образом, при варианте Г-6-ФД A⁻ можно выделить 4 субварианта [Beutler E., 1994]. При Г-6-ФД A⁻ активность фермента составляет 10—20% от нормы; кроме того, если фермент синтезируется нормально, то он нестабильный [Guitard A.-M. et al., 1998]. С позиций молекулярной биологии, изучение двух типов фермента А на уровне генома — Г-6-ФД A⁺ и Г-6-ФД A⁻ позволило установить, что при мутантном типе A⁻ имеются две точечные мутации, одна из которых аналогична при мутации типа A⁺. Высказывается предположение, что тип A⁻ является следствием второй мутации, появившейся у индивидуума, носителя мутации A⁺ [Rosa R., 1995].

Тип Г-6-ФД В — чаще всего встречается у людей этнических групп средиземноморья; активность фермента очень низкая (0—10% от нормы). Тип В фермента очень гетерогенен. В большинстве случаев дефи-

дит активности Г-6-ФД связан с заменой аминокислот С→Т в нуклеотиде 568 гена фермента. Эта мутация наблюдается при вариантах Birmingham, Cagliari, Dallas, Panama, Sassari [De Vita G. et al., 1989; Beutler E. et al., 1995]. Реже наблюдается мутация в гене фермента в нуклеотиде 844; это варианты Г-6-ФД Lodi, Modena, Seattle [De Vita G. et al., 1989; Fiorelli G. et al., 1990; Ninfali P. et al., 1991]. По мнению D. Maffi и соавт. (1998), при средиземноморском варианте дефицита активности Г-6-ФД содержание глутатиона в Эр ниже, чем при других вариантах Г-6-ФД.

Хотя здесь мы дали краткую характеристику только некоторым вариантам Г-6-ФД, но подчеркнем, что, во-первых, возможности выявления вариантов Г-6-ФД присущи лишь специальным лабораториям и имеют теоретическое значение и, во-вторых, с клинико-гематологической и терапевтической точки зрения, нет необходимости их охарактеризовывать.

С клинико-гематологической точки зрения, дефицит активности Г-6-ФД может протекать:

- 1) бессимптомно;
- 2) в виде острого гемолитического криза;
- 3) в виде хронической несфероцитарной ГА;
- 4) в виде желтухи новорожденных.

При дефиците активности Г-6-ФД в Эр нарушается процесс аэробного гликолиза, но сама по себе сниженная активность фермента не провоцирует патологический гемолиз; для его запуска необходимы внешние факторы. К их числу относятся некоторые лекарственные препараты, химические и растительные вещества, инфекции, микроорганизмы, вирусы, диабетический ацидоз. Как было отмечено, Г-6-ФД является единственным источником образования НАДФ-Н в процессе гликолиза.

НАДФ-Н является коферментом глутатионредуктазы, которая регенерирует окисленный глутатион в восстановленный. Восстановленный глутатион участвует в процессе детоксикации пероксидов, которые токсичны для Эр. Поскольку в Эр активность Г-6-ФД снижена, то они при воздействии на них внешних факторов, оксидантов, не способны генерировать в достаточном количестве НАДФ-Н, чтобы инактивировать избыток водорода пероксида. В результате этого путем окисления происходит денатурация белков стромы и глобина, которые преципитируются в Эр в виде телец Гейнца. Последние приводят к ригидности мембраны, вследствие чего Эр с трудом проходят через капилляры селезенки и элиминируются из периферической крови. Методом осмотической сканирующей эктацитометрии было установлено, что Эр, дефицитные по Г-6-ФД, обладают сниженной способностью к деформации [Johnson R. et al., 1997; Notaro R. et al., 1998]. На схеме 12 представлена связь между системой глутатиона и пентозо-фосфатным шунтом.

Первые клинико-гематологические проявления дефицита активности Г-6-ФД в Эр могут возникать в различные периоды жизни — от периода новорожденности до зрелого возраста.

Дефицит активности фермента может проявиться в периоде новорожденности, по клинико-лабораторным параметрам напоминая ГБИ, связанную с АГ-несовместью Эр матери и плода. Ребенок бледен, отмечаются желтуха, темная моча. Чаще всего проявления дефицита отмечаются у детей со средиземноморским вариантом Г-6-ФД. Обычно желтуха появляется на вторые сутки после рождения, но иногда и позднее. Задержка появления желтухи часто связана с использованием для обработки пуповинного остатка и кожи

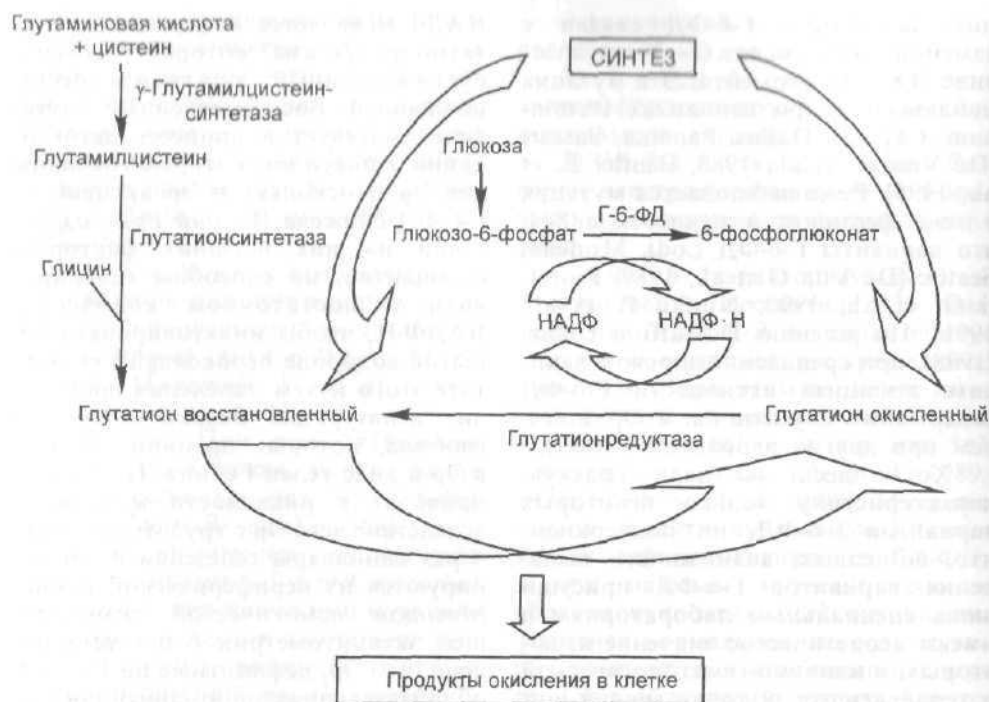


Схема 12. ИЗОБРАЖЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ СИСТЕМОЙ ГЛУТАТИОНА И ПЕНТОЗОФОСФАТНЫМ ШУНТОМ.

Под действием Г-6-ФД образуется НАДФ·Н, позволяя постоянно превращать глутатион окисленный в восстановленный под действием глутатионредуктазы. Глутатион окисленный и восстановленный вместе с НАДФ·Н при участии Г-6-ФД способствуют образованию 6-фосфоглюконата.

анилиновых красителей, антисептиков, пеленок, обработанных нафталином, приемом матерью или ребенком синтетических водорастворимых аналогов витамина К. При затянувшейся и выраженной гипербилирубинемии на 2-й неделе жизни у новорожденного могут возникнуть признаки поражения ядер головного мозга. Обычно увеличения печени и селезенки не наблюдается, но если наслаиваются другие факторы (изоиммунизация, инфекция), то может быть увеличение этих паренхиматозных органов [Kaplan M. et al., 2001].

В клинических анализах показатели красной крови переменны — от практически нормальных показателей Нв и Эр до выраженной анемии с наличием фрагментированных Эр,

ретикулоцитозом и повышенного числа ядросодержащих клеток эритроидного ряда, Эр с тельцами Гейнца.

Возникновение ядерной желтухи у новорожденных детей наблюдается редко. Поскольку у большинства младенцев отсутствует анемия, показатели билирубина находятся в тех же пределах или же несколько выше, чем у здоровых детей с физиологической желтухой новорожденных, и показатели карбоксигемоглобина отражают одинаковый уровень гемолиза как у желтушных, так и у безжелтушных детей. В связи с этим было высказано предположение о том, что в развитии более выраженной желтухи у новорожденных играет роль недостаточность конъюгации билирубина в печени.

Известно, что у больных с синдромом Жильбера имеется полиморфизм ТА промотера в гене UDP-глюкуронозилтрансферазы 1 (UDPGT-1). Исследованиями М. Карпан и соавт. (1997) было установлено, что ни дефицит активности Г-6-ФД, ни вариант UDPGT-1 промотера сами по себе по отдельности не увеличивают число новорожденных детей со значительной гипербилирубинемией; однако если у ребенка имеется сочетание этих двух факторов, то число новорожденных детей с гипербилирубинемией возрастает. Обычно при средиземноморском типе Г-6-ФД в Эр гипербилирубинемия исчезает к моменту окончания периода новорожденности, и в последующем гемолитический криз может возникнуть только после приема некоторых медикаментов или контакта с некоторыми химическими или растительными веществами, во время инфекций, ацидоза. Однако у некоторых новорожденных детей патологический гемолиз выражен настолько, что требуется проведение заменных переливаний крови; в последующем у некоторых из этих детей дефицит активности Г-6-ФД в Эр протекает в виде хронической несфероцитарной ГА [Rosa R., 1995].

Дефицит активности Г-6-ФД в Эр может протекать в виде хронической несфероцитарной ГА. Чаще всего она наблюдается у лиц белой расы Северо-Европейского происхождения, имеющих вариант Г-6-ФД В, и крайне редко у лиц черной расы.

Клинически у больных постоянно на всем протяжении жизни отмечается желтуха разной интенсивности, периодически то увеличиваясь, то ослабляясь при отсутствии провоцирующих факторов (медикаментов, инфекций и др.). Чаще всего ГА усиливается на фоне повышения температуры тела и приема некоторых медикаментов. Может быть незначительное увеличение селезенки [Guillard A.-M. et al., 1998].

Гематологически у больных наблюдается картина несфероцитарной ГА — нормоцитарная анемия, ретикулоцитоз, полихромазия, наличие небольшого количества фрагментированных Эр, нормальная осмотическая резистентность Эр, укорочение длительности их жизни, билирубинемия и гипогаптоглобинемия. В период усиления гемолиза обнаруживаются Эр с тельцами Гейнца, которые могут отсутствовать вне криза. Тест на аутогемолиз I-го типа частично корригируется глюкозой. Усиление гемолиза отмечается на фоне интентных заболеваний, при приеме некоторых лекарств, но нередко причину гипергемолиза установить не удается.

У большинства носителей дефицита активности Г-6-ФД в Эр заболевание протекает бессимптомно и внезапно проявляется в виде острого гемолитического криза, спровоцированного экзогенными факторами. К их числу относятся:

1) лекарственные и химические препараты — аспирин, антипирин, альбунид, акрихин, аскорбиновая кислота, бактрим, бутамид, витамин К (большие дозы водорастворимых аналогов), γ -оксимасляная кислота, дапсон, левомецетин, метиленовый синий, нитраты, неосальварсан, ниридазол, налidikсовая кислота, неграм, 5-НОК, невиврамон, нафталин, нитрафурантонин, пирамидон, ПАСК, примахин, сульфациридин, толундиновый синий, тринитротолуол, унититол, фенацетин, фенилгидразин, фурадонин, фуразолидон, фурацилин, хинин, хиноцид, хинидин, хлорохин и др.;

2) инфекции — респираторно-вирусные, инфекционный гепатит, ИМ, бактериальные пневмонии, диабетический ацидоз, сальмонеллезная инфекция;

3) употребление в пищу конских бобов.

Острый гемолитический криз (внутрисосудистый) возникает у лиц мужского пола обычно через 1—

3 дня после стрессовых состояний (прием лекарства, инфекция и др.); у лиц черной расы с типом Г-6-ФД А—криз чаще всего возникает после приема примахина. При средиземноморском типе Г-6-ФД В—криз наступает через 24—48 ч после приема бобов Fava.

Клинически у больных после приема лекарств отмечаются астения, нарастающая бледность кожи и видимых слизистых оболочек, желтуха, моча темного (почти черного цвета). Иногда больные жалуются на боли в спине и животе, может развиться анурия. В течение 2—4 дней после первых симптомов снижается содержание гемоглобина и числа Эр, падение показателей красной крови продолжается в течение 1—1½ нед независимо от того, продолжает ли больной принимать лекарства, спровоцировавших криз, или же их отменили. На этой стадии криза в циркулирующих Эр определяются тельца Гейнца, при тяжелых формах гемолитического криза в периферической крови определяются сфероциты, фрагментированные Эр, наблюдается лейкоцитоз со сдвигом влево клеток нейтрофильного ряда, число тромбоцитов — в пределах нормальных значений.

При биохимическом исследовании крови обнаруживаются гипербилирубинемия, снижение содержания гаптоглобина, увеличение концентрации железа в сыворотке крови; гемоглобинемия и гемоглобинурия наблюдаются при тяжелых формах.

Остро начавшийся гипергемоллиз спонтанно прекращается через 4—6 нед после начала криза, и в ближайшие дни после его прекращения провоцирующие моменты не вызывают гипергемоллиз. Это объясняется тем, что в этот период популяция Эр представлена молодыми формами, обладающими активностью фермента, близкой к норме. После прекращения гемолитического криза показатели крови нормальные.

Диагностика особых трудностей не представляет. В начальной стадии, до ретикулоцитоза, можно использовать качественный тест Beutler — в капле крови в Эр отмечается ультрафиолетовое свечение НАДФ-Н при использовании флюоресцентного микроскопа. Однако этот тест не является строго специфичным для выявления дефицита активности Г-6-ФД, так как он может быть положительным и при недостаточной активности ПК и глутатионредуктазы.

Более информативным и специфичным является количественное определение активности фермента в Эр. Но следует помнить о том, что при ретикулоцитозе, после трансфузий эритроцитной массы, а также в первые 2—3 мес после окончания криза активность Г-6-ФД может быть близка к норме, так как в этих случаях активность фермента определяется в молодых Эр и перелитых от здорового донора. В этих ситуациях в этиологической диагностике заболевания может помочь обследование матери больного, у женщины носительницы дефицита фермента.

Тактика лечения определяется характером клинико-гематологических проявлений дефицита фермента. Если это бессимптомная форма и дефицит Г-6-ФД в Эр установлен, то никаких медицинских вмешательств не требуется, за исключением того, чтобы больной (если ребенок — то родители) знал, какие провоцирующие факторы могут вызвать гемолитический криз (лекарства, химические вещества, инфекция и др.). На случай экстремальных ситуаций у больного всегда при себе должна быть документация, в которой указано, какие лекарственные и химические препараты использовать нельзя.

При наличии признаков хронического гемолиза тактика лечения определяется в основном гематологическими показателями. Если гемолиз компенсированный, содержание ге-

моглобина сохраняется в пределах 90—100 г/л, то следует наблюдать за больным, периодически исследовать показатели периферической крови. Но если возникает усиление гемолиза с увеличением билирубинемии, снижением показателей красной крови и увеличением ретикулоцитоза, то назначают внутривенное введение глюкозы, трансфузии эритроцитарной массы до достижения содержания гемоглобина 90—100 г/л, т. е. необходимо добиваться устойчивости показателей красной крови.

При установлении ГА у новорожденных, вызванной дефицитом активности Г-6-ФД в Эр, тактика лечения такая же, как при ГБН, обусловленной несовместимостью групп крови матери и плода. По мнению А. Куррас и соавт. (2001), появление желтухи у новорожденных является следствием нарушения баланса между образованием билирубина и его элиминацией, и этот дисбаланс может быть скорректирован путем ингибирования гемоксигеназы с использованием Sn — mesoporphyrin. Этот препарат вводят внутримышечно 1 раз в течение первых суток после рождения ребенка в дозе 6 мкмоль/кг. После введения указанного препарата содержание билирубина в сыворотке крови у детей с дефицитом Г-6-ФД в Эр было даже ниже, чем у здоровых новорожденных детей.

При возникновении острого гемолитического криза, вызванного провоцирующими факторами (лекарства, химические вещества и др.), прежде всего следует исключить провоцирующий фактор. Назначить детоксикационную терапию (внутривенное введение глюкозы, гемодеза и др.), трансфузии эритроцитарной массы, оксигенотерапию, при необходимости — сердечно-сосудистые и другие препараты. При развитии олиго- и анурии тактика лечения должна быть такой же, как и при развитии ОПН.

Прогноз заболевания в целом благоприятный; как в своей практике, так и по опубликованным данным смертельные исходы непосредственно от гемолитического криза не наблюдались. Имеются сведения о том, что больные с дефицитом активности Г-6-ФД в Эр реже болеют раковыми заболеваниями [Naik S. et al., 1971], шизофренией [Dern R. et al., 1963], сахарным диабетом [Chanmugam D. et al., 1964], но у лиц этой группы чаще возникает катаракта [Orzalezi N. et al., 1981]; среди больных повышена смертность от неходжкинских лимфом, но снижена летальность от цирроза печени и сердечно-сосудистых заболеваний [Cooco P. et al., 1998]. Е. McPherson и соавт. (1998) указывают, что имеется четкая ассоциация между вариантами дефицита активности Г-6-ФД в Эр и сосудистыми заболеваниями: у больных наблюдается повышенный риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, идиопатической кардиомиопатии, тромбозов и церебральных тромбозов.

В последние годы разработаны методические подходы для лечения тяжелых форм дефицита активности Г-6-ФД в Эр с помощью генной терапии [Rovira A. et al., 2000].

Наследственный дефицит активности пируваткиназы в эритроцитах. Наследственный дефицит активности ПК в Эр впервые описан W. Valentine и соавт. в 1961 г.; с этого момента описаны данные о более чем 400 больных. По частоте встречаемости недостаточная активность ПК в Эр стоит на втором месте после дефицита Г-6-ФД в Эр. Большинство больных с дефицитом фермента относятся к жителям белой расы Северной Европы, хотя встречаются больные и в других регионах земного шара и среди различных этнических групп (чернокожих, японцев, китайцев, мексиканцев, жителей южной Европы, Сирии, России и др.). По

данным A.Muller и соавт. (1998), из 2089 больных с врожденными ГА у 35 (1,68%) наблюдалась наследственная ГА, связанная с дефицитом активности ПК в Эр. По данным E.Beutler и соавт. (2000), недостаточная активность ПК в Эр у лиц белой расы составляет 51 на 1 млн; у жителей Северной Англии она составляет 3,3 на 1 млн [Carey P. et al., 2000].

Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно, не связано с расовой принадлежностью и полом. Клинические и гематологические проявления отмечаются только у гомозиготов, а у гетерозиготов симптомы полностью отсутствуют [Guillard A.-M. et al., 1998]. Однако, по мнению W.Mentzer и соавт. (1989), клинико-гематологические проявления у гетерозиготов варьибельны — от выраженной ГА у новорожденных детей до полностью компенсированной ГА. По мнению Z.Wu и соавт. (1985), H.Mohrenweiser и соавт. (1987), около 1% людей являются гетерозиготами по наследственному дефициту активности ПК в Эр.

ПК располагается в конечном метаболическом гликолитическом пути Эмбдена — Мейергофа. В Эр 2-фосфоглицериновая кислота находится в динамическом равновесии с фосфоэнолпируватом. В процессе гликолиза в Эр фосфоэнолпируват является источником фосфата для АДФ на второй стадии синтеза АТФ. Эта реакция осуществляется при участии ПК, ключевого фермента в образовании АТФ при гликолизе. В тканях млекопитающих существуют 4 изофермента: L-тип (печеночный), R-тип (эритроцитарный), M₁-тип (мышцы, головной мозг) и M₂-тип (плод, клетки ткани взрослого — почки, жировая ткань, легкие, лейкоциты и тромбоциты). Синтез типов M₁ и M₂ ПК находится под контролем РКМ-гена, расположенного на 15-й паре хромосом (15q22). В течение

дифференциации эритроидных клеток M₂-тип ПК замещается на R-тип [Arya R. et al., 1995].

Молекулярная биология ПК более сложная, чем таковая Г-6-ФД, так как существуют два генетических локуса, регулирующих образование двух разных форм фермента, и обнаруживаемая гетерогенность фермента обусловлена наличием тканевоспецифических промоторов и альтернативных соединений. Типы L и R ПК находятся под контролем двух тканевоспецифических промоторов гена PKLR [Noguchi T. et al., 1987]. Дефицит активности фермента в Эр обычно сопровождается дефицитом активности фермента в печени.

Ген PKLR локализован на длинном плече хромосом 1-й пары (1q21), содержит 12 экзонов, 10 из которых являются общими для типов L и R, а экзоны 1 и 2 являются специфическими для эритроцитарных и печеночных изоферментов соответственно. Наследственная ГА при недостаточности активности ПК в Эр в большинстве случаев связана с мутацией гена ПК PKLR. Описаны около 100 различных мутаций гена [Demina A. et al., 1997; Bianchi P. et al., 1998]. В гене типа L ПК обнаружены 84 мутации у больных с несфероцитарной ГА [Fujii H. et al., 1997]. В популяции больных коренных жителей Европы выявлены 57 мутаций в гене ПК, а среди больных японцев и китайцев — 18 различных мутаций, при этом только 2 мутации (1151T и 1436A) были общими для этих этнических групп больных [Kanno H. et al., 1997; Zanella A. et al., 1997]. Более того, идентичные мутации сопровождалась различными биохимическими вариантами, различными клиническими проявлениями, т. е. фенотип болезни определяется каким-то другими генетическими факторами и факторами микроокружения [Miwa S. et al., 1993; McMullin M., 1999]. У больных Италии обнаруже-

ны 14 различных мутаций в гене ПК, и наиболее частыми из них являются мутации 1456Т, 1529А и 994А, которые отличаются по распределению частоты мутаций от больных Северной Европы и США [Zanella A. et al., 1997].

При недостаточной активности фермента в Эр содержание 2,3-ДФГ в них обычно увеличено, а АТФ снижено. При мутации гена ПК может отмечаться либо уменьшение количества молекулярного фермента в Эр, что наиболее часто встречается у больных, либо наблюдаться качественные изменения фермента — образующиеся молекулы ПК быстро разрушаются [Rosa R., 1995]. Как правило, дефицит фермента тяжелый. ПК участвует в процессе анаэробного гликолиза, поставляет Эр энергию в виде АТФ. Поскольку имеется дефицит (или неполноценность) фермента, то Эр не получает в достаточном количестве энергии и это отражается на функции его мембраны: изменяется обмен ионов, связанных с дефицитом «натриевых насосов» (увеличивается содержание Na^+ и K^+ в Эр), происходит потеря липидов мембраны, снижается деформативность Эр. Вследствие этого происходит повышенная секвестрация дефектных Эр в селезенке [Guillard A.-M. et al., 1998; Muller A. et al., 1998].

Клинические проявления дефицита (неполноценности) ПК вариабельны, нет корреляции между активностью фермента, кинетическими параметрами мутантного фермента и тяжестью клинико-гематологических проявлений. Первые симптомы болезни могут возникнуть у детей в период новорожденности (у 40%) в виде гемолитической болезни, сходной по своим проявлениям с ГБН и иногда требующей обменных переливаний крови. По данным A.Zanella и соавт (1997), такая картина болезни отмечается у детей, у которых имеется мутация в гене ПК 1456Т; при

этой мутации образуется ПК, в которой Arg486 заменен на Trp. При этой форме ПК незначительно увеличена K_m для фосфоэнолпирувата и снижена электрофоретическая подвижность без изменения стабильности фермента. Описаны случаи *hydropus foetalis* и гибель новорожденного в течение первых часов жизни [Ravindranath Y. et al., 1987].

Чаще заболевание впервые выявляется в старшем возрасте и даже у взрослых в виде хронической несфероцитарной ГА, нормохромной, часто макроцитарной, иногда с наличием эритрокариоцитов в периферической крови, с желтухой, увеличенной селезенкой, появлением трофических язв на нижних конечностях или без них. У детей возможна задержка роста; у некоторых больных имеются признаки желчнокаменной болезни. Иногда при стрессовых ситуациях, инфекциях возникают гемолитические кризы, протекающие с усилением желтухи, значительным снижением показателей красной крови, появлением в циркулирующей крови фрагментированных Эр, анизоцитоза, ретикулоцитоза. Однако дефицит активности фермента может протекать бессимптомно.

A.Zanella и соавт. (1997) описали семью, в которой были 5 sibлингов-гомозиготов. У них наблюдалась мутация гена 1529А; образующаяся ПК характеризовалась очень низкой активностью и нестабильностью к нагреванию. У всех больных отмечалась ГА от умеренной до тяжелой. У 4 из 5 возник калькулезный холецистит, и этим же больным проведена спленэктомия в связи с тяжелым течением болезни. Двое умерли от общего гемохроматоза, при этом у одного из них при жизни было увеличено содержание ферритина в сыворотке крови при отсутствии трансфузий крови. Авторы полагают, что тяжесть течения болезни может быть обусловлена рядом факторов,

включая неэффективный эритропоэз и гемохроматоз. По мнению W. van Selinge и соавт. (1997), мутация 1529А встречается у 27% больных.

При биохимическом исследовании в сыворотке крови повышено содержание билирубина (в 1,5—8 раз и более), ферритина, отмечается гипогантоглобинемия. При изучении феррокинетики установлено резкое увеличение эритропоэза с выраженным периферическим гемолизом и высокой степенью неэффективного эритропоэза. Тест на аутогемолиз (при 37°C через 48 ч) увеличен, не корригируется глюкозой. В Эр повышено содержание Na^+ и K^+ [Muller A. et al., 1998].

Главный критерий диагноза — это определение активности ПК в Эр. При изучении этого показателя следует руководствоваться теми же принципами, о которых было сказано в разделе о дефиците активности Г-6-ФД. При определении активности ПК в Эр следует максимально избавиться от лейкоцитов, так как последние содержат L-тип фермента и это может повлиять на интерпретацию результатов; мутация гена PKR вызывает дефицит фермента в Эр, а наличие фермента лейкоцитов будет маскировать активность ПК в Эр.

У некоторых больных отмечается тяжелое течение заболевания с нормальной активностью фермента в Эр. Это объясняется тем, что образующиеся мутантные формы фермента нестабильны, легко разрушаются. В связи с тем, что повышен ретикулоцитоз (активность ПК в них нормальная), показатели активности фермента будут нормальные. При электрофоретическом исследовании фермент может быть представлен в виде M_2 -типа, который обычно содержится в клетках-предшественниках эритропоэза, но не в зрелых Эр [Miwa S. et al., 1989]. Поэтому в этих случаях диагностике заболевания может помочь определение активности ПК у родителей больного.

Трудности в диагностике дефицита фермента могут возникнуть у больных-гетерозиготов, у которых аллели несут две различные мутации гена: одна способствует образованию нестабильной ПК, а вторая — функционально аномального фермента, не выявляемого обычными методами. Такая ситуация возникает у больных, родители которых не имеют кровного родства. В этих случаях помогает обследование родителей, у одного из которых выявляется дефицит ПК, а у другого — активность фермента будет нормальной [Valentine W. et al., 1989].

Специфического лечения нет. По мере необходимости проводят трансфузии эритроцитарной массы. При тяжелом течении показана спленэктомия, хотя добиться улучшения течения болезни удастся не всегда. При повышенном накоплении железа в организме, появлении признаков гемохроматоза показано соответствующее лечение см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз».

Прогноз для жизни благоприятный, но на сегодняшний день излечения добиться не удастся. Описаны случаи развития ОЛ [Ieki R. et al., 1990].

Наследственный дефицит активности гексокиназы в эритроцитах. Недостаточность активности ГК в Эр проявляется в виде несфероцитарной ГА. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно, хотя описаны больные с аутосомно-доминантным типом наследования [Valentine W. et al., 1990; Beutler E., 1994].

Для нормальной жизнедеятельности Эр необходима АТФ, которая образуется в основном в процессе гликолиза и частично за счет гексомонофосфатного цикла. Глюкоза (89—97%), находящаяся в Эр, утилизируется по анаэробному гликолитическому пути (Эмбейна — Мейергофа). На первом этапе это обеспечивается ГК — происходит процесс

фосфорилирования, приводящий к образованию Г-6-Ф:



При недостаточной активности фермента скорость гликолиза снижается, уменьшается образование АТФ, вследствие чего нарушается активный транспорт ионов и метаболитов, нарушается деформабельность Эр, а также возникают другие изменения, приводящие к укорочению длительности их жизни [Murakami K. et al., 1990]. Мутантные формы фермента характеризуются различной аффинностью к субстрату, снижением термостабильности, регуляторными свойствами [Paglia D. et al., 1981; Magpani M. et al., 1985].

Активность ГК возникает на уровне ретикулоцитов, и в процессе созревания и старения Эр активность фермента снижается, и в старых Эр она составляет 2—3% от таковой в ретикулоцитах. Существуют 4 изофермента ГК: ГК-I, ГК-II, ГК-III и глюкокиназа. В Эр определяется тип I, который представлен 3 формами: Ia, Ib и Ic. В ретикулоцитах преобладает Ib, а в зрелых Эр содержится Ic и в малом количестве Ib [Kanno H. et al., 1997; Ruzzo A. et al., 1998].

ГК-II экспрессирован также в клетках головного мозга и почек.

Эр человека содержат два различных изофермента: НК_R и НК_I. Изофермент НК_R находится исключительно в молодых Эр и быстро разрушается при попадании Эр в циркулирующую кровь. Изофермент НК_I определяется не только в Эр, но и в клетках многих тканей; в Эр этот фермент определяется на всем протяжении их существования, медленно разрушается. Ген НК_I состоит из 19 экзонов [Murakami K. et al., 1998]. Было установлено, что существует изолированный генетический контроль эритроцитарно-специфического изофермента ГК, и это объяс-

няет наличие двух клинических проявлений дефицита активности ГК. При одном клинико-гематологическая картина обусловлена снижением активности фермента исключительно в Эр (так называемый НК_R-дефект), при втором наблюдается снижение активности НК в большинстве тканей (НК_I-дефект).

Многие формы субтипов фермента в Эр, по-видимому, вызваны перестройкой продукта-предшественника ГК, находящегося под контролем гена 1-го типа, располагающегося на хромосомах 10-й пары (10p11.2). Активность всех трех форм ГК 1-го типа снижена при ГА, все три формы фермента (Ia, Ib и Ic) перекрестно реагируют с АТ 1-го типа ГК. Все это может указывать на то, что 1-й тип ГК контролируется геном 1-го типа, но он изменяется постсинтетическими механизмами [Valentine W. et al., 1990]. Отмечаются точечные мутации, делеции в гене [Bianchi M. et al., 1995].

Наследственный дефицит активности ГК в Эр является редкой ферментопатией Эр; к 1997 г. описаны 15 семей, около 20 больных [Kanno H. et al., 1997; McMullin M., 1999].

Клинико-гематологические проявления дефицита ГК разнообразны. У некоторых больных с рождения отмечают желтуха, анемия, билирубинемия, а затем увеличивается селезенка, иногда печень, возможно развитие желчнокаменной болезни [Sandubray J.-M. et al., 1995]. У одного ребенка вследствие хронической ГА в возрасте 15 лет возник калькулезный холецистит, а у другого он возник в возрасте 2 года 9 мес [Board P. et al., 1978; Rijksen G. et al., 1983]. Иногда интеркуррентные заболевания могут спровоцировать гемолитический криз, протекающий с гемоглобинурией [Valentine W. et al., 1967; Rosa R., 1995]. У гетерозиготов заболевание протекает без кли-

нико-гематологических проявлений. При наличии мутантной формы фермента болезнь может протекать в виде ГА в сочетании с задержкой психомоторного развития.

При гематологическом обследовании у больных определяются анемия разной выраженности, ретикулоцитоз; осмотическая резистентность Эр нормальная. Обычно выявляются гиперхромные макроциты, но может наблюдаться гипохромия Эр [Newman P. et al., 1980]. Редко определяются овалциты, микроциты, клетки-мишени, нормобласты. Постоянно выявляются билирубинемия, гипогантоглобинемия. Период полусуществования Эр по ^{51}Cr равен 15 дням [Board P. et al., 1978].

Н.Каппо и соавт. (1997) наблюдали беременную женщину (29 нед гестации), у плода которой при ультрасонографическом исследовании наблюдались признаки перивентрикулярной лейкомаляции. При исследовании крови плода выявлена ГА тяжелой степени (Hb 37 г/л, ретикулоциты 42,1%, непрямого билирубин 58 г/л). При цитогенетическом исследовании крови — кариотип нормальный. В возрасте 32 нед гестации у плода исследовали активность ферментов в Эр и было установлено, что активность ГК составляла менее 17% от нормы, а активность фермента у родителей — 65—73%.

Радикальное лечение не разработано. Для купирования анемии применяют трансфузии эритроцитарной массы. Спленэктомия приводит к частичному снижению гемолитического процесса, но гипергемолиз полностью не купируется [Magnani M. et al., 1990].

Наследственный дефицит активности глюкозофосфатизомеразы в эритроцитах. Недостаточность активности ГФИ в Эр является третьей по частоте причиной неферритарной ГА после дефицита активности Г-6-ФД и ПК. Заболевание встречается во всех ре-

гионах земного шара. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно. ГФИ является вторым ключевым ферментом в анаэробном пути утилизации глюкозы — фермент превращает Г-6-Ф в Ф-6-Ф. Структурный ген для фермента располагается на хромосомах 19-й пары (19cen-q13). Его мутация приводит к структурному изменению ГФИ вследствие чего происходит аномальный синтез фермента [Miwa S. et al., 1985; Rosa R., 1995].

Всего описаны около 45 больных с дефицитом ГФИ в Эр, у которых болезнь протекала в виде компенсированной ГА. В одном случае дефицит активности фермента вызвал *hydrops foetalis*, а в двух случаях отмечалась ГА в сочетании с умственной отсталостью; эти больные были либо смешанными гетерозиготами, либо гомозиготами.

Истинные гомозиготы по дефициту ГФИ встречаются редко. Чаще болезнь обусловлена двойным гетерозиготным носительством гена вследствие наличия двух аномальных структурных генов ГФИ. Итогом этого является образование мутантных форм фермента. Описаны множество изоферментов ГФИ, отличающихся друг от друга по сродству с Ф-6-Ф или Г-6-Ф, физико-химическим, кинетическим и иммунологическим свойствам. К их числу относятся ГФИ Padeborn, Valle Hermoso, Narita, Liege, Paris, Barselona, Utrecht, Nijmegen, Los Angeles, Kiel, Hamburg и др. Описаны около 20 различных мутаций в гене фермента (точечные, делеции и др.) [Baroncini L. et al., 1996; Каппо Н. et al., 1996].

Дефицит активности ГФИ в Эр впервые описан M. Baughan и соавт. в 1968 г. С тех пор описаны большое число больных в разных регионах земного шара. Клинические проявления заболевания разнообразны. У гетерозигот, у которых активность ГФИ в Эр составляет 40—60% от

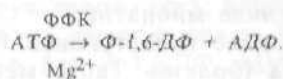
нормы, болезнь протекает бессимптомно. У гомозиготов активность фермента составляет 14—30% от нормы; заболевание протекает в виде ГА. Иногда первые проявления болезни наблюдаются в неонатальном периоде — отмечаются выраженная желтуха, анемия, увеличение селезенки; ГА может быть выраженной настолько, что прибегают к обменным гемотрансфузиям. Описаны тяжелые случаи ГА в виде *hydrops foetalis*, преждевременное рождение ребенка с летальным исходом в течение первых часов жизни [Ravindranath Y. et al., 1987]. В более позднем возрасте симптомокомплекс ГА может быть от легкой до тяжелой степени, требующий постоянных гемотрансфузий, иногда могут быть увеличение селезенки и печени, желчнокаменная болезнь [Saudubray J.-M. et al., 1995]. Интеркуррентные заболевания могут провоцировать усиление гемолиза, развитие красноклеточной алазии костного мозга. Поскольку ГФИ содержится и в других тканях, у больных, наряду с ГА, могут наблюдаться атония мышц, задержка умственного развития, снижение бактерицидной активности гранулоцитов [Zanella A. et al., 1980; Schröter W. et al., 1985]. Последние описали мальчика, у которого отмечался дефицит ГФИ (гомозиготный) и Г-6-ФД (гетерозиготный), и с раннего детства наблюдалась умеренно выраженная хроническая ГА с появлением гемолитических кризов в период инфекции, приема медикаментов.

При лабораторном исследовании у больных содержание Нв колеблется в пределах 60—120 г/л, а в период регенераторного криза может снижаться до 21 г/л. Средний объем Эр и среднее содержание Нв в Эр повышены. Иногда в периферической крови в небольшом проценте могут определяться шпидовидные Эр, овалоциты и микросфероциты. Редко встречаются Эр с базофильной пунк-

тацией. Осмотическая резистентность Эр нормальная, но у некоторых больных она может быть снижена. При смешивании крови больного с ацетилфенилгидразином до 80% Эр содержат более 4 телец Гейнца. Эр обладают меньшей деформабельностью, они ригидны. Период полужизни Эр по ^{51}Cr составляет $2\frac{1}{2}$ — $10\frac{1}{2}$ дня. Содержание ретикулоцитов колеблется от 0,2 до 72%. Отмечается бидирубинемия. Содержание гантоглобина в плазме крови колеблется от 0 до нормальных значений [Walker J. et al., 1990].

M. Baughan и соавт. (1968) для лечения применяли больным аскорбиновую кислоту и метиленовый синий для стимуляции пентозо-фосфатного пути гликолиза, но эффекта не получили. При наличии у новорожденных детей резко выраженных признаков ГА с гипербилирубинемией используют обменные трансфузии крови. У детей более старшего возраста и у взрослых при развитии гемолитического или регенераторного криза проводят те же терапевтические мероприятия, как и при ИС. При тяжелом течении, частых регенераторных кризах показана спленэктомия, которая, как правило, дает хороший эффект. Это объясняется тем, что преимущественная секвестрация Эр происходит в селезенке, в меньшей степени — в печени [Takegawa S. et al., 1983]. После спленэктомии показатели красной крови обычно нормализуются, но сохраняется умеренная билирубинемия и ретикулоцитоз.

Наследственный дефицит активности фосфофруктокиназы в эритроцитах. ФФК — фермент, участвующий в анаэробном пути утилизации глюкозы. Под влиянием ФФК при участии АТФ и солей магния происходит превращение Ф-6-Ф в Ф-1,6-ДФ:



Фермент представляет собой тетрамер, в тканях определяются три типа: М-тип (в мышцах), L-тип (в печени), Р-тип (в тромбоцитах) или F-тип (в фибробластах). Для каждого из этих типов белков имеются различные гены. Ген М-типа ФФК расположен на 1-й паре хромосом (1cen-q32), L-типа ФФК — на 21-й паре, Р(F)-типа — на 10-й паре [Vogt S. et al., 1981—1983]. В мышцах фермент состоит из тетрамеров М₄, в печени — из тетрамеров L₄. Эр содержат 5 изоферментов (М₄, М₃L, М₂L₂, МL₃, L₄) [Miwa S. et al., 1985]. Теоретически эти тетрамеры содержатся в Эр в соотношении 1:4:6:4:1. Установлены 11 мутаций в гене М-типа ФФК (делении, точечные, сращения) [Arya R. et al., 1995]. Описаны около 35 случаев заболевания [McMullin M., 1999].

Дефицит ФФК, сопровождающийся миопатией и врожденной несфероцитарной ГА, был впервые описан S. Taigi и соавт. в 1965 г. Дефицит фермента в Эр наследуется аутосомно-рецессивно. Заболевание является следствием мутации гена ФФК, приводящей либо к нарушению синтеза фермента, либо к структурной аномалии субъединицы ФФК.

При иммунологическом и биохимическом исследовании установлено, что у больных с недостаточной активностью фермента в Эр отмечается дефект либо L-, либо М-субъединиц. S. Vogt и соавт. (1980) в Эр больного с миопатией и ГА обнаружили только изофермент L₄. При дефиците М-типа ФФК страдают Эр и клетки мышц. Частичный дефицит М-субъединицы ФФК вызывает умеренную ГА, а полное ее отсутствие — несфероцитарную ГА с миопатией. Состав белков мембраны Эр не изменен.

Клинически недостаточность ФФК может протекать:

- 1) бессимптомно;
- 2) в виде миопатии;
- 3) в виде гликогеновой болезни VII типа (болезнь Taigi, метаболи-

ческая миопатия с миолизом и миоглобинурией при мышечных напряжениях), болезни Taigi в сочетании с несфероцитарной ГА;

4) в виде изолированной несфероцитарной ГА [Rosa R., 1995].

Таким образом, это мультисистемная болезнь, и ее проявления зависят от вариабельности экспрессии фермента в различных тканях.

Клинико-гематологические признаки несфероцитарной ГА следующие: желтуха обычно выражена незначительно, иногда отсутствует. Увеличение селезенки — непостоянный признак, но в период усиления гемолиза она может быть незначительно увеличена. Могут наблюдаться признаки калькулезного холецистита [Sandubray J.-M. et al., 1995]. При развитии гемолиза с умеренно выраженной билирубинемией показатели красной крови нормальные или даже повышенные. Это можно объяснить следующим образом: у больных со сниженной активностью ФФК отмечается уменьшение концентрации 2,3-ДФГ; вследствие снижения кислородтранспортной функции гемоглобина развивается тканевая гипоксия, стимулирующая выработку Эпо; возникает эритроцитоз, несмотря на наличие гипергемолиза [Valentine W. et al., 1984]. Средний объем Эр увеличен, осмотическая резистентность их и тест на аутогемолиз нормальные. При инкубации Эр с ацетилфенилгидразином почти в 50% Эр обнаруживается 4 и более телец Гейнца. Длительность жизни Эр укорочена. Ретикулоцитоз повышен (3,8—9%). Нередко отмечается урикемия.

Радикального лечения не разработано. При анемии применяют заместительную гемотрансфузионную терапию. Спленэктомия существенно не влияет на течение гемолитического процесса — у больных сохраняются анемия, ретикулоцитоз, укороченная длительность жизни Эр [Nakajama H. et al., 1987].

Наследственный дефицит активности альдолазы в эритроцитах. Альдо-

лаза принимает участие в расщеплении глюкозы в анаэробном пути гликолиза. Под действием этого фермента расщепляется Ф-1,6-ДФ на 2 молекулы: ГАФ и ДАФ. У человека существуют 3 тканевоспецифических изофермента альдолазы, каждый из которых находится под отдельным генетическим контролем: это альдолаза А, содержащаяся в мышцах и Эр, альдолаза В — в печени и альдолаза С — в головном мозге (вместе с альдолазой А). Каждому из трех типов альдолаз присущ свой набор изоферментов.

Описаны три ребенка с дефицитом альдолазы в Эр. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. Снижение активности альдолазы в Эр (до 4,5—16% от нормы) связано с мутацией структурного гена фермента [Kishi H. et al., 1987].

О первом наблюдении сообщили E.Beutler и соавт. в 1974 г. В 6-недельном возрасте у ребенка было отмечено увеличение печени, при биопсии и гистологическом исследовании которой установлено, что содержание в ней гликогена составляет 72 г/л. Заболевание было расценено как гликогеновая болезнь VI типа. В последующем у больного отмечались выраженная ГА, задержка психомоторного и физического развития. При изучении активности ферментов в Эр было обнаружено, что активность альдолазы у ребенка составляет 16% от нормы, тогда как у родителей (они были двоюродными братом и сестрой) она была нормальной. Это позволило авторам высказать предположение, что болезнь наследуется аутосомно-рецессивно. Авторы предположили, что у обоих родителей нормальные субъединицы фермента, взаимодействуя с мутантными, обеспечивали стабилизацию активной формы альдолазы. У гомозиготного больного с дефицитом альдолазы А остаточный фермент обладал нормальными электрофоре-

тической активностью, кинетическими свойствами и термостабильностью. По мнению E.Beutler и соавт., снижение активности альдолазы в Эр у ребенка обусловлено нарушением не собственно структурного гена фермента, а регуляции.

Двое других детей описаны S.Miwa и соавт. (1981) в японских семьях. Оба мальчика родились доношенными. В период новорожденности отмечалась желтуха. Анемия выявлена у одного в 2-месячном возрасте, у другого — в 4-месячном. С этого времени у обоих детей отмечено незначительное увеличение селезенки. При повышении температуры тела, появлении интеркуррентных заболеваний на следующий день снижались показатели красной крови (Hb до 60—65 г/л), усиливалась желтуха, наблюдалась гемосидеринурия; у одного ребенка была потеря сознания. Вне гемолитических кризов показатели гемоглобина были в пределах 95—113 г/л, ретикулоцитов — 6,2—8,4%. Каких-либо типичных морфологических изменений Эр не определялось. Осмотическая стойкость Эр нормальная. В пунктате костного мозга наблюдалось увеличение содержания клеток эритроидного ряда. Длительность жизни Эр по ^{51}Cr равнялась 14,2 дня. Оба ребенка физически и умственно развивались соответственно своему возрасту. Активность альдолазы в Эр у больных была снижена (5,9—4,5% от нормы). У родственников больных (родители, дядя, брат) активность фермента составляла около 50% от нормы, т. е. они были гетерозиготами. Клинических и гематологических проявлений заболевания у них не было.

По мнению S.Miwa и соавт., дефицит мутантного фермента в Эр у больных возник вследствие мутации структурного гена; фермент термостабилен, имеет высокую K_m , т. е. сродство для Ф-1,6-ДФ. Мутантный

фермент вызывает только хроническую ГА, но не нарушает функции других органов и систем [Rosa R., 1995].

Лечение не разработано. Применяют заместительную гемотрансфузионную терапию.

Наследственный дефицит активности триозофосфатизомеразы в эритроцитах. Под действие ТФИ ДАФ переходит в ГАФ, таким образом при расщеплении глюкозы обеспечивается равновесие между ними. Имеется множество электрофоретических форм фермента, но главными из них являются А, В и С. Формы А и С являются гомодимерами $\alpha\alpha$ и $\beta\beta$, а форма В — гетеродимером, $\alpha\beta$. Фермент определяется во многих органах, системах и клетках (головной мозг, легкие, печень, вилочковая железа, лейкоциты, фибробласты и др.). Наличие идентичных изоферментов в Эр, нервной системе и мышечной ткани обуславливает особенности клинических проявлений заболевания [Rosa R., 1995]. Структурный ген фермента располагается на хромосомах 12-й пары (12p13). Заболевание связано с мутацией в гене фермента. Всего описано около 35 случаев [Arya R. et al., 1997; McMullin M., 1999].

Дефицит активности ТФИ — это редкое аутосомно-рецессивно наследуемое мультисистемное заболевание. Клинически дефицит активности фермента характеризуется хронической ГА, нарастающими неврологическими нарушениями, у некоторых больных — рецидивирующими бактериальными инфекциями. Обычно больные умирают в раннем детстве.

Первое описание больного с дефицитом ТФИ было опубликовано A.Schneider и соавт. в 1964 г. По данным популяционных исследований, гетерозиготы ТФИ среди людей белой расы составляют 0,3%, а среди чернокожих — 1—2% [Valentine W. et al., 1984; Beutler E., 1994]. Такое резкое расхождение между частотой

гетерозиготов и клиническими случаями, по-видимому, связано с тем, что гомозиготы с недостаточной активностью ТФИ нежизнеспособны.

Клинические проявления заболевания у половины детей выявлялись с рождения в виде желтухи, анемии, гипербилирубинемии, им проводили обменные гемотрансфузии. Дефицит фермента в Эр может быть причиной *hydrops foetalis* или смерти новорожденного ребенка в течение первых часов жизни [Ravindranath Y. et al., 1987]. У другой группы детей признаки хронической несфероцитарной ГА возникли в возрасте 1—2 мес, больные периодически нуждались в гемотрансфузиях. Со второго полугодия у детей появлялись прогрессирующие симптомы поражения нервной системы — общая адинамия, повышение спастичности мышц, арефлексия, парезы, гипотония и др. У некоторых больных наблюдались неясная речь, судороги, нарушения ритма сердца [Saundubray J.-M. et al., 1995]. Интеллект и эмоциональность сохранены, хотя у некоторых больных отмечалась умственная отсталость [Clark A. et al., 1985; Scriver C. et al., 1989]. У больных резко повышена склонность к интеркуррентным заболеваниям, что, по-видимому, связано со снижением активности ТФИ в лейкоцитах. Увеличение селезенки — постоянный признак.

Мутации в гене фермента могут быть причиной появления нулевых аллелей ТФИ, приводящих к дефициту фермента [Schneider A. et al., 1997]. Для объяснения различия клинического фенотипа при геномно-идентичном дефекте S.Hollan и соавт. (1998) обследовали две семьи с дефицитом ТФИ. Авторы изучали содержание плазмалогена и состав фосфолипидов в мононуклеарных клетках периферической крови и ЭБВ-индуцированных клетках лимфобластной линии у двух гетерозиготных братьев 21 и 28 лет (венгерской

национальности) и у 5-летнего ребенка (британца). У одного из братьев отмечались неврологические признаки, а у другого — они отсутствовали. Как известно, плазмалогены организуются в гексагональные структуры, необходимые для передачи сигналов, транспорта ионов, слияния мембран, образования пузырьков, транспорта митохондриальных белков и других функций мембраны клеток. Кроме того, плазмалогены защищают клетки от реактивных оксидантов, которые приводят к апоптозу нервных клеток. По данным S.Hollan и соавт. (1997, 1998), у больных с резко выраженной нейромышечной симптоматикой по сравнению с больными с ее отсутствием отмечается значительное снижение плазмалогена и фосфолипидов в мононуклеарных клетках периферической крови и ЭВВ-индуцированных клетках лимфодной линии. Эти изменения в биохимизме клеток сопровождаются с изменениями текучести мембраны.

При гематологическом обследовании у больных отмечаются признаки хронической несфероцитарной ГА (нормохромная, нормоцитарная анемия, может быть макроцитоз, ретикулоцитоз, билирубинемия, снижение в сыворотке крови содержания гаптоглобина). Осмотическая резистентность Эр нормальная или слегка снижена. При добавлении к крови *in vitro* фенилгидразина в 55—72% Эр появляются тельца Гейнца. В периферической крови могут определяться мишеневидные Эр. Продолжительность жизни Эр укорочена. Число лейкоцитов и тромбоцитов нормальное. В Эр в 20—60 раз увеличено содержание ДАФ.

У гетерозиготов клинических и гематологических проявлений заболевания нет.

Диагноз основывается на определении активности фермента в Эр. Активность ТФИ у гомозиготов менее 10% от нормы, а у гетерози-

готов — около 50%. Нередко дефицит активности фермента определяется и в лейкоцитах (менее 20% от нормы), хотя не отмечено аномальностей в фагоцитарной и бактерицидной активности в гранулоцитах [Clay S. et al., 1982].

Прогноз заболевания неблагоприятный. Все дети, за исключением двоих, умерли до 6-летнего возраста; один ребенок умер в возрасте 12 лет, одна женщина жива (21 год) [Harris S. et al., 1970; Clay S. et al., 1982]. Смерть наступает обычно от инфекции; описаны случаи внезапной смерти от остановки сердца, аритмии.

Лечение не разработано. При анемии — заместительная гемотрансфузионная терапия. Спленэктомия неэффективна. Возможна антенатальная диагностика болезни в период 18—20 нед гестации; менее информативно изучение ДНК в 10 нед гестации [Rosa R. et al., 1986; Bellingham A. et al., 1989].

Наследственный дефицит активности фосфоглицераткиназы в эритроцитах. Как было отмечено, при анаэробном пути утилизации глюкозы образовавшийся ГАФ постоянно превращается в 1,3-ДФГ, который не стабилен и используется в качестве субстрата двумя ферментами — 3-ФГК и ДФГМ.

В присутствии магния и АДФ фосфат с 1,3-ДФГ переносится на АДФ и образуется γ -фосфат АТФ. Реакция катализируется 3-ФГК. Последняя представляет собой полипептид, состоящий из 417 аминокислотных остатков. Существуют несколько вариантов 3-ФГК: 3-ФГК-II, 3-ФГК-Мюнхен, 3-ФГК-Упсала, 3-ФГК-Токио, 3-ФГК-Крит, различающихся по структуре полипептида (заменена одна аминокислота) и функции. Замена в полипептиде одной аминокислоты другой вызывает нарушение образования АТФ, вследствие чего возникают выраженные ферментативные нарушения. Структурный ген 3-ФГК

расположен на длинном плече хромосом X (Xq13) [Maeda M. et al., 1991, 1992]. Болезнь связана с мутациями в гене фермента; описаны около 9 различных мутаций [Turner G. et al., 1995].

Генетическая трансмиссия заболевания сцеплена с полом (хромосомой X), поэтому болезнь проявляется только у лиц мужского пола, а у женщин вследствие инактивации хромосомы X отмечается мозаичная популяция Эр — одна с нормальной активностью фермента, другая — с дефицитом. У аффектных мужчин болезнь протекает в виде ГА и неврологических нарушений, включая умственную отсталость и миопатию. У женщин дефицит фермента обычно протекает в виде умеренно выраженной ГА [McMullin M., 1999].

Заболевание встречается редко, описаны около 12 семей [Segel G., 2000]. Впервые умеренный дефицит ФГК в Эр был описан у женщины с компенсированной несфероцитарной ГА [Kraus A. et al., 1968; Valentine W. et al., 1969].

Клинические проявления заболевания разнообразны, могут протекать в виде ГА или без нее, и это определяется не только степенью снижения активности фермента в Эр, но и его вариантом [Rosa R., 1995].

При 3-ФГК-II тронин заменен аспарагином. Этот вариант часто встречается у жителей островов южной части Тихого океана. Замена одной аминокислоты на другую не влияет на активность фермента в Эр, и клинически это никак не проявляется [Miwa S. et al., 1985].

Вариант 3-ФГК-Мюнхен отличается от нормального фермента заменой в полипептидной цепи аспартаговой кислоты аспарагином, хотя оба фермента по своим физико-химическим свойствам во многом сходны — они имеют одинаковую температуру для инактивации, электрофоретическую одинаковую K_m , идентичный

оптимум pH. При этом варианте недостаточная активность 3-ФГК определяется и в Эр, и в лейкоцитах. Активность фермента у мужчин составляет 20% от нормы, а у гетерозиготных женщин — от 50% до нормальных значений. У всех лиц с дефицитом активности этого варианта фермента клинические проявления заболевания не наблюдались, показатели гемоглобина и числа Эр были нормальные. Однако у каждого третьего больного определялся незначительный ретикулоцитоз (до 2,1%), у 20% — снижение содержания гаптоглобина, а у 10% — незначительная билирубинемия. При этом все эти незначительные сдвиги не были присущи одному и тому же больному [Fujii H. et al., 1980].

В варианте 3-ФГК-Уппсала в полипептидной цепи фермента аргинин заменен на пролин в позиции 206. У больных с этим вариантом наблюдаются резко выраженный дефицит активности фермента в Эр (до 5—10% от нормы), хроническая несфероцитарная ГА со всеми присущими ей клиническими, гематологическими и биохимическими признаками и наличием у больных умственной отсталости.

При варианте 3-ФГК-Токио в полипептидной цепи фермента валин замещен на метионин в позиции 266. Этот вариант фермента обладает низкой специфической активностью. У больных наличие этого мутантного фермента сочетается с его дефицитом в Эр (до 16% от нормы), несфероцитарной ГА, неврологическими нарушениями. Клинические проявления недостаточности фермента могут обнаруживаться уже в период новорожденности в виде затянувшейся желтухи, анемии. В 2—3-летнем возрасте появляются неврологические симптомы, которые прогрессируют (экстрапирамидные поражения, плохо развитая речь, умственная отсталость и др.), возможны

судороги [Saudubray J.-M. et al., 1995].

Гематологически выявляются признаки хронической несфероцитарной ГА. На фоне интеркуррентных заболеваний гемолитические кризы протекают с внутрисосудистым гемолизом, гемоглобинурией. В период гемолитических кризов возможны судороги, гемиплегия, кома [Valentine W. et al., 1984; Scriver C. et al., 1989]. У лиц женского пола (гетерозигот) дефицит фермента составляет около 50% от нормы, клинических симптомов болезни нет. Гематологически у них могут наблюдаться умеренные признаки гемолиза (за счет популяции ферментно-дефицитных Эр), резко выраженная анемия, ретикулоцитоз (5—6%).

Радикальное лечение не разработано. При наличии анемии — гемотрансфузионная терапия. Отмечаются положительные результаты в течении ГА после спленэктомии.

R.Rosa и соавт. (1982) описали больного с дефицитом 3-ФГК, у которого наблюдался рабдомиолиз без признаков ГА. У больного имелся дефицит фермента в клетках мышечной ткани (25% от нормы), в Эр (3% от нормы), в лейкоцитах и тромбоцитах. Частичный дефект активности фермента определялся у его матери и двух дочерей, у которых не было никаких признаков болезни. Это свидетельствует о рецессивном наследовании заболевания, сцепленного с полом.

3-ФГК, названная Крит, характеризуется высокой K_m для АДФ, но особенно для АТФ, сниженной термостабильностью, уменьшением электрофоретической подвижности. Клинически мужчина (больному 31 год) в удовлетворительном состоянии, интеллектуально развит нормально. С детства после физических упражнений у него отмечались болезненные судороги в мышцах, особенно голени, которые сочетались

с болями в животе, рвотой, головокружением. В возрасте 21 года после бега, наряду с указанными выше симптомами, отмечалась моча коричневой окраски с повышением содержанием в крови остаточного азота и мочевины. В последующие годы подобные явления рецидивировали всякий раз после физических напряжений. Клинически и гематологически признаков гемолиза никогда не было. Авторы полагают, что этот новый вариант 3-ФГК является следствием мутации структурного гена фермента.

Наследственный дефицит активности 2,3-дифосфоглицерамутазы в эритроцитах. В процессе анаэробного гликолиза на определенном этапе образуется 1,3-ДФГ, который нестабилен и используется в качестве субстрата 2,3-ДФГМ. Под влиянием последней 1,3-ДФГ превращается в 2,3-ДФГ. В энергетическом отношении превращение 1,3-ДФГ в 2,3-ДФГ менее эффективно, но образование этого субстрата имеет большое значение для выполнения Эр своих функций.

Описаны несколько семей, у членов которых в Эр выявлялся дефицит активности фермента, что проявлялось хронической несфероцитарной ГА, эритроцитозом, однако наблюдались случаи бессимптомного носительства этого нарушения [Garel M. et al., 1990; Lemar-Chandel V. et al., 1992]. При ГА у больных отмечалась спленомегалия, у некоторых — желчнокаменная болезнь [Saudubray J.-M. et al., 1995].

W.Schröter (1965) описал новорожденного ребенка с тяжелой гемолитической анемией, гепато- и спленомегалией, без значительного ретикулоцитоза и билирубинемии. Ребенку многократно переливали кровь (до 80 трансфузий). Смерть наступила в 3-месячном возрасте от бронхопневмонии. Родители пробанда — двоюродные брат и сестра. Активность фермента в Эр у родителей, сестры

и бабушки составляла 55—60% от нормы. У них не было никаких признаков заболевания. Хотя у ребенка активностью 2,3-ДФГМ в Эр не была исследована, автор предположил, что он был гомозиготом.

Второй случай, где имеются сведения о течении периода новорожденности, описали P.Cartier и соавт. (1972). С рождения у девочки отмечались желтуха, компенсированный гемолиз, у ее матери и бабушки клинико-гематологических проявлений заболевания не было, хотя у всех активность фермента в Эр составляла 50% от нормы. S.Travis и соавт. (1978), обследовавшие 6 членов одной семьи, выявили, что у одного больного активность фермента в Эр составляла 59% от нормы. Показатели Hb, числа Эр, их осмотическая резистентность были нормальными, но отмечались ретикулоцитоз, укорочение длительности жизни Эр, билирубинемия, т. е. признаки компенсированной ГА. Подобные же изменения отмечены у отца, 3 сибсов и у 3-летней дочери, у которой период новорожденности протекал нормально. По мнению авторов, наследование дефицита 2,3-ДФГМ аутосомно-доминантное.

Другим фенотипическим проявлением дефицита активности 2,3-ДФГМ является эритроцитоз, который наследуется аутосомно-доминантно, впервые описан R.Rosa и соавт. в 1977 г. у мужчины 42 лет. Пробанд — француз, у него с 8-летнего возраста эритроцитоз, Hb 190 г/л. Клинически, за исключением акроцианоза, никаких патологических изменений внутренних органов не выявлено.

Каждые 2 мес ребенку производили эксфузии крови. К моменту установления диагноза пробанду 42 года, клинически, гематологически и биохимически признаков гемолиза нет. Данные по исследовании периферической крови: Hb 174 г/л,

Эр $5,32 \times 10^{12}/л$, ОЦК 88 мл/кг, ОЦЭ 44 мл/кг, ОЦП 41 мл/кг, гематокритное число 0,54, т. е. все это свидетельствовало об абсолютном эритроцитозе. Морфология Эр, число лейкоцитов и тромбоцитов, лейкоцитарная формула были нормальными. Активность 2,3-ДФГМ в Эр равна нулю. Дети пробанда (сын — 5 лет, дочь — 4 года) клинически здоровы, показатели красной крови на верхней границе нормы; у обоих детей активность фермента в Эр составляла 50% от нормы. Содержание 2,3-ДФГ в Эр у отца было снижено почти в 40 раз, а у детей — приблизительно на $1/3$. У троих сестер пробанда и у одного племянника отмечались сходные данные; у сестер активность фермента в Эр отсутствовала.

Еще одна семья с дефицитом 2,3-ДФГМ в Эр, сопровождавшимся эритроцитозом, описаны F.Galacteros и соавт. в 1984 г. У всех из них (взрослые) клинико-гематологические проявления сходны с предыдущим описанным наблюдением.

По данным R.Rosa (1995), дефицит активности 2,3-ДФГМ в Эр, сопровождающийся полиглобулией, встречается очень редко. Природа различных клинико-гематологических проявлений ферментопатии не ясна. Для лечения анемии используют гемотрансфузии; данных о результатах сплеспэктомии нам не встретилось. При наличии полиглобулии производят эксфузии крови.

Наследственный дефицит активности энлазы в эритроцитах. Дефицит активности энлазы в Эр встречается крайне редко и сопровождается нефроцитарной ГА.

В Эр содержание 2-фосфоглицерата находится в равновесии с фосфоэнолпируватом. Реакция дегидратации катализируется ферментом энлазой. Фосфоэнолпируват является источником фосфата для АДФ на второй стадии синтеза АТФ в процессе гликолиза, происходящего в Эр.

Снижение активности эндолазы вызывает нарушение этого равновесия.

Первое описание больного с дефицитом активности эндолазы в Эр было представлено М. Stefanini в 1972 г., в котором сообщалось о хронической ГА у больного после приема нитрофурантоина. Однако в последующем правильность диагноза была подвергнута сомнению по методологическим причинам.

P. Boulard-Heitzmann и соавт. (1984) описали 40-летнюю женщину, поступившую в госпиталь для обследования в связи с персистирующей желтухой, увеличивавшейся при сезонных инфекциях. У больной с рождения отмечались желтушный оттенок лица, часто носовые кровотечения в течение младенческого возраста. В возрасте 25 лет проведены аппендэктомия и спленэктомия в связи с увеличением селезенки, но о клинических и лабораторных данных в этот период неизвестно. В клинику поступила в связи с гриппом и усилением субиктеричности склер. В этот же период обследовали 7 членов ее семьи. Известно, что ее отцу (он был алкоголиком) в 75-летнем возрасте была проведена спленэктомия по поводу ГА, но никаких дополнительных данных нет, так как он умер.

При обследовании у больной анемии нет. Средний объем Эр 98 фл, ретикулоциты — 4%, тромбоциты — $529 \times 10^9/\text{л}$, лейкоциты — $14,2 \times 10^9/\text{л}$. Показатели крови не изменялись на протяжении всего периода обследования. Телец Гейнца в Эр не обнаружено, сфероцитоза нет. Общий билирубин 20 мкмоль/л. Нестабильные гемоглобины не обнаружены, антиэритроцитарные АТ отсутствуют. Изучение активности ферментов Эр (проведено 4 раза) выявило снижение активности эндолазы до 50% от нормы, термостабильность фермента не изменена. Тест на аутогемоллиз и осмотическая резистентность Эр как при ИС.

Исходя из полученных данных, авторы пришли к заключению, что ГА вызвана недостаточной активностью эндолазы Эр и гемоллиз не компенсирован спленэктомией. Вероятно, болезнь унаследована аутосомно-доминантно от отца.

Второй случай дефицита активности эндолазы в Эр, сопровождавшийся ГА, описан H. Fujii и соавт. в 1998 г. у мальчика 8 лет, который поступил в связи с апластическим кризом, вызванным парвовирусной инфекцией. В постэритробластопеническом периоде у ребенка наблюдались нормохромная анемия (Hb 91 г/л, Эр $2,79 \times 10^9/\text{л}$), ретикулоцитоз 7,7%, билирубинемия (общий — 21 мг/л, непрямой — 1 мг/л). В периферической крови определялись стоматоцитоз, анизоцитоз. Активность эндолазы в Эр 4,08 МЕ/г Hb (норма — 6,04—8,10), повышена активность ГК, ПК и Г-6-ФД. Родители ребенка были в неродственном браке, клинико-гематологических и биохимических изменений, указывающих на ГА, у них не выявлялось, но у обоих родителей активность эндолазы была сниженной: у отца она составляла 4,93 МЕ/г Hb, а у матери — 2,83. Больной отнесен к гетерозиготу, наследование, вероятно, аутосомно-рецессивное.

Данных о лечении больных не представлено.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯМИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА В ЭРИТРОЦИТАХ

Как было отмечено, недостаточность образования восстановленного глутатиона приводит к тому, что в Эр в недостаточном количестве образуются НАДФ-Н и глутатион. В этом процессе важную роль играет Г-6-ФД, первичный продукт НАДФ-Н

в пентозо-фосфатном шунте и ферменты, участвующие в метаболизме глутатиона. Дефицит глутатиона в Эр впервые описан М.Оорт и соавт. в 1961 г. Недостаточность глутатиона в Эр может быть связана с дефицитом активности одного из двух ферментов, участвующих в образовании восстановленного глутатиона — γ -глутамилцистеинсинтетазы или глутатионсинтетазы — см. схему 12.

Наследственный дефицит активности γ -глутамилцистеинсинтетазы в эритроцитах. На одном из этапов синтеза восстановленного глутатиона происходит образование глутамилцистеина, который является субстратом для образования восстановленного глутатиона; эта реакция катализируется γ -глутамилцистеинсинтетазой.

Дефицит активности γ -глутамилцистеинсинтетазы в Эр приводит к наследственной несфероцитарной ГА. К 1996 г. описаны 5 больных с этим патологическим состоянием.

Первое наблюдение о семейном случае заболевания было опубликовано Р.Конрад и соавт. в 1971 г. У обоих больных (брат и сестра) имела место компенсированная ГА несфероцитарного характера. Эр этих больных содержали менее 5% от нормы восстановленного глутатиона и неспособны были его образовывать. Однако если *in vitro* в исследуемую среду с Эр добавляли γ -глутамилцистеин и глицин, то Эр образовывали нормальное количество восстановленного глутатиона. При исследовании активности фермента в Эр больных было установлено, что активность γ -глутамилцистеинсинтетазы у пробандов была в пределах 11% от нормы, а у их матери — 57%. Это заставило предположить, что наследование болезни происходит аутосомно-рецессивно.

У больных наблюдалось снижение содержания восстановленного глутатиона в лейкоцитах (40% от

нормы) и в мышечной ткани (до 25%). У сестры (35 лет) и у брата (37 лет) отмечались признаки атаксии, мышечной слабости, нарушения координации верхних и нижних конечностей и другие неврологические симптомы, свидетельствующие о наличии признаков спинно-мозжечковой дегенерации. У других членов семьи патологических изменений не было. Выказано предположение, что клиничко-гематологическая симптоматика обусловлена ферментной недостаточностью [Richards F. et al., 1974; Meister A., 1983].

Второе подобное наблюдение описано E.Beutler и соавт. в 1990 г., но у больных не было неврологической симптоматики. У двоих больных, описанных A.Nigolo и соавт. (1996), содержание глутатиона в Эр составляло 4,4—13,3% от нормы, и болезнь протекала в виде хронической несфероцитарной ГА.

Патогенетическое лечение больных не разработано.

Наследственный дефицит активности глутатионсинтетазы в эритроцитах. Наследственный дефицит активности глутатионсинтетазы в Эр также встречается редко, и снижение ее активности приводит к недостаточному образованию восстановленного глутатиона. Снижение активности глутатионсинтетазы может приводить к двум клиническим синдромам:

1) несфероцитарной ГА, протекающей с 5-оксипролинурией, тяжелым метаболическим ацидозом и часто, но не всегда, с неврологической симптоматикой, включая умственную отсталость;

2) в виде только несфероцитарной ГА.

Установлено, что если дефицит фермента ограничен только Эр, то у больных наблюдается несфероцитарная ГА. Если же дефицит носит генерализованный характер, то присоединяется неврологическая симптоматика [Beutler E., 1994]. Было уста-

новлено, что если клинические проявления ограничиваются нарушениями только в Эр, то это связано с мутацией в гене, вследствие чего нарушается стабильность фермента, поскольку Эр не способны восстанавливать активность фермента путем его синтеза. Наличие тканеспецифических ферментов, гетерогенности мутантных ферментов и(или) различной чувствительности мутантных ферментов к тканеспецифическим протеазам, все это, возможно, объясняет различное распределение в тканях дефицита фермента [Hirono A. et al., 1996].

Наследственный дефицит активности глутатионсинтетазы в Эр встречается относительно редко среди больных с ферментопатиями. Из 722 больных, наблюдававшихся А. Hirono и соавт. (1988), ферментопатии отмечались у 84 (11,6%), а среди последних — только у одного больного из 84 (1,2%) наблюдался дефицит активности глутатионсинтетазы в Эр. Всего описаны более 20 семей с дефицитом глутатионсинтетазы в Эр [Rejaver R. et al., 1992; Mayatepek E. et al., 1994; McMullin M., 1999].

Первое сообщение о дефиците глутатионсинтетазы в Эр было опубликовано M. Oort и соавт. в 1961 г. у 5 членов одной семьи, у которых наблюдалась клинико-гематологическая картина хронической несфероцитарной ГА. С тех пор опубликованы данные о достаточно большом числе больных, что позволяет дать обобщенную картину заболевания.

Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно, поражает лиц обоего пола. Обычно ГА компенсирована. Заболевание может впервые проявляться в неонатальном периоде в виде ГА с оксипролинурией, но без неврологической симптоматики [Alvarez R. et al., 1998]. Нередко болезнь протекает в виде острого гемолитического криза, обычно спровоцированного приемом некоторых медика-

ментов или продуктов (примахин, fava beans), с гемоглобинурией. У некоторых больных может быть умеренное увеличение селезенки.

Показатели красной крови в пределах суб- или нормальных значений, без заметных морфологических изменений Эр. Осмотическая резистентность последних не изменена. Содержание ретикулоцитов повышено. При биохимическом исследовании крови определяются признаки умеренного гипергемолиза (билирубинемия, гипогантоглобинемия).

Главным критерием для постановки диагноза является определение активности глутатионсинтетазы в Эр и содержание в них глутатиона, которые снижены (11—49% от нормы). У гетерозиготов активность фермента составляет около 50%. Определение длительности жизни Эр с использованием ^{51}Cr является ненадежным тестом, поскольку хром действует повреждающе на Эр с недостаточностью глутатиона.

При развитии анемии используют трансфузии эритроцитной массы, при тяжелом течении ГА показана спленэктомия. Во избежании развития острых гемолитических кризов следует воздерживаться от приема медикаментов, от контакта с химическими веществами и другими провоцирующими криз факторами, как это рекомендовано при дефиците активности Г-6-ФД в Эр.

Дефицит активности глутатионредуктазы в эритроцитах. Дефицит активности глутатионредуктазы приводит к задержке образования восстановленного глутатиона из окисленного. Недостаточность активности фермента в Эр может приводить к развитию острого гемолитического криза, вызываемого медикаментами, бобами fava либо к несфероцитарной ГА с клинико-гематологической картиной, сходной с таковой при дефиците активности Г-6-ФД в Эр у больных.

Коферментом глутатионредуктазы является флавинадениндинуклеотид и, по мнению E.Beutler (1994), дефицит фермента часто является следствием субоптимального усвоения рибофлавина, в связи с этим недостаточная активность глутатионредуктазы может сопутствовать многим состояниям и заболеваниям (лейкопении, тромбоцитопении, панцитопении, гемофилии и др.) без проявления ГА.

Единственное наблюдение дефицита активности фермента в Эр, при котором наблюдался острый гемолитический криз, описано H.Loos и соавт. в 1976 г. У всех троих детей этой больной 22-летней женщины активность фермента отсутствовала в Эр, гранулоцитах, моноцитах, лимфоцитах и тромбоцитах, но патологических признаков клинко-гематологического статуса не было. Все эти данные и единственное описанное наблюдение заставили усомниться в причинно-следственной связи между дефицитом фермента в Эр и ГА.

Дефицит активности глутатион-S-трансферазы в эритроцитах. Как уже было отмечено, снижение содержания восстановленного глутатиона в Эр играет важную роль в развитии лекарственно-индуцированного гемолитического криза, и это уменьшение восстановленного глутатиона в Эр может быть следствием либо нарушения его синтеза, либо недостаточной активности ферментов, участвующих в цикле его образования. Недавно было установлено, что глутатион-S-трансфераза (GST) конъюгирует восстановленный глутатион в электрофильные ксенобиотики, образуя прочные тиоэфирные связи и детоксицируя их. Этот фермент играет роль в транспорте билирубина и конъюгации ряда веществ (например, бромесульфалеина) в печени [Marcus C. et al., 1978].

Глутатион-S-трансфераза относится к ферментам, которые контро-

лируются различными генетическими локусами. Существуют различные типы ферментов, но в Эр находится GST₃ или GST_p, отличающиеся от ферментов, находящихся в печени (GST₁ и GST₂). Окончательно функция GST не выяснена, но известно, что мембрана Эр содержит транспортные системы, которые активно перемещают GST-ксенобиотинные конъюгаты из Эр [Eckert K. et al., 1986]. Фермент связывается также с гемом, и было высказано предположение, что, возможно, функция GST — это внутриклеточный перенос гема среди дифференцирующихся клеток [Harvey J. et al., 1982].

Единственное наблюдение дефицита GST в Эр описано E.Beutler и соавт. в 1988 г. у мужчины, у которого в 22-летнем возрасте возникла умеренная ГА на фоне фебрильного заболевания. Через 3 года вновь отмечалась умеренная ГА на фоне ИМ. Как в этот период, так и в межприступный содержание гемоглобина колебалось в пределах 125—131 г/л, эритроцитарные индексы, морфология Эр, содержание железа, ферритина и общая железосвязывающая способность сыворотки крови были нормальными, увеличения селезенки отмечено не было. В последующие годы наблюдались признаки компенсированной умеренной ГА — содержание гемоглобина, гематокритное число, осмотическая резистентность Эр и число тромбоцитов были в пределах нормальных значений, но наблюдались незначительный ретикулоцитоз (2—3,8%), гипогаптоглобинемия, повышенное содержание в сыворотке крови билирубина (24—39 мг/л) с непрямой реакцией, периодически незначительное увеличение печени, селезенки, наблюдалась желчнокаменная болезнь. Активность GST в Эр составляла 15% от нормы. Большой был сирота, сведений о родителях у него не было; детей у него также не было, поэтому характер наследования не ясен.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ
АНЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ
ИЗМЕНЕНИЯМИ АКТИВНОСТИ
ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ
В МЕТАБОЛИЗМЕ НУКЛЕОТИДОВ
В ЭРИТРОЦИТАХ

Заболевания, связанные с нарушениями метаболизма пурина и пиримидина, составляют незначительный процент от всех ГА, обусловленных биохимическими нарушениями метаболизма в Эр. Нарушения метаболизма нуклеотидов в Эр могут:

- 1) протекать без изменения жизнеспособности Эр;
- 2) проявляться в виде мегалобластной анемии;
- 3) приводить к укорочению длительности жизни Эр и ГА.

Для жизнедеятельности Эр необходима энергия, которая содержится в глутатионе, в восстановленных пиримидиннуклеотидах (НАД·Н и НАДФ·Н), в фосфатах адениннуклеотидного пула (АТФ) и 2,3-ДФГ.

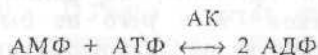
Пул адениннуклеотидов состоит в основном из АТФ (85—90%); АДФ составляет 10—15%, АМФ — 1—3%. Их равновесие обеспечивается АК. Генерирование АТФ происходит в процессе анаэробного гликолиза и частично за счет гексомонофосфатного цикла. Нарушение этих процессов вследствие дефицита ферментов приводит к укорочению длительности жизни Эр, так как в последних не накапливается достаточного количества АТФ для обеспечения Эр энергией, необходимой для их жизнедеятельности.

Уменьшение в Эр количества АТФ и 2,3-ДФГ может наблюдаться и при хранении консервированной крови. Однако этому процессу могут воспрепятствовать нуклеозиды (инозин, аденозин). Фосфорилирование аденозина в АМФ происходит при участии аденозинкиназы, и это является одним из важнейших механизмов поддержания пула адениннуклеотидов.

Ингибированию энергогенерирующей реакции гликолиза и снижению содержания АТФ способствуют высокие концентрации пиримидиновых оснований в Эр, что может быть обусловлено снижением активности нуклеотидазы.

Таким образом, нарушение образования АТФ, необходимой для полноценного функционирования биологической системы Эр, может быть связано и с изменениями активности ферментов, участвующих в метаболизме нуклеотидов. Это приводит к нарушению K^+ , Na^+ , Ca^{2+} -насосов против градиента концентрации; изменяются пластичность и функциональное состояние мембраны, синтез глутатиона, катаболизм глюкозы и другие реакции и, как следствие этого, наступает преждевременная гибель Эр.

Наследственный дефицит активности аденилаткиназы в эритроцитах. АК (АТФ-АМФ-фосфотрансфераза) катализирует обратимую реакцию:



Образование фермента регулируется двумя кодоминантными аутосомальными аллелями. Существует генетический полиморфизм АК: в основном встречаются фенотипы АК-1 и АК-2-1; редко наблюдаются другие фенотипы — АК-2, АК-4-1 и АК-5-1. Ген эритроцитарного фермента (АК-1) расположен на хромосомах 9-й пары, содержит 7 экзонов, а локус АК-2 располагается на коротком плече хромосом 1-й пары.

Всего опубликовано 9 наблюдений дефицита активности АК в Эр [Bianchi P. et al., 1997]. За исключением одного больного у остальных 8 человек дефицит фермента сопровождался клинико-гематологической картиной наследственной хронической несфероцитарной ГА. Дефицит активности АК наследуется аутосомно-рецессивно, у гомозиготов прояв-

ляется в виде хронической несфероцитарной ГА [Rosa R., 1995]. Иногда у больных отмечается умственная отсталость [Gogen A. et al., 1994].

Впервые дефицит АК в Эр описали A.Szeinberg и соавт. в 1969 г. у арабского мальчика 5 лет. У пробанда отмечались гепато- и спленомегалия, тяжелая хроническая ГА с 2-недельного возраста. В периферической крови содержание Hb 56 г/л, ретикулоцитов 5,5%, билирубинемия. Аутогемолиз повышен, не корригировался глюкозой. Наряду с дефицитом активности АК (1—2% от нормы) у больного в Эр имелся дефицит активности Г-6-ФД. Это обстоятельство затрудняет интерпретацию полученных данных; возможно, тяжелое течение обусловлено сочетанным дефицитом активности двух ферментов.

Авторы обследовали родителей, которые были двоюродными братом и сестрой, и 5 сибсов. Один ребенок умер в 7-летнем возрасте от неизвестной причины, но клинических признаков ГА у него не было. У сестры выявлена ГА; у нее активность фермента в Эр составляла 1—2% от нормы, а активность Г-6-ФД была нормальной. Родители и четверо других сибсов были гетерозиготами. Клинически у них заболевание не проявлялось, но у всех из них имелся дефицит активности АК в Эр (22—72% от нормы). У родителей был фенотип АК-1.

В 1970 г. P.Boivin и соавт. сообщили о ребенке, у которого в периоде новорожденности желтухи не было. Первые клинические и гематологические признаки несфероцитарной ГА возникли в 3-месячном возрасте. В возрасте 2—3 лет неоднократно были гемолитические кризы. Ребенок отставал в психомоторном развитии (в периоде новорожденности была асфиксия, по поводу которой проводились реанимационные мероприятия). В последующем наблюдалось увеличение селезенки. С 7 лет отмечалась

компенсированная ГА (Hb 137 г/л, ретикулоциты — 3,5%, в костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ряда до 42%). Отмечалась тромбоцитопения, $T^{1/2}$ Эр по ^{51}Cr был нормальным. Активность АК в Эр составляла 1—13% от нормы. Родители и двое сибсов клинико-гематологически здоровы, но у них активность фермента в Эр составляла 45—60% от нормы. У родителей был фенотип АК-1.

Сходную клинико-гематологическую картину наблюдали P.Bianchi и соавт. (1997) у двоих детей (мальчик 4 года, девочка 5 лет) из одной семьи из Северной Италии. У этих больных активность АК в Эр отсутствовала, а у родителей (не кровные родственники) активность фермента составляла 55% и 70% от нормы.

У больных с дефицитом активности АК в Эр выявлены два типа мутации — CGB-TGG, Arg128-Trp. В наблюдениях P.Bianchi и соавт. и у брата, и у его сестры установлена однотипная мутация гена АК-1: гомозиготная мутация в кодоне 107 (CGA — TGA, Arg — Stop). Вследствие мутации гена АК-1 общее количество аминокислот в белке вместо 197 в норме снизилось до 107. Кроме того, у обоих больных детей установлена делеция 37bp в начальной части эксона 6 (от nt326 до nt362 в последовательности сДНК). Этот вариант АК-1, выявленный у детей, назван по их фамилии — АК-1 Fidenza [Bianchi P. et al., 1997].

У всех описанных больных концентрация АТФ в Эр была нормальной, содержание адениннуклеотидов было повышено в молодой популяции Эр, а в наблюдениях P.Boivin и соавт. (1970) — снижено; определялось незначительное изменения соотношения АДФ:АТФ.

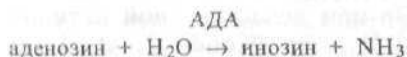
Е.Beutler и соавт. (1983) наблюдали ребенка, у которого был выраженный дефицит активности АК в Эр, но отсутствовали клинические и

гематологические признаки гемолиза. Авторы полагают, что наличие дефицита фермента в Эр не всегда может проявляться ГА. Поскольку у ряда больных с дефицитом активности АК в Эр имелся наследственный дефицит активности Г-6-ФД, не исключена возможность, что укорочение длительности жизни Эр обусловлено комбинированным дефицитом активности двух ферментов [Beutler E., 1994].

Лечение не разработано. Применяют общепринятые при лечении ГА консервативные мероприятия.

Наследственная гиперактивность аденозиндезаминазы в эритроцитах. Аденозиндезаминаза (АДА) определяется во многих тканях человека. Она существует в виде нескольких молекулярных и электрофоретических форм. У европейцев выявлены три фенотипа фермента: АДА1 (у 90% людей), АДА2-1 (у 10%) и редко АДА2; N.Komatsu и соавт. (1987) выявили 4-й вариант — АДА6-1 (у 0,27%). Структурный ген АДА1 располагается на хромосоме 20-й пары. Снижение активности АДА приводит к тяжелому иммунодефициту, а при повышении активности фермента в Эр — к несфероцитарной ГА. При повышении активности АДА, по-видимому, происходит уменьшение содержания жизненно важных адениннуклеотидов, вследствие чего нарушается их метаболизм [Beutler E., 1994].

Аденозиндезаминаза катализирует реакцию дезаминирования аденозина в инозин:



Аденозин определяется в плазме крови в низких концентрациях и путем диффузии проникает в Эр. Последующее его превращение определяется активностью аденозинкиназы и аденозиндезаминазы. В норме

предпочтительнее дезаминируется аденозин, поскольку АДА в 10 раз более активна, чем аденозинкиназа. Кроме того, АДА находится в тесной связи с компонентами мембраны, ответственными за транспорт аденозина. При низких концентрациях аденозина превалирует процесс фосфорилирования, так как аденозинкиназа имеет большее сродство к субстратом, чем аденозиндезаминаза. Нарушения в обмене аденозина определяются активностью АДА. При повышении активности последней происходит сдвиг в сторону аденозина, уменьшаются генерация АМФ и концентрация нуклеотидов, это приводит к преждевременной гибели Эр. Снижение активности АДА в Эр предрасполагает к появлению активности аденозинкиназы и увеличению пула адениннуклеотидов.

Повышенная активность АДА в Эр встречается редко, и при ее наличии у больных наблюдается хроническая несфероцитарная ГА [Rosa R., 1995]. В 1970 г. D.Paglia и соавт. описали семью, в которой аутосомно-доминантно наследовалась несфероцитарная ГА, ассоциированная с резким уменьшением в Эр содержания адениннуклеотидов. В последующем эта семья была детально обследована W.Valentine и соавт. (1977).

У пробанда отмечались компенсированная хроническая несфероцитарная гемолитическая анемия, спленомегалия. Тест на аутогемолиз повышен, корригировался глюкозой. Еще у 11 из 23 членов семьи трех поколений определялись признаки ГА. Только у 1 из 11 больных в анамнезе наблюдалась анемия. При биохимическом исследовании Эр у 12 человек отмечалось снижение содержания адениннуклеотидов до 60% от нормы, повышение активности АДА (в 45—70 раз по сравнению с нормой) и пиримидиннуклеотидазы. Активность АДА по всем критериям была нормальной.

Второе сообщение опубликовано S. Miwa и соавт. (1979). Это 38-летний больной, у которого до 26 лет не было никаких признаков болезни. В возрасте 26 лет у него впервые выявлена желтуха, которая периодически усиливалась, и отмечалось незначительное увеличение печени и селезенки. В последующем появились признаки калькулезного холецистита. В анализе крови содержание Hb 158 г/л, ретикулоцитов — 4,5%, билирубинемия. $T_{1/2}$ Эр по ^{51}Cr равнялась 12 дням. В пунктате костного мозга увеличено количество эритрокариоцитов. При морфологическом исследовании определялись стоматоциты, атипичные эхиноциты.

В семье отец, мать и оба сына здоровы, показатели крови у них нормальные. Дед (по линии матери) умер от желтухи. У пробанда активность АДА в Эр повышена в 40 раз по сравнению с нормой, у матери — в 4 раза. У пробанда в Эр адениннуклеотиды составляли 46% от нормы, содержание 2,3-ДФГ было несколько снижено. У обоих сыновей и у отца активность АДА в Эр нормальная.

Сходную клинико-гематологическую картину заболевания у больного описали J. Perignon и соавт. (1982).

Повышение активности фермента в Эр связано с гиперпродукцией нормальной АДА вследствие нарушения механизмов генетического контроля — увеличена перестройка аберацантной мРНК АДА [Chottiner E. et al., 1987]. Гиперактивность фермента приводит к уменьшению пула адениннуклеотидов.

Наследственный дефицит активности пиримидин-5'-нуклеотидазы в эритроцитах. Снижение активности П-5'-Н в Эр проявляется в виде несфероцитарной ГА. Дефицит активности указанного фермента как причина несфероцитарной ГА среди наследственных эритроцитарных ферментопатий стоит на четвертом месте после

дефицита активности Г-6-ФД, ПК и ГФИ в Эр. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно.

П-5'-Н является цитозольным ферментом Эр. У человека в Эр существуют два изофермента — P5N-I и P5N-II, различающихся различными свойствами (действием на различные субстраты, оптимумом pH, термостабильностью). По данным A. Higono и соавт. (1987), главной причиной дефицита П-5'-Н является наличие аномального P5N-I, появляющегося вследствие структурной мутации гена фермента. Нарушение молекулярной структуры фермента не идентифицировано [McMullin M., 1999].

Нуклеотидазы катализируют гидrolитическую дефосфорилиацию различных нуклеозид-5-монофосфатов (уридина, цитидина, тимидина), в результате чего образуются соответствующие нуклеотиды (уридин, цитидин, тимидин).

У здоровых людей 97% от всех эритроцитарных нуклеотидов составляют адениловые нуклеотиды, а содержание пиримидиновых нуклеотидов очень низкое. Функция П-5'-Н проявляется в высевающихся ретикулоцитах. П-5'-Н высоко чувствительна к свинцу, и при повышении концентрации этого микроэлемента активность фермента резко снижается. Вследствие снижения активности П-5'-Н происходит аккумуляция большого количества пиримидиннуклеотидов в Эр. Это, в свою очередь, ингибирует процесс транспорта из Эр окисленного глутатиона, чем, возможно, и объясняется высокое содержание восстановленного глутатиона в Эр при недостаточной активности П-5'-Н в Эр [Kondo T. et al., 1987; Beutler E., 1994]. Фермент дефосфорилирует пиримидины (продукты деградации РНК) без воздействия на пурины. При недостаточной активности П-5'-Н происходит резкое увеличение содержания пиримидинов (цитидина, уридина), которые не мо-

гут диффундировать из клетки. Снижение активности фермента в Эр способствует накоплению в ретикулоцитах продуктов деградации РНК, что морфологически проявляется базофильной пунктиацией Эр [Rosa B., 1995]. Повышение концентрации пиримидиновых нуклеотидов в Эр может ингибировать энергогенерирующие реакции гликолиза, вследствие чего в них уменьшается содержание АТФ, и это способствует укорочению длительности жизни Эр. По данным N. Matsumoto и соавт. (1982), изучавших ткань селезенки электронно-микроскопически, при дефиците активности П-5'-Н наблюдается как внутрисосудистый гемолиз, так и эритрофагоцитоз в красной пульпе.

Первое клинико-гематологическое описание больного с несфероцитарной ГА, обусловленной дефицитом П-5'-Н, было опубликовано W. Valentine и соавт. в 1972 г. С тех пор опубликованы большое количество работ, посвященных этому заболеванию.

Первые клинические проявления дефицита фермента в Эр могут наблюдаться в любом возрасте. У большинства детей уже в периоде новорожденности отмечалась желтуха, но исключительно редко приходилось прибегать к обменным гемотрансфузиям в связи с гипербилирубинемией. У некоторых больных желтуха и анемия выявлялись в течение первых двух лет жизни. Желтуха постоянная, разной выраженности. Несколько позднее увеличивается селезенка, иногда печень. Селезенка увеличена почти у всех больных, но ее размеры никогда не бывают значительными (выступает из-под края реберной дуги на 2—4 см). При длительном течении болезни могут появиться признаки калькулезного холецистита. Психомоторное развитие нормальное, хотя в редких случаях у больных отмечается умственная отсталость. Описаны больные с

транзиторной эритробластопенией, вызванной под действием парвовируса В19 [Rechavi G. et al., 1989].

Анемия обычно легкой степени (Hb 80—100 г/л), отмечаются макроцитоз, полихромазия. Патогномичным признаком является базофильная пунктиация в Эр. Ретикулоцитов 10—20%. Осмотическая резистентность Эр не изменена. Аутогемолиз повышен, частично корригируется глюкозой. В костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ряда. T. Hansen и соавт. (1983) описали брата и сестру, у которых отмечался внутрисосудистый гемолиз с гемоглобинурией.

Диагноз основывается на изучении активности П-5'-Н в Эр — у больных активность фермента составляет 2—14% от нормы, а у гетерозиготов — 50—65% от нормы. В Эр повышено содержание пиримидиннуклеотидов, восстановленного глутатиона, снижена активность рибозофосфатпирофосфокиназы.

Принципы лечения такие же, как и при других формах наследственной несфероцитарной ферментопатической ГА. Спленэктомия у большинства больных либо неэффективна, либо после нее наблюдается незначительное транзиторное улучшение.

ВРОЖДЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ ВСЛЕДСТВИЕ АНОМАЛИЙ ГЕМОГЛОБИНА

Нормальный Hb представляет собой тетрамерную молекулу, в которой содержатся две α - или α -подобной и β - или β -подобной субъединицы глобинового гема. В постнатальной жизни у человека имеются HbA ($\alpha_2\beta_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$) и HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$). Гены для α - и ζ -глобиновых цепочек расположены на 16-й паре хромосом, а гены β -группы глобинов — на 11-й

паре хромосом. Большинство аномальных генов глобиновых цепочек охарактеризованы на молекулярном уровне.

Гемоглинопатии обусловлены конституциональной аномалией Hb, при которых изменена глобиновая фракция молекулы. У гетерозиготов эта аномалия может протекать клинически и гематологически бессимптомно, а у гомозиготов — в виде ГА разной тяжести, иногда очень тяжелой, несовместимой с жизнью. Приблизительно 5% жителей земного шара являются носителями генов, ответственных за гемоглинопатию; ежегодно рождаются более 300 000 гомозиготов или смешанных гетерозиготов [Girodon E. et al., 1995; Keser I. et al., 2001].

Все гемоглинозные нарушения (гемоглинопатии) можно подразделить на три главные группы:

1) со структурными изменениями Hb (наличие аномального Hb); при них изменена последовательность аминокислот в цепочках глобина; в большинстве этих аномальных гемоглинов замещена одна аминокислота, но могут быть комплексные структурные изменения;

2) с дефицитом синтеза цепочек глобина (таласемии); при них имеется количественный дефект, отмечается снижение синтеза одной или более цепочек глобина, или же наблюдается полное угнетение синтеза глобиновых цепочек;

3) наследственный синдром персистирования HbF; он характеризуется повышенным образованием HbF на всем протяжении жизни человека.

ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С АНОМАЛИЕЙ СТРУКТУРЫ ГЕМОГЛОБИНА

Существуют более 800 вариантов Hb с измененной структурой. В большинстве случаев имеет место замена одной аминокислоты другой в цепочке глобина; редко заменены несколько аминокислот. Вследствие из-

менения структуры Hb происходит изменение и его свойств, в частности электрофоретической подвижности. Большинство из них представляют казуистические случаи. Аномальные Hb идентифицируются с помощью электрофореза, но некоторые из них при исследовании этим методом находятся в состоянии как бы «покоя», и требуются специальные методы их изучения. Некоторые варианты аномальных Hb, имеющие аномальную сходную электрофоретическую подвижность, включают в себя гемоглины, наличие которых у людей может протекать бессимптомно, а у некоторых лиц вызывать тяжелые клиничко-гематологические симптомы. В этих случаях, помимо исследования Hb электрофоретическим методом, требуются специальные дополнительные методы исследования для идентификации типа Hb [Wajzman H. et al., 2001]. По клиничко-гематологическим проявлениям носительство аномальных гемоглинов может протекать бессимптомно, в других случаях при гомозиготном состоянии у больных имеются все признаки ГА (HbS, HbC), наличие аномального гемоглибина может способствовать усилению тяжести болезни (HbE).

Наиболее изученными и распространенными гемоглинопатиями со структурными изменениями Hb являются серповидно-клеточная анемия (дрепаноцитоз), гемоглинопатии С, Е и др.

Гемоглинопатии серповидно-клеточные. Серповидно-клеточный гемоглибин (HbS) отличается от HbA заменой гидрофильной глутаминовой кислоты на гидрофобную аминокислоту валин в 6-й позиции аминокислотной β -глобиновой цепочки. Это изменение молекулы Hb приводит к тому, что в условиях пониженного парциального давления кислорода, при ацидозе происходит пространственное изменение конфигурации мо-

лекулы гемоглобина, образуются молекулярные полимеры. Последние образуют агрегаты с появлением кристаллоподобных ригидных игольчатых образований. Полимеры HbS, прилекая к внутреннему слою мембраны Эр, изменяют ее структуру, увеличивают проницаемость мембраны для ионов, вследствие чего происходит дегидратация Эр. В итоге Эр принимают необратимую серповидную форму, становятся ригидными, теряют эластичность, способность к деформации. Вследствие этого происходит преждевременная их гибель. Повышенное содержание серповидных Эр (дрепаноцитов) приводит к тому, что увеличиваются вязкость крови, стаз, появляются вазоокклюзивные осложнения. Некоторые Hb (HbF, HbA₂) являются ингибиторами процесса полимеризации HbS, другие (HbC, HbD Los Angeles, HbO Arab), напротив, принимают участие в процессе полимеризации дезокси-HbS.

У ребенка — носителя гена HbS к моменту рождения содержание HbF составляет 20% и более и сохраняется повышенным в течение всей жизни. Гемолиз стимулирует эритропоэз, образуются эритробласты, способные экспрессировать гены γ -глобина, и, таким образом, образуется HbF. Но эта индукция синтеза HbF вариабельна у каждого индивидуума, генетически детерминирована. При содержании HbF в Эр 20% и более Эр сохраняют свою интегральность и деформабельность нормальными, даже при гипоксемии.

Процесс полимеризации HbS происходит только по достижению определенной концентрации дезоксигенированного HbS в Эр и наблюдается у гомозиготов. У гетерозиготов, в Эр которых имеется HbA, полимеризация HbS в Эр происходит чрезвычайно редко. Полимеризация HbS приводит к изменению реологических свойств Эр даже при отсутствии

морфологических изменений Эр. При резком увеличении количества Эр с нарушенной деформабельностью наступают вазоокклюзивные изменения. Органами, которые наиболее подвержены ишемии, являются те, в которых в физиологических условиях отмечается низкое содержание кислорода, а также ткани с терминальной васкуляризацией (костный мозг, селезенка, мозговое вещество почек, мышцы, сетчатка).

К серповидно-клеточным гемоглобинопатиям относятся:

1) серповидно-клеточная анемия (дрепаноцитоз);

2) серповидно-клеточные синдромы (HbS- β^0 -талассемия, HbS- β^+ -талассемия, HbSC, HbAS, HbSO Arab, HbSD Los Angeles и др.)

Серповидно-клеточная анемия (дрепаноцитоз). Это наиболее частая и наиболее тяжелая ГА, связанная со структурными изменениями гемоглобина — мутацией гена β -глобиновой цепочки. Дрепаноцитоз наблюдается у чернокожих, с наибольшей частотой встречается в Центральной и Западной Африке, Америке, на Антильских островах, реже в Турции, Индии; очень редко встречается у людей белой расы (районы Средиземноморского бассейна), в странах Закавказья. В Африке зоны эндемии дрепаноцитоза совпадают с районами распространения малярии. Такое распространение болезни связано с естественной селекцией людей, так как *Pl. falciparum* не могут продолжить свой жизненный цикл в Эр, содержащих HbS. У афроамериканцев дрепаноцитоз встречается с частотой 1:500 [Koshy M. et al., 2000].

Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. Гомозиготы являются S/S, гетерозиготы — A/S. Встречаются также смешанные гетерозиготы — HbS/HbC- и HbS/ β -талассемия, у которых клиническая симптоматика очень сходна с таковой гомозиготов.

Гомозиготная форма дрепаноцитоза. Гомозиготная форма дрепаноцитоза характеризуется тяжелой ГА, симптомами ишемии в некоторых органах и системах, связанных с закупоркой сосудов измененными Эр, протекающими с интермиттирующими эпизодами в виде кризов.

Клинические проявления у больных в период новорожденности наблюдаются крайне редко; обычно признаки ГА впервые начинают выявляться в возрасте 2—4 мес, в период, когда происходит замещение HbF на HbS. Другие клинические признаки в виде кризов наступают позднее, в основном после 6-месячного возраста, когда содержание HbF значительно меньше, чем HbS [Koshy M. et al., 2000]. Появление кризов может быть спровоцировано инфекцией, переохлаждением, но чаще всего причину, вызвавшую криз, установить не удается. Нередко первые симптомы болезни у младенцев появляются в виде острого синдрома в пальцах верхних и нижних конечностей, сопровождающегося побледнением, симметричным воспалением кистей и стоп. В основе этого синдрома лежит ишемический некроз мелких костей; на рентгенограммах наблюдается выраженная деструкция этих костей. С увеличением возраста больного эпизоды острых кризов (секвестрации) учащаются, нередко требуют срочной госпитализации, но у некоторых больных эпизоды острых болей редки. Если у детей младенческого возраста кризы ограничиваются в основном конечностями, то у детей старшего возраста и у взрослых боли могут быть самой различной локализации — в голове, в груди, в животе, в спине и в других областях тела. Приступы болей сопровождаются повышением температуры тела, гипоксией, ацидозом, который способствует дезоксигенация HbS. Боли в животе могут симулировать картину «острого живота».

Они могут быть связаны с инфарктом селезенки, лимфатических узлов брыжейки, почек, сопровождаться тошнотой, рвотой. Эти боли не всегда легко дифференцировать от болей при инфекции, холецистите. При поражении сосудов почек функция последних резко нарушается вследствие развития гломерулонефрита и фиброза канальцев с развитием гипостенурии, полиурии. Иногда также могут развиваться папиллярный почечный некроз и нефротический синдром. Относительно частым осложнением болезни является приапизм (у 26,3—42% больных) вследствие секвестрации Эр в пещеристых телах полового члена с нарушением оттока венозной крови [Gbadoé A. et al., 2001].

Выраженные вазоокклюзивные проявления могут вызвать обширные участки ишемии в различных частях тела. Острые эпизоды могут рецидивировать, прогрессировать, способствовать возникновению инфарктов костного мозга, костей. У детей с первых месяцев жизни отмечается увеличение селезенки. Спленомегалия сопутствует ГА, и с течением времени развивается синдром гиперспленизма, способствующий увеличению тяжести анемии, появлению тромбоцитопении, малой эффективности гемотрансфузий. До 5-летнего возраста часто рецидивируют инфаркты селезенки, сопровождающиеся повышением температуры тела, увеличением органа и резкой болезненностью. Повторные инфаркты селезенки приводят к «аутоспленэктомии», и часто к 5—6 годам жизни ребенка селезенка не пальпируется [Sébahoun G., 1998]. «Аутоспленэктомия» приводит к синдрому асплении, вследствие чего у больных повышается чувствительность к различным тяжелым инфекциям (менингит, сепсис и др.), главным образом вызываемых пневмококком и *H. influenzae*. Этому способствует значительное снижение фа-

гоцитарной функции клеток СМФ селезенки, содержания опсонинов в сыворотке крови, альтернативного пути комплемента. Остеомиелиты часто вызываются сальмонеллами. Если у больных с HbSS имеются еще и другие причины хронической ГА (например, дефицит активности Г-6-ФД в Эр), то эти лица относятся к группе высокого риска развития эритробластопении при наложении инфекции Parvovirus B19.

Для детей старшего возраста и взрослых очень характерен так называемый острый синдром грудной клетки (Acute chest syndrome, ACS). Он наблюдается у 25—40% больных, не менее одного раза в жизни. Особенно часты ACS в возрасте 5—20 лет. Они характеризуются появлением инфильтрации в паренхиме легких, повышенной температурой тела, одышкой, кашлем, болями в груди, гипоксемией и лейкоцитозом. Инфаркты отдельных участков легких сопровождаются наложением вторичной инфекции, пневмонией, иногда микроскопической жировой эмболией (из участков инфарктов костного мозга). Ключевую роль в развитии ACS играет секвестрация Эр в сосудах легких [Bernini J. et al., 1998]. Синдром острого поражения легких может прогрессировать в острый респираторный синдром, и у 25% больных он приводит к летальному исходу. ACS может быть связан с инфарктом ребер, миокарда. Развитию ACS предрасполагают увеличенное число лейкоцитов, повышенное содержание Hb и низкое содержание HbF [Castro O. et al., 1994; Vichinsky E., 1998].

Появление вазоокклюзивных приступов непредсказуемо. У 5—10% больных отмечаются нарушения мозгового кровообращения, которые нередко рецидивируют. Клиническая симптоматика определяется распространенностью и локализацией процесса. Хронические язвенные пора-

жения ног более свойственны взрослым больным. У больных старшего возраста может отмечаться увеличение сердца, связанное с кардиомиопатией. Вследствие усиления абсорбции железа в кишечнике могут развиваться признаки гемосидероза печени, поджелудочной железы, сердца. Возможно развитие желчнокаменной болезни.

У больных детей показатели роста существенно не отличаются от таковых их здоровых сверстников, но имеются снижение массы тела, задержка наступления пубертатного периода. Возможно, это связано с дефицитом цинка в организме больных [Leonard M. et al., 1998; Honig G., 2000].

Патогенез анемии и вазоокклюзивных кризов у больных комплексный. HbS менее растворим, чем HbA. Сниженная растворимость HbS вызывает агрегацию (полимеризацию) HbS внутри Эр, когда они проходят через сосуды системы микроциркуляции, в которых имеется пониженное содержание кислорода. Тяжесть анемии связана с внутриэритроцитарной кинетикой образования полимера (и образованием серповидных Эр) и(или) с повышенной полимеризацией HbS (ригидностью Эр) в условиях с пониженным содержанием кислорода в сосудах различных органов и систем. Анемия связана также с адгезией серповидных Эр к эндотелию сосудов системы микроциркуляции. В плазме крови больных в период кризов увеличено содержание адгезивных молекул ICAM-1 (Intracellular Adhesion Molecule-1), VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), E-селектина [Solovey A. et al., 1997]. Увеличение экспрессии адгезивных молекул на Эр ($\alpha 4\beta 1$, CD36) и на эндотелиальных клетках сосудов (VCAM-1, CD36), P- и E-селективных, прокоагулянтных молекул тканевого фактора, взаимодействие с лейкоцитами — все это способствует тромбо-

зу в местах повреждения эндотелия сосудов. При гистологическом исследовании (селезенка, головной мозг, сетчатка и др.) отмечаются изменения сосудов эндотелия, тромбоз, гиперплазия интимы. Активация эндотелиальных клеток регулируется путем транслокации транскрипционного фактора NF- κ B (Nuclear Factor kappa B) из цитоплазмы в ядро клетки. Эта транслокация происходит под действием адгезивных молекул, тканевого фактора, цитокинов, белков острого воспаления [Collins T. et al., 1995]. По мнению J. Belcher и соавт. (2000), активированные моноциты больных могут усиливать облитерацию сосудов вследствие повышенного образования ими цитокинов (ФНО α и ИЛ-1 β). Все это приводит к облитерации артериол полимерсодержащими серповидными Эр. Полимеризация HbS способствует повышению концентрации Hb в Эр (дегидратация Эр), увеличению времени пребывания Эр в системе микроциркуляции (повышенная экспрессия адгезивных молекул VCAM-1 на эндотелии сосудов и α 4 β 1 на Эр). Гипоксия усиливает адгезию Эр к эндотелиальным клеткам, и это взаимодействие опосредуется адгезивными молекулами VCAM-1 и α 4 β 1. Но это взаимодействие обратимо и зависит от концентрации в плазме азота оксида (NO) [Space S. et al., 1998; Gladwin M. et al., 2000].

В Эр больных с HbSS-анемией наблюдается изменение фосфолипидного состава мембраны. Фосфатидилсерин, находящийся в нормальных Эр на внутренней поверхности мембраны, появляется на наружной поверхности. Это приводит к изменению свойств мембраны Эр, увеличивается адгезия их к эндотелию сосудов, и это еще больше предрасполагает к облитерации сосудов [Mandori A. et al., 1998].

В патогенезе анемии играют также роль неэффективный эритропоэз,

увеличенный апоптоз эритроидных клеток-предшественниц [Schrier S. et al., 1998].

При лабораторном исследовании у больных выявляется постоянная ГА разной выраженности, нормохромного характера (Hb 50—90 г/л), относительно неплохо переносимая больными. В мазках периферической крови — пойкилоцитоз Эр, определяются спонтанно образованные дрепаноциты, в Эр могут наблюдаться тельца Жолли, эритрокарициты, осмотическая резистентность Эр увеличена. Значительно повышено число ретикулоцитов. Наблюдается лейкоцитоз — (15...20) $\times 10^9$ /л — с нейтрофилезом при отсутствии очагов инфекции. Количество тромбоцитов обычно повышено. Тест Emmel (на серповиднообразование) провоцирует образование дрепаноцитов. При определении растворимости Hb (тест Itano) выявляется слабая растворимость HbS в бескислородных условиях. При электрофоретическом исследовании Hb содержание HbS составляет 75—90%, отсутствует HbA, повышено содержание HbA₂ (2—4%) и HbF (2—20%) [Weatherall D. et al., 2000]. В сыворотке крови увеличено содержание билирубина, отмечаются гипергаммаглобулинемия и аномальные тесты, отражающие функциональное состояние печени.

В костномозговом пунктате увеличено содержание клеток эритроидного ряда, эритробластов и базофильных нормобластов; некоторые костномозговые элементы имеют мегалобластные черты (вследствие дефицита фолатов).

Лечение проводится для предупреждения тяжелых осложнений (инфекций, кризов), при их возникновении проводят соответствующие терапевтические мероприятия.

Для профилактики вазоокклюзивных кризов и инфекций больным следует избегать гипоксии, принимать обильное количество жидкости

для предупреждения дегидратации, которые способствуют образованию дрепаноцитов. Поскольку с детского возраста больные склонны к инфекционным осложнениям, вызываемых пневмококком, менингококком, *H. influenzae*, то следует использовать для иммунизации поливалентные вакцины против этих патогенов, а также против гепатита. Для предупреждения кокковой инфекции G.Honig (2000) рекомендует назначать пенициллин per os: детям до 5 лет по 125 мг 2 раза в день, а после 5 лет — по 250 мг 2 раза в сутки. Пенициллинотерапию начинают с 4-месячного возраста. Если к 5-летнему возрасту у ребенка отсутствовала тяжелая пневмококковая инфекция, то пенициллинотерапию отменяют. Если же наблюдалась пневмококковая инфекция или же проводилась спленэктомия, то лечение продолжают. Повышение температуры тела до 38,5°C и выше, наличие инфекционных очагов или же сепсиса являются основанием для срочной госпитализации больного и внутривенного введения антибиотиков. Это относится и к больным, у которых остро развилось увеличение селезенки с нарастающим падением содержания гемоглобина.

Возникновение болезненных кризов является основанием для госпитализации. Назначают анальгетики в сочетании с противовоспалительными препаратами (парацетамол с кодеином, парентеральное введение наркотических препаратов, кеторолак). Следует проводить гидратацию с использованием изотонических растворов, профилактику ацидоза и при его возникновении быстро корректировать внутривенными инфузиями, оксигенотерапию [Hillery C., 1998].

Гемотрансфузионную терапию используют для коррекции анемии при гемолитических или апластических кризах, острой секвестрации Эр в селезенке. Если эпизоды секвестра-

ции Эр в селезенке рецидивируют, то показана спленэктомия. У больных с хроническими ишемическими поражениями органов, при острых кризах, при подготовке к оперативным вмешательствам проводят трансфузии эритроцитарной массы, содержащей нормальный гемоглобин, которые способствуют устранению симптомов ишемии и предупреждают их возникновение. Рецидивирующие приступы ишемии, кардиомиопатия и другие тяжелые осложнения заболелания являются основанием для длительной гемотрансфузионной терапии. Но следует помнить о том, что гемотрансфузии способствуют накоплению железа в организме, возникновению гемосидероза и гемохроматоза; поэтому необходимо проводить хелатотерапию. Если у больных женщин в прошлом отмечалась гибель плода, то показаны регулярные трансфузии эритроцитарной массы, чтобы увеличить объем Эр, содержащих нормальный гемоглобин. Тяжелые вазоокклюзивные состояния, например ACS, могут быть основанием для проведения обменных гемотрансфузий или эритроцитафереза; в этих случаях путем замещения стремятся снизить количество HbS до 30—40%. В острых случаях при возникновении тяжелых кризов очень эффективен эритроцитаферез — удаляют только патологические Эр, замещая их донорскими (в среднем 45 мл/кг). Уже в течение нескольких часов после начала эритроцитафереза резко улучшается состояние больного, содержание HbS снижается в среднем до 26,6% [Bodo I. et al., 1997].

Из медикаментозных средств используют гидроксимочевину, нитрозометилмочевину. Принцип действия этих препаратов основан на том, что под влиянием гидроксимочевины у больных увеличивается содержание HbF в Эр, который является ингибитором полимеризации HbS. Высокая концентрация HbF дает терапевтиче-

ский эффект при серповидно-клеточной анемии — уменьшается количество кризов, эпизодов асептического некроза, поражений легких и других органов [Charache S. et al., 1995; Steinberg M., 2001]. Кроме того, гидроксимочевина способствует снижению спонтанного образования БОЕ-Э до нормального уровня [Vincocletto C. et al., 2001]. Назначение препарата показано при рецидивирующих кризах, для профилактики нарушений мозгового кровообращения у больных. Ингаляции азота оксида, прием нитрозомочевины, при использовании которой в организме образуются метаболиты азота оксида, способствуют снижению экспрессии VCAM-1 на эндотелиальных клетках, вследствие чего уменьшается адгезия Эр к эндотелиальным клеткам [Olivieri N. et al., 1998; Gladwin M. et al., 1999; Saleh A. et al., 1999].

C.Politis и соавт. (1997) рекомендуют назначать взрослым больным с серповидно-клеточной анемией следующую схему лечения: в течение 3 мес внутривенно вводить рекомбинантный человеческий Эпо (гHuEPO) по 2000 МЕ/(кг·нед), а в последующие 9 мес гHuEPO по 500 МЕ/кг 2 раза в неделю; гидроксимочевину назначают по 200 мг 5 раз в неделю. На весь период лечения больным назначают железа сульфат по 150 мг 2 раза в день и фолиевую кислоту по 5 мг/сут. Такая тактика снизила число кризов у больных в 5,5 раз, не требовалась гемотрансфузионная поддержка.

При лечении 5-аза-2'-дезоксидитидином (5-aza-CDR, Decitabine) по 0,15 мг/(кг·сут), внутривенно, 5 раз в неделю в течение 2 нед у больных увеличивается содержание HbF в 4 раза по сравнению с исходным, тогда как при назначении гидроксимочевины — только в 1,2 раза. Препарат рекомендуется назначать и тем больным, у которых нет эффекта от применения гидроксимочевины [Koshy M. et al., 2000].

Установлено, что короткоцепочечные жирные кислоты, в частности бутиратные соединения, увеличивают синтез HbF. In vitro в присутствии бутирата в 3 раза уменьшается образование БОЕ-Э при одновременном увеличении содержания HbF в 6,5 раз, при этом у 50% больных в эритроидных клетках-предшественниках увеличивалось содержание мРНК γ -глобина. Действие бутирата, по-видимому, происходит на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях, активируется экспрессия генов $\Lambda\gamma$ - и $\text{G}\gamma$ [Baliga B. et al., 1997; Smith R. et al., 1998]. Для увеличения синтеза HbF больным назначают per os изобутирамид в дозе 350 мг/кг [Reich S. et al., 2000].

Радикальным методом излечения болезни является ТКМ, инфузия гемопоэтических стволовых клеток. Установлено, что положительные результаты получены у больных, у которых не было хронического поражения органов. Положительные результаты также получены у больных с тяжелыми осложнениями (рецидивы ACS, вазоокклюзивные кризы, приапизм и др.) [Abboud M. et al., 1997; Gore L. et al., 1997; Adamkiewicz T. et al., 1998; Honig G., 2000]. В последние годы ведутся разработки в отношении возможности использования генной терапии, но пока что этот метод в клиническую практику не внедрен.

Прогноз заболевания тяжелый, длительность жизни составляет 25—30 лет [Koshy M. et al., 2000]. Возможна антенатальная диагностика заболевания с 8—12 нед гестации (исследование ДНК ворсинок хориона, амниоцитов) или же крови плода с 18 нед сроков гестации [Sbahoun G., 1998].

Серповидно-клеточные синдромы. Серповидноклеточные изменения Эр разной выраженности клинических проявлений болезни являются следствием наличия HbS в

комбинации с другими аномальными гемоглобинами или с талассемиями. К этому синдрому относятся HbS- β^0 -талассемия, HbS- β^+ -талассемия, HbSC, HbAS, HbSO Arab, HbSD Los Angelos и др. [Préhu C. et al., 2002]. Некоторые из этих синдромов (HbSD Los Angelos, HbSO Arab, HbS- β^0 -талассемия и др.) по клинико-гематологической симптоматике практически не отличаются от серповидноклеточной анемии, но у большинства больных течение менее тяжелое.

Болезнь HbSC является следствием конкуренции генов HbS и HbC. Клинически синдром напоминает болезнь HbSS, но болевые эпизоды и вазоокклюзивные проявления возникают реже и протекают менее тяжело. Иногда у больных наблюдается эмболия легких, чаще у женщин во время беременности и вскоре после родов. В этих случаях требуется проведение обменных гемотрансфузий или эритроцитафереза. У большинства больных персистирует увеличенная селезенка, чаще возникают инфаркты костей, чем при болезни HbSS. Иногда у больных может наблюдаться септицемия. Изменения сосудов сетчатки, кровоизлияния в сетчатку, приводящие к слепоте, наблюдаются преимущественно в юношеском и взрослом возрасте. В периферической крови содержание Hb снижено умеренно (90—100 г/л), наблюдаются Эр-мишени. При синдроме HbSC отмечается ГА, признаки неэффективного эритропоэза, увеличен апоптоз клеток-предшественниц эритропоэза [Rootrakul P. et al., 2000]. При исследовании Hb методом электрофореза содержание HbS и HbC приблизительно одинаково, а HbF составляет 2—6% [Weatherall D. et al., 2000; Lawrence C. et al., 2001].

У гетерозиготов HbS (HbAS) экспрессия гена HbS обычно сопровождается доброкачественным клиническим течением, показатели периферической крови — в пределах нормы.

Болезнь выявляется с помощью исследования Hb методом электрофореза (HbA — 55—60%, HbS — 40—45%, HbA₂ — 2—3%) и теста на серповидность (тест Emmel). По данным G.Honig (2000), у 80% американцев африканского происхождения в периферической крови определяются Эр серповидной формы, а у 35—45% определяется HbS. У последних клинически могут наблюдаться признаки серповидно-клеточной анемии (вазоокклюзивные кризы, инфаркты различных органов и другие ишемические проявления), но только в условиях тяжелой гипоксии. Гетерозиготы HbAS должны знать о своем состоянии, их следует предупредить, что их потомки могут быть гомозиготами.

Гетерозиготы HbS- β -талассемии. Клинические проявления у больных variabelны, у детей отмечается задержка физического развития, полового созревания. Наблюдается увеличение селезенки, часто возникают острые болезненные кризы, связанные с секвестрацией Эр. В крови определяется умеренная анемия, среди Эр преобладают микроформы, гипохромные. Нередко наблюдается цитопения, связанная с гиперспленизмом. Симптоматика у лиц белой расы (Греция, Италия) более мягкая, чем у лиц черной расы. При электрофоретическом исследовании Hb выявляется повышенное содержание HbS; HbA может отсутствовать либо его содержание значительно снижено (10—30%), определяются признаки талассемии типа β^0 или β^+ . Повышено содержание HbF (5—15%) и HbA₂ (4—6%) [Kerhoffs J. et al., 2000; Weatherall D. et al., 2000].

Гемоглобиноз С. Гемоглобиноз С ($\alpha_2 \beta_2^6$ лизин) отмечается приблизительно у 2% американцев африканского происхождения. Его распространение географически ограничено практически только Африкой. При гемоглобинозе С-молекула глутами-

новой кислоты заменена лизином в 6-й позиции β -глобиновой цепочки. У гомозиготов (HbCC) заболевание протекает в виде умеренной ГА (Hb 80—110 г/л, ретикулоциты — 5—10%) с незначительным увеличением селезенки. В мазках крови отмечается большое количество клеток-мишеней, иногда встречаются сфероциты. При электрофорезе Hb преобладает HbC, отсутствует HbA.

Прогноз у гомозиготов HbCC относительно хороший, у гетерозиготов носительство HbC протекает асимптомно.

Гемоглобиноз E. При HbE ($\alpha_2\beta_2^{26}$ лизин) в 26-й позиции β -глобиновой цепочки глутаминовая кислота замещена лизином. Гемоглобиноз E впервые описан у ребенка с «атипичной» анемией в 1954 г. H. Itano и соавт. Независимо от этих авторов ее одновременно описали и другие [Chernoff A. et al., 1954; Surgeon P. et al., 1955], которые назвали это состояние как «атипичная анемия Кули». По мнению G. Flatz (1967), гемоглобиноз E является наиболее распространенным среди гемоглобинопатий, охватывая 20 млн индивидуумов в мире. Частота гетерозиготов носителей HbE у этнических турок составляет 0,46% [Birben E et al., 2001]. Гемоглобинопатия E наиболее распространена в странах Юго-Восточной Азии в эндемических очагах малярии (Таиланде, Лаосе, Камбодже, Бирме и др.), несколько реже в Индонезии, Вьетнаме, в Индии; редко встречается в странах Средней Азии.

HbE является продуктом замещения в 26-й позиции β -глобиновой цепочки лизина на глутаминовую кислоту. Это связано с мутацией гена, заменой аденина на гуанин в кодоне гена 26 β -глобина. HbE *in vitro* нестабилен к окислению.

У гетерозиготов гемоглобиноз E протекает доброкачественно, без клинических проявлений, селезенка не

увеличена. Однако носителям гена HbE следует с осторожностью принимать оксидантные препараты, так как описаны больные, у которых после их приема развивался гемолитический криз с появлением телец Heinz в Эр. Гематологически у больных показатели красной крови нормальные, но имеется микроцитоз Эр, содержание Эр-мишеней менее 2%. Средняя концентрация Hb в Эр нормальная, осмотическая резистентность Эр нормальная или сниженная. При электрофорезе Hb преобладает HbA. Показатели миелограммы нормальные.

У гомозиготов (HbEE) заболевание также протекает доброкачественно. Однако им также следует с большой осторожностью принимать оксидантные препараты во избежание развития гемолитического криза с тельцами Heinz в Эр. У некоторых больных HbEE ГА может возникнуть после инфекции. При исследовании периферической крови показатели Hb нормальные или незначительно снижены, наблюдаются микроцитоз и гипохромия Эр. Повышено содержание мишеневидных Эр — до 75% и более. Осмотическая резистентность Эр снижена. При электрофорезе Hb обнаруживаются только HbE и небольшое количество HbF. В костном мозге может быть незначительное увеличение содержания клеток эритроидного ростка. Явных клинико-гематологических признаков хронического гемолиза нет, поскольку длительность жизни Эр по ^{51}Cr нормальная [Lachant N., 1987].

При HbES (двойные гетерозиготы по HbS и HbE) отмечается хроническая ГА. Клинических признаков проявлений серповидно-клеточной анемии не наблюдается, что, по-видимому, связано с тем, что HbE не взаимодействует с HbS. Ретикулоцитоз обычно в пределах 2—4%. При электрофорезе Hb определяется HbE и HbS, с преобладанием первого.

HbE-β-талассемия наблюдается у лиц — выходцев из Азии, является наиболее тяжелой из синдромов HbE. Клинические проявления у этих больных неотличимы от таковых у больных с β-талассемией majot или intermedia. У больных отмечается анемия, связанная с неэффективным эритропоэзом, с повышенным апоптозом клеток-предшественниц эритропоэза [Rootrakul P. et al., 2000]. При HbE-β⁰-талассемии при электрофорезе Hb преобладает HbE/A₂ с различным содержанием HbA, всегда увеличено содержание HbF. При HbE-β⁰-талассемии соотношение HbE/A₂ : HbF составляет (2...4) : 1 при отсутствии HbA. Лечение этой формы гемоглобиноза проводится так же, как и талассемии. У больных этой группы в постспленэктомическом периоде очень часто наблюдаются тромбэмболические осложнения, связанные с гиперактивацией тромбоцитов [Girot R. et al., 1995; Angchaisuksiri P. et al., 1998].

Нестабильные гемоглобины. При наличии у больных нестабильных гемоглобинов заболевание протекает в виде ГА с тельцами Heinz в Эр. Большая часть этих анемий у больных являются наследственными, передаются аутосомно-доминантно, но многие тяжелые формы ГА являются следствием возникшей новой мутации в генах глобина. Появление нестабильных гемоглобинов связано с мутациями в генах β- или α-глобинов, реже δ- и γ-глобинов. Чаше всего возникновение нестабильных гемоглобинов связано с точечными мутациями; относительно редко отмечаются делеции, изменения длины цепей глобина, сочетанные мутации. Различные варианты нестабильных гемоглобинов описаны во всех регионах земного шара, этнических группах, включая Россию [Токарев Ю.Н. и соавт., 1983; Сметанина Н.С. и соавт., 1994; Chang J.-G. et al., 2002].

ГА, вызванная наличием нестабильных гемоглобинов, — это большая группа заболеваний, в которую включены больные, носители многих аномальных гемоглобинов; большинство из этих гемоглобинов крайне редки (Hb Можайск, Hb Москва, Hb Brockton, Hb Youngstown, Hb Sitia, Hb Mont Saint Agnan и др.) [Saleh A. et al., 1998; Tsuruta T. et al., 1998; Papassotiriou I. et al., 2001; Wajzman H. et al., 2001]. Характерной особенностью этих гемоглобинов является молекулярная нестабильность, вследствие чего происходят денатурация и преципитация Hb в Эр. Аморфные массы денатурированного гемоглобина, называемые тельцами Heinz, соприкасаются с внутренним слоем мембраны Эр, повреждают ее, тем самым укорачивая длительность жизни Эр.

При аномальных нестабильных гемоглобинах в большинстве случаев в патологический процесс вовлечены β-глобиновые цепочки, и поэтому клинко-гематологические проявления ГА возникают в возрасте 3—6 мес, т. е. в период переключения синтеза HbF на HbA. Эта ГА протекает в виде хронической формы со всеми классическими признаками, присущими этому состоянию (желтуха, увеличенная селезенка, анемия, ретикулоцитоз, билирубинемия, гипогаттоглобинемия и др.) [Kim J. et al., 2000]. ГА усиливается на фоне инфекции, после приема оксидантных медикаментов, воздействия химических продуктов. При наличии нестабильных гемоглобинов, при которых аномальность связана с β-цепочкой глобина, в моче определяется темно-окрашенный пигмент, связанный с наличием дипирроловых веществ.

При некоторых менее тяжелых аномальностях Hb (Hb Zurich, Hb Hasharon и др.) анемия может отсутствовать или же выражена незначительно. Но при присоединении ин-

фекции, повышении температуры тела, приеме оксидантов у аффертных лиц может возникнуть клиничко-гематологическая картина ГА в виде острого криза, сходная с таковой при дефиците Г-6-ФД в Эр. Некоторые нестабильные Нб (Нб Alberta, Нб British Colombia, Нб Potomac и др.) могут вызывать у больных эритроцитоз.

Диагноз ГА, обусловленной наличием нестабильных гемоглобинов, иногда может быть обоснован при электрофоретическом исследовании Нб. Однако многие из аномальных нестабильных гемоглобинов имеют ту же электрофоретическую подвижность, что и НбА, поэтому для скрининга с целью определения наличия аномальных гемоглобинов используют метод нагревания Нб (при 50°C) или же обрабатывают гемолизат 17% буферным раствором изопропанола — происходит преципитация нестабильного гемоглобина. Это явление наблюдается при наличии Нб Köln, Нб Hammersmith, Нб Abgaham Lincoln и др.

Лечение больных с этой формой ГА такое же, как и при лечении НС. Под влиянием спленэктомии признаки ГА исчезают, и особенно это показательно у больных с увеличенной селезенкой.

НАСЛЕДСТВЕННОЕ ПЕРСИСТИРОВАНИЕ НbF

Наследственное персистирование НbF (НРФН) представляет собой группу доброкачественных синдромов, при которых у аффертных лиц повышено образование НbF в постнатальном периоде. Содержание НbF колеблется в пределах 15—30% [Qu G. et al., 2001]. Известны более 20 форм НРФН, поражающих различные этнические группы людей, и в основе этих форм заболевания лежат различные молекулярные аномалии.

Биологически НРФН относятся к β -талассемии [Sébahoun G., 1998].

Наследственное персистирование фетального гемоглобина связано с различными мутациями в гене глобина. При НРФН могут наблюдаться точечные мутации в промоторах $\Lambda\gamma$ - и $\text{G}\gamma$ -глобинов. Это приводит к увеличению экспрессии γ -глобина у взрослых людей и к четырехкратному повышению активности промотора [Walter M. et al., 1997]. При НРФН могут отмечаться изменения в гене γ -глобина в виде делеций и не делеционных характера [Pissard S. et al., 1997]. При не делеционном НРФН изменения чаще всего обнаруживаются в участке 5' гена γ -глобина. Эти мутации могут изменять промоторную последовательность или участки для связи с транскриптивными факторами. Делеционные НРФН характеризуются утратой большого участка кластера гена β -глобина; при этом происходит потеря генов глобина для взрослого Нб (δ и β), и следствием этого является увеличение экспрессии и $\Lambda\gamma$ - и $\text{G}\gamma$ -глобинов [Stalle C. et al., 1990; McArthur M. et al., 1998].

При «Африканском типе» носительства НРФН наблюдается делеция ДНК, вследствие чего нарушается целостность гена β -глобина; у аффертных лиц не происходит переключения синтеза γ -глобина на синтез цепочки β -глобина. У гетерозиготов «Африканского типа» НРФН содержание НbF составляет 15—30%, при этом НbF распределен равномерно во всех Эр. Этот тип еще называют также панклеточным НРФН, и при нем содержание НbA₂ снижено. У аффертных лиц число Эр нормальное, отсутствуют гипохромия и микроцитоз Эр. В отличие от этого типа НРФН существует так называемый гетероцеллюлярный тип НРФН, при котором НbF распределен среди Эр неравномерно. Очень редко, когда гомозиготы с африканской делецией ДНК в гене β -глобина содержат в Эр

100% HbF. У этой группы больных наблюдается незначительный микроцитоз Эр при нормальных гематологических показателях [Honig G., 2000].

Встречаются индивидуумы, у которых наблюдаются изменения генов HbS и «Африканского типа» HPFH. У этих лиц содержание HbS в Эр такое же, как и у больных с серповидноклеточной анемией. Однако комбинация различных типов гемоглобина (HbS и HbF) существенно не влияет на клинико-гематологические показатели, поскольку HbF ингибирует процесс образования серповидных Эр [Koshy M. et al., 2000].

СИНДРОМЫ ТАЛАССЕМИИ

У здорового человека определяют три типа гемоглобинов: HbA, HbA₂ и HbF. Структурно HbA состоит из двух глобиновых α-цепочек, т. е. HbA = α₂β₂, HbA₂ = α₂δ₂ и HbF = α₂γ₂. Ген α-глобиновой цепочки располагается на хромосомах 16-й пары, и состоит из 4 генов, каждый из которых контролирует образование 25% α-цепочек глобина. На хромосомах 11-й пары (11p15.5) располагаются две пары генов, контролирующих синтез β-цепочек глобина (каждый ген контролирует образование 50% β-глобина). На 11-й паре хромосом расположены гены δ-цепочек и γ-цепочек глобинов [Новиков П.В. и др., 1999].

Талассемии — это гетерогенная группа наследственных гипохромных ГА различной тяжести. Они наследуются аутосомно-рецессивно. В основе талассемий лежат генетические нарушения синтеза α- или β-глобиновых цепочек гемоглобина. Эти нарушения могут быть связаны с полной или частичной утратой генов глобиновых цепочек, нуклеотидными замещениями, делециями и др. Это приводит к тому, что снижается или полностью

отсутствует мРНК для одной или нескольких глобиновых цепочек, или же образуются функционально дефектные мРНК. Итогом этого является то, что происходит полное или частичное угнетение синтеза полипептидных цепочек Hb.

В настоящее время известны более 200 различных мутаций в генах глобиновых цепочек, которые определяют различные фенотипы талассемий, и многие из этих мутаций свойственны определенным географическим регионам [Nadkarni A. et al., 2002]. Как правило, глобиновые цепочки в гемоглобине Эр нормальные. Так, например при тяжелых формах α-талассемии образуются аномальные гомотетрамерные Hb (β₄ или γ₄), но полипептидные компоненты этих глобиновых цепочек имеют нормальную структуру. С другой стороны, при ряде структурно аномальных Hb наблюдаются талассемически-подобные гематологические изменения.

Исходя из структуры гемоглобина с учетом молекулярных аномалий, вызывающих нарушение синтеза цепочек глобина, все талассемии разделяют на две большие группы: α- и β-талассемии.

При α-талассемии наследование более сложное, так как у человека на каждой хромосоме имеются 2 гена α-глобиновых цепочек. При делеции одного гена образуется меньше α-цепочек глобина — это α⁺-гетерозиготы. При делеции двух генов — это α⁰-талассемия (α⁰-гетерозиготы или α⁺-гомозиготы). Если у больного обнаруживается утрата трех генов, то это гемоглобиноз H (HbH), а если наблюдается делеция всех 4 генов, то отмечается водянка плода (Hb Bart's Hydrops). Снижение синтеза α-глобиновых цепочек приводит к избытку синтеза β- и γ-глобиновых цепочек в Hb, вследствие чего образуются нестабильные, физиологически аномальные тетрамеры (HbH-β₄,

Hb Barth- γ_4). Гомозиготное состояние α^0 -талассемии приводит к синдрому Hb Bart's hydrops, а наследование α^0 -талассемии и α^+ -талассемии — к болезни НБН.

В зависимости от наличия изменений в одном или двух генах β -глобиновых цепочек выделяют 2 генетические формы β -талассемии: гетерозиготную β -талассемию (при изменении в одном гене) и гомозиготную β -талассемию (при наличии изменений в обоих генах). В свою очередь, при гомозиготной форме выделяют два фенотипа: при полном отсутствии синтеза β -глобиновой цепочки — β^0 -талассемию и при снижении его синтеза — β^+ -талассемию. В большинстве случаев β -талассемий в основе молекулярной аномалии генома лежат не делеции, а мутации в генах.

Кроме того, существуют другие генетические формы талассемий. К ним относятся δ - β -талассемия, связанная с аномалией в геноме β - и δ -генов на хромосомах 11-й пары, ϵ - β -талассемия, которая относится к смешанным гетерозиготам или двойным гетерозиготам.

Исходя из сказанного, при синдроме талассемий можно выделить следующие формы заболевания.

I. α -талассемии:

- 1) α^+ -талассемия гетерозиготная;
- 2) α^0 -талассемия гетерозиготная, или α^+ -талассемия гомозиготная;
- 3) гемоглобиноз H;
- 4) синдром Hb Bart.

II. β -талассемии:

- 1) β^0 -талассемия гомозиготная (болезнь Кули, thalassemia major);
- 2) β -талассемия гетерозиготная;
- 3) β -талассемия промежуточная;
- 4) δ - β -талассемия;
- 5) ϵ - β -талассемия.

α -Талассемии. Заболевания наследуются аутомно-рецессивно. В большинстве случаев α -талассемии связаны с делецией одного или нескольких генов α -глобина. Тяжесть болезни коррелирует с числом аффектных генов [Bowie L. et al., 1997].

Выделяют α^0 - и α^+ -талассемии в зависимости от наличия активности одного или двух генов α -глобина на одной хромосоме. Делеция одного гена приводит к гетерозиготной α^+ -талассемии ($-\alpha/\alpha$). Делеция двух генов приводит к гетерозиготной α^0 -талассемии, если два гена утрачены в cis-участке ($-\alpha/\alpha$), или же к гомозиготной α^+ -талассемии при утрате двух генов в участке trans ($-\alpha/-\alpha$). Утрата трех генов приводит к образованию НБН (тетрамер β_4), к гемоглобинозу H. Если у больного отмечается делеция всех четырех генов α -глобина, то образуется Hb Barth (тетрамер β_4).

Делеции двух генов α -глобина наиболее часто встречаются при Юго-Восточном азиатском ($-\alpha^{SEA}$) и Средиземноморском ($-\alpha^{MED}$) типах α -талассемии. При α -талассемии чаще наблюдаются мутации гена, связанные с делецией, но описано около 30 мутаций не делеционного характера [Mc Bridge K. et al., 2001; Waye J. et al., 2001].

У некоторых больных α -талассемия может быть следствием точечной мутации в гене α -глобина (α^T), которые приводят к микроделециям, изменяя различные этапы экспрессии генов. Эти мутации одного из двух генов α -глобина приводят к возникновению α^+ -талассемии. Возникновение α^0 -талассемии может быть обусловлено не делецией α -глобиновых генов, а нарушением LCR (Locus Control Region) [Romao L. et al., 1991; Girodon E. et al., 1995].

α -Талассемия наиболее часто встречается у жителей стран Юго-Восточной Азии и «черной» Африки, реже в странах Средиземноморского бассейна и Ближнего Востока, в районах, где распространена *Pl. falciparum*. Спорадические случаи наблюдаются во всех расовых группах. α -Талассемия также встречается в популяции нетропических стран в сочетании с умственной отсталостью и гипогонадизмом, микроцефалией

(ATR). Существуют две формы ATR: ATR-16 с делецией окончания хромосомы 16-й пары и ARX, при которой наблюдается мутация гена XH2 на длинном плече хромосомы X, который вовлечен в регуляцию многих генов, включая и гены α -глобина [Rund D. et al., 1998; Honig G., 2000; Weatherall D. et al., 2000].

α^+ -Талассемия (гетерозиготная), или тип 2. При ней наблюдается делеция одного гена α -глобина. Клинически заболевание протекает бессимптомно. Гематологические показатели нормальные за исключением незначительного микроцитоза Эр. Диагноз устанавливается либо методами молекулярной биологии с определением количества афферктных генов, либо путем измерения биосинтеза α -глобина *in vitro*. Необходимо помнить о том, что у здоровых новорожденных детей содержание Hb Barth (γ_4) может составлять 1—2%. Лечение этой формы талассемии не требуется [McBride K. et al., 2001].

α^0 -Талассемия гетерозиготная и α^+ -талассемия гомозиготная. Они относятся к малой α -талассемии, или типу 1. При них наблюдается делеция двух генов ($-/\alpha\alpha$ или $-\alpha/-\alpha$ соответственно). У афферктных лиц клинических симптомов нет, анемия отсутствует или же незначительно выражена, но отмечаются микроцитоз и гипохромия Эр, как при гетерозиготной β -талассемии. При электрофоретическом исследовании Hb аномальных признаков не выявляется. У некоторых лиц может быть снижение содержания HbA₂ (меньше 2%); У новорожденных детей содержание Hb Barth в пределах 5%. При суправитальной окраске мазков периферической крови в Эр может отмечаться преципитированный Hb. Диагностика возможна как и при предыдущей форме болезни. Лечение не требуется.

Гемоглобиноз H. Он является следствием делеции трех генов α -глобина,

часто встречается на Таиланде. HbH (β_4) очень нестабилен, обнаруживается при исследовании Hb методом электрофореза (HbA — 70%, HbH — 10—30%, Hb Barth — следы).

Клинические проявления при гемоглобинозе H напоминают симптомы ГА при β -талассемии промежуточной (intermedia), но болезнь имеет более мягкое течение. Иногда у больных лицо — с чертами азиатского типа, отмечаются увеличение селезенки с признаками гиперспленизма, задержка роста и увеличение массы тела у детей в период новорожденности. Анемия выражена умеренно (Hb 90—110 г/л), микроцитарная, гипохромная с ретикулоцитозом. При суправитальной окраске периферической крови обнаруживаются Эр с тельцами Heinz (преципитированный HbH) [Ballas S. et al., 1997; Laosombat V. et al., 2001]. Анемия при гемоглобинозе H связана с недостаточностью адекватного эритропоэза, неэффективным эритропоэзом, увеличенным апоптозом эритроидных клеток-предшественниц [Rootakul P. et al., 2000].

Лечение гемоглобиноза H симптоматическое. При наличии анемии следует исключить другие причины (дефицит железа, фолатов, кровотечения и др.). Изредка требуются гемотрансфузии. При наличии признаков гиперспленизма показана спленэктомия [Weatherall D. et al., 2000; Cúruik A. et al., 2001].

Синдром Hb Barth. Это наиболее тяжелая форма α -талассемии, поскольку при ней наблюдается делеция всех 4 генов α -глобина, т. е. полностью отсутствует синтез α -цепочек глобина. Так как HbA, HbF и HbA₂ содержат α -глобиновые цепочки, то у афферктных лиц полностью отсутствуют эти типы Hb. У больных Эр содержит Hb Barth (γ_4), который обладает высокой аффинностью к кислороду, и последний не транспортируется в ткани. У детей отмечаются

тяжелые клинические проявления гипоксии. Эр новорожденных детей содержат небольшое количество Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$), функция которого — эффективно транспортировать кислород. Заболевание связано с тем, что у каждого из родителей имеется α -талассемия с вовлечением не менее двух генов α -глобина.

Дети с Hb Varth либо умирают *in utero*, так как у них во второй половине внутриутробного развития развивается анасарка, либо рождаются преждевременно и погибают в течение первых часов жизни. У таких детей резко выражены признаки анасарки, тяжелой макроцитарной анемии (содержание Hb 20—60 г/л). Единственным радикальным методом спасения такого ребенка является пересадка костного мозга [Chi K. et al., 1998; Kyriacou K. et al., 2000]. Те дети, которые выживают после агрессивной терапии в неонатальном периоде (без ТКМ), остаются трансфузионно-зависимыми, прогноз у них плохой [Honig G., 2000; McBride K. et al., 2001].

Диагноз устанавливается на основании исследования Hb методом электрофореза — отсутствуют HbA и HbF, Hb Varth составляет до 80%, HbH — 10%, Hb Portland — 10%. Возможна антенатальная диагностика [Weatherall D. et al., 2000].

β -Талассемии. Это неоднородная группа заболеваний, различающихся как по генетической основе нарушений синтеза β -глобина, так и по клиническим и гематологическим проявлениям, лечению и прогнозу. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно.

В основе заболевания лежит мутация гена глобина. Описаны свыше 200 мутаций. В зависимости от типа мутаций выделяют фенотипы β^0 - и β^+ -талассемии. Мутации генов β -глобиновых цепочек имеют более важное значение в возникновении фенотипов β -талассемии, чем мутации

генов α -глобиновых цепочек, так как на каждой хромосоме существует только один ген β -глобиновой цепочки, и образование β -глобиновой цепочки не может компенсироваться δ -глобиновой цепочкой [Powar A. et al., 1997; Abd-Latif M. et al., 2002].

В этой группе болезни с наибольшей частотой встречаются заболевания, имеющие важное практическое значение — β^0 -талассемия гомозиготная, β -талассемия гетерозиготная, талассемия промежуточная, $\epsilon\beta$ -талассемия и $\delta\beta$ -талассемия. Клиническая картина болезни прямо пропорциональна степени дисбаланса синтеза глобиновых цепей и зависит в основном от уровня образования β -глобиновых цепей [Сметанина Н.С. и др., 2001].

β^0 -Талассемия гомозиготная. Ее еще называют болезнью Кули, *thalassemia major*. В основе заболевания лежит мутация или же делеция в обоих генах β -глобиновых цепочек. Мутации генов могут происходить на разных уровнях — промотера, транскрипции, механизмов связывания и др., вследствие чего нарушается синтез цепочек β -глобина гемоглобина, нарушается синтез Hb. При болезни Кули чаще отмечается точечная мутация, чем делеция гена [Villegas A. et al., 2001].

Клинические и гематологические проявления заболевания различаются в разных возрастных группах. У новорожденного ребенка признаков анемии нет. Это связано с тем, что в этот возрастной период преобладающим гемоглобином является фетальный. Однако в течение первых месяцев жизни у ребенка происходит смена типа Hb. Вследствие дефицита синтеза β -цепочек глобина происходит относительное увеличение α -цепочек в эритроблестах. Избыток α -цепочек глобина приводит к их преципитации, и это выявляется в виде включений в цитоплазме эритроидных клеток (тельца Fessas). Эти

преципитированные образования токсичны для мембраны ядра и эритроидных клеток, приводят к гибели последних внутри костного мозга (неэффективный эритропоэз). Для клеток эритроидного ростка характерны признаки дизэритропоэза; особенно наглядно это выражено в полихроматофильных и оксифильных нормоцитах. Некоторые эритробласты, в которых происходит синтез HbF, являются источником образования ретикулоцитов и Эр, которые попадают в периферическую кровь. Поскольку Эр содержат сниженное количество Hb, то они гипохромны, деформированы (пойкилоцитоз), обладают укороченной длительностью жизни. Апоптоз эритроидных клеток-предшественниц увеличен в 15 раз по сравнению с нормой [Centis F. et al., 2000].

Таким образом, основным механизмом, приводящим к гипорегенераторной анемии при гомозиготной форме β -талассемии, является неэффективный эритропоэз, резко повышенный апоптоз эритроидных клеток-предшественниц и гипергемолиз, но дизэритропоэз является ведущим звеном в патогенезе анемии. Повышенный гемолиз может приводить к появлению у больных желчнокаменной болезнью, а увеличение катаболизма ядер и ДНК при неэффективном эритропоэзе объясняет причину появления гиперурикемии у больных.

Вследствие развития тяжелой анемии с явлениями гипоксии происходит повышенная выработка Эпо для увеличения пролиферации и дифференциации клеток-предшественниц эритропоэза. Это приводит к тому, что 50% костномозговых элементов и более представлены клетками эритроидного ростка. У детей плацдарм костномозговых полостей с активным гемопоэзом относительно велик по сравнению со взрослыми, поэтому вследствие усиления эритропоэза происходят расширение дипло-

этического вещества с деформацией костей свода черепа, ребер, скуловых костей, челюстей и др., аномальный рост зубов. Лицо приобретает монголоидные черты, череп становится «башенным» и др. Расширение плацдарма гемопоэза хорошо выявляется на рентгенограммах костей: остеопороз, истончение коркового слоя, истерченность, патологические переломы и др. У больных может отмечаться как остеопороз, так и остеопения [Ferrara M. et al., 1997]. В периферической крови, наряду с признаками анемии, появляются эритробласты, число которых может достигать $(50...100) \times 10^9/\text{л}$.

Недостаточность костномозгового эритропоэза приводит к появлению у детей экстремедуллярных очагов кроветворения (компенсаторная реакция организма) — в селезенке, печени с увеличением этих органов и нарушением их функций.

Гепато- и спленомегалия выявляется у детей уже в первые месяцы жизни, она тем значительнее, чем выраженнее анемический синдром. Типичным для больных с гомозиготной формой β -талассемии является «большой живот»; печень и селезенка своими нижними полюсами могут достигать уровня малого таза и опускаться ниже. Механизм спленомегалии комплексный и во многом определяется возрастом больного. У детей младшего возраста спленомегалия обусловлена в основном гиперплазией клеток СМФ, гипергемолизом, эктопическим эритропоэзом и циркуляцией аномальных эритроидных клеток. У больных более старшего возраста причинами спленомегалии могут быть портальная гипертензия вследствие цирроза печени (гемосидероза, гемохроматоза), явления гиперспленизма.

Гиперспленизм — это гематологическое понятие, характеризующееся увеличением селезенки и сопровождающееся анемией и(или) тромбо-

цитопенией, и(или) лейкопенией. Признаки цитопении исчезают после спленэктомии. Если больным адекватно проводят трансфузии эритроцитной массы, то появление тяжелого гиперспленизма обычно не наблюдается, отсутствуют лейко- и тромбоцитопения. Увеличенная потребность в гемотрансфузиях, измеряемая в год из расчета мл на 1 кг массы тела, может свидетельствовать о наличии гиперспленизма, если годовая потребность в гемотрансфузиях превышает 200 мл/кг.

Однако корригируемая гемотрансфузиями анемия приводит к развитию гемосидероза (гемохроматоза). В основе последних лежат два механизма:

1) у больных с гомозиготной β -талассемией увеличена абсорбция пищевого железа в кишечнике; это наглядно подтверждается у больных с промежуточной формой β -талассемии, которым трансфузии крови не проводились и в то же время содержание ферритина у них резко увеличено — до 1000—1500 нг/мл;

2) трансфузии крови, которые являются основой лечения большой талассемии; при трансфузии 1 л эритроцитной массы больной получает в среднем 750 мг железа; железо откладывается в различных органах и системах, нарушая их функции; отложение железа в миокарде приводит к сердечной недостаточности; аккумуляция железа в клетках печени, вирусные инфекции являются основными причинами активного гепатита, могут привести к циррозу печени, часто осложняющего болезнь Кули; мишенями для отложения железа могут быть эндокринные железы (щитовидная и парашитовидные железы, β -клетки панкреатических островков, клетки половых желез, гипофиза, гипоталамуса и др.) и это приводит соответственно к гипотиреозидизму, гипонаратиреозидизму, сахарному диабету и др.; кроме того,

по данным V.Fairbanks и соавт. (1997), у больных с β -талассемией часто наблюдается наличие гемохроматозного аллеля C282Y.

Таким образом, мутации и делеции генов β -глобиновой цепочки приводят к нарушению синтеза Hb, и следствием этого являются гематологические и соматические изменения. На схеме 13 представлена схема патогенеза β -талассемии.

Клинические проявления анемии Кули достаточно типичны. Обычно в возрасте 2—6 мес у ребенка появляются первые симптомы анемии (бледность, желтушный оттенок кожи и видимых слизистых оболочек, вялость, тахикардия и др.), связанные с хроническим гемолизом и неэффективным эритропоэзом. Если анемия не купируется гемотрансфузиями, то нарастают признаки сердечной недостаточности, увеличиваются печень и селезенка, поражается скелет. Массивное увеличение плацдарма гемопоэза приводит к изменению конфигурации костей лицевого черепа и свода, корковый слой костей истончается, что может вызывать патологические переломы. Бледность в сочетании с желтухой и гемосидерозом придают коже зелено-коричневатый оттенок. Некомпенсированная анемия со временем приводит к появлению массивной гепато- и спленомегалии, вызывающей не только дискомфорт в брюшной полости, но и нарушения функций желудочно-кишечного тракта, вторичному гиперспленизму. Дети отстают в физическом и психомоторном развитии, появляются признаки эндокринных нарушений, задержки полового развития. По мере нарастания гемосидероза может возникнуть сахарный диабет, появиться признаки хронической сердечной недостаточности. Если больным не проводится в должном объеме гемотрансфузионная терапия, то длительность жизни у детей составляет обычно несколько лет.

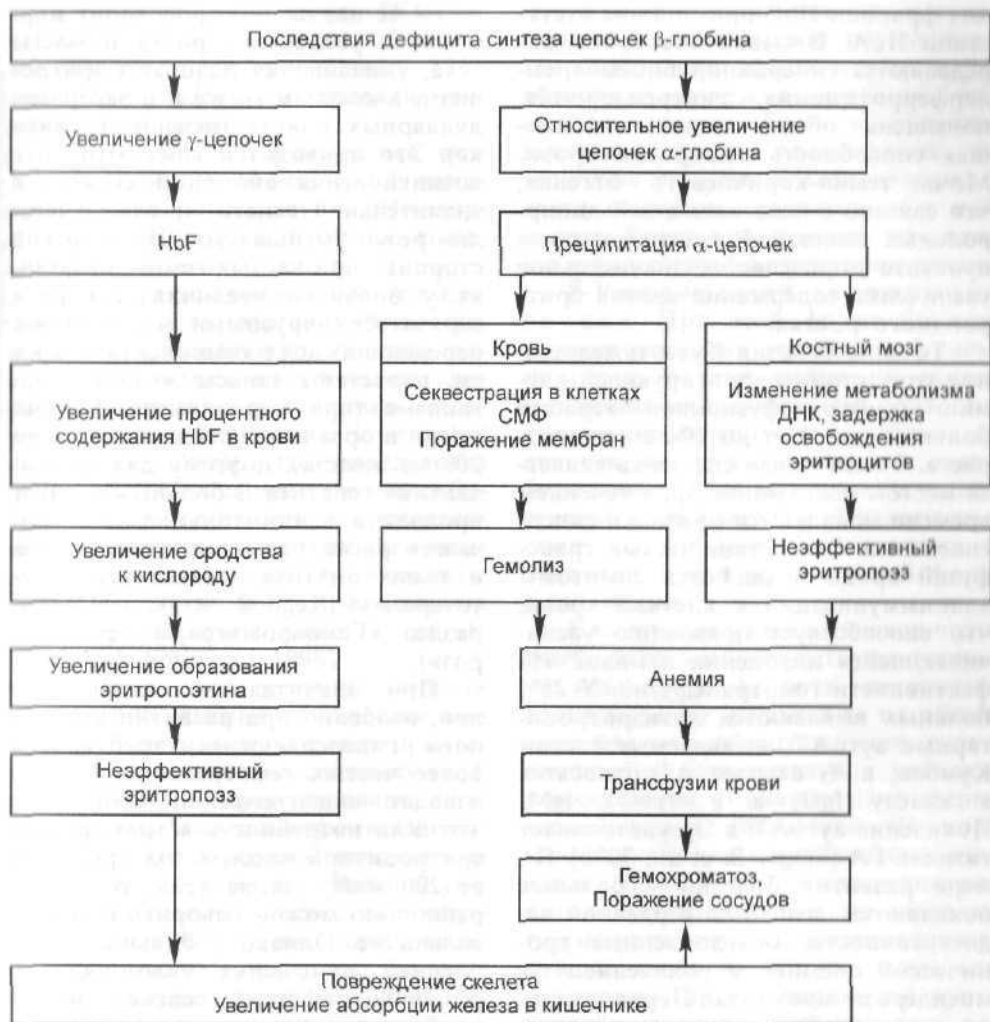


Схема 13. ПАТОГЕНЕЗ В-ТАЛАССЕМИИ (по R.Girot и соавт., 1995).

Однако с внедрением в практику новых подходов к лечению этого тяжелого заболевания, современных методов лечения эти осложнения могут быть предотвращены либо ослаблены на раннем этапе развития болезни.

При исследовании периферической крови выявляется разной выраженности анемия гипохромного, микроцитарного характера (средний объем Эр меньше 65 фл). При просмотре

окрашенных мазков крови определяются большое количество фрагментированных пойкилоцитов разнообразной причудливой формы, мишеневидные и Эр с включениями (тельца Fessas), значительное увеличение эритрокариоцитов, особенно у больных в постспленэктомическом периоде; выраженный ретикулоцитоз (до $100 \times 10^9/\text{л}$). При электрофорезе Hb определяется значительное увеличе-

ние фракции HbF при полном отсутствии HbA. В сыворотке крови определяются гипербилирубинемия, гиперферритинемия, гиперсидеремия, повышена общая железосвязывающая способность сыворотки крови. Моча темно-коричневого оттенка, что связано с наличием в ней дипироловых веществ. В костномозговом пунктате определяется значительное увеличение содержания клеток эритроидного ростка.

Течение болезни Кули тяжелое, и при отсутствии корригирующей анемии гемотрансфузионной терапии больные умирают до 10-летнего возраста. Увеличенная селезенка является местом деструкции Эр, с течением времени появляются признаки гиперспленизма. Вследствие частых трансфузий крови появляются симптомы аллоиммунизации к клеткам крови, что способствует появлению увеличивающейся цитопении и малой эффективности гемотрансфузий. У 25% больных выявляются антиэритроцитарные аутоАТ, выявляемые тестом Кумбса; в $2/3$ случаев АТ относятся к классу IgG, а в $1/3$ — к IgM. Появление аутоАТ к Эр увеличивает тяжесть ГА [Singer S. et al., 2000]. По мере развития болезни у больных появляются симптомы сердечной недостаточности, обусловленные хронической анемией и появлением гемосидероза миокарда. Первоначально развившийся гемосидероз постепенно переходит в гемохроматоз с развитием печеночной и сердечной недостаточности, гипогонадизма, сахарного диабета. Хронический гемолиз может способствовать развитию желчнокаменной болезни.

Исходя из патогенеза болезни, лечение *thalassaemia major* комплексное. Считается, что трансфузии концентратов Эр должны проводиться в объеме, необходимом для поддержания у больного Hb в пределах 100—120 г/л. При такой тактике ведения больного состояние ребенка практи-

чески не нарушено, происходит нормальное увеличение роста и массы тела, уменьшается плацдарм эритропоэза в костном мозге и в экстрамедуллярных очагах (печени, селезенке). Это приводит к тому, что риск возникновения аномалий скелета и значительной гепато- и спленомегалии резко уменьшается. Но с другой стороны, при частых гемотрансфузиях у больного увеличивается риск заразиться вирусными инфекциями, передающимися с компонентами крови, нарастают запасы железа в организме (при переливании 500 мл крови в организме откладывается до 200 мг железа), поэтому для профилактики гепатита В больным следует проводить вакцинацию, а для снижения риска развития гемосидероза и гемохроматоза — назначать хелатотерапию [Rego E. et al., 1997] (см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»).

При значительной спленомегалии, особенно при развитии вторичного гиперспленизма, требующего более частых гемотрансфузий, производят спленэктомию. Считается, что если потребность в трансфузиях эритроцитарной массы в год превышает 200 мл/кг массы тела, то с уверенностью можно говорить о гиперспленизме. Однако у больных с аспленией отмечается склонность к развитию инфекций, сепсиса, поэтому больным с удаленной селезенкой следует проводить вакцинацию против пневмококка, менингококка, *H. influenzae*, профилактическую пенициллинотерапию в течение нескольких лет.

Однако указанная терапевтическая тактика лечения больных является симптоматической, синдромологической, не является радикальной, не излечивает больного. Полное излечение возможно при пересадках костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. По данным E. Angelucci и соавт. (1997), из 107 боль-

ных, которым проведена ТКМ от HLA-идентичных доноров, 7-летняя выживаемость наблюдалась у 67%, при этом у 63% отсутствовали признаки талассемии.

Аntenатальная диагностика возможна у плода 10-недельной гестации; для этого исследуют ДНК ворсинки хориона [Weatherall D. et al., 2000].

β -Талассемия промежуточная. У гомозиготов β -талассемии, экспрессирующих β^+ -гены талассемии, может наблюдаться синдром Кули-подобной анемии меньшей тяжести (thalassemia intermedia) [Hollig G., 2000]. Это определение клиническое, и данная форма заболевания применительна к определенным ослабленным гомозиготным формам β -талассемии. Они составляют 5—10% от всех гомозиготных форм β -талассемий [Girot R. et al., 1995; Sébahoun G., 1998].

Дети с этой формой болезни достаточно активны, относительно неплохо развиваются, имеют практически нормальные рост и массу тела, достаточно хорошо усваивают программу школьного обучения. Однако наблюдается задержка наступления пубертатного периода. Наличие увеличенной селезенки может способствовать развитию у некоторых больных симптомов гиперспленизма, требующих коррекции анемии, лейкопении и тромбоцитопении; после спленэктомии признаки гиперспленизма исчезают [Qu G. et al., 2001].

У больных содержание Hb обычно превышает 75 г/л. При электрофорезе Hb отмечаются все признаки, свойственные для гомозиготных больных с β -талассемией — значительно увеличено содержание HbF при полном отсутствии HbA. Как правило, таким больным не требуется гемотрансфузионная коррекция анемии. Однако хотя большинство больных являются трансфузионно независимыми, у некоторых из них

могут отмечаться изменения в костях, язвы на голенях, может развиваться гемосидероз вследствие повышенной абсорбции железа в желудочно-кишечном тракте. Если у больных имеются признаки гемосидероза, то показаны назначение хелатотерапии, диета с низким содержанием в ней железа. Больные достигают возраста взрослых, способны к деторождению.

β -Талассемия гетерозиготная. При этой форме обычно имеется точечная мутация в одном из генов, ответственных за синтез β -глобиновых цепочек. Это приводит к уменьшению синтеза β -глобиновых цепочек, но не к полному его ингибированию, и такое состояние свойственно гетерозиготам. Клиническая симптоматика может проявляться в виде малой или минимальной форм β -талассемии.

Клинически у гетерозиготов чаще всего симптомы отсутствуют (минимальная форма), хотя некоторые больные могут жаловаться на общее соматическое неблагополучие, редко отмечается незначительное увеличение селезенки. В анализах периферической крови показатели Hb нормальные или же незначительно снижены (100—130 г/л); число ретикулоцитов нормальное или же незначительно увеличено. Отмечается анизопокилоцитоз Эр, могут отмечаться овалциты, Эр с базофильной пунктацией; повышена осмотическая резистентность Эр. При морфологическом исследовании мазков периферической крови характерно наличие гипохромных микроцитарных Эр даже при отсутствии анемии у больного, мишеневидные Эр, уменьшение содержания Hb в Эр. Характерно увеличение концентрации HbA₂ (больше 3,5%) без увеличения HbF, или же содержание последнего составляет 2—6%.

Больные с этой формой болезни, как правило, не нуждаются в гемотрансфузионной коррекции, поскольку

ку они удовлетворительно переносят незначительное снижение Hb. Но следует помнить о том, что при наличии инфекции, беременности и ряде других состояний возможна повышенная утилизация фолиевой кислоты. Учитывая, что при данном заболевании наблюдается неэффективный эритропоэз, имеется перенасыщение организма железом, то не следует назначать ферротерапию.

$\delta\beta$ -Талассемия. При этой редкой форме талассемии нарушается синтез β - и δ -глобиновых цепочек. При ней наблюдаются определенные делеции в участке на протяжении β -гена, ответственного за β^0 -талассемию. Могут отмечаться делеции, затрагивающие гены δ -глобина, итогом этого является $\delta\beta$ -талассемия.

У гетерозиготов с $\delta\beta$ -талассемией клинико-гематологические проявления те же, что и у больных с гетерозиготной формой β -талассемии; исключение составляет то, что при данной форме содержание HbA₂ не увеличено. Это обусловлено тем, что HbA₂ содержит δ -глобиновую цепочку, и при сочетании β - и δ -талассемии не наблюдается характерного признака β -талассемии — увеличения содержания HbA₂.

Клиническая и гематологическая симптоматика, течение болезни и лечение гомозиготной $\delta\beta$ -талассемии аналогичны таковым при болезни Кули. У больных отсутствуют HbA и HbA₂, определяется только HbF. У новорожденных детей $\delta\beta$ -талассемия протекает по типу гемолитической болезни с микроцитозом Эр, нормобластемией и увеличением селезенки. Обычно ГА исчезает самопроизвольно, но иногда требуются гемотрансфузии [Абдуллаев Г.М. и соавт., 1983; Идельсон Л.И., 1985; Giroud E. et al., 1995; Honig G., 2000].

Гемоглобинопатия Лероге. При этой очень редкой форме β -талассемии синтез α -глобиновых цепей нормальный, а β -глобиновых

цепочек нарушен. При Hb Lepore вместо нормальной β -цепи образуется $\delta\beta$ -глобиновая гибридная цепочка, состоящая из фрагментов β - и δ -глобиновых цепочек. Hb Lepore является продуктом гибридного гена вследствие неравномерного перекрещивания в нем δ - и β -локусов, и содержит две α -цепочки и две не α -цепочки глобинов вследствие слияния $\delta\beta$ -глобинов. Hb Lepore встречается во многих регионах земного шара, но особенно часто у жителей Кампании в Италии [Ferrari M. et al., 2000; Di Girgenti C. et al., 2001].

У гетерозиготов клинические и гематологические признаки болезни соответствуют таковым у больных с гетерозиготной формой β -талассемии, так что по этим параметрам невозможно различить эти две формы болезни. Критериями диагноза являются наличие Hb Lepore, содержание которого у больных составляет 10—20%, снижение содержания HbA₂ и повышение HbF. При очень редкой гомозиготной форме (описаны единичные больные) клинико-гематологические проявления такие же, как и у больных с гомозиготной формой β -талассемии. У таких больных не определяются HbA и HbA₂, имеются только HbF, содержание которого до 75% и выше, и увеличенное содержание Hb Lepore [Esposito L. et al., 1997; Ferrari M. et al., 2001]. Hb Lepore идентифицируется электрофоретически, он обладает HbS-подобной подвижностью [Sehahoun G., 1998; Honig G., 2000].

Описаны больные двойные гетерозиготы Hb Lepore/ β -талассемия. На основе молекулярного анализа β -глобиновой цепочки выделяют b⁰110 (генотип b⁰/Lepore), b⁰39 (генотип b⁰/Lepore), b⁰ IVS II-1 (генотип b⁰/Lepore). У больных с Hb Lepore/ β -талассемия содержание Hb Lepore колеблется в пределах 5,5—10%, а HbF — 70—85%. У больных с b⁰39/Lepore клиническая и гематоло-

гическая картина — как при талассемии промежуточной, а у больных с β^0110/Lepore — как при *thalassemia major*. Лечение этих больных проводится так же, как и при талассемии [Ferrari M. et al., 1998].

Из сказанного очевидно, что гемоглинопатия *Lepore* клинически гетерогенна, двойная гетерозиготность с генами β -талассемии зависит от молекулярных изменений, возникающих в ДНК β -глобиновой цепочки. После спленэктомии у больных с гемоглинопатией *Lepore* уменьшается содержание Hb *Lepore*; высказывается мнение, что этот аномальный гемоглобин с образованием $\beta\delta$ -глобиновых цепочек может в какой-то степени синтезироваться Эр периферической крови.

ПРИОБРЕТЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

ГА являются следствием повышенной деструкции Эр несмотря на их гиперпродукцию. Разрушение Эр (гемолиз) является следствием изменений интегральных белков мембраны, которые, как было отмечено, могут быть обусловлены как конституциональными, наследственными причинами, так и приобретенными. Вследствие нарушений мембраны появляются морфологически аномальные Эр, изменяются проницаемость мембраны для катионов, соотношение площади поверхности Эр и его объема, итогом этого является разрушение Эр. У детей чаще наблюдаются конституциональные ГА, а у взрослых — приобретенные.

Приобретенные ГА схематично можно подразделить на острую и хроническую формы.

Острый гемолитический криз характеризуется внезапным началом, немедленной деструкцией Эр, и это происходит в течение нескольких часов — нескольких дней. Острые

формы составляют 40—70%, иногда возникают у детей на фоне инфекций. Клинически у больных отмечаются быстро нарастающая бледность и желтушность кожи и видимых слизистых оболочек, одышка, тахикардия, боли в животе, возможно развитие шока и комы. В начальный период могут быть незначительно увеличены печень и селезенка. Моча окрашена от красного до темно-вишневого, почти черного, цвета. На этом фоне развивается олигурия, иногда анурия; использование ургентной терапии не всегда дает положительные результаты [Shehata N. et al., 1998].

Первоначально гемолиз носит внутрисосудистый характер, а затем может наступить внесосудистый. У 30% больных отмечается положительный прямой тест Кумбса типа IgG или IgG + IgM и комплемент; в 70% случаев тест Кумбса комплементарного типа либо отрицательный. При документированной вирусной инфекции (паротит, ветряная оспа, ИМ и др.) инфект может индуцировать образование холодных аутоАТ. У детей до 5-летнего возраста АТ могут быть двухфазными типа IgG, приводящими к холодовой гемоглинурии [Göttsche B. et al., 1990; Rowe P. et al., 1991]. Как правило, постинфекционные острые формы ГА прогностически благоприятны, полное выздоровление наступает в течение не более 3 мес, за исключением больных с иммунодефицитом [Sommelet-Olive D., 1995].

Подострые и хронические формы составляют 30—60% от всех случаев приобретенных ГА, иногда они начинаются с остро го внутрисосудистого гемолиза. Первоначально может наблюдаться улучшение состояния больного, но затем течение болезни принимает затяжной характер с экстраваскулярным гемолизом. У больных прогрессивно изменяется окраска кожи, нарастают бледность, су-

биктеричность, моча приобретает темную окраску, иногда увеличены печень и селезенка. Хронические формы нередко связаны с вирусной инфекцией (ЭБВ, ЦМВ, активным хроническим гепатитом и др.), с болезнями соединительной ткани, ревматоидным артритом, с врожденным или приобретенным иммунодефицитом [Segel G., 2000]. Реакция Кумбса может быть отрицательной, но чаще положительная типа IgG или IgG + комплемент; у 10% больных в сыворотке крови определяются холодовые агглютинины типа IgM.

Причины появления АТ у больных гетерогенны (инфекция, лекарства и др.). Под действием различных факторов изменяется антигенность мембраны Эр, и в ответ на инфекцию происходит иммунный ответ с появлением противоинфекционных АТ. Установлено наличие антигенного сродства между микроорганизмами и веществами мембраны. Кроме того, некоторые микроорганизмы выделяют ферменты, которые изменяют мембрану Эр, способствуя появлению так называемых полиагглютинабельных АГ (Т, Тк), которые разрушаются естественными АТ в плазме крови человека. Обычно эритроцитарные аутоАТ направлены против нормальных АГ Эр групп крови, чаще систем I/i, Rh и P. В регуляции образования аутоАТ играют роль как воспалительные цитокины (ФНО α , ИЛ-6), так и ингибиторные (ТФР β , ИФ γ , ИЛ-4, ИЛ-6) [Barcellini W. et al., 1998].

Вследствие взаимодействия АГ — АТ происходят качественные изменения Band 3, протеина 4.1 и протеина 4.2. *In vivo* было установлено, что при этом у больных происходит увеличение в 2—3 раза процесса фосфорилиции Band 3, и АГ, образующийся вследствие деградации этого белка, способствует старению и преждевременной гибели Эр [Barjas-Castro M. et al., 1998].

Липиды гликофорина А (лектины, агглютинины завязи пшеницы, МА) уменьшают деформабельность Эр путем изменения функции цитоскелетных белков. Механизм гемолиза, путем которого запускается лектинами гликофорина А, возможно, связан с Calpain с последующим протеолизом ключевых мембранных веществ. АИГА, связанная с антигликофориновыми АТ, протекает тяжело даже при наличии низкого титра АТ и отсутствии активации комплемента [Brain M. et al., 1997].

Инфекционные агенты могут также приводить к поликлональной активации В-лимфоцитов с последующим образованием анти-Эр-АТ. У больных в 3—4 раза увеличена популяция лимфоцитов CD5⁺/CD19⁺ [Smith N. et al., 1998]. Наличие иммунодефицитного состояния (дефицит Т-лимфоцитов супрессоров, аутореактивная активация лимфоцитов) способствует не только появлению анти-Эр-АТ, но и развитию лейко- и тромбоцитопении [Sommelet-Olive D., 1995].

Критериями, подтверждающими наличие гемолиза, являются лабораторные данные. Анемия носит обычно нормохромный характер и выражена в разной степени. Наблюдается гипербилирубинемия непрямой фракции. Для внутрисосудистого гемолиза характерно наличие гемоглобинемии (в норме содержание Hb в плазме крови менее 0,1 г/л), агаптоглобинемия; гиперсидеремия переменна, отмечаются гемоглобинурия и гемосидеринурия. При хроническом гемолизе эритропоэз всегда повышен, тогда как при остром это увеличение менее выражено. Количество ретикулоцитов в крови обычно увеличивается параллельно тяжести гемолиза, за исключением больных с острой эритробластопенией и больных с аплазией костного мозга, вызванной деструкцией эритроидных клеток-предшественниц. Ретикулоцитоз иногда сопровождается появлением в периферической крови эритрокарио-

цитов. В мазках периферической крови увеличено содержание шизоцитов, фрагментированных Эр. Могут наблюдаться гиперлейкоцитоз и гипертромбоцитоз.

В пунктате костного мозга увеличено содержание клеток эритроидного ряда. При исследовании эритропоэза с помощью ^{59}Fe обнаруживаются признаки неэффективного эритропоэза: кругооборот железа в плазме увеличен в 2—5 раз, в 2—4 раза повышено усвоение железа клетками эритроидного ростка, в сыворотке крови увеличено содержание креатинина и лактатдегидрогеназы эритроцитарного происхождения. Могут отмечаться явления эритрофагоцитоза, индуцированные иммунологическими, инфекционными или токсическими факторами. В крови снижено содержание фолатов из-за увеличенного их потребления, связанного с хроническим гемолизом.

Наличие нейтропении и(или) тромбоцитопении на фоне ГА может ориентировать врача в отношении системного заболевания, например СКВ, синдрома Эванса, а феномен аутоагглютинации Эр указывает на болезнь холодовых агглютининов. Выявление положительной реакции Кумбса до назначения гемотрансфузий и глюкокортикоидов свидетельствует об иммунном генезе ГА. Таким образом, совокупность клинико-гематологических данных и специальных лабораторных тестов позволяет уточнить тип ГА.

Приобретенные ГА — это гетерогенная группа заболеваний, но общим для них являются наличие:

1) этиологического фактора (распознаваемого);

2) признаков ГА.

Все приобретенные ГА можно подразделить на четыре группы, в каждой из которых можно выделить подгруппы:

1) иммунные ГА;

2) ГА «механические» с фрагментацией Эр;

3) ПНГ;

4) ГА при дефиците витамина В.

ИММУННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

Это гетерогенная группа заболеваний, в основе которых лежит иммунный механизм развития ГА. Среди иммунных форм можно выделить изоиммунные, трансиммунные, гетероиммунные и аутоиммунные ГА.

Аутоиммунные гемолитические анеми. АИГА — это приобретенные заболевания, обусловленные появлением аутоАТ в плазме крови и(или) на Эр больного, направленных против собственных АГ Эр. Среди АИГА можно выделить:

1) АИГА, обусловленные наличием тепловых реактивных аутоАТ; они могут быть первичными (идиопатическими) и вторичными (лимфопролиферативные заболевания, болезни соединительной ткани, особенно СКВ, нелимфоидные опухоли, хронические воспалительные заболевания и др.);

2) АИГА, обусловленные наличием холодовых реактивных аутоАТ (криопатический гемолитический синдром); они также могут быть первичными (идиопатическими) и вторичными (лимфопролиферативные заболевания, болезни, вызванные *Mycoplasma pneumoniae*, ВЭБ и др.).

АИГА встречаются в основном у взрослых после 40 лет, хотя описаны и у детей, даже первых месяцев жизни [Leverger C. et al., 1984]. Главным критерием АИГА является положительный прямой тест Кумбса, при котором выявляются Ig или компоненты комплемента на поверхности Эр.

АутоАТ, направленные против собственных АГ Эр, в зависимости от метода их выявления можно подразделить на 3 типа:

1) прямой тест Кумбса; он позволяет выявить способность Эр к агглютинации в присутствии антиглобулиновой поливалентной сыворотки, особенно IgG и комплемента (С3);

положительный тест может быть трех типов — IgG, IgG + комплемент ± IgM, только комплемент; отрицательный тест Кумбса не исключает наличие IgM- или IgA-АТ; ложноположительный прямой тест Кумбса может отмечаться при аномалии мембраны Эр, медикаментозных иммуно-аллергических ГА, у детей до 3-месячного возраста (пассивно переданные АТ матерью), при системных заболеваниях без анемии (комплементарного типа);

2) непрямой тест Кумбса; он может быть положительным, когда прямой тест Кумбса отрицательный; в сыворотке крови определяют элюированные АТ с поверхности Эр для изучения их реактивности против собственных Эр больного (агглютинины, гемолизины) и Эр, несущих известные антигенные детерминанты групп крови;

3) определение титра свободных АТ, когда реакции Кумбса отрицательные или же положительные только на комплемент — холодовые агглютинины (реакция считается положительной при титре 1 : 32 и больше), бифазные гемолизины, IgM, IgA.

В зависимости от эффекта аутоАТ *in vitro* выделяют гемолизины (гемолиз происходит в присутствии комплемента) и агглютинины (агглютинация Эр).

Тепловые аутоАТ активны при 37°C. Обычно эти АТ относятся к классу IgG (в виде исключения — к IgM), поликлональные, не фиксирующие комплемент; степень выраженности гемолиза определяется подклассами IgG, среди которых IgG3 являются наиболее токсичными. Мишенями для этих АТ служат обычно АГ системы Rh или АГ, называемые общими АГ Эр, АГ систем Kell, Kidd или АГ, наблюдаемые почти у всех людей и называемые «универсальными», вне зависимости от фенотипа Эр. Разрушение Эр, покрытых аутоАТ IgG с нефиксированным компле-

ментом, происходит путем эритрофагоцитоза клетками СМФ, в основном в селезенке путем фиксации Fc IgG на рецепторах макрофагов. Редко наблюдается АИГА, связанная с аутоАТ, направленными против АГ Gerbich, которые относятся к классам IgA + IgG [Götsche V. et al., 1990].

Холодовые аутоАТ проявляют свою активность при 0...30°C и обычно это АТ типа IgM. Тест Кумбса — либо комплементарного типа, либо отрицательный. Эти АТ практически поликлональные, являются холодowymi агглютинидами, *in vitro* обладают гемолизирующей активностью. Обычно их активность провоцируется вирусной инфекцией или *Mycoplasma pneumoniae*. Под их влиянием на холоде происходит активация компонентов комплемента, внутрисосудистый гемолиз, сосудистые нарушения (acroцианоз). Инактивация C3d — это профилактика в блокаде C3 на мембране Эр, так как препятствует дальнейшей активации комплемента. Степень выраженности гемолиза коррелирует с титром АТ в сыворотке крови, но основную роль играет термическая амплитуда. Главными мишенями этих АТ являются АГ I и общие АГ Эр, распространенные в популяции людей. Этим объясняется неэффективность гемотрансфузий.

Двухфазные АТ относятся к IgG. При охлаждении эти АТ связываются с мембранной Эр, но они не провоцируют гемолиз, как это наблюдается при тепловых аутоАТ. Эти АТ фиксируют комплемент, поэтому реакция Кумбса — комплементарного типа. Мишенью для этих АТ являются общие АГ. При наличии АТ гемолиз может быть внутри- и внесосудистый. Описана гемоглобинурия при сифилисе, вирусных инфекциях [Sabio H. et al., 1992].

Кроме того, описаны другие АТ, например АТ антиТФИ, наблюдаемые при инфекционном мононуклео-

те, при реактивации ВЭБ [Ritter K. et al., 1993]. Могут наблюдаться естественные (не аутоАТ) АТ анти-Г, вызывающие агглютинацию Эр при малярии и бактериальных инфекциях [Williams R. et al., 1989].

Суммируя вышесказанное, можно отметить следующее:

1) если имеются аутоАТ IgG, не фиксированные комплементом на Эр, то гемолиз происходит экстраваскулярно, в основном в селезенке;

2) если имеются аутоАТ IgG и IgM, фиксирующие комплемент на Эр, то гемолиз происходит и внутрисосудисто (через активацию комплемента на поверхности Эр), и внесосудисто путем эритрофагоцитоза;

3) если имеются аутоАТ тепловые, фиксирующие комплемент на Эр, то наблюдается тяжелый внутрисосудистый гемолиз; однако большинство тепловых АТ не фиксируют комплемент;

4) если имеются холодовые и двухфазные АТ, то оптимум их действия отмечается при низкой темпе-

ратуре тела. При охлаждении организма могут происходить фиксация АТ, активация комплемента и развивается тяжелый внутрисосудистый гемолиз;

5) если имеется медленная активация комплемента, то на поверхности Эр определяются ингибиторы комплемента (CD55, CD59), на Эр фиксируются промежуточные продукты расщепления комплемента, и они захватываются клетками СМФ, имеющими рецепторы для фракций комплемента;

6) если имеются признаки отсутствия активации комплемента, то Эр опсонизируются и захватываются селезенкой путем их адгезии к макрофагам, имеющим рецепторы к фрагменту Fc (IgG1, IgG3, IgA), и фагоцитируются [Gessner J. et al., 1998].

В табл. 18 представлены данные для общей характеристики АИГА.

Аутоиммунная гемолитическая анемия вследствие наличия тепловых антител. Среди всех АИГА эта форма встречается наиболее часто (80%).

ТАБЛИЦА 18. Общая характеристика аутоиммунных гемолитических анемий (по G.Sébahou и соавт., 1998; G.Segel, 2000)

| Амплитуда термических АТ | Тепловые аутоАТ | Холодовые аутоАТ |
|----------------------------|---|---|
| Характер антител | IgG+C, Ig, редко IgM+C | IgM+C, IgG |
| Специфичность антител | IgG антиRh IgM анти/i | IgM антиI/i IgG антиP |
| Специфичность теста Кумбса | IgG+C, IgG, C | IgG+C, C |
| Характер гипергемолиза | Всегда экстраваскулярный | Всегда внутрисосудистый |
| Этиология | 1. Идиопатические. 2. Вторичные: заболевания соединительной ткани; лимфоидные гемопатии; опухоли; хронические воспалительные заболевания | I. Холодовые агглютинины (IgM). 1. Острые инфекционные заболевания. 2. Хронические инфекционные заболевания; идиопатические; лимфоидные гемопатии. II. Гемолизин бифазные (IgG). 1. Острые инфекционные заболевания. 2. Хронические идиопатические |

Приблизительно 50% всех форм АИГАТА являются идиопатическими, а у других 50% больных она связана с сопутствующими заболеваниями. При этом иногда первоначально АИГАТА расценивается как идиопатическая, но в последующем по мере развития болезни выявляются те или иные заболевания, которые первоначально были либо нераспознаны, либо протекали бессимптомно или малосимптомно. К числу заболеваний и состояний, на фоне которых может развиваться ГА с аутоАТ типа IgG, относятся:

1) лимфоидные гемопатии (хронический лимфолейкоз, злокачественные лимфомы, болезнь Ходжкина, болезнь Вальденстрема, миеломная болезнь); редко, но может наблюдаться при миелопролиферативных заболеваниях и МДС;

2) опухоли различной локализации — желудка, толстой кишки, поджелудочной железы, почек, яичников; уменьшение размеров опухоли может привести к исчезновению ГА;

3) диффузные заболевания соединительной ткани (диссеминированная красная волчанка, ревматоидный артрит, болезнь Шегрена, склеродермия), узелковый периартериит, хронический гепатит, язвенный колит, диабет, ХПН, синдром Эванса;

4) прием некоторых лекарственных препаратов; чаще всего наблюдается при приеме метилдофы в течение более 3 мес; она индуцирует аутоиммунизацию (IgG-антирезусные АТ) у 15% больных, но АИГА отмечается только у 1%; после отмены препарата анемия регрессирует; по такому же типу развивается АИГА при приеме мекфенамовой кислоты, ибупрофена, вольтарена, ИФ α , флюндарабина, пентостатина.

Клинически АИГАТА может протекать бессимптомно и выявляться случайно по наличию анемии. Заболевание может возникать остро, в виде повышения температуры тела,

озноба, нарастающей желтухи, поражения желудочно-кишечного тракта, иногда картины «острого живота», гемоглобинурии. Такая симптоматика характерна для больных с внутрисосудистым гемолизом. У детей, в основном 2—12 лет, острый гемолитический криз часто возникает вслед за респираторной инфекцией. Обычно острый криз транзиторный, длится 2—6 мес, хорошо поддается лечению глюкокортикоидами, отмечается полное выздоровление; смертельные исходы редки и связаны с характером инфекции, с осложнениями от инфекции и острого гемолиза (ОПН, эмболия и др.) [Segel G., 2000]. У других больных может отмечаться постепенное прогрессирование симптомов, появляются клинические признаки анемии, нарастающей желтухи, увеличение селезенки. Подобная клиническая картина наблюдается обычно при развитии экстраваascularного гемолиза. Длительное и хроническое течение болезни наблюдается у детей младенческого возраста и старше 12 лет. Гемолиз может сохраняться в течение многих месяцев и лет. Реакция на лечение глюкокортикоидами переменчива. Летальность при хронических формах составляет около 10%, часто от основного заболевания. Промежуточная симптоматика между острым внутрисосудистым гемолизом и хроническим внесосудистым гемолизом больными переносится относительно удовлетворительно.

При гематологическом обследовании у больных отмечается нормохромная нормоцитарная или макроцитарная анемия. Среди Эр наблюдаются анизоцитоз, пойкилоцитоз, сфероциты, нередко эритрокарициты [Dacosta L. et al., 1998]. Количество ретикулоцитов повышено (больше $150 \times 10^9/\text{л}$), но может быть нормальным, так как под действием АТ может происходить деструкция клеток-предшественниц эритроидного

ростка в костном мозге. Обычно отмечается лейкоцитоз с нейтрофилезом при нормальном количестве тромбоцитов. В костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ряда, иногда выявляется умеренное содержание мегалобластных элементов. Другие ростки костномозгового кроветворения интактны. В сыворотке крови увеличено содержание билирубина, мочевины, железа, повышена активность лактатдегидрогеназы, снижено содержания гаптоглобина; при внутрисосудистом гемолизе отмечаются гемоглобинемия и гемоглобинурия, гемосидеринурия, уробилинурия, увеличение содержания стеркобилина в кале.

Подтверждением диагноза АИГА-ТА может служить положительный прямой тест Кумбса, позволяющий определить наличие на поверхности Эр АТ или фрагментов комплекса. Но он также выявляет неспецифические Ig (гипергаммаглобулинемия, миеломная болезнь и др.), АТ к материнским Эр при ГБН, аутоантиэритроцитарные АТ, фиксированные на поверхности Эр, иммуноаллергические АТ (АТ, индуцированные лекарственными или иммунные комплексы), наличие антиэритроцитарных аллоАТ (посттрансфузионных). Поэтому при положительном прямом тесте Кумбса необходимо оценить специфичность полученных результатов со специфическими анти-Ig сыворотками: анти-IgG, анти-IgM, анти-IgA и антикомплементарной; реакцию ставят при 37°C и 4°C. При АИГАТА прямой тест Кумбса чаще всего бывает IgG + комплемент (45%) или IgG (35%); другие типы встречаются редко: комплементарного типа — у 10% больных, IgG + IgA — у 5%, IgG + IgM + комплемент — у 5%. Чистые IgA АТ встречаются крайне редко [Lee E. et al., 2000].

Положительный прямой тест Кумбса указывает на фиксацию Ig и(или) комплемента на поверхности

Эр *in vivo*. Порогом для IgG является наличие 150 молекул на 1 Эр и более. Если АТ относятся к классу IgM, то они обычно не выявляются, поэтому положительный прямой тест Кумбса не является абсолютным и сам по себе не указывает на наличие аутоАТ. Для уточнения следует провести исследования по определению наличия АТ в элюате и(или) сыворотке крови больного с помощью непрямого теста Кумбса. Последний позволяет определить АТ, не фиксированные на Эр, но они могут быть как ауто-, так и аллоАТ.

Лечение АИГА комплексное. При наличии выраженной анемии назначают трансфузии концентратов отмытых, фенотипированных Эр; желательно систематически исследовать кровь больного на наличие аллоАТ перед каждой гемотрансфузией. Нередко трансфузии неэффективны из-за действия аутоАТ на АГ-мишени, поэтому при сверхтяжелых формах гемолиза для удаления АТ прибегают к плазмаферезу, используют иммуносорбенты. Преднизолон назначают по 1,5—2 мг/кг, но иногда дозу увеличивают до 3 мг/кг под контролем за гемолитическим процессом [Bekadja M. et al., 1998]. Глюкокортикоиды ингибируют фиксацию фрагментов Fc IgG на макрофагах в течение 1—4 дней, уменьшают синтез Ig, и титр АТ снижается через 2—5 нед после начала лечения, и, кроме того, под влиянием преднизолона изменяется сродство АТ к АГ на Эр. Эффект от лечения глюкокортикоидами наступает у 70—80% больных с тепловыми АТ типа IgG [Meyeters D. et al., 1985; Velazquez-Gonzalez A. et al., 1998]. Если больной с АИГАТА остается рефрактерен к лечению преднизолоном *per os* в течение 2—3 нед, то можно в качестве ударной терапии назначить метилпреднизолон (1 г/м²). При положительной реакции Кумбса кортикостероиды дают в течение не менее 3 мес, а

затем при стабильности показателей Hb и ретикулоцитов преднизолон постепенно отменяют в течение 3—6 мес. При наличии холодовых АТ у больных эффект от глюкокортикоидов наступает в течение нескольких дней; больным с холодовыми агглютинидами и бифазными гемолизинами кортикостероиды назначают кратковременно (на 4—8 нед).

В качестве дополнительного (а не стандартного) лечения внутривенно вводят Ig по 0,5—1 г/(кг·сут) в течение 5 дней. Результат лечения считается положительным, если в течение 10 дней содержание Hb увеличивается на 20 г/л. При необходимости курс лечения Ig повторяют каждые 3—4 нед. Этот метод лечения используют обычно для того, чтобы уменьшить дозу и(или) длительность кортикостероидной терапии, а также при затянувшихся формах; Ig можно использовать и при острых формах. Эффект от внутривенного введения Ig у больных с АИГАТА наблюдается у 40% [Flores G. et al., 1993].

При хронических формах АИГА длительностью более 3—6 мес, при резистентности или зависимости к кортикостероидной терапии, частых рецидивах показана спленэктомия, если исследованиями подтверждена секвестрация Эр в селезенке. После спленэктомии эффект наступает у 50—90% больных [Акрек Г. et al., 1997]. Если кортикостероиды, внутривенное введение Ig и спленэктомия неэффективны, то назначают иммунодепрессантную терапию — циклофосфамид, азотиоприн, циклоспорин. Эффект от применяемого лечения оценивают через 2—4 мес; следует помнить о токсичности этих препаратов, риске вторичной инфекции и неоплазий [Dundar S. et al., 1991; Panceri R. et al., 1992]. С. Fibich и соавт. (1998) рекомендуют использовать Мусорphenolate Mofetil, который селективно угнетает синтез пуринов в Т- и В-клетках и используется при

трансплантациях печени и почек. Первоначальная доза для взрослых составляет по 250 мг 2 раза в день в течение 2 нед; если эффекта за этот период не наступает, то дозу удваивают и сохраняют на этом уровне еще в течение 2 нед. После достижения эффекта от этого препарата дозу глюкокортикоидов (если они применялись на этом фоне) постепенно уменьшают. Эффект от применения препарата достигнут у 80% больных, резистентных к лечению глюкокортикоидами, внутривенному введению Ig и спленэктомии со сроком наблюдения 17 мес. Поскольку при АИГА усилен эритропоэз, больным необходимо назначать фолиевую кислоту во избежание развития ее дефицита.

При резистентности к лечению преднизолоном, внутривенному введению Ig используют Rituximab — химерное человеческое МА Ig1/k против CD20. Препарат вызывает снижение содержания нормальных В-клеток и В-клеток лимфом. Его действие, вероятно, связано с комплементопосредованной цитотоксичностью, АТ-зависимой цитотоксичностью, задержкой пролиферации В-клеток и с индукцией апоптоза. Rituximab (MABTHERA, Roche, Basel, Switzerland) вводят внутривенно 1 раз в неделю по 375 мг/м², до 8 доз на курс лечения. После лечения 6 детей (возраст от 7 до 35 мес) с АИГА у всех больных наступила полная ремиссия, сохраняющаяся 15—22 мес без поддерживающего лечения [Quartier P. et al., 2001].

После нормализации гематологических показателей больные должны находиться под наблюдением врача в течение нескольких лет для своевременного лечения в случае возникновения рецидива. Вакцинация (за исключением больных со спленэктомией) должна быть исключена в течение двух лет.

Если у больного АИГА является вторичной, то успех лечения зависит

от эффективности терапии основного заболевания.

По данным M. Omine и соавт. (1998), из 408 больных с АИГАТА выживаемость 2 года наблюдалась у 95% больных, 5 лет — у 80%, 10 лет — у 74%. Полное излечение через 7 лет наступило у 30% больных (у 40% детей и у 18% взрослых). Качество жизни больных было нормальным у 70% больных. С идиопатической формой АИГА умерли 33 из 408 больных; у 50% из них причиной смерти были осложнения от лечения, а у 39% — не связаны с ГА.

Аутоиммунная гемолитическая анемия вследствие наличия холодowych аутоантител. Эта форма заболевания характеризуется наличием холодowych аутоАТ, которые наиболее активны при низких температурах и агглютинируют Эр при температуре ниже 37°C. Это АТ типа IgM, для их активации требуется комплемент, и они вызывают спонтанную агглютинацию Эр на холоде, которая обратима при 37°C. В 70% случаев заболевание является идиопатическим, в 20% сочетается с болезнью Вальденстрема и в 10% — со злокачественными лимфомами. Болезнь относительно редко встречается у детей по сравнению со взрослыми [Sébahoun G. et al., 1998; Segel G., 2000].

АИГА с холодowymi аутоАТ клинически может протекать остро или хронически. Холодовая агглютининовая болезнь (син. — хроническое заболевание с холодowymi агглютининами, АИГА с полными холодowymi агглютининами) наиболее часто отмечается после АИГАТА. Холодовая агглютининовая болезнь встречается у лиц любого возраста.

Клинически болезнь характеризуется постепенным началом, нарастающим признакам соматического неблагополучия (слабость, недомогание, снижение работоспособности и

др.), ухудшением самочувствия на холоде, появлением вазомоторных нарушений (акроцианоз, ишемия фаланг пальцев, ушей, носа, возможностью появления синдрома Рейно); иногда у больных отмечается крапивница, незначительное увеличение печени и селезенки. Клинические симптомы связаны с внутрисосудистой агглютинацией Эр.

Одной из особенностей периферической крови является то, что при взятии крови отмечается аутоагглютинация Эр, что затрудняет подсчет их количества. При подогревании крови до температуры тела эта агглютинация исчезает. В мазках крови обнаруживаются агрегаты Эр в виде «монетных столбиков». Анемия обычно гемолитического типа и связана с внутрисосудистым комплементопосредованным гемолизом и(или) удалением из циркулирующей крови комплементопосредованных Эр фагоцитами печени [Ulvestad E., 1998]. Анемия обычно незначительная. Число лейкоцитов и тромбоцитов нормальное. Содержание билирубина — в пределах нормальных значений или незначительно повышено.

Реакция Кумбса — чаще комплементарного типа. Гемолизины обычно относятся к классу IgM. Каждая молекула IgM потенциально активна, чтобы активировать молекулу C1, чем и объясняется большое количество комплемента на Эр. Гемолиз обусловлен перекрестной реакцией между АГ микроорганизма (вируса) и Эр. В сыворотке крови обычно обнаруживаются холодowe АТ, обладающие специфичностью к олигосахаридным АГ Эр системы I/i. Они могут обнаруживаться как при идиопатической форме холодовой агглютининовой болезни, так и при вторичной форме болезни, связанной с инфекцией (Mycoplasma pneumoniae, краснуха, ветряная оспа и др.), миелопролиферативными заболеваниями. При инфекции Mycoplasma мо-

жет значительно увеличиваться титр анти-I-АТ, при этом титр может достигать 1:30 000 и более. АТ специфичны для I-АГ и слабо реагируют с Эр пуповинной крови, которые несут на своей поверхности i-АГ, но содержат мало АГ I. Значительно реже гемагглютинины направлены против эритроцитарных АГ P_г, и в виде казуистики обнаруживаются АТ антиGd, антиSa, антиVo, антиLi, антиF₁, антиLud и антиMe [Göttsche B. et al., 1990]. У больных с ИМ может также отмечаться холододовая агглютининовая болезнь, но при этой инфекции АТ имеют анти-i специфичность.

У больных с холододовой агглютининовой болезнью холододовые агглютинины кодируются сегментом V_H. Значительная часть анти-I холододовых агглютининов находится под контролем V_H 4 — 34 сегментов гена иммуноглобулина [Li Y. et al., 1996; Ulvestad E., 1998].

Тяжесть гемолиза зависит от термической амплитуды АТ и титра IgM АТ. Если имеется высокий титр холододовых АТ и их активность проявляется при температуре, близкой к температуре тела, то отмечается тяжелый внутрисосудистый гемолиз с соответствующими признаками (гемоглобинемия, гемоглобинурия), который развивается и усиливается при охлаждении организма, или же возникает внесосудистый гемолиз с разрушением Эр в селезенке и печени. Развитие гемолиза может осложняться ишемическими некрозами конечностей при их охлаждении.

Острая холододовая АИГА обычно проходит спонтанно, без осложнений. Хроническая идиопатическая форма может персистировать в течение ряда лет.

Основой лечения является профилактика кризов — избегать переохлаждения, лечение основного заболевания (при вторичных формах). При содержании Hb более 100 г/л лечения

не требуется. При тяжелых формах применяют глюкокортикоиды, плазмаферез, назначают иммунодепрессанты, фолиевую кислоту. Заместительную гемотрансфузионную терапию проводят подогретой до температуры тела эритроцитарной массой. Больные с холододовыми агглютинаинами чаще всего резистентны к лечению глюкокортикоидами [Velazquez-Gonzalez A. et al., 1998]. Спленэктомию никогда не проводят. При моноклональной IgM-связанной холододовой агглютининовой болезни с успехом используют Rituximab (см. раздел «Аутоиммунная гемолитическая анемия вследствие наличия тепловых антител») [Lee E. et al., 1998].

Пароксизмальна холодовая гемоглобинурия. Эта форма часто связана с вирусными инфекциями (краснуха, паротит, ветряная оспа), с врожденным или приобретенным сифилисом. Пароксизмальна холодовая гемоглобинурия наблюдается у людей любого возраста, в том числе у младенцев. Среди всех форм АИГА ее частота (вне зависимости от возраста) составляет 1—2,5% [Engelfriet C. et al., 1987]. Частота заболевания у детей колеблется в широких пределах и составляет от 5% до 40,5% от всех форм АИГА [Habibi B. et al., 1974; Sokol R. et al., 1984].

Пароксизмальна холодовая гемоглобинурия — одна из первых описанных иммунных форм ГА, была впервые описана J. Donath и K. Landsteiner в 1904 г. под названием «пароксизмальна гемоглобинурия». Заболевание протекает достаточно типично. Обычно за 1—2 нед до возникновения гемолиза развивается инфекционное заболевание, чаще дыхательных путей вирусной этиологии. Болезнь возникает остро с повышения температуры тела, озноба, головной боли, болей в животе с тошнотой и рвотой. Затем появляется желтуха, моча — от красного до чер-

ного цвета, иногда — увеличение селезенки. Гемолиз носит внутрисосудистый характер со всеми свойственными ему признаками. В период вне криза показатели красной крови нормальные.

Реакция Кумбса положительная, комплементарного типа или IgG + комплемент. АТ — это гемолизины двухфазные, типа Donath — Landsteiner, являющиеся IgG холодово-реактивными АТ, которые в большом количестве фиксируют на Эр комплемент на холоде и лизируют Эр при 37°C. Эти АТ направлены против АГ системы группы крови Р. Обычно титр АТ в сыворотке крови невысокий — $1/8$ — $1/64$, и АТ определяются только в течение нескольких дней.

В большинстве случаев наступает самоизлечение в течение 2 нед, но при тяжелой анемии прибегают к гемотрансфузиям. Переливание Р-положительных не отмытых Эр, хранящихся при комнатной температуре, усиления гемолиза у больных не вызывает [Göttsche B. et al., 1990]. Следует избегать переохлаждения. Рецидивы не наблюдаются.

Синдром Эванса. Этот синдром характеризуется наличием у больных АИГА в сочетании с иммунной тромбоцитопенической пурпурой и иногда нейтропенией. У большинства больных имеются либо лимфопролиферативные заболевания, либо признаки недостаточности иммунной системы с вовлечением гуморального и клеточного звеньев.

В 1949 г R.Evans и R.Duane описали больных, у которых отмечались тромбоцитопения и лейкопения в сочетании с приобретенной ГА. В настоящее время установлено, что клинические и гематологические проявления синдрома связаны с наличием АТ к форменным элементам крови. У всех больных определяется прямой тест Кумса IgG-типа, а у 40% — IgG + комплементарного типа; у 80% больных также наблюда-

ется положительный непрямой тест Кумбса. На Эр могут определяться IgG + C3d, а в сыворотке крови — полиспецифичные IgG антиЭр АТ [Kakija R. et al., 1981]. Наряду с антиЭр АТ у 91% больных выявляются анти-тромбоцитарные АТ, а у 81% — антилейкоцитарные АТ. Эти аутоАТ направлены непосредственно против специфических АГ Эр, тромбоцитов и гранулоцитов, и они перекрестно не реагируют. По данным W.Wang (1988), в крови больных имеются два типа IgG-АТ: одни направлены против тромбоцитов, а другие — против Эр. Не отмечено также взаимосвязи между наличием АТ к лейкоцитам и тромбоцитам, и типом АТ к Эр (IgG, IgA, IgM, комплемент).

У больных с синдромом Эванса имеются признаки нарушения клеточного иммунитета. У них снижено количество клеток CD4 и соотношение CD4 : CD8, увеличено число клеток CD8. Возможно снижение *in vitro* и *in vivo* синтеза IgM и IgG, и это обусловлено либо снижением функции селезенки, либо ее отсутствием [Wang W. et al., 1986]. Развитию аутоиммунной панцитопении могут способствовать аутологичные Т-лимфоциты, приводя к ингибции образования КОЕ-Э и КОЕ-С [Roodman G. et al., 1980]. При синдроме Эванса отмечаются широкий спектр иммунной дисрегуляции, иммунная активация, аномальная функция Fas-системы. Увеличение экспрессии Fas на периферических Т- и В-лимфоцитах, Fas-индуцированного апоптоза активированных Т-клеток может играть роль в патогенезе развития синдрома Эванса [Savasan S. et al., 1998].

Сочетание Кумбс-положительной ГА с иммунной тромбоцитопенией часто наблюдается при ряде заболеваний и состояний. К ним относятся СКВ и другие заболевания соединительной ткани, опухоли, хронические лимфоаденопатии, некоторые инфекционные заболевания, иммунодефи-

цитные состояния; синдром Эванса описан также при беременности, гипертиреозидизме, пароксизмальной холодовой гемоглобинурии, гемофилии [Harris P. et al., 1983; Ashby G. et al., 1986; Lippman S et al., 1987].

Клинически у больных наблюдаются признаки АИГАТА и тромбоцитопенической пурпуры (геморрагии на коже, слизистых оболочках, кровотечения и др.). Содержание гемоглобина колеблется в широких пределах — от 32 до 97 г/л, тромбоцитопения — от 0 до $100 \times 10^9/\text{л}$, у каждого второго больного отмечается нейтропения ($150...1200 \times 10^9/\text{л}$).

Течение болезни хроническое, рецидивирующее, с периодами ремиссии; обострение болезни происходит под действием пусковых механизмов или при ухудшении основного заболевания [Sébahoun G. et al., 1998].

Для лечения используют те же средства, что и при терапии АИГАТА (см. раздел «Аутоиммунная гемолитическая анемия вследствие наличия тепловых антител»). Результаты спленэктомии варьируемы: у некоторых больных отмечается транзиторное улучшение гематологических показателей, сохраняющееся в течение нескольких месяцев; у других наблюдается урежение частоты рецидивов [Akpek G. et al., 1997]. При рефрактерности к лечению преднизолоном и внутривенному введению IgG.

S.Gurungan и соавт. (1998) рекомендуют проводить курс комбинированной терапии, включающий внутривенное введение Ig (1 г/кг на курс) + Solumedrol (1 г на курс) + винбластин (6 мг/м², максимум — 10 мг на курс) + имуран per os (по 50 мг, 2 раза в день, 3 мес) + даназол (по 200 мг, 2 раза в день, 3 мес). При проведении этого лечения взрослым содержание Нб увеличилось в среднем на 30 г/л и сохранялся в течение 90 дней. По мнению R.Gorlick и соавт. (1998), причиной рефрактерности больных к лечению глюкокор-

тикондами и винкристином является снижение экспрессии р-гликопротеина или MRP (Multidrug Resistance Associated Protein) на T- (CD3, CD4 и CD8) и B-клетках (CD19).

Прогноз при синдроме Эванса неблагоприятный, так как у больных может развиваться хроническая болезнь, включая СКВ [Segel G., 2000].

Иммуно-аллергическая гемолитическая анемия, связанная с приемом лекарств. ГА, связанная с приемом некоторых медикаментов, встречается редко, особенно у детей. Гемолиз возникает в ответ на прием лекарств, которые больной принимал в прошлом. В основе иммуноаллергического лекарственного гемолiza могут лежать следующие основные механизмы:

1) после приема медикамента в организме образуются иммунокомплексы антилекарственных АТ, которые адсорбируются на поверхности мембраны Эр; к этим лекарственным средствам относятся аспирин, фенацетин, рифампицин, хинидин, глафенин и др.; эти антимакиментозные АТ часто относятся к классу IgM, приводят к внутрисосудистому гемолizu, тест Кумбса комплементарного типа, Ig не обнаруживаются (выявляются иммунокомплексы после фиксации комплемента);

2) попадая в кровь, лекарства (пенициллин, ампициллин, цефалоспорины) фиксируются на мембране Эр как гаптен; IgG-АТ, новые или прежде образованные, воздействуют на Эр лишь в присутствии соответствующего медикамента, приводя к внутри- или внесосудистому гемолizu;

3) в некоторых случаях, например при приеме диклофенак-натрия, происходит индукция образования неоАГ на поверхности Эр, которые стимулируют одновременное образование аутоАТ и медикаментозно-зависимых АТ [King K. et al., 1997; Sébahoun G. et al., 1998; Segel G., 2000; Seltam A. et al., 2000].

Однако, помимо перечисленных основных механизмов, развитие ГА может быть обусловлено и другими. J. Вих и соавт. (1998) установили, что при лечении тиреоидита карбимазолом у больных могут обнаруживаться карбимазол-зависимые АТ, которые связываются не только с Эр, но и с лимфоцитами и тромбоцитами. Эти АТ связываются с эритроцитарно-специфическими резус-протеннами и с тромбоцитарной эндотелиальной специфической молекулой (PESAM, CD31), этим объясняется развитие цитопении. Рибавирин также может вызвать ГА. Считают, что препарат может накапливаться внутри Эр, вызывая относительный дефицит АТФ, уменьшение производительности K-Na-насоса, увеличение содержания Band 3 с 1,5 до 12,5%, мембранно-связанных IgG и C3b в 12—17 раз; окислительное повреждение с кластерообразованием Band 3 и отложение на мембране Эр IgG и C3b — все это приводит к внесосудистому гемолизу [De Franceschi L. et al., 1998].

После приема лекарств наступает более или менее длительная фаза сенсibilизации организма к медикаменту, и после повторного его приема наступает острый внутрисосудистый гемолиз с признаками анафилактического шока с последующим развитием гемолиза внесосудистого характера с лейко- и тромбоцитопенией или без нее.

При лабораторном обследовании больного отмечаются все гематологические и биохимические признаки ГА (анемия, ретикулоцитоз, сфероциты, билирубинемия, гипогантоглобинемия и др.). Прямой тест Кумбса непостоянно положителен, типа IgG, IgG + комплемент или комплемент. Диагностически важен тест *in vitro* на появление агглютинации аутологичных или гомологичных Эр в присутствии лекарства. Имеющиеся АТ обычно исчезают в течение по-

следующих недель. Лекарства, которые фиксируются на мембране Эр (пенициллин, цефалоспорины, шеплатин и др.), реагируют с антимедикаментозными АТ, образованными у больных в прошлом при приеме этого препарата, и деструкция Эр происходит в селезенке [Shulman L. et al., 1990; Garratty G., 1998; Shammo J. et al., 1998]. При некоторых лекарствах (хинин, рифампицин, прокаинамид, тенипозид, инсулин и др.) АТ образуют циркулирующие комплексы, которые фиксируются на мембране Эр и вызывают внутрисосудистый гемолиз при фиксации активного компонента на поверхности Эр. У детей до 3-месячного возраста в крови могут определяться антимедикаментозные АТ, пассивно переданные матерью [Sommelet-Olive D., 1995]. У 43% больных СПИДом отмечается АИГА, обусловленная приемом лекарств, выработка АТ на которые происходит на различные препараты, это, возможно, связано с наличием идентичных эпитопов в различных медикаментах [Gonzalez C. et al., 1998].

Лечение АИГА, медикаментозно-опосредованных, предусматривает отмену провоцирующего лекарственного препарата; при необходимости проводят гемотранфузионную коррекцию. Назначают симптоматическую терапию — детоксикационную, против анафилаксии. При развитии ДВС и почечной недостаточности — соответствующие мероприятия [Sommelet-Olive D., 1995; Stroncek D. et al., 1997].

Гемолитическая болезнь новорожденных. ГБН — это заболевание, при котором у ребенка внутриутробно и в течение первых часов — дней после рождения появляются признаки ГА. Причиной развития ГБН является разрушение Эр у плода под влиянием материнских АТ, которые взаимодействуют с АГ на мембране фетальных Эр, которые отсутствуют на поверхности Эр у матери.

Известны более 60 АГ, которые могут вызывать ГБН, но чаще всего заболевание обусловлено D-АГ системы Rh и несовместимостью крови матери и плода по системе АВ0. Редко ГБН обусловлена С- или Е-АГ, а также другими эритроцитарными АГ — С^w, С^x, D^u, Kell, M, Duffy, S, P, MNS, Xg, Lutheran, Diego, Kidd. АнтиLewis AT не вызывают ГБН. При Rh-несовместимости в 90% случаев ГБН обусловлена D-АГ, а на долю С и Е приходится около 10%. Изоиммунная гемолитическая болезнь, связанная с D-АГ, в 3 раза чаще наблюдается у лиц белой расы, чем у чернокожих.

Иммунизация матери с образованием у нее АТ, которые проникают в кровь плода, может происходить тремя способами: 1) путем аллоиммунизации; 2) вследствие посттрансфузионной аллоиммунизации; 3) путем гетероиммунизации.

Проникновение путем аллоиммунизации наблюдается в связи с беременностью, при фетоматеринских кровотечениях, родах, абортгах, прямых и косвенных травмах матки, внематочной беременности, предлежании плаценты, ретроплацентарной гематоме. Аллоиммунизации могут способствовать хориоцентез, амниоцентез, кордоцентез, проводимые в период беременности. Наиболее иммуногенным эритроцитарным АГ, вызывающим аллоиммунизацию у беременной, является D-АГ. Аллоиммунизация происходит вследствие пассажа через плаценту фетальных Эр в циркулирующую кровь матери. Обычно попадание Эр происходит в последние 2 мес беременности. Для первичной иммунизации женщины достаточно попадания в ее кровь менее 0,1 мл крови плода. Эта иммунизация происходит в течение 3—4 нед, иногда больше после первого антигенного стимула, и не всегда АТ серологически выявляются. Вторичный ответ возникает в том случае,

если в кровь женщины попадает тот же АГ. Трансплацентарный пассаж Эр может быть определен количественно методом Kleihauer — в крови реципиента определяют число Эр с HbF.

Обычно первая беременность с рождением Rh-положительного ребенка от Rh-отрицательной матери заканчивается благополучно, у ребенка нет признаков ГБН, но с каждой последующей беременностью Rh-положительным плодом тяжесть иммунизации матери увеличивается, повышается риск рождения ребенка с ГБН, появления анасарки у плода и его смерти *in utero*. После первой беременности Rh-отрицательной женщины Rh-положительным ребенком только менее 10% женщин иммунизируются, если у матери и ребенка имеется одногруппная кровь по системе АВ0; несовместимость по системе АВ0 защищает мать от сенсибилизации путем быстрого удаления Rh-положительных Эр из ее циркулирующей крови своими анти-А и анти-В АТ, которые являются IgM АТ и не проникают через плаценту [Vitlarova J. et al., 1998; Palfi M. et al., 1999].

Проникновение вследствие посттрансфузионной аллоиммунизации. Посттрансфузионные аллоАТ обнаруживаются у 8—10% людей, при этом у 76% из них определяются АТ, имеющие Rh-специфичность [Georgapoulos L. et al., 1997; Regan F. et al., 1997; Romeiras M et al., 1997]. При проведении скрининга крови у большого числа лиц (10 641—55 387) аллоАТ выявлены у 1,09—4,4% [Durgaz F. et al., 1997; Haspl Z. et al., 1997; Ivankovic Z. et al., 1997]. Посттрансфузионная аллоиммунизация возникает у женщин, в прошлом получавших трансфузии несовместимой крови по АГ Эр Rh (D, с, С, Е, е), Kell, Duffy, Kidd и др. [Мороков В.А. и др., 1999; Chabert T. et al., 2000]. Наиболее иммуногенными АГ Эр являются Rh(D), Rh(c), Rh(E)

и Kell. Одна трансфузия Rh⁺ крови вызывает иммунизацию у 80% Rh-отрицательных реципиентов, а при несовместимости по АГ Е, с, Kell риск иммунизации составляет около 10% [Regan F. et al., 1997; Zupanska B., 1997]. При наличии у беременной анти-Kell АТ можно с уверенностью утверждать, что на 90% плод будет иметь отрицательный фенотип Kell, а если мать иммунизирована против Rh (с), то этот АГ будет определяться в Эр у 83% плодов. При наличии у беременной анти-Е АТ у плода ГБН будет проявляться слабо, так как АТ анти-Е относятся к классу IgM, которые не проникают через плаценту.

Исходя из сказанного, необходимо проводить полное определение фенотипов Rh и Kell у женщин, получавших в прошлом гемотрансфузии, даже однократно, так как, как правило, у человека отсутствует один из этих АГ. В профилактике ГБН важное значение приобретает и определение наличия АТ в крови, предназначенной для гемотрансфузии. Но это представляет большую проблему при подборе совместимой крови, Эр которой лишены всех АГ.

Редко, но мать, не получавшая гемотрансфузии, может быть иммунизирована против АГ клеток-предшественниц, и проникновение этих АТ в циркулирующую кровь плода может вызвать у последнего тяжелой гемолиз [Cregut R. et al., 1974; Sender A. et al., 1990]. Исследованиями D.Sesok-Pizzini и соавт. (1997) было установлено, что протеин Kell экспрессирован на эритроидных клетках ранних стадий развития, и анти-Kell АТ вызывают деструкцию не гемоглобинизированные эритроидные клетки, а клетки-предшественницы эритроидного ростка фетальной печени. При наличии у матери АИГАТА возможно рождение здорового ребенка [Olaussen R. et al., 1998].

Роль других АГ, которые вызывают у плода ГБН, не велика. Ряд

АГ большинства систем групп крови могут вызывать ГБН, поскольку образующиеся при иммунизации АТ относятся к классу IgG, и один из этих АГ может находиться на поверхности Эр у плода. Обычно в этих случаях иммунизации не происходит, так как эти АГ Эр обладают низкой иммуногенностью, и трансплацентарное проникновение Эр происходит в небольшом объеме. Но если происходит обильное кровотечение (50—100 мл), то это может привести к смерти плода *in utero* [Sender A., 1995].

Проникновение путем гетероиммунизации. Иммунизация матери с образованием у нее АТ, несовместимость крови по системе АВ0 в этих случаях не связаны ни с беременностью, ни с гемотрансфузиями. Она возникает до беременности и обусловлена контактом женщины с А- и В-генами, которые широко распространены в природе (животные, микроорганизмы). Обычно эта иммунизация затрагивает лиц с 0 группой крови, у 50% которых появляются анти-А и анти-В АТ, имеющие ту же специфичность, что и естественные АТ типа IgG. Исключение составляет группа крови А₂; группы А и В редко служат основой для этой иммунизации [Delaporte B. et al., 1984]. При полном отсутствии этих АТ (гемолизинов) в течение беременности они не играют никакой роли в профилактике, диагностике и прогнозе ГБН. Но, с другой стороны, иногда это объясняет то, что в более позднем периоде могут обнаруживаться АГ А и В Эр, покрывающие не плотно внутреннюю поверхность кровеносных сосудов. У тех беременных, у которых повышен титр гемолизинов, гемолиз обычно появляется у ребенка после рождения и выражен незначительно.

Другие АТ (анти-Р₁, анти-М, анти-Н, анти-Н, анти-Lewis), связанные с гетероиммунизацией, типа IgM, не

вливают на плод, так как они не проникают через плацентарный барьер [Robert V. et al., 1998].

Начиная с 70-х годов XX в., с внедрением в практику метода иммунопрофилактики частота ГБН по иммунизации Rh (D) снизилась, но аллоиммунизация другими АГ, не Rh (D) увеличилась и составляет около 50% от числа всех иммунизаций. По данным Парижского центра перинатологии — гемобиологии, если в 1970 г. аллоиммунизация по анти-D составляла 97,4% от всех аллоиммунизаций, то в 1978 г. — 83,3%, а в 1986 г. — 46,3%; в то же время частота аллоиммунизаций по системе АВ0 в эти годы составляла 3,6%, 17,7% и 53,7% соответственно от всех аллоиммунизаций [Sender A., 1995]. Снижение частоты аллоиммунизации по анти-D связано с внедрением в практику иммунизации против Rh-фактора, проведением гемотрансфузий до и после беременности тщательно подобранной совместимой кровью. Общая частота фетоматеринской антигенной несовместимости Эр составляет 1,75 на 1000 беременностей, из них на долю анти-D — 48%, анти-E — 13,5—15%, анти-Kell — 11—12,7%, анти-c — 10—15,1% и 14% на долю других АГ (Duffy, Kidd, C, в виде исключения анти-A и анти-B) [Fernandes B. et al., 1997; Robert V. et al., 1998]. Приблизительно у каждой третьей беременной обнаруживается комбинация с другими АГ (анти-B, анти-C, анти-Ika, анти-Ikb, анти-M, анти-Cob, анти-S, анти-Fya, анти-H, анти-P, анти-Rh17 и др.) [Fernandes B. et al., 1997; Djordjevic R. et al., 1998].

Наличие аллоиммунизации увеличивает риск развития ГБН и раннее (в течение первых 2 мес жизни ребенка) появление анемии. Лечение этих двух осложнений облегчается, если аллоиммунизация была идентифицирована в течение беременности и была предупреждена ядерная жел-

туха. Несовместимость крови матери и ребенка по системам Kell, с и E может вызвать анемию у плода рано и такую же тяжелую, как и при иммунизации Rh (D). Несовместимость по системе АВ0 иногда может вызвать тяжелую желтуху у новорожденного.

Антиэритроцитарная иммунизация у беременной вызывает гемолитический синдром более или менее рано и более или менее тяжелый у плода или новорожденного. Для того, чтобы возник вторичный ответ у иммунизированной женщины, достаточно проникновения в ее кровь небольшого объема (менее 0,5 мл) крови плода. Антиэритроцитарные АГ, имеющиеся у матери, проникают через плаценту в кровь плода, сенсибилизируют Эр плода, и итогом этого является гемолитическая болезнь. Ответная реакция у плода происходит быстро, обычно через 15 дней после введения АГ. Эти АГ, как правило, относятся к классу IgG. При Rh(D)-иммунизации сначала у беременной увеличивается концентрация АГ в 19S γ -глобулиновой фракции, которые затем замещаются 7S (IgG)-АГ; последние проникают через плаценту в кровь плода, вызывая у него гемолитические проявления.

ГБН редко отмечается в течение первой беременности, так как трансфузии Rh-положительной крови плода в кровь Rh-отрицательной матери обычно происходят в поздний период беременности, ближе к родам, слишком поздно, чтобы сенсибилизировать беременную и передать АТ плоду. Частота иммунизации Rh-отрицательной матери относительно низкая, анти-D АТ встречаются менее чем у 10%, даже после 5 и более беременностей; только 5% детей рождаются с ГБН [Stoll B. et al., 2000].

Гемолиз носит экстравазкулярный характер, в котором принимают участие макрофаги селезенки и пече-

ни плода. Для возникновения гипергемолитического процесса необходимо наличие ряда факторов, которые способствуют фиксации иммунных комплексов на Эр плода, и это обуславливает тяжесть гемолитического процесса у ребенка внутри- или внеутробно. К числу этих факторов относятся:

1) наличие определенных АГ на Эр плода; если Эр матери не несут этих АГ, которые определяются в Эр плода, или же мать в прошлом не была иммунизирована против этих эритроцитарных АГ плода, то у ребенка признаков гемолитической болезни не будет; однако в этих случаях нельзя игнорировать наличие у ребенка материнских антиэритроцитарных АТ, так как при проведении гемотрансфузий могут быть введены Эр, несущие АГ, которые будут мишенью для этих АТ;

2) тип АГ на Эр; в развитии гемолитического процесса играют роль не только иммуногенность определенных АГ Эр, но и степень созревания этих АГ у плода; в зависимости от степени созревания АГ Эр *in utero* A.Sender (1995) разделяет их на три класса (табл. 19) — полные, неполные и нулевые; из всех

АГ Эр практически только АГ D, c и Kell могут вызвать тяжелый антенатальный гемолиз [Brossard Y. et al., 1990]; необходимо помнить о том, что среди Rh-отрицательных Эр 0,51% имеют ослабленный вариант Rh (D)-положительных Эр; из общего числа всех этих случаев в 70% имеется качественная депрессия, связанная с перестройкой позиции на хромосоме вблизи C-АГ, а в 30% имеется количественная депрессия, т. е. Эр несут истинный D^U-АГ [Hafner V. et al., 1998]; об этом следует знать, так как большой процент ошибочного определения Rh-принадлежности приводит к трансфузионным реакциям; при гемотрансфузии Эр с D^U-АГ у больных могут возникнуть аллоАТ анти-D [Domen R. et al., 1997]; все АГ системы Rh иммуногенны (исключая АГ d, который аморфен), но наиболее сильным является Rh (D)-АГ, и анти-D АТ определяются в сыворотке беременной в 30 раз чаще, чем анти-c АТ [Vitlarova J. et al., 1998]; слабый фенотип Rh⁺ (D^U) у плода никогда не вызывает у него тяжелого гемолиза;

3) степень созревания СМФ; фагоцитоз сенсibilизированных Эр не происходит ранее 4 мес гестации из-за незрелости СМФ; этим объясняется тот факт, что гибель плода происходит в последние месяцы гестации;

4) кинетика проникновения АТ от матери плоду; трансплацентарное проникновение АТ прогрессивно увеличивается по мере возрастания сроков гестации — в возрасте 20 нед гестации титр АТ у плода составляет 10% от такового у матери и достигает уровня у матери к 35 нед гестации [Jacquelin Y. et al., 1981]; при этом переход IgG может происходить против градиента плотности, и титр АТ у плода может быть в 2—3 раза выше, чем в крови у матери [Brossard Y. et al., 1990];

5) наличие иммунизации матери.

ТАБЛИЦА 19. Развитие антигенов эритроцитов у плода и новорожденных (по A.Sender, 1995)

| Развитие антигенов <i>in utero</i> | Система групп крови | Антигены эритроцитов |
|------------------------------------|---------------------|----------------------|
| Полные | Rh | Cc DEc |
| | Kell | Kk |
| | mn Ss | MN Ss |
| | Duffy | Fy(a) — Fy(b) |
| | Kidd | Jk(a) — Jk(b) |
| Неполные | AB0 | A—B |
| | P | P ₁ |
| | Lutheran | Lu(a) — Lu(b) |
| Нулевые | Lewis | Le(a) — Le(b) |

Все указанные факторы являются необходимым условием для возникновения гемолиза у плода и новорожденного ребенка. Гемолитический процесс начинается с взаимодействия Fc Ig с образованием иммунных комплексов, которые связываются с Fc-рецептором на мембране макрофагов печени и селезенки. Эр захватываются этими клетками, происходит активация макрофагов, эритрофагоцитоз, и под действием ферментов и свободных радикалов макрофагов происходит лизис мембраны Эр, освобождение внутреннего их содержимого с последующим метаболизмом Hb. Этот гипергемолиз приводит к тому, что у ребенка (плода) могут развиваться анемия и гипербилирубинемия.

Схематично можно выделить две стадии анемического синдрома:

1) первую, функциональную, обратимую при коррекции анемии *in utero* гемотрансфузиями;

2) вторую, с поражением различных органов и систем, когда содержание Hb менее 30 г/л, более трудно корригируемую гемотрансфузиями [Brossssard Y. et al., 1990].

Анемия может возникнуть у плода и у новорожденного ребенка. Анемия у плода развивается постепенно. При возникновении анемии у плода на первоначальном этапе происходит включение адаптационных механизмов — увеличивается ОЦК, происходит активация эритропоэза в печени и селезенке, повышается образование Эпо, в крови увеличивается число ядерных клеток эритроидного ряда и на этом основании в прошлом эту форму гемолитической болезни называли «эритробластозом плода». До середины II триместра гестации толерантность плода к анемии удовлетворительная. Это, возможно, связано с тем, что у плода в этот период отмечается умеренная потребность в кислороде. По мере внутриутробного развития ребенка,

начиная с III триместра гестации, толерантность к анемии снижается, анемия становится декомпенсированной, появляются признаки сердечной недостаточности, увеличиваются гидростатическое давление и недостаточность кровообращения, приводящие к появлению отеков и асцита. В этот период содержание Hb снижается до 30—60 г/л, отмечается гипоальбуминемия за счет гемодилюции и снижения функции печени. Если в этот период были выявлены указанные изменения и предпринята коррекция анемии гемотрансфузиями, то быстро наступает регрессия анемии, отеков и асцита.

Однако, если вовремя не приняты меры к устранению начальных признаков анемии и анасарки, то наступает поздняя стадия болезни. В этот период наблюдаются изменения в различных органах и системах. Вследствие расширения плацдарма эритропоэза происходит гипертрофия печени с расстройством венозного возврата и появляются признаки печеночной недостаточности (гипоальбуминемия), и это приводит к развитию отечного синдрома или усугубляет его (выпот в серозных полостях, брюшной полости, отек плаценты, гидроамнион). Гипоксия частично связана с печеночной недостаточностью и может быть пусковым механизмом в развитии почечной недостаточности. В эту позднюю стадию содержание Hb обычно менее 30 г/л, в сыворотке крови повышена активность аминотрансфераз, появляется тромбоцитопения. Если в этот период предприняты гемотрансфузии *in utero*, то может наступить регрессия анасарки с ее исчезновением через несколько недель.

Вторым моментом, отягчающим ГБН, является гипербилирубинемия, которая никогда не отмечается у плода. Вследствие повышенного разрушения Эр в большом количестве

образуется неконъюгированный билирубин, являющийся токсичным катаболитом Hb. У плода элиминация билирубина обеспечивается через плаценту в кровь матери, чем и объясняется отсутствие гипербилирубинемии у плода. После рождения ребенка этот защитный механизм утрачивается, повышенная преждевременная гибель Эр сохраняется и в крови новорожденного отмечается нарастающая гипербилирубинемия. Физиологическая незрелость ферментов печени, трансформирующих неконъюгированный билирубин в конъюгированный, и экскреции билирубина с желчью приводят к тому, что в организме новорожденного накапливается в большом количестве токсичный катаболит Hb — неконъюгированный билирубин. Катаболизм 1 г Hb приводит к образованию 35 мг неконъюгированного билирубина, и это нормальное количество для доношенного новорожденного ребенка, но это количество в 6 раз больше, чем образуется у здорового взрослого человека. К моменту рождения ребенка у него снижена активность глюкуроилтрансферазы, которая достигает 30% активности взрослого человека только через несколько дней после рождения.

Главными мишенями неконъюгированного билирубина являются серые образования ствола и головного мозга, но могут вовлекаться в процесс спинной мозг, мозжечок, черепные нервы. Клинически нейротоксичность билирубина проявляется у ребенка в виде ядерной желтухи, которая может приводить к психомоторным и сенсорным расстройствам, и даже к смерти.

Клинические признаки ядерной желтухи у новорожденных можно разделить на 3 фазы [Unal D. et al., 1998 ; Maisels M. et al., 2001]:

1) в 1-ю неделю отмечается гипотония, летаргия, ребенок плохо сосет;

2) во 2-ю неделю появляются общая гипертония с опистотонусом, ребенок стонет, повышена температура тела;

3) в 3-ю неделю развивается гипотония.

При гипертонии наблюдаются признаки экстрапирамидных нарушений (атетоз, который может проявиться в 5—10-летнем возрасте, нарушения движения глазных яблок, слуха, дисплазия зубов).

Клинические проявления ГБН широко варьируют от случая к случаю — от умеренного гемолиза, выявляемого в 15% случаев только лабораторными тестами, до тяжелой анемии с компенсаторной эритроидной гиперплазией с увеличением печени и селезенки. При декомпенсированной анемии ребенок бледен, имеются признаки сердечной недостаточности (увеличение сердца, систолический шум, респираторный дистресс), анасарка, может наблюдаться циркуляторный коллапс, *hydrops foetalis* (ее диагностируют в том случае, если в двух и более компартментах организма скапливается аномальная жидкость — кожа, плевральная, перикардальная и брюшная полости, плацента, амниотическая жидкость). *Hydrops foetalis* может приводить к смерти ребенка внутриутробно или же вскоре после его рождения. Тяжесть *hydrops foetalis* связана со степенью анемии и гипоальбуминемии. Кроме того, при сердечной недостаточности может увеличиваться давление в правом сердце, что способствует развитию отеков и асцита. Вследствие отека легких, выпота в плевральную полость в постнатальном периоде у ребенка наступает асфиксия, после иечения которой может развиваться респираторный дистресс-синдром. При тяжелом течении ГБН у ребенка могут наблюдаться геморрагии (петехии, пурпура), тромбоцитопения, связанная либо со снижением тромбоцитопоза, либо с ДВС крови.

Вторым характерным признаком ГБН является желтуха. Изредка она может отсутствовать к моменту рождения ребенка, так как происходит клиренс водорастворимого билирубина. Но в типичных случаях отмечается желтушное окрашивание амниотической жидкости, пуповины, и в течение первых суток после рождения ребенка желтуха распространяется повсеместно, сопровождаясь бледностью кожи и видимых слизистых оболочек; отмечаются гепато- и спленомегалия. Это связано с тем, что происходит массивный гемолиз, глюкуроноконъюгационная и экскреторная системы не могут справиться с гипербилирубинемией. Билирубин аккумулируется в различных органах и системах, наблюдается высокий риск развития энцефалопатии, ядерной желтухи. В тяжелых случаях ГБН у ребенка может отмечаться гипогликемия, которая может быть обусловлена гиперинсулинизмом и гипертрофией клеток панкреатических островков.

Дети, у которых антенатально были признаки эритробластоза (анемия, водянка) и которым проводились гемотрансфузии *in utero*, также могут рождаться с гипербилирубинемией, которая отражает тяжесть гемолиза и функциональное состояние печени. Если проводились гемотрансфузии плоду и после этого у ребенка внутриутробно исчезли анемия и водянка, то постнатальное течение, как правило, доброкачественное. Но анемия от продолжающегося гипергемолиза может маскироваться проводимыми гемотрансфузиями *in utero*, а клинические проявления ГБН могут быть стертыми из-за спонтанного преждевременного рождения ребенка [Stoll V. et al., 2000].

При несовместимости крови плода и матери по системе АВ0 ГБН чаще всего проявляется после рождения, в течение первой недели жизни ребенка в виде анемии и желтухи.

На разных этапах развития плода и новорожденного ребенка используются ряд лабораторных тестов, которые позволяют определить наличие несовместимости антигенного состава Эр плода и матери, контролировать течение ГБН и предпринимать соответствующие мероприятия для рождения здорового ребенка. Важное значение имеет тщательно собранный акушерский анамнез.

При опросе беременной женщины следует сделать акцент на наличие факторов, которые могли бы predispose к иммунизации (гемотрансфузии, аборт, беременность, наличие ГБН в предшествующую беременность и др.), определить развернутый антигенный состав Эр у родителей, так как не исключена возможность прокиновения от плода слабых АГ Эр. Если при опросе беременной установлено, что имеется подозрение на ее иммунизацию, то у роженицы проверяют содержание IgG в сыворотке крови к D-АГ на 12—16-, 28—32- и 36-й неделе беременности. Резус-принадлежность плода может быть установлена при изучении фетальных Эр или фетального ДНК с помощью реакции PCR [Muniz-Diaz E. et al., 1997; Zago-Novaretti M. et al., 1997; Avent N. et al., 2000].

Определение титра АТ в сыворотке беременной с помощью непрямого теста Кумбса дает возможность установить факт наличия иммунизации у матери и риск развития тяжелой анемии. Прогнозирование зависит и от сроков беременности, в течение которых определяются АТ, так как имеет значение длительность экспозиции плода к соответствующему титру АТ и типу АТ. Если в начале беременности титр АТ составляет 1:64 и более и отмечается быстрый его рост, то это заставляет думать о ГБН, хотя титр АТ слабо коррелирует с тяжестью болезни. Если при исследовании непрямого

теста Кумбса титр АТ менее 1:16, то это позволяет исключить факт иммунизации анти-Kell АТ, но может наблюдаться иммунизация анти-с АТ. Если у беременной титр анти-D АТ 1:16 и более в любой период беременности, то следует провести мониторинг с использованием амниоцентеза, взять пуповинную кровь для исследования, обследовать плод с помощью УЗИ. Определение титра АТ необходимо проводить каждые 2—3 нед, начиная с 4 мес гестации.

Эхография является безопасным методом и может быть повторена многократно. Под ее контролем можно брать кровь у плода для исследований. Этот метод является очень ценным для диагностики начальных признаков декомпенсации сердечно-сосудистой деятельности, до развития анасарки у плода. В этот период у плода отмечаются изменения сердечного ритма, отек кожи волосистой части головы и конечностей, увеличение печени, признаки начинающегося асцита, экссудат в перикарде, увеличение объема амниотической жидкости и толщины плаценты. Если на этом этапе не предприняты терапевтические мероприятия, то происходит прогрессирование процесса — увеличивается отечность кожи, асцит, нарастает количество жидкости в серозных полостях, амниотической жидкости, утолщается плацента, стенки толстой кишки, увеличиваются печень, селезенка, сердце. Вследствие увеличения экстрамедуллярного гемопоэза печень сдавливает внутрипеченочные сосуды, происходит венозный стаз, отмечается дисфункция гепатоцитов с уменьшением синтеза альбумина, портальная гипертензия [Oerkes D. et al., 1997; Mari G., 2000; Goddard R., 2001]. На наличие анемии у плода указывают увеличение у него скорости кровотока и индекса пульсации грудной части аорты [Hecher K. et al., 1995; Mari G. et al., 1995].

Обычно водянка у плода наступает при снижении у него содержания Hb ниже 50 г/л, но часто наблюдается при содержании Hb 70—90 г/л. Если с помощью УЗИ у плода выявлены признаки гемолиза (гепато- и спленомегалия), водянка, то необходимо проводить амниоцентез или исследовать кровь плода, взятую из сосудов пуповины.

Амниоцентез можно проводить начиная с 18—20 нед гестации. Его проводят для определения наличия и степени гемолиза у плода. Вследствие гемолиза Эр плода наступает гипербилирубинемия, которая является первым признаком наступающей анемии [Nicolaidis K. et al., 1986]. Часть билирубина, но не весь, удаляется плацентарным путем, но значительная часть попадает в амниотическую жидкость. Амниоцентез следует производить, если роженица сенсибилизирована (титр АТ 1 : 16 и больше), если отец ребенка Rh-положительный или если на УЗИ у плода имеются признаки гемолиза (гепато- и спленомегалия), водянка. Если у плода определяется выраженная гипербилирубинемия или водянка, или признаки анемии, то у него исследуют содержание Hb в пуповинной крови и при необходимости проводят гемотрансфузии.

Брать кровь из пуповины плода возможно при сроках 15—22 нед гестации. При этом возможно объективно количественно определить степень анемии у плода и, кроме того, дать дополнительную информацию (определить группу крови, число ретикулоцитов и тромбоцитов, степень гипоксии, исследовать тест Кумбса и др.). Однако взятие крови может увеличить частоту заболеваний у плода (у 0,8—3,1%) и реактивации иммунизации (вследствие фетоматеринского кровотока увеличение титра АТ после кордоцентеза и амниоцентеза) [Bowman J. et al., 1994; Robert V. et al., 1998]. При

кордоцентезе у плода могут возникнуть осложнения в виде брадикардии, длительного кровотечения из места укола, появление гематомы в стенке сосуда, тромбоз сосуда, потеря амниотической жидкости, преждевременное рождение ребенка, отслойка плаценты и др. [Donner C. et al., 1994]. По данным F.Daffos (1991), смертельные исходы от кордоцентеза составляют 0,5—2,7%.

Основными направлениями в лечении ГБН являются:

1) предотвращение смерти плода *in utero* и новорожденного ребенка от тяжелой анемии и гипоксии;

2) предупреждение развития нейротоксичности от гипербилирубинемии.

В 1963 г. F.Liley впервые применил интраперитонеальное введение крови плоду, совместимой с кровью матери. Эр из перитонеальной полости проникали в общую систему кровообращения плода через лимфатическую систему, и после этой процедуры были получены обнадеживающие результаты лечения ГБН. С тех пор техника гемотрансфузий плоду была усовершенствована, и сейчас обменные гемотрансфузии *in utero* осуществляют с использованием вены пуповины. Эти обменные гемотрансфузии показаны при наличии анемии у плода (гематокритное число меньше 0,30) и эффективны даже при наличии у него анасарки, которая регрессирует под влиянием этого лечения. Плоду вводят концентрированные Эр, которые подбирают по совместимости с сывороткой крови матери; они должны быть от ЦМВ-отрицательных доноров и облученные, чтобы избежать БТПХ. Объем гемотрансфузий зависит от гестационного возраста плода и составляет 2—15 мл. Контролируют эффективность этого метода лечения путем определения содержания Нб исходно и после гемотрансфузии; Нб должен быть в пределах 160—170 г/л. Об-

менные гемотрансфузии проводят не чаще 1 раза в месяц [Poissonier M. et al., 1989; Sender A., 1995]. Благодаря частичным обменным гемотрансфузиям уменьшается билирубинемия, удаляются сенсибилизированные Эр, снижается титр АТ и повышается гематокритное число. По данным Y.Brossard и соавт. (1990), гемотрансфузии *in utero* увеличили выживаемость плодов без анасарки до 90%, а при ее наличии — до 60—70%.

Лечение новорожденного ребенка, родившегося от аллоиммунизированной матери, должно быть комплексным. Если при рождении у ребенка имеются признаки тяжелой ГА (бледность, петехии, отеки, асцит, гепато- и спленомегалия, желтуха и др.), то проводят экстренную терапию, включающую стабилизацию температуры тела, мониторинг с обменной гемотрансфузией до ее проведения. Эта терапия включает в себя коррекцию ацидоза (вводят натрия гидрокарбонат из расчета 1—2 ммоль/кг), производят гемотрансфузии небольшого объема для коррекции анемии, вентиляцию легких. Если у ребенка в пуповинной крови содержание Нб 100 г/л и меньше, а билирубина более 855 мкмоль/л, то немедленно проводят обменные гемотрансфузии, так как у таких детей очень быстро развиваются опасные для жизни анемия и гипербилирубинемия. Наличие ядерной желтухи является абсолютным показанием к обменной гемотрансфузии. С внедрением в практику гемотрансфузий *in utero* снизилась частота рождения детей с подобной симптоматикой.

Если к моменту рождения ребенка от матери с аллоиммунизацией показатели Нб, гематокритного числа и билирубина патологически изменены, то у него каждые 4—6 ч (или с более удлиненным интервалом, если указанные показатели незначительно отличаются от нормальных) исследу-

ют эти параметры. Если в первые 6 ч содержание билирубина в сыворотке крови составляет более 102,6 мкмоль/л, а во вторые 6 ч больше 171 мкмоль/л, то прибегают к изоволеметрической обменной гемотрансфузии; это составляет приблизительно 2 объема крови ребенка (85 мл/кг × 2). Для обменных гемотрансфузий используют свежую кровь группы 0 (I), Rh-отрицательную, с низким титром анти-А и анти-В АТ, совместимую с сывороткой крови матери по непрямой реакции Кумбса.

При использовании донорской крови, в которую в качестве антикоагулянта добавлен натрия цитрат, следует помнить о том, что у детей с ацидозом, сепсисом, шоком, гипоксией может развиваться острый ацидоз, так как в подобной крови в избытке содержится кислота, создавая рН крови 7—7,2. В последующем в более поздней стадии после переливания цитратной крови у ребенка может возникнуть метаболический ацидоз. Поэтому для гемотрансфузий предпочтительнее использовать кровь с антикоагулянтом гепарином. Такая кровь лишена всех указанных недостатков. При обменных гемотрансфузиях у детей периодически необходимо исследовать рН и PO₂ крови, так как нередко в период проведения этих процедур у реципиента возникают ацидоз и гипоксия. Следует помнить о том, что как до обменных гемотрансфузий, так и после них через 1—3 ч у ребенка могут быть признаки гипогликемии.

Обменные переливания крови обеспечивают профилактику неврологических осложнений путем снижения гипербилирубинемии, коррекцию анемии, замены сенсibilизированных Эр, которые гемолизуются совместимыми Эр. При проведении гемотрансфузий следует придерживаться правил совместимости крови (табл. 20). В соответствии с этими

ТАБЛИЦА 20. Правила совместимости крови по системе АВ0 у новорожденных, которых следует придерживаться

| Группа крови у новорожденного ребенка | Группа крови у матери | Кровь для трансфузий |
|---------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| 0 | 0—А—В | 0 |
| А | А—АВ | 0—А |
| | 0—В | 0 |
| В | В—АВ | В—0 |
| | 0—А | 0 |
| АВ | А | А—0 |
| | В | В—0 |
| | АВ | АВ—А—В—0 |
| 0—А—В—АВ | Неизвестна | 0 |

правилами группа крови, которую вводят ребенку, должна содержать АГ группы крови матери и не должна содержать АГ, которые служат мишенями для АТ. Она должна быть Rh-отрицательной при стандартной болезни анти-Rh, но Rh-положительной (СС) при болезни анти-с. Перед гемотрансфузиями каждый раз — лабораторно исследовать совместимость сыворотки крови матери с Эр, которые вводят ребенку.

По мнению D.Unal и соавт. (1998), введение ребенку внутривенно IgG в течение первых суток после рождения снижает частоту необходимости использования обменных гемотрансфузий. Это связано с тем, что IgG блокирует Fe-рецептор макрофагов, уменьшая гемолиз. Однако не определены оптимальные дозы препарата.

При обменных гемотрансфузиях у 5—10% детей возникают острые осложнения: брадикардия, цианоз, транзиторный спазм сосудов, тромбоз, апноэ с брадикардией, редко наблюдается некротизирующий энтероколит. Риск смертельного исхода составляет 3 на 1000 процедур. Возможна трансмиссия вирусных инфекций (ЦМВ, ВИЧ, гепатита и др.) [Stoll B. et al., 2000].

У детей с ГБН или же которым проводились обменные гемотрансфузии, или же трансфузии внутриутробно нередко возникают поздние осложнения. К их числу относятся анемия, которая может быть гемолитического или гипорегенераторного характера, для коррекции которой используют препараты железа, Эпо, иногда гемотрансфузии. Может возникнуть нерезко выраженная БТПХ в виде диареи, появления сыпи на теле, эозинофилии, гепатита. Возможна персистирующая желтуха с увеличением в крови содержания прямого и непрямого билирубина; причина этого явления не ясна. В более позднем периоде у ребенка могут проявиться признаки тромбоза воротной вены печени с развитием портальной гипертензии. Наиболее вероятной причиной этого осложнения является длительное травмирование или септическое состояние с травмированием пуповинной вены.

Наряду с обменными гемотрансфузиями, в комплексе мероприятий лечения ГБН необходимо использовать средства и методы, способствующие снижению гипербилирубинемии, так как в противном случае могут возникнуть необратимые изменения в ЦНС. Для этого используют фототерапию, инфузии альбумина, прием *per os* фенобарбитала, металлопорфирины.

Впервые фототерапия была применена R.Cremer и соавт. в 1958 г., и с тех пор она прочно заняла место в ряду средств для борьбы с гипербилирубинемией (гемолитического происхождения). Для фототерапии используют «синий» свет. Под действием фотонов молекулы билирубина, находящиеся в коже, могут подвергаться окислению, конфигурационной или структурной изомеризации, и эти фотопродукты билирубина становятся более водорастворимыми, чем естественный неконъюгированный билирубин, и могут экскретиро-

ваться с желчью или с мочой без предварительной глюкуронизации. Это способствует уменьшению риска проникновения билирубина в клетки головного мозга с развитием ядерной желтухи.

Эффективность фототерапии максимальна, если ее применяют через 24—48 ч после появления желтухи. При ГБН, связанной с несовместимостью крови матери и ребенка по системе АВ0, фототерапию рекомендуют применять у тех детей, у кого прирост билирубина составляет свыше 100 мг/л за 12 ч. При ГБН, возникшей при несовместимости по Rh-фактору, фототерапию проводят при увеличении содержания билирубина свыше 10 мг/л за 1 ч [Sender A., 1995]. Американская академия педиатрии рекомендует проводить доношенным новорожденным детям без выраженного гемолиза фототерапию, если через 3 сут после рождения билирубинемия составляет более 119,7 мкмоль/л, или же при билирубинемии свыше 340 мкмоль/л; если после фототерапии содержание билирубина сохраняется выше 430 мкмоль/л, то следует проводить обменные гемотрансфузии [Unal D. et al., 1998].

Для лечения гипербилирубинемии назначают также внутривенно раствор альбумина (1 г/кг) на глюкозе. Эффект от использования этого белка достигается тем, что альбумин связывается с неконъюгированным билирубином. Назначают также фенобарбитал, который способствует глюкуронизации билирубина. Установлено, что если женщинам за 10—15 дней до родов назначать фенобарбитал, то при ГБН, обусловленной несовместимостью крови по системе АВ0, в 6 раз снижаются показания к обменным гемотрансфузиям у ребенка. Рекомендуется назначать металлопорфирины, которые снижают степень гемолиза путем блокады гемоксигеназы [Robert V. et al., 1998; Stoll B. et al., 2000].

В эру до применения методов профилактики Rh-сенсibilизации риск первичной сенсibilизации Rh-отрицательной беременной составлял 10—20%. После внедрения в практику использования человеческого анти-D глобулина этот риск стал менее 1% и, по данным V.Robert и соавт. (1998), составляет 1,18 на 1000 родившихся детей. Профилактика Rh-иммунизации введением Ig анти-D наиболее эффективна, если проводить ее в течение первых 72 ч после потенциального фетоматеринского кровотечения (роды, травмы живота, аборт, амниоцентез и др.). IgG анти-D оказывает действие на первичный иммунитет, и эффективной дозой для предупреждения этой первичной реакции является введение внутримышечно 20 мкг анти-D IgG на 1 мл Rh-положительных Эр у женщины. Для более точного расчета дозы используют тест Kleihauer, хотя на практике это не всегда выполняется. Если через 24—48 ч тест Kleihauer положителен (в периферической крови матери на 10 000 Эр определяются более 5 Эр, содержащих HbF), то дозу Ig анти-D увеличивают до 100 мкг. Профилактика ГБН предусматривает также введение всем Rh-отрицательным не иммунизированным роженицам, у которых родились Rh-положительные дети, в течение 72 ч после родов 100 мкг анти-D IgG. Считается, что введение человеческого анти-D глобулина при гестации 28—32 нед и в период после родов более эффективно, чем однократная доза, так как резко снижает риск возникновения ГБН [Sender A., 1995; Stoll B. et al., 2000].

ГБН, связанная с несовместимостью крови матери и плода по системе АВ0, встречается реже, чем при несовместимости по Rh(D)-фактору. Обычно мать имеет 0(I) группу крови, а ребенок А(II) или В(III), хотя несовместимость по системе АВ0 отмечается в 20—25 случаях

беременности, но только у 10% детей развивается ГБН, и обычно дети имеют группу А, которая более АГ, чем А₂. Низкая частота ГБН при несовместимости матери и плода по системе АВ0 связана с тем, что АВ0-факторы обладают низкой иммуногенностью. Хотя анти-А и анти-В АТ определяются до иммунизации («естественные» АТ) они обычно находятся во фракции 19S (IgM) γ-глобулина, и они не проникают через плацентарный барьер. Однако неполные АТ (альбуминактивные) к АГ А могут находиться в 7S (IgG)-фракции и проникают через плацентарный барьер, вследствие чего может возникнуть изоиммунная гемолитическая болезнь. Матери, которые были иммунизированы при прежней несовместимости по системе АВ0 беременности, также содержат АТ в 7S γ-глобулиновой фракции, и эти иммунные АТ являются первичным медиатором в АВ0-изоиммунной болезни.

Клинические проявления ГБН при несовместимости по системе АВ0 у большинства детей выражены умеренно, проявляются обычно в виде желтухи, отсутствует бледность, крайне редко может быть *hydrops foetalis*. Размеры печени и селезенки нормальные или незначительно увеличены. Желтуха обычно появляется в первые 24 ч, может быть резко выраженной с симптомами и признаками ядерной желтухи.

Диагноз устанавливают на основе клинических и лабораторных данных. Прямой тест Кумбса положителен в 50% случаев. Анемия обычно отсутствует, но у некоторых детей содержание Hb снижено до 100—120 г/л, могут наблюдаться сфероциты, полихромазия Эр, эритрокардиоциты в периферической крови, снижение осмотической резистентности Эр. Иногда отмечается ретикулоцитоз до 10—15%. Гипербилирубинемия может быть единственным аномальным признаком, причем содер-

жание неконъюгированного билирубина в сыворотке крови может составлять 342 мкмоль/л и более. В диагностике болезни важное значение приобретают скорость появления билирубинемии и степень ее прогрессирования у ребенка, особенно если мать имеет группу крови 0(I). В этом же плане может помочь определение титра анти-А и анти-В АТ и их выявление на Эр ребенка с помощью метода элюции.

Течение ГБН при несовместимости по системе АВ0 может осложняться поражением нервной системы при быстром нарастании билирубинемии в течение нескольких часов, поэтому для своевременной профилактики этого осложнения следует дважды в течение суток и чаще определять содержание билирубина в сыворотке крови и скорость ее нарастания, и при необходимости применять обменные гемотрансфузии с использованием крови 0(I) группы и Rh, идентичного имеющемуся у ребенка. Может появиться анемия, для коррекции которой требуется заместительная гемотрансфузионная терапия.

Относительно редко (менее 5% от всех случаев ГБН) отмечается гемолитическая болезнь, связанная с несовместимостью Эр матери и плода по АГ Е, с, Kidd, Duffy и др. При наличии несовместимости по указанным АГ ГБН у детей протекает с гипербилирубинемией, анемией [Zago-Novaretti M. et al., 1997; Yazdanbakhsh K. et al., 1998; Han K. et al., 2000]. При наличии анти-Kell АТ ГБН может протекать с анемией, в виде *hydrops foetalis*, при этом болезнь может быть не связана с предшествующим акушерским анамнезом. В этом отношении весьма интересны наблюдения и исследования, проведенные D.Sesok-Pizzini и соавт. (1997). Согласно данным этих авторов, протеин Kell экспрессирован на ранних эритроидных клетках-

предшественницах фетальной печени, но не на аналогичных элементах пуповинной крови. Это указывает на то, что эритроидные клетки-предшественницы фетальной печени являются первичной мишенью для анти-Kell АТ.

В плане дифференциальной диагностики ГБН следует учитывать, что желтухи у новорожденных могут быть обусловлены системным прогрессирующим гемолизом, как и при антигенной несовместимости крови матери и плода, при различных конституциональных или функциональных аномалиях Эр. К их числу относятся:

— наследственный сфероцитоз, который у 50% детей впервые проявляется в виде желтухи новорожденных; его диагностика затруднена, если отсутствует семейный анамнез, поскольку гематологические признаки такие же, как и при несовместимости крови матери и плода по системе АВ0;

— дефицит активности Г-6-ФД в Эр; при нем степень гемолиза может быть выражена в различной степени, за исключением развития анасарки; для подтверждения диагноза могут помочь выяснение семейного анамнеза, этническое происхождение больного; не следует забывать, что болезнь может отмечаться и у девочек, если они двойные гетерозиготы;

— дефицит активности ПК в Эр встречается редко, но при нем гемолиз очень тяжелый;

— гемоглобинопатии редко являются причиной желтухи, так как у новорожденного преобладает HbF;

— наследственные эллиптоцитоз, стоматоцитоз, пикноцитоз, дефицит активности ДФГМ и др. очень редко могут быть причиной гемолиза;

— медикаментозный гемолиз, вызванный приемом синтетического витамина К, использованием окситоцина;

— локализованный гемолиз вследствие резорбции крови из гема-

том (кефалогематома, субкапсулярная подпеченочная гематома и др.).

Раннее появление желтухи и затянувшаяся желтуха могут имитировать ГБН и другие состояния, не гемолитического характера. Это могут быть:

— синдром Криглера — Найяра I-го типа, диагностика которого возможна только после изучения биоптата печени (подробнее см. соответствующий раздел);

— галактоземия;

— различные нарушения развития желудочно-кишечного тракта (атрезия, стеноз желчевыводящих путей и др.);

— желтуха от «материнского молока» возникает у детей к концу первой недели жизни, наблюдается приблизительно у 3% новорожденных и связана не с нарушением процесса глюкуронизации, а с ферментом липопротеинлипазой; аргументом в пользу ее диагностики могут служить исчезновение желтухи при отказе кормления материнским молоком в течение 48—72 ч или же кормление пастеризованным материнским молоком, в котором фермент разрушен;

— различные инфекции.

Благодаря внедрению методов профилактики, лечения детей внутриутробно и постнатально выживаемость при ГБН значительно увеличилась. Если в 1960 г. выживаемость составляла 30%, то в последние годы она увеличилась до 80—90%. Однако 10—20% детей погибают; основные причины смерти обусловлены инвазивными диагностическими и терапевтическими процедурами, перинатальной смертностью и *hydrops foetalis*. При отсутствии лечения в антенатальный период риск смерти *in utero* для Rh-положительных плодов от Rh-отрицательной матери составляет 10—15% [Rodek C. et al., 1993; Oepkes D. et al., 1997; Robert V. et al., 1998].

ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

(«МЕХАНИЧЕСКИЕ»)

С ФРАГМЕНТАЦИЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ

Эта группа ГА является гетерогенной, заболевание протекает с внутрисосудистым гемолизом с появлением в крови повышенного количества шизоцитов. Эти ГА могут быть вызваны либо аномалией небольших кровеносных сосудов, либо при контакте крови с аномальными изменениями сердца и крупных кровеносных сосудов, искусственными клапанами сердца, при экстракорпоральном кровообращении, ожогах и др. К числу заболеваний и состояний, при которых наблюдается фрагментация Эр, относятся [Sommet-Olive D., 1995]:

I. Аномалии малых кровеносных сосудов:

- 1) ГУС;
- 2) ТТП;
- 3) гемангиома-эндотелиома почек;
- 4) иммунные заболевания (СКВ, узелковый периартериит, синдром Вегенера, болезнь Кавасаки и др.);
- 5) раковые заболевания, болезни сосудов;
- 6) легочная гипертензия;
- 7) септицемия с синдромом ДВС;
- 8) обширные ожоги.

II. Аномалии сердца и крупных сосудов:

- 1) внутрисердечные протезы и клапаны;
- 2) вальвулопатия, коарктация аорты.

В основе патогенеза ГА, вызванных фрагментацией Эр, лежит механическое повреждение Эр при прохождении через измененные (поврежденные) сосуды и сердце. Это могут быть капилляры с отложением в них фибрина при ДВС крови, ГУС, ТТП, и др., искусственные клапаны и др. Но общими для всех из этих состояний и болезней являются наличие ГА с внутрисосудистым гемолизом, гемоглобинурия и гемосидеринурия с потерей железа с мочой, анемия с ретикулоцитозом и большим количеством в крови шизоцитов, зазубренных фрагментированных Эр. Прогноз болезни зависит от причин, вызвавших ГА, и от применяемого лечения.

Гемолитико-уремический синдром. ГУС впервые описан С. Gasser и соавт. в 1955 г. Синдром характеризуется триадой признаков: микроангиопатической ГА, тромбоцитопенией и ОПН [Аксенова М.Е. и др., 2000].

ГУС — это острое заболевание у детей первого года жизни и младенческого возраста, чаще выявляется у детей первых четырех лет жизни (до 90% от всех случаев ГУС). Обычно синдром возникает после острого гастроэнтерита с появлением описанной выше клинико-гематологической триады и иногда неврологических симптомов. ТТП имеет сходную клинико-гематологическую картину с ГУС, но объектом ее поражения являются в основном лица юношеского и зрелого возраста, и в клинической картине доминируют признаки поражения ЦНС, поэтому в последние годы некоторые авторы, представляя данные об этих синдромах, называют их как ТТП/ГУС [Silva V. et al., 1997; Lara P. et al., 1998]. По сути дела, эти два синдрома отличаются друг от друга клинически тем, что ГУС возникает в основном у детей до 4-летнего возраста с доминированием в клинической картине признаков ОПН, а ТТП свойственна для лиц юношеского и зрелого возраста с доминированием неврологической симптоматики, и нередко синдром рецидивирует.

ГУС чаще всего возникает после гастроэнтерита, вызванного *E. coli* O157:H7 [Pavia A. et al., 1990; Sommelet-Olive D., 1995]. Этот патоген передается от домашних животных через молоко, плохо обработанное мясо. Эпидемические вспышки (68% от всех случаев возникают в период мая — сентября), после употребления яблок, купания в зараженных водоемах. Этот микроорганизм вырабатывает токсин (веротоксин), который абсорбируется из кишечника и, попадая в кровь, повреждает эндотели-

альные клетки сосудов. Значительно реже ГУС связан с другими бактериями (*Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Str. pneumoniae* и др.), вирусами (*Coxsackie*, *Influenzae*, ВЭБ, ветряной оспы и др.) и инфекциями, сопровождающимися эндотоксемией. ГУС может развиваться после перорального применения контрацептивов, митомицина, циклоспорина, при СКВ, злокачественной артериальной гипертензии, эклампсии, радиационном нефрите, в период послеродовой почечной недостаточности [Cleary T., 1988; Pavia A. et al., 1990; Cabrera G. et al., 1998]. При пересадках почек ГУС отмечался у 6 из 115 больных [Roez L. et al., 1998]. Описаны семьи, в которых зарегистрировано более одного случая ГУС (до четырех заболеваний). В спорадических семейных случаях в плазме крови может отсутствовать фактор, стимулирующий образование простагландина в эндотелиальных клетках [Mattoo T. et al., 1989; Bergstein J., 2000]. До 50% всех опубликованных случаев ГУС в мире приходится на долю Аргентины [Kaplan B. et al., 1987].

В патогенезе заболевания первичным является поражение эндотелиальных клеток капилляров сосудов клубочков почек. Повреждения эндотелия капилляров и артериол в почках приводят к локализованному свертыванию крови, вследствие чего происходит утолщение стенок сосудов капилляров с одновременным сужением их просвета. При электронной микроскопии этих сосудов отмечается субэндотелиальное и мезангиальное отложение гранулярного, аморфного вещества. В капиллярах клубочков и артериолах могут обнаруживаться фибриновые тромбы, которые могут приводить к некрозу коркового слоя почек. Вовлечение в патологический процесс клубочков может приводить к их частичному или полному склерозированию; поврежденные изменения сосудов приво-

дят к ишемии с поражением других участков почек. При тяжелом вовлечении в процесс маленьких артерий и артериол происходит концентрическая пролиферация интимы сосудов, приводящая к их облитерации. В начальном периоде болезни у больных повышено содержание в сыворотке крови ИФ, который увеличивает синтез и освобождение свободных радикалов фагоцитами, и это, возможно, играет роль в патогенезе ГУС. Нейтрофилы повреждают эндотелий сосудов путем деградации фибронектина эндотелия [Forsyth K. et al., 1989; Perez N. et al., 1989]. Эр, проходя через пораженные сосуды, механически повреждаются, и следствием этого является микроангиопатическая ГА; поврежденные Эр удаляются из крови клетками СМФ селезенки и печени. Тромбоцитопения связана с адгезией тромбоцитов в сосудах почек, а также их повреждением [Monteagudo J. et al., 1990].

Клинические проявления ГУС чаще отмечаются у детей до 4-летнего возраста, но описаны больные зрелого и старческого возраста (34—74 года) [Raez L. et al., 1998]. Обычно появлению ГУС предшествуют симптомы гастроэнтерита (повышенная температура тела, рвота, понос, боли в животе и др.) или же более редко инфекции верхних дыхательных путей. Затем через 5—10 дней после начала инфекции у больного возникают бледность кожи и видимых слизистых оболочек, раздражительность, признаки общего недомогания, летаргия, диспноэ, олигурия и др. У больных могут быть геморрагии на коже, признаки дегидратации, нарушения периферического кровообращения, отеки, увеличение печени и селезенки [Culic S. et al., 1998]. После пересадки почки ГУС может развиваться через 3—10 дней после трансплантации (в среднем через 6½ дня) [Raez L. et al., 1998].

Существуют две формы ГУС: D⁺ (в продроме — диарея с кровавыми

калом, геморрагический колит) и D⁻ (атипичный, не ассоциированный с диареей, диарея в продроме отсутствует). Ведущей причиной, вызывающей ГУС D⁺, является E. coli O157:H7, которая вырабатывает веротоксин (SREK, VTEC, stx, Shiga-токсин) [McCarthy T. et al., 2001].

Имеется четкая зависимость между VTEC-инфекцией и наличием диареи. В эндемических очагах более 90% детских заболеваний ГУС относятся к D⁺. Заболевание не рецидивирует, гипертензия транзиторная, смертность в Соединенном Королевстве менее 3%. В противоположность ГУС D⁺ ГУС D⁻ встречается редко, иногда наблюдается семейный характер болезни и обычно прогноз плохой, летальность составляет 10—30%. Среди больных этой группы выделяют подгруппу больных с этим синдромом, у которых отмечаются аномальность в регуляторном факторе H комплемента или же в гене фактора H (HF1), расположенного на хромосомах 1-й пары (1q32) [Caprioli J. et al., 2001].

Фактор H — это гликопротеин плазмы (молекулярная масса 155 килодальтон), который образуется в основном в печени. Его содержание в плазме составляет 500 мг/л. Молекула фактора H состоит из 20 глобулярных участков, известных как SCR (Short Consensus Repeat), каждый из которых имеет свой экзон, за исключением SCR2, который имеет 2 эксона. Фактор H имеет 3 связывающих участка для гепарина и других полианионов, с помощью которых прикрепляется к сиаловой кислоте на поверхности клеток. Он контролирует активацию альтернативного пути комплемента: конкурирует с фактором B за вновь образованный C3b и действует как кофактор фактора I(I) в деградации C3b. Благодаря этому фактор H предотвращает амплификацию C3-ковертазы и генерацию последующих про-

дуктов комплемента — C5a и комплекса C5b—C9. Фактор Н имеет 3 прикрепляющих участка для молекулы C3; он также прикрепляется к С-реактивному белку. Вместе с C1q эти два белка способствуют фагоцитозу поврежденных или апоптозных клеток без активации конечного противовоспалительного пути системы комплемента [Gershov D. et al., 2000; Jokiranta T. et al., 2000]. Взаимодействуя с полиионными молекулами (сиаловыми кислотами или протеогликанами), находящимися на поверхности клеток, фактор Н придает последним резистентность против разрушения. Полный дефицит фактора Н увеличивает риск возникновения инфекций, у больных возникают рецидивирующие инфекции пиогенными микроорганизмами [Pérez-Caballero D. et al., 2001]. На схеме 14 представлена схема активации комплемента и его регуляции.

Клинические проявления спорадических и семейных случаев ГУС обусловлены аномальным содержанием фактора Н в плазме крови. У больных имеется гипокомплементемия. Болезнь может проявиться в любом возрасте — от младенческого до взрослого, но создается впечатление, что у гомозиготов ГУС проявляется в более раннем возрасте. Так, в семье бедуинов синдром отмечался исключительно у новорожденных детей и младенцев [Landau D. et al., 2001]. У гомозиготов содержание фактора Н в плазме крови меньше 10% и сопровождается низким содержанием C3.

Генетические исследования, проведенные в семьях, в которых наблюдались несколько случаев заболевания, позволили установить, что имеется четкая связь между заболеванием и геном фактора Н на хромосоме 1q32 [Warwicker P. et al., 1998]. Этот участок включает в себя locus для фактора Н и в то же время содержит ряд генов, связанных с регуляцией

комплемента. В результате обследования 70 больных с ГУС, у многих из которых не было семейного анамнеза, английские, итальянские и испанские исследователи обнаружили мутации с вовлечением эксона SCR1, у больных выявлялось уменьшение в плазме крови содержания фактора Н до 50%. Были обнаружены мутации в эксоне SCR8 с образованием мутантного белка фактора Н. Наиболее важными были мутации (описаны 12 мутаций) в участке SCR 16—20 [Pérez-Caballero D. et al., 2001; Richards A. et al., 2001]. В результате мутаций образуются мутантные белки, которые теряют способность связываться либо с полианионами, либо с C3, либо и с теми и другим. Практически очень важно помнить о том, что при определении концентрации фактора Н в плазме крови его содержание может быть нормальным, но он неполноценен [Buddles M. et al., 2000], поэтому в таких случаях для установления дисфункциональной формы белка следует использовать специальные методы исследования (Western blotting, функциональные методы).

Большинство ГУС D— являются идиопатическими, но к его возникновению могут предрасполагать прием противоопухолевых и иммуносупрессивных препаратов, пероральных контрацептивов; ГУС может возникнуть в течение III триместра беременности или же вскоре после родов. Хотя большинство случаев ГУС D— являются спорадическими, но описаны семейные случаи с аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным характером наследования [Caprioli J. et al., 2001; Landau D. et al., 2001].

Особенностью ГУС, связанного с фактором Н, является то, что клиническое течение болезни сопровождается персистирующей тяжелой артериальной гипертензией, частыми рецидивами, прогрессированием в конечную стадию почечной недоста-

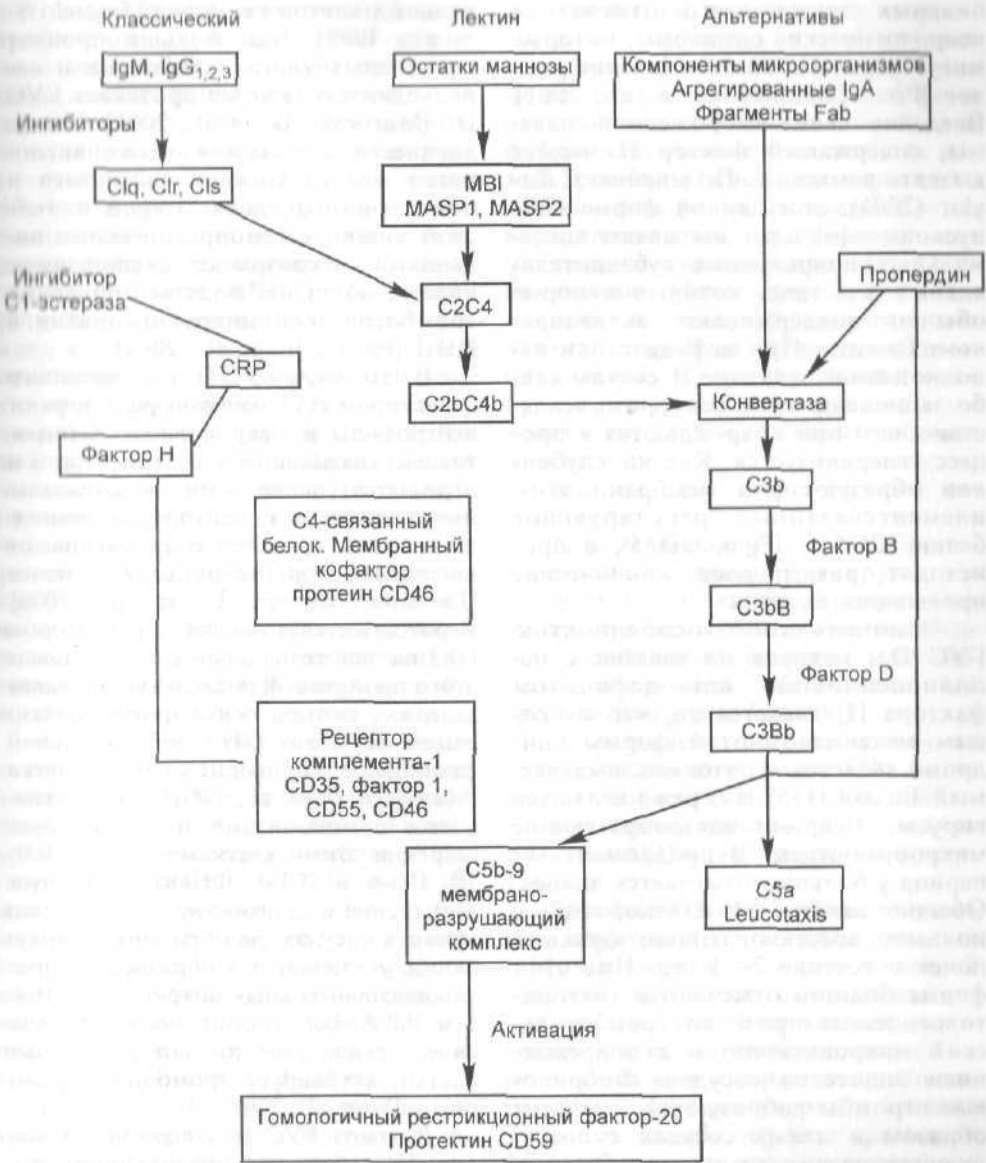


Схема 14. КОМПЛЕМЕНТАРНЫЙ ПУТЬ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ.

MBL — маннозсвязывающий лектин; MASP — MBL-связанные сериновые протеазы.

точности, рецидивами болезни после пересадки почек. Вовлечение в процесс почек при ГУС D — является постоянным признаком, и до 50% больных нуждаются в гемодиализе.

При биопсии почек у больных наблюдается пролиферация мезангиальных и матричных клеток, часто отмечаются депозиты комплемента в клубочках, в петле капилляра. У

больных также часто отмечаются неврологические симптомы, которые могут персистировать в течение ряда лет [Pérez-Caballero D. et al., 2001]. Введение свежезамороженной плазмы, содержащей фактор Н, может вызвать ремиссию. По мнению С. Тауло (2001), при данной форме ГУС пусковые факторы вызывают минимальные повреждения субэндотелиальных участков, которые в норме обычно поддерживают активацию комплемента. При дефиците или неполноценном факторе Н сосуды слабо защищены этим фактором, вследствие чего они повреждаются и процесс генерализуется. Клетки клубочков образуют ряд мембранно-комплементсвязанные регулирующие белки (CD55, CD46, CD35), и происходят развернутые клинические проявления болезни.

Отличительной особенностью ГУС D⁺, которая не связана с неполноценностью или дефицитом фактора Н, является то, что пусковым механизмом этой формы синдрома является веротоксин, выделяемый E. coli O157:H7, реже являются вирусы, нейраминидазообразующие микроорганизмы. В продромальный период у больных отмечается диарея. Обычно исход ГУС D⁺ хороший с полным восстановлением функции почек в течение 2—3 нед. При этой форме болезни отмечаются гистопатологические признаки тромботической микроангиопатии с повреждением эндотелия сосудов. Фибриновые тромбы образуются главным образом в малых сосудах с последующим развитием ишемии. Эндотелиальные клетки клубочков разбухшие, отмечается тромботическое сужение просвета капилляров, повреждение клеток эпителия канальцев. При тяжелых формах отмечается некроз коркового слоя. В почках наблюдаются инфильтрация клетками воспаления (нейтрофилы, макрофаги), апоптоз тубулярных и корти-

кальных клеток гломерул [Taguchi T. et al., 1998]. Чем больше процент апоптозных клеток клубочков и канальцев, тем тяжелее протекает ГУС D⁺ [Magoeska D. et al., 2001]. Гистологически отмечается также ангиопатия мелких сосудов слизистой и подслизистой слоев тонкой и толстой кишки с геморрагическими явлениями, некрозом со слищиванием клеток; могут наблюдаться признаки тромботической микроангиопатии в ЦНС [Proulx F. et al., 2001].

В патогенезе ГУС D⁺ (не связанного с фактором Н) ключевую роль играют нейтрофилы и макрофаги. STX (веротоксин) связывается с нейтрофилами и передается последними эндотелиальным клеткам, т. е. нейтрофилы выполняют роль транспортера токсина от кишечника к эндотелию сосудов почек [Te Loo Monens L. et al., 2000]. Веротоксин связывается с рецептором Gb3 на эндотелиальной клетке и после этого проникает в последнюю, вызывая задержку синтеза белка путем инактивации фермента GOS рибосомальной единицы. Это приводит к гибели клетки [Magoeska D. et al., 2001]. STX связывается с моноцитами и способствует секреции этими клетками ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8. ФНО α опосредует воспаление и способствует коагуляции крови в сосудах системы микроциркуляции, увеличивается образование провоспалительных цитокинов — ИЛ-6 и ИЛ-8. Веротоксин оказывает токсическое действие на эндотелиальные клетки, активировать тромбоциты [Karrman D. et al., 2001].

Диагноз ГУС подтверждается наличием у больных признаков микроангиопатической ГА и ОПН. Содержание Hb снижено до 50—90 г/л. В мазках крови определяются измененные Эр — фрагментированные, в виде каски, с зазубренными краями и др. Число тромбоцитов снижено, нередко значительно — (20...100)×10⁹/л, несмотря на нормальное количество мегакариоцитов в костном мозге. Мо-

жет наблюдаться лейкоцитоз с нейтрофилезом. В плазме крови увеличено содержание билирубина, повышена концентрация Нб, снижено содержание гаптоглобина, т. е. имеются налицо признаки внутрисосудистого гемолиза. Тесты на ДВС крови обычно в пределах нормы за исключением увеличения продуктов деградации фибрина (фибриногена). Отмечаются признаки ОПН (анурия, микрогематурия, протеинурия, повышение в плазме крови содержания остаточного азота, мочевины, креатинина, нарушение водно-электролитного баланса и др.), тяжесть которой может колебаться от незначительной до тяжелой, требующей применения гемодиализа. Все перечисленные признаки дают основание установить диагноз ГУС. Однако следует исключить другие причины, вызывающие ОПН и микроангиопатическую ГА (СКВ, злокачественная гипертензия и др.) [Montgomery R. et al., 2000].

К числу осложнений ГУС относятся анемия, ацидоз, гиперкалиемия, задержка в организме жидкости, сердечная недостаточность, гипертензия, уремия. Иногда могут наблюдаться симптомы поражения ЦНС (раздражительность, судороги, тромбоз, кома), колита (мелена, перфорация кишечника), сахарного диабета, рабдомиолиза. Окончательный патогенез этих осложнений не выяснен, но предполагают, что они связаны с тромбозом [Bergstein J., 2000].

Прогноз заболевания зависит от тяжести и формы ГУС и от лечения. При интенсивном лечении ОПН более 90% больных переживают острую фазу и у них восстанавливается функция почек. Однако 5—10% больных умирают от ОПН (некроз коркового слоя). Назначение глюкокортикоидов не имеет ценности, более того — противопоказано [Sommelet-Olive D., 1995]. Показано введение антикоагулянтов при наличии признаков ги-

перкоагуляции, но если она отсутствует, то эффекта от применения гепарина нет, и даже его назначение может отрицательно влиять на течение болезни. Можно использовать фибринолитические средства для лизиса тромбов. Назначение в комплексе лечения дезагрегантов тромбоцитов, внутривенное введение Ig и простациклина не изменяют характер течения болезни. Используют также плазмаферез и свежую замороженную плазму (подробнее см. раздел «Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура»). Как можно раньше проводят гемодиализ, который обеспечивает:

1) контроль за уремическим состоянием;

2) удаление ингибитора фибринолиза (плазминогенактивирующего ингибитора-1) из циркулирующей крови, тем самым позволяя эндогенным фибринолитическим механизмам лизировать образовавшиеся тромбы [Bergstein J., 2000].

По выходе из острого состояния и ликвидации симптомов ГУС больные должны находиться под наблюдением врача, так как у них может развиваться ХПН, артериальная гипертензия.

Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура. ТТП впервые описана E. Moschowitz в 1925 г. у 16-летней девушки, у которой были повышенная температура тела, анемия, нарушения функции почек, неврологические изменения и сердечная недостаточность. Девочка умерла в течение 2 нед от начала первых признаков болезни; на аутопсии определялись гиалиновые тромбы в терминальных артериолах и капиллярах. В последующем появились новые публикации о наблюдении этого синдрома под названием ТТП. Для этого синдрома характерны повышенная температура тела, тромбоцитопения, микроангиопатическая ГА, нарушения функции почек и неврологиче-

ские симптомы. Главными критериями диагноза ТТП являются неврологические нарушения, наблюдаемые более чем у 95% больных, тромбоцитопения и микроангиопатическая анемия.

Частота заболевания составляет 1 на 250 000 жителей, средний возраст — 35—40 лет, при этом 90% всех больных моложе 60 лет; женщины болеют в 2,5 раза чаще, чем мужчины [Ben-Yehuda D. et al., 1988; Hankey G., 2000].

Гистологические данные при врожденной и приобретенной ТТП одинаковые. Микроваскулярные тромбы определяются в различных органах и системах, но в основном в сосудах почек и ЦНС. Эти тромбы состоят в основном из тромбоцитов («белые» тромбы). Поскольку не отмечается выраженных периваскулярных признаков воспаления, десквамации эндотелиальных клеток, субэндотелиальных изменений, то считается, что ТТП является заболеванием, связанным с первичной агрегацией тромбоцитов в системе микроциркуляции. В пользу этого свидетельствуют данные иммуногистохимических исследований — тромбы содержат большое количество фактора Виллебранда и незначительное количество фибриногена и фибрина. Образование тромбов происходит через ряд последовательных стадий — адгезии, активации и агрегации тромбоцитов. Субэндотелиальный фактор Виллебранда связывается с тромбоцитарным гликопротеиновым рецептором Ib-IX-V. После активации тромбоцитов происходит конформационное изменение рецептора тромбоцитов GPIIb/IIIa, и это позволяет тромбоцитам связываться с фибриногеном, происходит перекрестная связь между тромбоцитами, агрегация. Интегральную роль в агрегации тромбоцитов играет фактор Виллебранда [Allford S. et al., 2000].

Развитие микроангиопатии, вероятно, является следствием наличия в

циркулирующей крови проагрегатных тромбоцитарных веществ. К ним относят белки с молекулярной массой 37 и 50 килодалтон, кальций-активированная протеаза или калпаин и высокомолекулярный мультимер фактора Виллебранда. ТТП связана с приобретенным дефицитом фермента металлопротеиназы, которая участвует в расщеплении мультимера с ультравысокой молекулярной массой фактора Виллебранда (ULvWf). Активность металлопротеиназы сохраняется в нормальной замороженной плазме более 20 лет. Под влиянием стресса эти мультимеры активнее, чем нормальные мультимеры, опосредуют агрегацию тромбоцитов путем их прикрепления к специфическим тромбоцитарным гликопротеинам (GPIb-IX-V и IIb/IIIa) [Moake J., 1995]. При нормальной ферментативной активности плазмы количество мультимеров нормальных размеров уменьшено, но при снижении активности металлопротеиназы их число резко возрастает. В связи с уменьшением металлопротеиназной активности плазмы в последней появляются мультимеры с ультравысокой молекулярной массой, и наличие в плазме крови ULvWf отражает значительное, систематическое выделение его из поврежденных эндотелиальных клеток или же интенсивную стимуляцию его образования [Rice L. et al., 1998; Sasahara Y. et al., 1998].

Исследованиями Н.-М.Тсай и соавт. (1998) было установлено, что в острый период ТТП у 95% больных в плазме крови отмечается дефицит активности металлопротеиназы, расщепляющей ULvWf, в сочетании с наличием ингибитора этого фермента, который по своей природе относится к АТ класса IgG. Этот ингибитор не элиминируется при диализе в течение 60 мин, поэтому со временем патологические мультимеры превалируют в циркулирующей крови,

способность плазмы крови их расширять снижается, и, таким образом, появляются предпосылки для образования тромбоцитарных тромбов, которые приводят к соответствующей клинико-гематологической симптоматике. В образовании тромбов участвуют и лейкоциты, которые вместе с тромбоцитами способствуют образованию лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов и их адгезии к эндотелию сосудов системы микроциркуляции [Valant P. et al., 1997]. По мере улучшения состояния больного количество U1vWf-мультимеров в крови уменьшается, но если они продолжают персистировать, то имеется высокий риск рецидива ТТП. Высказывается предположение, что острый единичный эпизод ТТП является первичным аутоиммунным заболеванием со вторичным приобретенным функциональным дефицитом активности протеазы, расщепляющей фактор Виллебранда. Напротив, при хронической форме ТТП отмечается конституциональный дефект образования фермента [Harrison C. et al., 1997; Montgomery R. et al., 2000].

Пусковыми факторами ТТП могут быть самые разнообразные причины и состояния — беременность, СКВ, склеродермия, химиотерапевтическое лечение, ТКМ и гемопоэтических стволовых клеток, инфекция, иммунологические нарушения, прием циклоспорина, такролимуса (FK 506), митомицина С, тиклодипина, пероральных контрацептивов, тотальное облучение тела [Malik S. et al., 1997; Silva V. et al., 1997; Anagnostopoulos A. et al., 1998]. По данным A. Alam и соавт. (1998), ТТП возникло у 18 из 155 больных с аллогенной ТКМ.

Клинически ТТП напоминает ГУС — острое начало, высокая температура тела, нарушения функций почек (анурия, протеинурия, гематурия) и ЦНС (афазия, парезы, параличи, параплегии, судороги и др.), микроангиопатическая анемия, тром-

боцитопения с синдромом кровоточивости. В отличие от ГУС ТТП наблюдается обычно у людей юношеского и зрелого возраста. Возникновение микроваскулярных тромбов в ЦНС вызывает неврологические симптомы. У 12% больных ТТП может проявиться в виде острого респираторного дистресс-синдрома, в виде прогрессирующего диспноэ, персистирующей гипоксии с появлением диффузных инфильтратов в легких. Дистресс-синдром может сочетаться с другими клиническими проявлениями ТТП (поражения ЦНС, почек и др.), и при своевременном начале лечения обменным плазмаферезом наступает ремиссия. По мнению E. Aly и соавт. (1998), всех больных с острым респираторным дистресс-синдромом необходимо рассматривать как с нераспознанной ТТП, поэтому важное значение приобретает ранняя диагностика ТТП, своевременное назначение лечения до появления опасных для жизни осложнений, так как речь идет о жизни и смерти больного.

При исследовании периферической крови наблюдаются все признаки, свойственные ГА, при этом среди Эр встречаются аномальные формы — шистоциты, фрагментированные в виде каски, зубчатые, сфероциты и др. Отмечаются ретикулоцитоз, тромбоцитопения. У 80% больных обнаруживаются антитромбоцитарные АТ, в основном против CD36 [Rock G. et al., 1997]. Исследование общих гемокоагуляционных тестов, как правило, ясности в диагноз не вносит. Важное значение приобретает изучение параметров фактора Виллебранда, наличие угнетения фибринолиза. Отмечаются изменения тестов, отражающих функциональное состояние печени и почек [Mant M. et al., 1997].

До эры использования для лечения трансфузий плазмы летальность при ТТП составляла до 90%, а сейчас,

по данным различных авторов, колеблется в пределах 10—30%.

Главным методом лечения ТТП является интенсивный плазмаферез с замещением удаленной плазмы свежезамороженной, обедненной тромбocyтами. Этот метод был патогенетически обоснован G.Rock и соавт. в 1994 г. Успех лечения обусловлен тем, что при плазмаферезе из крови больного удаляются патологические проагрегационные вещества (и/или) происходит замещение активности ингибиторов плазмы. При установлении диагноза срочно, немедленно производят обмен плазмы — удаляют плазму больного и вводят донорскую свежезамороженную плазму в дозе 2,5—3,5 л ежедневно взрослому. Одновременно назначают метилпреднизолон до 1 г/сут. При необходимости назначают поддерживающую симптоматическую терапию, гемодиализ и внутривенно антибиотики. По мере достижения числа тромбоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ указанное лечение постепенно отменяют — урежают частоту плазмафереза и постепенно снижают дозу глюкокортикоидов. Если в процессе лечения число тромбоцитов — в пределах $(50 \dots 100) \times 10^9/\text{л}$, то назначают небольшие дозы аспирина (0,2—0,3 г/сут) и дипиридамол. Назначение последних снижает летальность к 15-му дню от начала болезни, но они не играют существенной роли в дальнейшем течении ТТП. По данным L.Levato и соавт. (1998), прием Difibrotide по 10—25 мг/(кг·сут) (препарат увеличивает образование простаглицлина клетками эндотелия сосудов) способствует благоприятному течению синдрома. Если эффект от проводимого лечения отсутствует в течение недели, то проводят поддерживающую терапию обменом плазмы с замещением свежезамороженной и назначают иммуносупрессивные препараты. При такой тактике лечения ремиссия наступает у 69% больных, выживаемость

в течение одного года составляет 87,5%. Но у 13—40% больных после ремиссии возникают рецидивы, которые требуют повторного лечения и иногда длительного назначения (при хронических формах) иммуносупрессивной терапии [Harrison C. et al., 1997; Lara P et al., 1998]. J.Byrnes и соавт. (1990), G.Rock и соавт. (1994), T.Kamp и соавт. (1997) считают, что использование криосупернатанта плазмы (плазма, освобожденная от факторов VIII, IX и фибриногена) более эффективно, чем замещение удаленной плазмы свежезамороженной. По данным авторов, при лечении замещениями свежезамороженной плазмы в течение 7 дней ремиссия наступает у 49% больных, а при лечении замещением криосупернатантом — у 71% больных, рефрактерных к лечению первым методом. Однако это преимущество не подтверждается наблюдениями Z.Zeigler и соавт. (1998). Эффект от лечения плазмаферезом с замещением плазмы в целом достигается у 80—95% больных. 10-летняя выживаемость наблюдается у 50% больных [Lara P. et al., 1998]. Больные, у которых ТТП возникла после ТКМ, трансплантации периферических стволовых клеток, на фоне инфекции ВИЧ плохо реагируют на лечение плазмаферезом, винкристином, и прогноз у них плохой [Malik S. et al., 1997; Alam A. et al., 1998; Khokha N. et al., 1998]. По мнению R.Rahmani и соавт. (1998), E.Real и соавт. (1998), если у больных наступает рецидив ТТП после ремиссии, то следует производить спленэктомию после первого рецидива в период гематологической ремиссии; в этих случаях безрецидивное течение сохраняется в течение 2—10 лет.

При использовании обменных трансфузий плазмы возможно развитие гипокальциемии, появление уртикарий, температурных реакций на введение плазмы. Большие дозы глю-

кортикостероидов могут способствовать развитию стероидоиндуцированного психоза.

У большинства больных ТТП протекает в виде единственного эпизода. Но поскольку в настоящее время под влиянием современных методов лечения выживаемость больных улучшилась, у некоторых из них наблюдаются рецидивы, возникающие с неопределенным интервалом. У 11—36% больных отмечается интермиттирующая форма ТТП с рецидивами, продолжающимися до 8 лет [Shumak R. et al., 1995]. Редко, но у некоторых больных, несмотря на лечение, сохраняется гемолиз. Эту форму называют хронической неослабляющейся ТТП. Ее следует отличать от хронической обостряющейся ТТП, которая является врожденным состоянием, обычно наблюдаемым в младенческом и раннем детском возрасте, и которая характеризуется частыми эпизодами гемолиза с определенным интервалом их возникновения (21—30 дней). В отличие от больных с единичным эпизодом ТТП или интермиттирующей формы эти рецидивы нормально купируются трансфузиями свежей замороженной плазмы, и нет необходимости в параллельном проведении плазмафереза [Chintagumpala M. et al., 1992; Allford S. et al., 2000].

Синдром Казабаха — Меррита (солитарная гемангиома с тромбоцитопенией и коагуляционными нарушениями). Гемангиомы — это доброкачественные сосудистые опухоли, которые бывают трех типов: капиллярного, кавернозного и капиллярно-кавернозного. Кавернозный тип часто сопровождается тромбоцитопенией и гемокоагуляционными нарушениями.

Н. Kasabach и К. Merrit (1940) описали гигантскую гемангиому у 2-месячного ребенка, у которого наблюдались кровоточивость, тромбоцитопения, увеличение времени свертывания крови. С тех пор этот синдром

назван по имени авторов. Гигантские гемангиомы могут быть локализованы в разных частях тела.

Многочисленные наблюдения за больными и данные их обследования показали, что нарушения коагуляции при этом синдроме связаны с локализованным внутрисосудистым свертыванием крови в гемангиоме. О локализованности этого процесса свидетельствуют:

- 1) отложение меченого фибриногена в опухоли;
- 2) секвестрация меченых тромбоцитов;
- 3) более выраженные коагуляционные изменения в крови, взятой из гемангиомы, чем из общей циркулирующей крови;
- 4) исчезновение коагулопатии после удаления опухоли.

Обычно процесс носит хронический характер, но возможно и острое развитие внутрисосудистого свертывания крови. У некоторых больных отмечается микроангиопатическая ГА, вследствие механического повреждения ЭР в измененных сосудах опухоли.

Клинически гемангиомы обнаруживаются сразу после рождения ребенка или спустя несколько недель или месяцев. Характерен их быстрый рост. Без всяких видимых причин опухоль периодически увеличивается, становится плотной, болезненной. Вслед за этим возникает кровотечение. В области гемангиомы могут наблюдаться эрозии с участками некроза. Возможны кровоизлияния и кровотечения из других участков (экхимозы, носовые кровотечения и др.), которые обусловлены тромбоцитопенией.

По мнению G. Stringel и соавт. (1984), гигантские гемангиомы могут приводить к следующим осложнениям:

- 1) косметическим;
- 2) функциональным нарушениям вследствие локальной компрессии или перемещения органа, ограничен-

нию подвижности больного, росту конечностей;

3) геморрагиям;

4) изъязвлению;

5) вторичной сердечной недостаточности вследствие развития артериовенозного шунтирования;

6) коагулопатии, обусловленной задержкой тромбоцитов в опухоли и(или) синдрому ДВС;

7) инфекции.

У некоторых больных могут наблюдаться признаки ГА.

При лабораторном исследовании вне периода рецидива число тромбоцитов нормально или субнормально, гемокоагуляционных и гемолитических нарушений нет. Однако в периоды обострений развивается значительная тромбоцитопения, могут отмечаться признаки ГА (не тяжелой) с появлением в периферической крови большого количества фрагментированных Эр, гипофибриногенемия, вторичная активация фибринолиза, продукты деградации фибрина.

Существуют различные методы лечения гигантских гемангиом. Традиционное лечение ангиоматозной болезни включает в себя хирургические методы, глюкокортикоидные и цитостатические препараты, крио-, лазерную и лучевую терапию, селективную эмболизацию сосудов. Хирургическое удаление опухоли выполнимо не всегда. Иногда эффективны большие дозы преднизолона (3—6 мг/(кг·сут)). В остром периоде назначают кортикостероиды и проводят соответствующие синдромологические мероприятия [Sommelet-Olive D., 1995]. Однако не всегда все указанные методы лечения успешны. В последние годы успешно проводится лечение ИФх. Последний ингибирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез, вследствие чего у детей значительно регрессирует ангиоматозная болезнь. ИФх назначают по 106 ЕД/м² 3 раза в день, подкожно, в случае необхо-

димости число инъекций увеличивают до 4—6 раз в сутки [Fugardie M. et al., 2000].

Гемолитические анемии («механические») с фрагментацией эритроцитов при некоторых состояниях и заболеваниях. Хроническая микроангиопатическая ГА может осложнять течение заболеваний, при которых в патологический процесс вовлечены сосуды. К числу этих болезней относятся СКВ, узелковый периартериит, синдром Гудпасчера, болезнь Кавасаки и др. Она может возникать при злокачественных новообразованиях и сепсисе, протекающих с ДВС крови, при гипертензии в малом круге кровообращения, ожогах. В основе этой ГА при данных состояниях является механическое повреждение мембраны Эр [Sommelet-Olive D., 1995; Kowal-Vern A. et al., 1997].

При искусственных клапанах сердца, протезах крупных сосудов, вальвулопатиях, коарктации аорты иногда отмечается хроническая ГА с последующим развитием гипохромной анемии и гипосидеремии. Это связано с тем, что при этих состояниях гемолиз носит смешанный характер — внутри- и внесосудистый с минимальными признаками ДВС крови и потерей железа. Обычно ГА возникает через несколько недель — месяцев после оперативного вмешательства [Okita Y. et al., 1991; Segel G., 2000].

Лечение этих состояний успешно лишь после устранения (излечения) первичного источника, вызвавшего ГА.

ПАРОКСИЗМАЛЬНАЯ НОЧНАЯ ГЕМОГЛОБИУРИЯ

ПНГ (болезнь Маркьяфавы — Микеле) характеризуется ГА, связанной с внутрисосудистым гемолизом, обусловленным дефектом мембраны Эр, склонностью к тромбообразованию и миелодепрессии. Различают две формы заболевания: приобретенную и врожденную.

ПРИОБРЕТЕННАЯ ПАРОКСИЗМАЛЬНАЯ НОЧНАЯ ГЕМОГЛОБИНУРИЯ

ПНГ — это редкое приобретенное, клональное заболевание. При ней отмечается внутренний дефект мембраны Эр, вследствие чего Эр становятся гиперчувствительными к лизису при активации комплемента. Для болезни характерно наличие трех кардинальных признаков: внутрисосудистый гемолиз с анемией, тенденция к тромбозу вен и различная выраженность костномозговой недостаточности с развитием цитопении.

Заболевание встречается редко, поражает оба пола, встречается в основном у лиц молодого возраста. По данным J. Harris и соавт. (1997), частота ПНГ составляет 2,1 на 1 млн жителей; дети составляют 15—20% от всех наблюдений. По данным Duke University Medical Center [Segel S., 2000], за 25 лет наблюдали 26 детей, в том числе самому младшему было 7 мес. По мнению W. Wapachiwanawin и соавт. (1998), частота встречаемости ПНГ различается в разных географических регионах, заставляя полагать, что причины соматической мутации различны. Заболевание чаще встречается в некоторых странах Азии (Китай, Таиланд). Как правило, болезнь диагностируют с запозданием.

Этиология болезни неизвестна. Молекулярной основой заболевания является мутация X-связанного гена PIG-A (назван по начальным буквам — Phosphatidyl Inositol Glycan complementation group A) в ГСК. Продуктом этого гена являются гликозилфосфатидилинозитолсвязанные белки на поверхности клеток (GPI), которые в норме прикрепляют белки к поверхности мембраны клеток. При ПНГ наблюдается полный или частичный дефицит GPI-белков, связанный с мутацией гена GPI-A в гемопоэтических стволовых клетках [Gregg X. et al., 1997; Navenot J. et al., 1997].

Первоначально дефицит анкерных белков GPI был описан в Эр, но в последующие годы было установлено, что недостаток белков наблюдается также в гранулоцитах, моноцитах, тромбоцитах, В- и Т-лимфоцитах, в НК-клетках, при этом Эр могут быть менее аффектными, чем другие форменные элементы крови. Поражение различных ростков гемопоэза и разной степенью выраженности объясняет полиморфизм клинико-гематологических проявлений ПНГ [Richards S. et al., 1998].

Предполагается, что недостаток экспрессии белков, скрепляющихся гликозилфосфатидилинозитолом, связан с аномалией первичного этапа синтеза GPI, нарушен перенос N-ацетилглюкозамина на фосфатидилинозитол (недостаток класса А). В норме скрепляющие (анкерные) белки GPI синтезируются клеткой. В синтез анкерных белков GPI вовлечены многие гены. Ген GPI-A расположен на хромосоме X и ответствен за синтез GPI на первом этапе. При ПНГ описаны 123 соматических мутаций этого гена у 105 больных [Nafa K. et al., 1997]. Эти мутации могут быть в виде больших и незначительных делеций в гене PIG-A, делеций или замещений, дупликации и др. в гене PIG-A, т. е. мутации гена PIG-A у больных крайне гетерогенны [Wage R. et al., 1997]. Мутации гена PIG-A происходят на уровне ГСК, и итогом является отсутствие PIG-связанных белков в клетках крови. Другие гены являются аутосомными, для их участия в развитии болезни необходимо, чтобы мутации наблюдались в двух аллелях [Bastisch I. et al., 1997].

При ПНГ в клетках крови наблюдается частичная или полная утрата многих белков мембраны, которые в норме связываются белками GPI. К их числу относятся:

1) белки, регулирующие комплемент, защищающие клетки от повреждающего действия комплемента; это

CD55 (DAF — Decay Accelerating Factor) и CD59 (MIRL — Membrane Inhibitor of Reactive Lysis), C8bp; дефицит комплементрегулирующих белков приводит к постоянному внутрисосудистому гемолизу и, возможно, играет роль в предтромботическом диатезе;

2) ферменты (АХЭ Эр, щелочная фосфатаза гранулоцитов, 5'-энонуклеотидаза лимфоцитов — CD73); при неполноценности АХЭ Эр имеют фенотип Yta-b;

3) рецепторы для FcIgG (FcγIII, CD16 на гранулоцитах и NK-клетках), урокиназы, бактериальных липополисахаридов (CD14 на моноцитах), для иммунной системы — LFA3 (CD58), CD48 (лимфоциты), CDw52; также изменяется структура групп крови (HEMPAS, Co, In);

4) другие белки — CD24 (В-лимфоциты, гранулоциты), CD66 и CD67 (гранулоциты) [Hall S. et al., 1996; Cartron J.-P., 1997; Dominguez C. et al., 1998; Kinoshita T et al., 1998].

На поверхности клеток циркулирующей крови отмечается переменная экспрессия анкерных белков GPI; на некоторых — она нормальная, на других — наблюдается частичное или полное их отсутствие. В зависимости от степени экспрессии CD55 и CD59 выделяют три клона клеток: ПНГ I (нормальная экспрессия белков), ПНГ II (частичный дефицит) и ПНГ III (полное отсутствие) [Kawaguchi T. et al., 1997].

Существуют две гипотезы, объясняющие это явление. Согласно одной гипотезе, имеется одна соматическая мутация ГСК, следствием которой является образование одного аномального клона и на клетках-потомках будет наблюдаться переменная экспрессия анкерного белка GPI. Согласно другой гипотезе, существуют множество мутаций в стволовой клетке, вследствие чего возникают множество аномальных клонов, и поэтому гемопоэтические клетки-по-

томки будут иметь различные фенотипы [Kawaguchi T. et al., 1997; Sébahoun G., 1998; Wanachiwanawin W. et al., 1998].

Исследованиями ряда авторов было установлено, что ПНГ-подобные Эр (CD55⁻CD59⁺; CD55⁺CD59⁻; CD55⁻CD59⁻) наблюдаются у здоровых людей, и их содержание составляет в среднем 4% от общей популяции Эр. Эти же элементы отмечаются у больных с АА (в среднем у 61% больных) и МДС (24,2%). Почему у ряда людей здоровых и больных, имеющих ПНГ-фенотип, не развивается клиничко-гематологическая картина ПНГ? Е. Terpos и соавт. (1998) указывают на то, что у здоровых людей и у больных с ПНГ имеются два клона гемопоэтических стволовых клеток — нормальный и ПНГ-подобный; при селективном подавлении нормального клона происходит преимущественная пролиферация клона с ПНГ-фенотипом. Предполагается, что экспрессия аномального гена PIG-A и белка PIG в клетках ПНГ может изменяться в течение процесса дифференциации каждой гемопоэтической линии клетки-предшественницы; финальный фенотип зрелых Эр, наблюдаемый в процессе созревания, может быть частично утрачен за счет апоптоза [Saitoh Y. et al., 1997; Noji H. et al., 1998]. D. Araten и соавт. (1998) обнаружили у 8 доноров крови популяцию гранулоцитов с ПНГ-фенотипом (CD55⁻CD59⁻CD11b⁺); количество этих клеток составляло 2,5—60 на 10⁶ гранулоцитов. У всех этих доноров в генах гранулоцитов обнаружены мутации в экзоне 6 (1387C→T) и в экзоне 2 (614T→A и 55C→T; 196 Ins AT; 229C→T). По мнению авторов, у здоровых людей мутантные клоны могут спонтанно погибать, а у других персистировать с развитием клиничко-гематологической картины ПНГ. D. Araten и соавт. (1998) считают, что на гемопоэтиче-

скую стволовую клетку действуют какие-то внешние факторы и происходит селекция с появлением PIG-A-мутаций, и высказывают предположение, что эта аномалия обусловлена аутоиммунным повреждением ГСК.

Известно, что более чем у 50% больных ИАА на определенной стадии болезни в периферической крови определяются клоны ПНГ, и это может свидетельствовать о том, что и при ИАА, и при ПНГ имеется общий патогенетический механизм болезни. Возможно, что когда клон клеток ПНГ незначителен или же отсутствует, то у больных имеет место ИАА; если же это патологический клон значителен, то у больных наблюдается ПНГ [Tremmi G. et al., 1998]. Исходя из того, что ИАА рассматривают как аутоиммунное заболевание, при котором мишенью аутоагрессивных Т-лимфоцитов является гемопоэтическая стволовая клетка, хотя аутоАГ Т-клеток не установлен, то было высказано предположение, что при ПНГ также существуют аутоагрессивные Т-клетки [Young N. et al., 1997; Zeng W. et al., 1999]. Для подтверждения этой гипотезы А. Karadimitris и соавт. (2000) изучали у больных с ПНГ наличие аномальных Т-клеточных клонов путем анализа CDR3 в β -варианбельной цепочке mРНК рецептора Т-клеток; авторы отметили, что у больных с ПНГ имеются отклонения в исследуемой структуре в 2 раза чаще, чем у здоровых лиц. Это дало основание автором высказать мнение, что как и при ИАА, так и при ПНГ в основе заболеваний лежит иммунный механизм.

Изучение CD34⁺-клеток костного мозга показало, что у здоровых людей почти все эти элементы экспрессируют CD59⁺ АГ, тогда как при ПНГ в костном мозге определяются клетки двух типов: CD34⁺CD59⁺ и CD34⁺CD59⁻, при этом последние преобладают в костном мозге боль-

ных, и это является одной из причин нарушения нормального гемопоэза [Qiang L. et al., 1998]. Вопрос о том, почему PIG-A-мутированные гемопоэтические стволовые клетки инфильтрируют костный мозг и дают большое число аффектных клеток крови, остается неясным. По мнению R.Chen и соавт. (1998), экспансия PIG-A-мутированных клеток в костном мозге связана с нарушением пролиферации не мутированных клеток, это может быть обусловлено высокой чувствительностью к FAS-опосредованному апоптозу. Исследования гранулоцитов периферической крови показали, что эти клеточные элементы у больных по сравнению с таковыми у здоровых людей более резистентны к апоптозу [Ware R. et al., 1997]. Было установлено, что у больных с ПНГ популяция CD34⁺CD59⁺ в два раза меньше, чем популяция CD34⁺CD59⁻, т. е. общая пролиферативная способность нормальных клеток CD34⁺CD59⁺ снижена, и этим объясняется превалирование пролиферации аномального клона [Li Q. et al., 1997].

При ПНГ изменения гемопоэза вариабельны. В клетках крови и костного мозга выявляются множественные дискретные мутации PIG-A, но каков их вклад в изменения гемопоэза остается неясным. Было установлено, что независимо от мутации PIG-A может наблюдаться различная экспрессия гена *antiquitin*. В зависимости от функциональных свойств вовлеченных в патологический процесс генов он может способствовать росту или выживаемости мутантных PIG-A-клеток и вносить свой вклад в селективное преимущество и клональное доминирование патологических клеток [Kanai N. et al., 1997].

При ПНГ у некоторых больных могут наблюдаться цитогенетические аномалии [+X; +6; t(17; 19); del(8p); del(13)], которые могут быть транзи-

торными, несмотря на наличие клеток с ПНГ-фенотипом [Araten D. et al., 1997].

Помимо ГА, почти у каждого третьего больного с ПНГ наблюдаются тромбоз вен селезенки, ЦНС, синдром Бадда — Киари (тромбоз печеночной вены или нижней полой вены, гепатомегалия, признаки портальной гипертензии, иногда быстрое развитие печеночной недостаточности) и другие патологические состояния, которые иногда являются причиной смерти больных [Janssen H. et al., 2000]. S. Zimmerman и соавт. (1997, 1998) высказали гипотезу, согласно которой у некоторых больных имеется наследственная тромбофилическая предрасположенность, обусловленная мутациями генов, ответственных за это состояние. Исследуя у 59 больных с ПНГ геном ДНК, выделенный из клеток периферической крови, авторы обнаружили, что у некоторых больных отмечается мутация генов VII фактора (R353Q у 18,6% больных), гликопротеина IIIa в тромбоцитах (C1565T у 23,7% больных), 5,10-метилтетрагидрофолатредуктазы (C677T у 55,9% больных), α -фибриногена (A312G у 51,7% больных) и β -фибриногена (G448A у 28,8% больных). При синдроме Бадда — Киари у больных могут отмечаться мутации гена фактора V Leiden, протромбина, дефицит коагуляционных ингибиторов [Janssen H. et al., 2000]. Корреляционный анализ показал, что хотя у больных часто наблюдаются мутации генов, ответственных за тромбофилию, тем не менее их наличие не является причиной увеличения риска тромбоза [Nafa K. et al., 1997; Zimmerman S. et al., 1998].

Клиническая диагностика заболевания обычно запоздалая, как правило, после появления анемии, которая может быть как гемолитического характера, так и гипохромной гипосидеремической или апластической.

Могут первоначально наблюдаться тромботические явления, тромбоз флебит, тромбоз глубоких вен. Однако эти симптомы, как правило, первоначально не ассоциируются с ПНГ.

Ведущим симптомом болезни является ГА с внутрисосудистым гемолизом. Эр аномально чувствительны к комплементу. Наиболее типичные проявления болезни — это анемия с желтухой и умеренным увеличением селезенки. Гемоглобинурия наблюдается приблизительно у 50% больных, не всегда ночная, но обычно утренняя моча более темно окрашена. Кризы внутрисосудистого гемолиза с гемоглобинурией носят интермиттирующий характер, обычно возникают вслед за вирусными инфекциями, вакцинацией, хирургическими вмешательствами, гемотрансфузиями, физической нагрузкой, вследствие чего гемоглобинурия нередко первоначально не распознается и смешивается с гематурией или миоглобинурией. Гемолитические кризы могут сопровождаться ознобом, болями в животе или в пояснице, тошнотой, рвотой, симулируя картину «острого живота» (острый аппендицит, язвенную и желчнокаменную болезнь и др.). Эта картина у большинства больных связана с тромбозами вен (воротной вены печени, подпеченочных, вен брыжейки, почечных и др.), у 10—30% больных наблюдается синдром Бадда — Киари. В период криза могут также наблюдаться тромбозы сосудов головного мозга, флебиты, эмболии легочных вен. Приблизительно у каждого второго больного отмечается увеличение селезенки. Иногда гемолиз выражен незначительно или протекает хронически, субклинически, и это ошибочно рассматривают как результат оккультного кровотоечения или же недостатка железа в организме.

Гематологические данные зависят от периода болезни (криз, ремиссия), тяжести и длительности заболевания.

В период ремиссии показатели периферической крови могут быть нормальными. Гемолитический криз (ацутрисосудистый) сопровождается снижением показателей красной крови, анемия носит нормохромный макроцитарный характер из-за ретикулоцитоза. Но по мере увеличения длительности болезни, частых гемолитических кризов больной избыточно экскретирует железо с мочой в виде гемоглобина и гемосидерина, вследствие чего развивается гипоферремия, и как следствие этого наблюдается гипохромия Эр. В период криза отмечается ретикулоцитоз. Характерна лейкопения (менее $1,5 \times 10^9/\text{л}$) с нейтропенией, хотя изредка число лейкоцитов может быть нормальным или даже повышенным.

Количественные и функциональные изменения клеток лейкоцитарного ростка приводят к тому, что почти у каждого третьего больного отмечаются инфекционные осложнения (бронхолегочные, урогенитальные и др.). В патогенезе развития инфекции играют роль снижение числа нейтрофилов, их фагоцитарной активности, активности щелочной фосфатазы нейтрофилов. Низкая активация нейтрофилов связана с дефицитом белков мембраны GPI, изменением вторичного иммунитета вследствие дефицита мембранных белков в лимфоцитах.

Характерна тромбоцитопения, нередко значительная (менее $30 \times 10^9/\text{л}$), но обычно число тромбоцитов колеблется в пределах $(50...100) \times 10^9/\text{л}$; возможны геморрагические проявления.

При стертых формах ПНГ у больных отмечается гипохромная анемия с гипосидеремией, с низким содержанием ретикулоцитов, отсутствуют гемоглобинурия, желтуха, хотя часто наблюдаются нейтропения и тромбоцитопения. Содержание гемоглобина нормальное или сниженное; уменьшение концентрации же-

леза в плазме крови обусловлено перманентной гемосидеринурией.

Диагноз заболевания основывается по совокупности клинико-гематологических и лабораторных данных. В связи с повышенной чувствительностью Эр к воздействию комплемента для диагностики болезни используют тест Ham — Dacie, при котором кровь обследуемого инкубируют в подкисленной сыворотке при pH 6,4. Тест считается положительным, если количество лизированных Эр составляет 10% и больше. Но следует помнить о том, что тест Ham — Dacie может быть положительным при ВДА II типа (HEMPAS). Тест на гемолиз раньше наступает и более интенсивный, если в исследуемую среду добавляют тромбин (тест Crosby) или сахарозу. Однако сахарозный тест может быть положительным и при гемолизированной форме АИГА. В зависимости от чувствительности Эр к действию комплемента *in vitro* выделяют три типа ПНГ: при первом типе гемолиз выражен умеренно, при втором — увеличен в связи с наличием в сыворотке C3b и при третьем — максимален. Эр аномально чувствительны к C5b—C99. Выраженность гемолиза зависит от количества патологического клона ПНГ. Чувствительность к комплементу отмечается также и среди других клеток крови и их предшественниц.

Важным диагностическим тестом является выявление дефицита мембранных белков GPI с помощью МА. Тест с использованием МА является более специфичным и чувствительным, чем тесты Ham — Dacie, Crosby и сахарозный. Дефицит белков GPI может быть обнаружен на Эр, лейкоцитах и тромбоцитах с помощью МА CD55 и CD59, более специфичными для сегментоядерных нейтрофилов CD67 и для лимфоцитов CD58. По мнению S.Hall и соавт. (1996), МА CD55 хуже выявляют популяцию ПНГ Эр, чем CD59. Тест с МА

является особенно показательным, когда в крови обнаруживается популяция нормального и ПНГ-клона; с его помощью можно не только рано поставить диагноз, но и количественно определить клон ПНГ-клеток [Sébahou G., 1998].

Течение болезни хроническое. Спонтанное улучшение наблюдается у 10% больных [Du T. et al., 1997]. Однако чаще на разных этапах течения заболевания у больных возникают опасные для жизни осложнения, нередко являющиеся причиной смерти больных. К числу осложнений относятся панцитопения с переходом в аплазию костного мозга, тромбозы вен, возникновению которых предрасполагают беременность, прием per os контрацептивов, ОПН, которая может возникнуть в период острого гемолитического криза, вследствие тромбоза почечных вен, ХПН, развивающаяся после микротромбозов сосудов почек и инфекции мочевыводящих путей, МДС с трансформацией в острый лейкоз.

ПНГ тесно связана с АА. Приблизительно у каждого второго больного АА на определенной стадии болезни выявляется клон клеток ПНГ. С другой стороны, у большинства больных с ПНГ имеются признаки недостаточности костномозгового кроветворения [Rawstron A. et al., 1997]. Исследуя у больных с АА и ПНГ (вторичная ПНГ) и у больных с первичной ПНГ ген PIG-A, В.Мerk и соавт. (1998), Y.Mortazavi и соавт. (1998) пришли к заключению, что мутации в гене были аналогичными. По мнению D.Dunn и соавт. (1998), между ПНГ и АА имеется много общего — это наличие гипоплазии костного мозга, положительная реакция больных на лечение иммуносупрессивными препаратами, аутоиммунная этиология деструкции гемопоэтических стволовых клеток.

Относительно редко исходом болезни является острый лейкоз. Так,

по данным J.Harris и соавт. (1997), ОЛ развился у 16 из 1760 больных (0,91%), а T.Du и соавт. (1997) не наблюдали его ни у одного из 223 больных. Из 108 хорошо документированных случаев МДС, лейкозов и лимфом чаще всего исходом ПНГ были острый миелобластный лейкоз (29,6%), МДС (17,6%), миелофиброз (16,7%) и хронический миелолейкоз (11,1%); другие заболевания (хронический лимфолейкоз — 5,6%, острый миеломоноцитарный лейкоз и лимфомы — 3,7% и др.) встречались редко [Harris J. et al., 1997].

Лечение больных с ПНГ комплексное. При тяжелых формах анемий используют трансфузии эритроцитарной массы, криоконсервированной, отмытой для максимального удаления комплемента. Следует проводить все мероприятия для предотвращения аллоиммунизации. Спленэктомия не приносит улучшения больному. При наличии сидеропении назначают препараты железа, но следует помнить о том, что иногда ферротерапия может усилить гемолитический процесс за счет увеличения эритропоэза с выработкой клона клеток ПНГ. Рекомендуется назначение фолиевой кислоты. При наличии тромбозов и склонности к ним показано назначение тромболитических и антикоагулянтных средств [Sébahou G., 1998; Yenerel M. et al., 1998]. Однако все эти мероприятия не являются радикальными. Единственным методом, способствующим выздоровлению, является ТКМ (или трансфузии гемопоэтических стволовых клеток [Nafa K. et al., 1998; Pratt G. et al., 1998]). Назначение иммуносупрессивной терапии АТГ и(или) циклофосфамида с последующим назначением циклоспорина, КСФ-Г может быть альтернативой при отсутствии совместимого донора для трансплантации костного мозга [Schrezenmeier H. et al., 1998; Segel G., 2000]. Разработаны подходы для использо-

вания генотерапии [Nishimura J. et al., 1998].

Вероятность выживания больных 30 лет составляет $(54,98 \pm 7,42)\%$ [Du T. et al., 1997]. У детей выживаемость 5 лет составляет 80%, 10 лет — 60%, 20 лет — 28% [Segel G., 2000].

ВРОЖДЕННАЯ ПАРОКСИЗМАЛЬНАЯ НОЧНАЯ ГЕМОГЛОБИНУРИЯ

Эта форма заболевания впервые была описана P.Hillman и соавт. в 1998 г. у 2-летней девочки, родившейся от родителей родственного брака (двоюродные брат и сестра).

У ребенка, родившегося в срок с нормальными ростом и массой тела, течение антенатального и постнатального периодов до 2 лет было нормальным, врожденные аномалии отсутствовали. В возрасте 2 лет девочка была госпитализирована в клинику в связи с тромбозом печеночной вены. В 3-летнем возрасте отмечались тяжелая пневмококковая инфекция, тромбоз сосудов головного мозга с летальным исходом.

Методом поточной цитофотометрии установлен частичный и полный дефицит GPI-связанных белков в гемопоэтических клетках миелоидного и лимфоидного ростков. Большая часть Эр экспрессировала нормальное количество этих белков (ребенку проводились трансфузии крови!), но встречались Эр с частичным дефицитом GPI-белков. У обоих родителей и у сестры пробанда экспрессия GPI-связанных белков на мембране гемопоэтических клеток была нормальной, но у 9-месячного брата (без клинико-гематологических симптомов) изменения в гемопоэтических клетках были схожими с таковыми пробанда, с наличием частичного или полного дефицита GPI-белков на клетках всех ростков гемопоэза, в том числе и на Эр, которые были частично дефицитны.

Исходя из полученных данных, авторы делают выводы, что наследование, несомненно, аутосомно-рецессивное, отсутствует мутация гена *PIG-A*, и что имеющийся дефект гена вызывает уменьшение, но не полное исчезновение GPI-связей в мембране.

ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ, СВЯЗАННАЯ С ДЕФИЦИТОМ ВИТАМИНА Е

В 1952 г. P.Gyórgy и соавт. отметили, что Эр доношенных детей разрушаются в присутствии водорода пероксида, и что назначение витамина Е предупреждает этот процесс. H.Hassan и соавт. (1966), F.Oski и соавт. (1967) установили, что кормление недоношенных детей пищей, бедной витамином Е, но содержащей избыточное количество полиненасыщенных жирных кислот и железа, вызывает у них ГА. Подобная же ГА развивается у больных, длительно находящихся на тотальном парентеральном питании с использованием жировой эмульсии, с мальабсорбцией жира, со стеатореей различного происхождения (муковисцидоз, атрезия желчных путей, целиакия, хронический панкреатит и др.), врожденной абеталипопротеинемией и др. [Bell E., 1987]. Дефицит витамина Е у детей может приводить к токсическому поражению легких, ретинопатии, бронхолегочной дисплазии, кровоизлиянию в головной мозг и др. Назначение витамина Е предупреждает развитие этих тяжелых состояний.

Витамин Е является одним из важнейших веществ в антиоксидантной системе защиты мембран клеток и стабилизации полиненасыщенных жирных кислот против окисления. При окислении полиненасыщенных жирных кислот образуются короткоцепочечные жирные альдегиды, такие как малонилальдегид, который рассматривают как показатель окислительной реакции. Де-

фицит витамина Е может увеличивать окисляющее действие различных веществ мембраны Эр, тем самым способствуя гипергемолизу. При достаточном количестве витамина Е в организме снижается окислительное действие на мембрану Эр. Уменьшение содержания токоферола и увеличение липидных пероксидов в плазме крови описано при холестазах; оно может вызвать неврологические симптомы, которые исчезают или же не прогрессируют при восполнении дефицита витамина Е. Некоторые вещества (адриамицин, нитрозомочевина) снижают концентрацию α -токоферола и восстановленного глутатиона в клетке, вследствие чего в ней происходит генерация супероксиданиона и водорода пероксида с последующим повреждением клетки [Lubrano R. et al., 1989].

У недоношенных детей к дефициту витамина Е предрасполагают ряд факторов: малые запасы, низкая абсорбция витамина, повышенное усвоение полиненасыщенных жирных кислот. Назначение препаратов железа ингибирует абсорбцию витамина Е, и при наличии уже имеющегося дефицита витамина в организме железо оказывает окислительное действие с развитием гемолиза и анемии [Brown M., 1988]. В приложении 25 представлены данные о нормальном содержании витамина Е.

Клиническая картина дефицита витамина у недоношенных детей проявляется в виде желтухи, анемии,

ретикулоцитоза, тромбоцитоза, периферических отеков. ГА возникает на 6—10-й неделе жизни недоношенного ребенка, носит нормохромный нормоцитарный характер с ретикулоцитозом и морфологической аномалией Эр (анизоцитоз, пойкилоцитоз, акантоцитоз, пикноцитоз, иногда выявляются фрагментированные Эр). Длительность жизни Эр укорочена. В костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ростка. В периферической крови может отмечаться тромбоцитоз с гиперагрегацией тромбоцитов.

Диагноз верифицируется наличием клинико-гематологических признаков гемолиза и низким содержанием витамина Е в плазме крови (менее 5 мг/л), хотя низкое содержание витамина часто отмечается у недоношенных детей при отсутствии анемии.

Для профилактики дефицита витамина Е недоношенным детям, находящимся на грудном вскармливании, назначают водный раствор витамина Е по 25 ЕД/сут в течение первых 6 нед жизни [Zipursky A. et al., 1987]. Для лечения назначают α -токоферола ацетат в суммарной дозе 200—800 мг в течение 1—4 дней или по 100 ЕД в течение 14 дней. Клинические признаки дефицита, анемия и ретикулоцитоз исчезают в течение 10 дней с момента начала лечения [Freuson F. et al., 1982].

Прогноз заболевания благоприятный.

ЖЕЛТУХИ ПРИ УВЕЛИЧЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОНЬЮГИРОВАННОГО БИЛИРУБИНА

Нередко клиницисты наблюдают больных, у которых отмечается выраженное желтушное окрашивание кожи и видимых слизистых оболочек, а в сыворотке крови увеличено содержание неконъюгированного билирубина. Больные (или родственники) указывают на то, что интенсивность желтухи

периодически усиливается или уменьшается, при этом, как правило, у больных не определяются клинические и лабораторные признаки ГА. Отмечено, что клинические симптомы желтухи наблюдаются в тех случаях, когда концентрация билирубина в сыворотке крови составляет 42,75—

51,3 мкмоль/л и выше. При билирубинемии больные нередко не жалуются на соматическое неблагополучие (например, синдром Жильбера) либо могут быть соматически нарушениями различной степени выраженности (например, синдром Криглера — Найяра). Поскольку синдром желтухи может наблюдаться при многих заболеваниях (гепатиты, сепсис, желчнокаменная болезнь и др.), то мы остановимся лишь на тех состояниях, при которых отмечается увеличение в сыворотке крови содержания неконъюгированного билирубина, так как его наличие иногда может быть «камнем преткновения» у практикующего врача при постановке диагноза.

Увеличение в сыворотке крови содержания неконъюгированного билирубина наблюдается при физиологической желтухе новорожденных, ГА и неэффективном эритропоэзе различного генеза, нарушении усвоения печеночного билирубина, синдромах Жильбера и Криглера — Найяра. Хотя последние два состояния (синдрома) и не сопровождаются анемией, тем не менее иногда их ошибочно трактуют как ГА.

Повышение неконъюгированного билирубина может быть обусловлено 3 причинами: 1) повышенным образованием билирубина; 2) нарушением усвоения билирубина печенью; 3) снижением конъюгации билирубина, как это имеет место при синдромах Криглера — Найяра и Жильбера.

Повышенное образование билирубина отмечается при гипергемоллизе Эр и неэффективном эритропоэзе. И при том, и при другом состоянии содержание билирубина в сыворотке крови редко превышает 40—50 мг/л, отсутствует билирубинурия и в сыворотке крови не определяется Δ-форма билирубина. Если при этом имеются сопутствующие дисфункции печени, то при наличии неконъюгированной билирубинемии может быть увеличено содержание конъюгированного билирубина. При неэффективном эритропоэзе, когда имеет место по-

вышенная деструкция эритрокардиоцитов, может отмечаться неконъюгированная билирубинемия (например, при талассемии, пернициозной анемии и др.). Увеличение содержания неконъюгированного билирубина в сыворотке крови может быть следствием кровоизлияний (обширные гематомы, гемоторакс и др.)

При физиологической желтухе новорожденных часто увеличено содержание неконъюгированного билирубина в сыворотке крови. Обычно его содержание нормально при рождении ребенка, но увеличивается в течение первой недели жизни до 51,3—85,5 мкмоль/л, а затем на 2-й неделе возвращается к норме. Причина этой физиологической желтухи новорожденных многофакторная и прежде всего связана с незрелостью фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы, повышенной деструкцией Эр, со сниженной внутриклеточной способностью билирубина связываться с лигандином, с уменьшением экскреции желчью билирубиновых конъюгатов и увеличением деконъюгации и реабсорбции билирубина в кишечнике. При значительной билирубинемии, которая угрожает возникновению неврологических осложнений, проводят то же лечение, как и при ГБН (фототерапия, обменные гемотрансфузии, коррекция ацидоза и др.).

Нарушения усвоения билирубина печенью редки. Так, некоторые лекарственные препараты (рифампицин, рифамицин и др.) могут затруднять усвоение билирубина печенью и вызывать обратимую, умеренно выраженную билирубинемию.

СИНДРОМ КРИГЛЕРА — НАЙЯРА

Этот синдром генетически обусловлен. Выделяют 2 его типа — I и II. Оба типа отличаются друг от друга по клиническим проявлениям, степени билирубинемии и реакции на лечение. Хотя синдром является

наследственным, тем не менее у многих носителей этого синдрома билирубинемия отсутствует.

Синдром встречается относительно редко — приблизительно 1 случай на 1 млн родившихся детей. Дети с этим наследственным синдромом представляют собой группу риска развития билирубининдуцированной энцефалопатии. Различные лекарственные препараты (сульфаниламиды, цефалоспорины и др.) и их метаболиты, инфекции, голодание, травма и др. могут увеличивать билирубинемии, повышая риск возникновения ядерной желтухи [Дегтярев Д.Н. и др., 1998; Bosma P. et al., 1993].

Синдром был впервые описан J.Crigler и V.Najjar в 1952 г. под названием «семейная негемолитическая анемия с ядерной желтухой». В 1969 г. I.Agiar и соавт. установили, что существуют 2 типа этого синдрома. Как уже отмечалось (см. раздел «Гемолиз»), в нормальном организме для экскреции билирубина в желчь необходимо его превращение в водорастворимые дериваты, главным образом глюкурониды, которые образуются под действием фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы.

При данном синдроме активность этого фермента либо полностью отсутствует, либо она резко снижена.

Синдром Криглера — Найяра I типа наследуется аутосомно-рецессивно. Он обусловлен отсутствием активности билирубин УДФ-глюкозилтрансферазы вследствие мутации в гене В-UGT1. Вследствие этого не происходит глюкуронизация билирубина, в желчи отсутствуют глюкурониды билирубина [Erps L. et al., 1994]. Молекулярной основой синдрома является либо наличие мутаций в эксонах всех изоформ УДФ-глюкуронозилтрансферазы, либо только в эксонах билирубин-конъюгированных изоформ [Hauser S., 1999].

Синдром проявляется рано, обычно в первые 2—3 дня после рождения.

В период новорожденности отмечается билирубинемия, обычно больше 200 мг/л. Практически весь билирубин представлен неконъюгированным. Другие функциональные тесты печени — нормальные. Несмотря на проводимую фототерапию, плазмаферез, почти у всех детей развиваются признаки ядерной желтухи. Однако поражение головного мозга может возникнуть в любом возрасте, в том числе у взрослых [Maisles J., 1999]. При гистологическом исследовании печени патологических изменений не выявляется. Анемии нет.

Диагноз устанавливают на основании исследования фракций билирубина в сыворотке крови и желчи методом жидкостной хроматографии, а также действия фенобарбитала с последующим исследованием фракций билирубина. При синдроме I типа действие фенобарбитала очень незначительное или же отсутствует [Rubatelli F. et al., 1994].

Лечение фенобарбиталом, плазмаферезом, применение фототерапии практически неэффективно, поскольку в основе болезни лежит отсутствие фермента, способствующего конъюгации билирубина. При высокой билирубинемии прибегают к обменным гемотрансфузиям. Прием per os кальция фосфата на фоне фототерапии значительно снижает билирубинемии у больных [van der Veere C. et al., 1997]. Единственным радикальным методом лечения является ортотопическая пересадка печени. Впервые она с успехом была применена в 1986 г. S.Kaufman и соавт.— у больного в течение первых суток после операции содержание билирубина в сыворотке крови снизилось с 260 до 12 мг/л. С тех пор проведены более 200 операций по пересадке печени при этом синдроме. Считают, что пересадку печени следует проводить до появления неврологической симптоматики.

I.Fox и соавт. (1998) вводили взвесь гепатоцитов, полученных из

печени здоровых людей, в воротную вену 10-летней девочке, которая дважды в день получала фототерапию, и содержание билирубина в сыворотке крови у нее составляло 400—460 мкмоль/л. После этой процедуры билирубинемия у больной снизилась в 2 раза, а активность УДФ-глюкозилтрансферазы увеличилась с 0,4% до 5,5% от нормы, и 30% желчных пигментов составляли билирубинглюкурониды.

Прогноз заболевания при отсутствии трансплантации печени у больных с ядерной желтухой плохой [Prager M. et al., 1992; Fox I. et al., 1998; Lee L., 2001]. G.Suresh и соавт. (1997) наблюдали 42 больных в возрасте от 2 мес до 21 года. Основным методом лечения была фототерапия, которую проводили ежедневно по 10—16 ч. Кроме того, некоторые больные получали per os агар, антиоксиданты, холестеримин. 15 детям проведена пересадка печени — все они развиваются нормально, у 77% из них поражений нервной системы нет, хотя у некоторых отмечалась потеря слуха, связанная с поражением ЦНС.

Синдром Криглера — Найяра II типа (синдром Arias) является также генетическим заболеванием, которое наследуется либо аутосомно-доминантно с неполной пенетрацией, либо аутосомно-рецессивно. Он протекает легче, чем I тип, так как при II типе синдрома имеется остаточная активность фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы.

Молекулярной основой болезни является мутация в гене B-UGT. Первые признаки болезни могут появиться в период новорожденности в виде желтухи. Редко, но может отмечаться билирубиновая энцефалопатия. Желтуха носит интермиттирующий характер. Обычно лица с синдромом II типа живут нормально, описаны больные 40-летнего возраста.

При лабораторном обследовании больных гематологические показатели нормальные. Периодически отме-

чается билирубинемия — 60—250 мг/л, в основном за счет неконъюгированной фракции. При функциональных печеночных тестах (исключая содержание билирубина) и гистологических исследованиях печени патологических изменений не выявляется. При исследовании желчи обнаруживаются конъюгированный билирубин, в основном в виде МГБ, и в небольшом количестве билирубин диглюкуронид.

Обычно лечение не назначают, так как билирубинемия незначительна, но при значительном увеличении билирубина проводят лечение плазмаферезом, назначают фенобарбитал, под влиянием которого содержание билирубина в плазме крови снижается на 27—78% от исходных величин. Назначение фототерапии снижает билирубинемии в среднем на 43% [Serpen J. et al., 1994], а фенобарбитала — на 30% и более [Maisles J. et al., 1999].

Прогноз при синдроме II типа относительно благоприятный.

СИНДРОМ ЖИЛЬБЕРА

Это наиболее частое наследственное нарушение метаболизма печеночного билирубина при отсутствии ГА и заболеваний печени. Синдром характеризуется наличием доброкачественной неконъюгированной гипербилирубинемии интермиттирующего характера. По мнению P.Vosma и соавт. (1995), G.Monaghan и соавт. (1996), синдром наблюдается у 2—3% жителей планеты, а по мнению A.Sieg и соавт. (1987), этот синдром встречается у 3—10% жителей. Синдром в 4 раза чаще встречается у лиц мужского пола, чем у женского. Тип наследования аутосомно-рецессивный [Owens I. et al., 1992].

Молекулярной основой заболевания являются изменения в промоторе гена УДФ-глюкуронозилтрансферазы (UGT-1A). Это приводит к снижению активности фермента. Генетические

вариации в гене промотора билирубина UDP1 играют роль в различных клинических проявлениях синдрома [Polascon A. et al., 1998]. У некоторых больных могут наблюдаться умеренные нарушения в усвоении печеночного билирубина и внутриклеточного транспорта органических анионов [Hauser S., 1999].

Клинически синдром характеризуется удовлетворительным самочувствием больных. В основном их беспокоит (с косметической точки зрения) наличие желтухи, периодически усиливающейся при стрессе, появлении интеркуррентных заболеваний и ослабевающей после приема фенобарбитала, глюкокортикоидов. Гипербилирубинемия может быть более выраженной при отсутствующей ГА. Периодически у ряда больных желтуха полностью исчезает.

У большинства больных диагноз устанавливается в юношеском возрасте, но наличие синдрома может играть роль в патогенезе желтухи новорожденных. J. Vancroft и соавт. (1998) отметили, что у новорожденных детей, которые были гомозиготами по полиморфизму A (TA)₇TAA в участке промотора UDPGT1, в первые 2 сут жизни наблюдалось более высокое содержание билирубина в сыворотке крови, чем у гетеро-

зигот или у гомозигот с полиморфизмом A (TA)₆TAA.

При исследовании крови признаков ГА нет. Содержание билирубина в крови обычно менее 30 мг/л и периодически может быть в пределах нормы. Поскольку процесс глюкуронизации билирубина полностью не нарушен, то до 30% от общего билирубина нормальный, и в желчи увеличено содержание МГБ. Это объясняется тем, что процесс глюкуронизации билирубина в печени опосредуется специфической микросомальной изоформой билирубина — UDP-глюкуронилтрансферазой, и только одна из них — UDP-глюкуронилтрансфераза 1 участвует в глюкуронизации билирубина [Bosma P. et al., 1995]. Функциональные пробы печени, гистологическое исследование последней нормальные.

Больные с синдромом Жильбера не требуют лечения. У них возможно развитие желчнокаменной болезни, особенно риск ее развития повышается при наличии у больных сопутствующей ГА [Miraglia del Giudice et al., 1998]. Описаны случаи сочетания гетерозиготной формы синдрома Криглера — Найяра с гомозиготной формой синдрома Жильбера, осложнившихся ядерной желтухой [Chalasan N. et al., 1997].

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И ПРИОБРЕТЕННЫЕ ПОРФИРИИ

Порфирии — это гетерогенная группа заболеваний, которые могут быть наследственными и приобретенными. В основе этих заболеваний лежат нарушения биосинтеза гема (схема 15). Вне зависимости от того, для чего будет использоваться гем (синтез гемоглобина, миоглобина, каталазы, цитохрома P450 и др.) и какими клетками (костный мозг, печень и др.) биосинтез гема проходит одинаково через аналогичные этапы,

нарушения синтеза порфиринов приводят к расстройству порфиринового обмена и в гемопоэтических клетках (эритроблестах), и в клетках других органов и прежде всего в печени.

Порфирины играют важную роль в биологических процессах, так как вовлечены во многие реакции, связанные с утилизацией, транспортом и хранением кислорода. Термин «порфирия» происходит от греч. porphura (багровый); это слово часто

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И ПРИОБРЕТЕННЫЕ ПОРФИРИИ

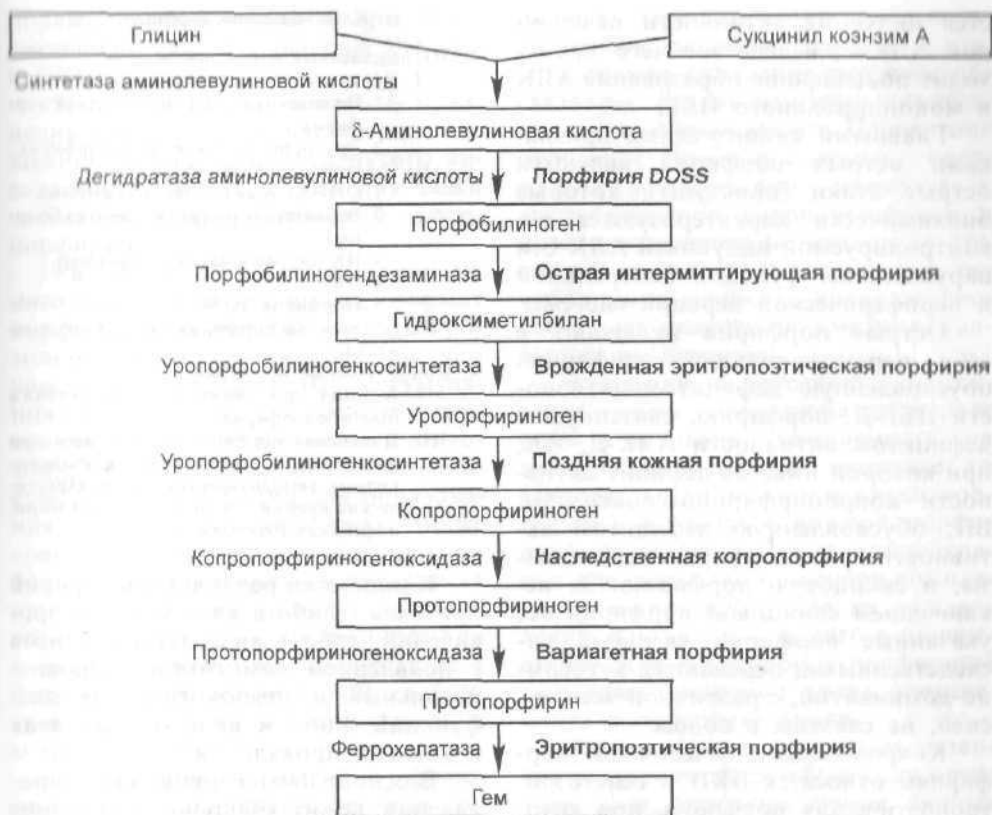


Схема 15. УРОВНИ ПОРАЖЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУТИ БИОСИНТЕЗА ГЕМА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ПОРФИРИЙ.

ассоциируется с королевской властью. И действительно, порфирии называют еще «королевской болезнью», так как ряд членов королевских домов Стюартов и Виндзоров Соединенного Королевства страдали острой порфирией (ВП). Водные растворы порфиринов имеют окраску от красной до багровой; в ультрафиолетовых лучах порфирины флуоресцируют красным цветом. Предшественники порфиринов — порфириногены — под действием света и кислорода спонтанно превращаются в порфирины.

В 1912 г. Н.Günter выделил несколько форм порфирий, полагая, что это одна и та же болезнь. В

последующие годы были описаны еще ряд форм, различавшихся как по течению, так и по клиническим проявлениям. В связи с этим возникла необходимость классифицировать все формы порфирий. Существуют различные классификации порфирий, в которых учтены место преимущественного нарушения (печень или костный мозг), или неполноценность ферментов, или характер течения (острые и латентные) [Идельсон Л.И., 1968; Leblanc T., 1995; James M. et al., 2000].

К острым (их еще называют индуцированными) порфириям относятся состояния, при которых под действием ряда факторов наблюда-

ется индукция активности печеночной АЛК-С, вследствие чего происходит повышенное образование АЛК и монопиррольного ПБГ.

Главными клиническими признаками острых порфирий являются острые атаки (приступы), которые биохимически характеризуются неконтролируемой индукцией АЛК-С и нарушениями функций центральной и периферической нервной системы.

Острые порфирии включают в себя перемежающуюся порфирию, обусловленную дефицитом активности ПБГ-Д, порфирию, связанную с дефицитом активности АЛК-Д, НК, при которой имеется дефицит активности копропорфириногенаоксидазы, ВП, обусловленную дефицитом активности протопорфириногенаоксидазы, и свинцовую порфирию. За исключением свинцовой порфирии все указанные порфирии являются наследственными, передаются аутосомно-доминантно, с различной экспрессией, не связаны с полом.

К хроническим печеночным порфириям относятся ПКП и гепатоэритропозитическая порфирия, при которых снижена активность УПГ-Д. Иногда эритропозитическая протопорфирия может осложняться тяжелыми расстройствами функций печени и даже ее циррозом, хотя в действительности главным источником повышенного образования протопорфирина является не печень, а костный мозг. Поэтому в этих случаях необходимо тщательно проводить дифференциальную диагностику. В некоторых классификациях [Orkin F., 1996] учитывается главная локализация избыточного образования порфиринов и их предшественников (печень или костный мозг). Большинство порфирий являются наследственными, но некоторые могут быть приобретенными. Мы считаем, что более удачной является классификация F.Orkin (1996) и приводим ее с некоторыми нашими дополнениями.

Классификация порфирий

- A. Наследственные порфирии.
 1. Эритропозитические порфирии.
 1. Врожденная эритропозитическая порфирия.
 2. Эритропозитическая протопорфирия.
 - II. Печеночные порфирии.
 1. ОПП (острая и латентная формы).
 2. Вариагетная (острая и латентная формы).
 3. НК (острая и латентная формы).
 4. ПКП.
 5. Порфирия DOSS.
 - III. Смешанная порфирия (эритропеченочная).
- B. Приобретенные порфирии.
 1. Анемия при свинцовом отравлении (плюмбопорфирия).
 - II. Изменения порфиринового обмена при различных заболеваниях (железодефицитные, гемолитические, сидероахрестические анемии, анемии при воспалении, инфекциях, β-талассемии и др.).

Клинически различные порфирии протекают либо в виде кожных проявлений, либо в виде острых кризов с появлением симптомов нейровисцеральных и неврологических дисфункций, либо в виде острых атак и кожных проявлений.

В основе патогенеза кожных проявлений лежит обильное отложение порфиринов в коже с последующей вторичной реакцией. Поражения кожи отмечаются при всех порфириях, за исключением ОПП и порфирии, связанной с дефицитом активности АЛК-Д. При этих двух последних заболеваниях (как и при тирозинемии I типа и отравлении свинцом) значительного увеличения содержания порфиринов не наблюдается, поскольку нарушения активности ферментов предшествуют ступеням, когда образуются порфириногены или порфирины.

Повышенная чувствительность кожи к солнечным лучам проявляется двояко:

1) в виде глубоких повреждений кожи, чаще всего незащищенных участков тела от инсоляции (кисти, предплечья, ушные раковины, нос и другие открытые участки тела); эти

поражения наблюдаются при ВЭП, смешанной форме порфирии, ВП, НК и ПКП;

2) в виде острой эритемы, появления ожогов, зуда частей незащищенного покрова, подвергнутого инсоляции; этот тип поражения кожи свойствен эритропоэтической протопорфирии.

Различия в реакции кожи на инсоляцию при различных формах порфирии обусловлены тем, что протопорфирин более гидрофобен, чем уро- и копропорфирины. Аккумуляция протопорфирина отмечается первоначально и прежде всего в митохондриях, в которых железо включается в протопорфирин для образования гема. Протопорфирин также «растворяется» в биологических мембранах. В то же время аккумуляция уропорфирина происходит главным образом в лизосомах, и уропорфирин и другие порфирины, содержащиеся в большом количестве (4—8) карбоксильные группы, не включаются в мембраны клеток.

Порфирины интенсивно флуоресцируют в ультрафиолетовых лучах при длине волны 400 нм, и в экспериментальных условиях ультрафиолетовая радиация в этом спектре вызывает максимальную фоточувствительность кожи [Meuer U. et al., 1978]. Фоточувствительность порфиринов обусловлена тем, что они способны поглощать свет, но для этого необходим молекулярный кислород. Энергия света возбуждает электроны порфиринов, уровень энергии повышается, образуя как бы «тройное состояние». Поскольку электроны через некоторое время возвращаются в первоначальное энергетическое состояние, то часть энергии от них переносится на молекулярный кислород, образуя высокоактивный синглетный кислород. Последний является высокотоксичным и способен повреждать ткани, действуя на ряд механизмов,

включая перекисное окисление ненасыщенных липидов мембраны клеток, прямое окисление перекрестно-связанных белков мембраны, окисление нуклеиновых кислот. Перекисное окисление мембран лизосом, содержащих уропорфирин, приводит к высвобождению гидролитических и протеолитических ферментов внутри клетки, вызывает ее разрушение, освобождение веществ, которые способствуют появлению эритемы, волдырей, рубцеванию.

Возможно, в патогенезе повреждения кожи порфиринами играет роль и активация комплемента, на этот механизм действия указывает то обстоятельство, что содержимое волдырей у больных с кожной порфирией содержит высокие концентрации некоторых компонентов комплемента и(или) продуктов их расщепления. Кроме того, *in vitro* в присутствии света и кислорода порфирины вызывают снижение титра комплемента в сыворотке крови.

Таким образом, патогенез развития кожных порфирий более или менее ясен, хотя, вероятно, новые данные могут внести некоторые уточнения.

Менее ясным остается патогенез неврологических нарушений, возникающих в период острых приступов при порфириях. В период острого криза происходит аккумуляция δ -АЛК и ПБГ, содержание которых в крови резко повышается. Эти вещества являются нейротоксичными — они могут вызывать задержку пресинаптической передачи, уменьшать концентрацию АТФ в головном мозге и моносинаптические рефлексы спинного мозга. Однако эти вещества не способны проникать через гематоэнцефалический барьер и достигать такой концентрации, которая могла бы дать эти эффекты. Более того, повышенные концентрации δ -АЛК и ПБГ в крови наблюдаются и у больных с отсутствием неврологической симптоматики [Orkin F., 1996].

Высказывают также мнение о том, что неврологические симптомы обусловлены нарушением синтеза гема в нейронах, приводящим к демиелинизации и вторичной дегенерации аксонов [Shanley B. et al., 1977]. Так, у больных с латентной формой, у которых имеется дефект синтеза порфиринов, при отсутствии острых кризов наблюдается периферическая нейропатия, диагностируемая методом электромиографии [Mustajoki P. et al., 1975]. Можно полагать, что латентный генетический дефект в нейронах, как и в других соматических клетках, вероятно, активируется в период острых эпизодов заболевания.

Возможно, что неврологический синдром обусловлен нарушением обмена триптофана. Так, в эксперименте на крысах было установлено, что при индуцировании порфирии химическими веществами у крыс возникал острый дефицит образования гема, и почти весь гем использовался для синтеза цитохрома P450, и лишь незначительная часть гема использовалась для синтеза других гемопротеинов. При этом в большей степени страдала триптофановая гидролаза, которая подвергалась деградации и не ресинтезировалась. Этот фермент регулирует образование триптофана для нервной системы и желудочно-кишечного тракта. Поскольку активность фермента снижается, увеличивается содержание триптофана в крови, и в экскретируемой моче повышается содержание метаболитов триптофана, концентрация которых коррелирует с появлением абдоминального синдрома у больных. Увеличение содержания триптофана в крови блокирует образование гликогена в печени, тем самым уменьшая снабжение нервной системы глюкозой. Это может приводить к неврологическим осложнениям. Этот механизм действия на нервную систему подтверждается клиническими наблюдениями: голодание больных

предрасполагает к появлению кризов при печеночных формах порфирий, поэтому внутривенное введение глюкозы является одним из важнейших компонентов лечения.

Хотя и имеются определенные успехи в изучении патогенеза неврологических осложнений при порфириях, но полной ясности в этом нет.

Как уже отмечалось, ОПП, ВП и НК могут протекать в виде латентной формы и острых кризов. Острые кризы провоцируются в основном экзогенными факторами, но они могут быть вызваны инфекцией, голоданием, менструациями. Учитывая тяжесть острых кризов, иногда заканчивающихся летально, важное значение приобретает знание тех лекарственных, химических и других веществ, а также факторов, провоцирующих кризы. Эти знания особенно важны для врачей-анестезиологов и реаниматологов.

H. Bonkovsky (1999) подразделяет все известные лекарственные и химические вещества, вызывающие острые кризы при печеночной порфирии, на три группы:

1) вещества, вызывающие кризы; данные подтверждены клиническими наблюдениями;

2) вещества, которые теоретически могут вызвать острый криз, поэтому их рискованно использовать; об этих веществах клинических сведений нет, но в экспериментальных системах доказана их порфириногенность, и, возможно, это может проявиться у больного при использовании этих веществ;

3) безопасные вещества, которые применялись у людей с печеночной порфирией и не вызывали кризов.

К 1-й группе веществ относятся амидопирин, анальгин, антипирин, аминоглутетимид, барбитураты, бемегрид, N-бутилскополамоний бромид, барбарамазепин, баралгин, бутадиион, вальпроаты, глутетимид, гризеосульфин, галотан, гидантоины,

гексамидин, гормоны желтого тела, дифенин, даназол, дапсон, диклофенак, имипрамин, изопронилмепробамат, карбамазепин, карбромал, кординамин, контрацептивы пероральные, левомецетин, мефентоин, мепробамат, метилдофа, метилрилон, метоксифлюран, метсукцимид, новобинолин, пенталгин, прогестерон, пирразинамид, резохин, сукцинимиды, сульфонэтилметан, теофиллин и его производные, толазамид, толбутамид, триметин, троксидон, фортрад, фесукцимид, хлорпропамид, элениум, знорфлюран, эстрогены, энхлорвинол, эвкалипт, этомидат.

Ко 2-й группе веществ относятся апрессин, алькурониум, альфадолон ацетат, альфаксолон, аллилсодержащие вещества, альдактом, бутиваканин гидрохлорид, вещества, вызывающие индукцию цитохрома P450 или увеличивающие кругооборот печеночного гема, диазепам, дименгидринат, камфора, клоназепам, клофелин, колистин, налidikсовая кислота, коразол, ламотриджин, лидокаин, мепивакаин, метилхлотиазид, метираптон, нортриптилин, нитразепам, парджилин, прилокаин, пирокан, рифампицин, тяжелые металлы, трамал, фенамин, фелбамат, флюрексен, фуросемид, феноксibenзамин, хлороформ, хлодитан, эналаприл, этидокаин, этомадат, эритромицин.

К 3-й группе относятся амитриптилин, ацетаминофен, алфентанил, аспирин, атропин, α - и β -адреноблокаторы, анальгетические наркотики, азота закись, ардуан, анаприлин, адреналин, алкалоиды раувольфии, бромиды, бупренорфин, бупивакаин гидрохлорид, вигабатрин, витамины (А, В, С, D, E), габапентин, гепарин, галотан, галламин, дигоксин, дикаин, димедрол, дроперидол, дитилин, дипразин, ибупрофен, индометацин, инсулин, кальций, каптоприл, кетамин, колхицин, кортикостероиды, кодеин, лабеталол, лизиниприл, литий, лозартан, манделамин, магnezия, мефено-

вая кислота, меперидин, метадон, метилфенидат, морфин, мотилиум, новокаин, нозепам, налоксон, новокаиnamид, напроксен, октадин, парацетамол, пропофол, пелентан, прозерин, паральдегид, параксетин, пеницилламин, пенициллин, пропазин, пропоксифен, прозерин, резерпин, стрептомицин, скополамин, сомбревин, тетрациклин, тиоурацил, тубокураринхлорид, темазепам, триазолам, тироксин, фенотиазин, фурадонин, фентоламин, флуоксетин, фентанил, хлоралгидрат, хлорпромазин, циклопропан, ЭДТА, эфир этиловый [Rizk S. et al., 1977; Kantor G. et al., 1992; Orkin F., 1996; Meissner R. et al., 1996; Bonkovsky H., 1999; James M. et al., 2000].

Безусловно, этот перечень не полный, так как многие из веществ либо не тестированы, либо нет сведений об их возможности индуцировать острый криз.

При печеночных порфириях пусковым механизмом в развитии острых кризов, помимо лекарственных препаратов и химических веществ, могут быть эндогенные и экзогенные стероиды, инфекция, голодание и др.

Среди лекарственных препаратов, индуцирующих острый криз при печеночной порфирии, были описаны барбитураты. Среди них острую порфирию чаще вызывает тиопенталнатрий. Он очень опасен тем, что его вводят внутривенно в больших дозах больному, у которого уже имеются симптомы ургентного патологического состояния, и на этом фоне боли в животе могут симулировать ургентные абдоминальные состояния, требующие хирургического вмешательства [Tschudy D. et al., 1975]. Острый криз может возникнуть после введения препарата не сразу, а спустя неопределенное время. Не всегда имеется корреляция между возникновением криза и дозой препарата. Это может зависеть от ряда факторов, на фоне которых вводят препарат (дие-

та, гормональный статус и др.). Механизм индуцирующего острый криз действия барбитуратов, препаратов железа, свинца и других тяжелых металлов заключается в том, что они угнетают активность многих ферментов, участвующих в биосинтезе гема.

Этомидат, дериват имидазола, вызывает увеличение синтеза АЛК-С *in vitro*. Кетамин не вызывает синтез АЛК-С в печени крыс даже при больших дозах, но он является порфириногенным для эмбриональной печени цыплят. Энфлуран и метоксифлуран индуцируют синтез АЛК-С *in vitro*, а галлатан не является порфириногенным. Лидокаин является порфириногенным, а прокаин уменьшает синтез АЛК-С в печени. Имеются данные о том, что прокаин способен индуцировать ремиссию при острой порфирии [Rizk S. et al., 1977; Meissner P. et al., 1991; Kantor G. et al., 1992].

При всех порфириях, протекающих с острыми кризами, наблюдается увеличение содержания АЛК и ПБГ в моче, хотя при свинцовой порфирии отмечается только повышение экскреции АЛК, так как при ней дефект находится до ступени, при которой синтезируется ПБГ.

Пусковой механизм лекарственных препаратов многообразен, он действует различными путями, от которых зависит увеличенная потребность в образовании гема или же отмечается недостаточный ингибиторный эффект на конечной стадии биосинтеза гема. Лекарственные препараты могут индуцировать транскрипцию АЛК-С либо непосредственно через мРНК, либо путем вмешательства в механизм контроля обратной связи, при котором гем влияет на образование АЛК-С. Медикаменты могут влиять на разные этапы синтеза гема либо способствуют образованию гема путем увеличения его утилизации, например через по-

вышение потребности для окислительных процессов, опосредованных через цитохромы, либо уменьшая образование гема. Эти многогранные потенциальные пути воздействия на биосинтез гема и большая вариабельность лекарственных структур делают невозможным предсказать, какой из лекарственных препаратов является более порфириногенным. Но порфириногенность медикаментов четко связана с их жирорастворимостью.

Имеется четкая связь между строением химического вещества и его способностью индуцировать порфирию. Так, вещества, в которых имеются аллиловые группы (барбитураты) или же имеющие определенную стероидную структуру, вызывают индукцию образования АЛК-С, но эта индукция синтеза фермента наблюдается только при острых формах печеночной порфирии, и не совсем ясно, почему этого не происходит при формах, протекающих без острого криза. Так, потенциальные индукторы синтеза АЛК-С, например антиконвульсанты, эстрогены, не вызывают острых кризов при эритропоэтической и ПКП, хотя кожные проявления на фоне применения этих препаратов могут увеличиваться, но никогда не наблюдается повышенной экскреции с мочой АЛК и ПБГ, характерных признаков острых кризов [James M. et al., 2000].

У большинства больных с порфириями (острая интермиттирующая и вариететная порфирии, НК), у которых возник острый криз, до его наступления дефицит активности ферментов клинически никак себя не проявлял. Как правило, активность ферментов составляет 50% от нормы [Jackson S., 1990]. Гомозиготные состояния крайне редки, так как, вероятно, полное отсутствие образования гема приводит к нежизнеспособности. Хотя и нет прямой корреляции между наследованием и полом, тем не менее острые кризы чаще отме-

чаются у женщин, чем у мужчин в 3—4-м десятилетии жизни. Очень редко кризы возникают у детей до пубертатного периода и у женщин в период менопаузы, хотя описаны большие с острыми кризами в возрасте 7 и 75 лет [Kantor G. et al., 1992; Jensen N. et al., 1995].

Многочисленные клинические наблюдения указывают на то, что эндогенные женские половые гормоны могут быть пусковым механизмом в развитии острого криза при печеночных порфириях. В пользу этого говорит то, что клинические и биохимические признаки болезни появляются после пубертатного периода, болеют преимущественно женщины, часто наблюдаются обострения болезни в менструальный период и во время беременности. По данным G. Kantor и соавт. (1992), острые кризы возникают у 24—95% беременных с ОПП. Спонтанные аборт и артериальная гипертензия при беременности также могут осложнить течение ОПП (в 6—12% случаев). У больных с ОПП часто рождаются дети с малой массой тела [James M. et al., 2000]. При приеме эстрогенов и контрацептивных средств рег. ос частота кризов снижается. В опытах на эмбриональной печени цыплят было установлено, что эстрадиол, эстроген, прогестерон и тестостерон обладают незначительной порфириногенностью. Более того, у некоторых больных эстрогены и контрацептивные препараты для внутривенного употребления могут предотвратить развитие криза [Orkin F., 1996].

У некоторых больных острый криз может быть спровоцирован бактериальной и вирусной инфекциями, дегидратацией, стрессом, голоданием; диета, обогащенная углеводами, уменьшает экскрецию порфиринов и их предшественников [Rose J. et al., 1961; Perlzoth M. et al., 1968; Disler P. et al., 1985].

Таким образом, острые кризы, возникающие при некоторых формах

печеночных порфирий, могут быть спровоцированы самыми различными факторами, но для практикующего врача очень важно знать, какие из лекарственных и химических веществ являются порфибилиногенными.

В общих чертах вне зависимости от формы печеночной порфирии острых криз протекает достаточно типично и характеризуется острыми болями в животе, красной мочой, нейропсихическими и электролитными нарушениями. Симптомы острого криза могут быть от умеренных до выраженных с фатальным исходом [Elder G. et al., 1997].

Наиболее тяжелыми и потенциально опасными для жизни проявлениями криза являются нервно-мышечные поражения, которые могут проявляться в виде парезов и дыхательной недостаточности, приводя к смерти. У некоторых больных развивается синдром нейрогенной гипервентиляции, который приводит к выраженному алкалозу и вторичной коме. У больных может отмечаться потеря чувствительности. Полинейропатия выражается в виде дегенерации аксонов. Хотя в период криза у больных преобладает моторная нейропатия, однако в патологический процесс может быть вовлечен любой участок нервной системы. Параличи черепных нервов, вовлечение мозжечка и базальных ганглиев встречаются редко. Перманентно могут наблюдаться парасимпатические нарушения, особенно при ОПП. У некоторых больных в период криза возникают судороги. Параличи развиваются обычно через несколько дней или даже месяцев после появления картины «острого живота». Периферическая нейропатия проявляется в виде болей в спине и конечностях. Иногда вялый паралич возникает в течение нескольких дней. Если в процессе вовлекаются бульбарные краниальные нервы, то могут

быть афония, дисфагия, паралич дыхания. Как правило, параличи и парезы возникают у лиц с печеночной порфирией, получавших барбитураты [Orkin F., 1996]. Клинические неврологические проявления острого криза могут напоминать многие заболевания, так что J.Waldenström (1939) назвал острую порфирию «маленьким имитатором».

Трудности в диагностике заболевания могут возникнуть вследствие того, что симптомы болезни не всегда возникают сразу же после действия пускового агента, хотя у некоторых больных клиническая симптоматика появляется в течение нескольких часов после действия пускового агента, а другие неврологические симптомы возникают через несколько дней и даже спустя месяц. Это обстоятельство затрудняет определение действия того или иного агента; этим может объясняться и то, что не у всех больных возникает криз после введения тиопентал-натрия.

При острой порфирии у больных могут возникнуть психические нарушения, проявления которых весьма вариабельны — от незначительных до острого психоза. Могут наблюдаться возбуждение, депрессия, ненормальное поведение, галлюцинации и др.

Для острого криза при печеночной порфирии характерны симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта и наиболее частыми и типичными для них являются острые боли в животе со рвотой, иногда понос. Клинически отсутствуют симптомы раздражения брюшины, а при лапаротомии никаких видимых патологических изменений в брюшной полости не обнаруживалось. При болях в животе может повышаться температура тела, отмечаться лейкоцитоз, тахикардия, лабильная гипертензия, сменяющаяся гипотензией, недержание или задержка мочи. Считается, что боли в животе связаны с локаль-

ной нейропатией. По мере исчезновения острого криза ликвидируются и боли в животе [Eales L. et al., 1980; Campos J. et al., 1991]. Приступы болей в животе у больных нередко сопровождаются рвотой и поносом. Потеря организмом жидкости и электролитов может приводить к гиповолемии и гипонатриемии. Однако у большинства больных происходит задержка жидкости и в то же время развивается гипонатриемия, что объясняется несоответствием образования антидиуретического гормона. На этом фоне могут возникнуть метаболическая энцефалопатия и судороги, а при развитии гипомагниемии — тетанические судороги. Дегидратация и электролитные нарушения (снижение содержания Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) могут быть резко выражены, поэтому требуется медикаментозная коррекция.

Суммируя все сказанное, можно отметить, что патогенез острых кризов при некоторых формах печеночных порфирий окончательно не ясен. Повышенное образование и экскреция с мочой АЛК характерны для всех форм печеночных порфирий и при всех, исключая плумбопорфирию, имеется нарушение активности ПБГ-Д. Активность фермента может быть либо полностью угнетена, либо недостаточной в ответ на увеличение в ней потребности, возможно, и АЛК, и ПБГ или же оба эти вещества могут быть нейротоксичными, хотя тяжесть клинических симптомов не всегда коррелирует со степенью увеличения содержания этих веществ. Тем не менее, остается фактом, что АЛК и ПБГ аккумулируются, влияют на клиническую симптоматику. Высказывают гипотезу, что недостаток образования гема приводит к острому его дефициту в нервных клетках, и это является одной из главных причин неврологических нарушений, хотя и не исключается токсическое влияние АЛК и ПБГ на нервные

клетки [Moore M. et al., 1987]. Выясняется также предположение о том, что недостаток образования гема приводит ко вторичному уменьшению активности некоторых гемсодержащих ферментов, в частности триптофаноксигеназы, с последующим нарушением образования и метаболизма потенциальных нейротрансмиттеров, таких как серотонин [James M. et al., 2000].

ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКИЕ ПОРФИРИИ

К эритропоэтическим порфириям относятся ВЭП и эритропоэтическая протопорфирия.

ВРОЖДЕННАЯ ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ ПОРФИРИЯ

ВЭП впервые описана H.Günter в 1912 г. Заболевание встречается крайне редко, описаны около 200 больных, наследуется аутосомно-рецессивно [Sassa S., 2000]. Первые симптомы заболевания появляются обычно в раннем детстве и поражают лиц обоего пола. Иногда в первые часы после рождения ребенка отмечается красно-окрашенная моча, но чаще всего болезнь проявляется на 1—2-м году жизни, в основном до 6-летнего возраста, хотя может наблюдаться позднее проявление ВЭП у взрослых в виде умеренных форм с кожными проявлениями [Saudubert J. et al., 1995].

Клинически при ВЭП под действием солнечных лучей отмечаются изменения кожи, возникающие на участках тела, не прикрытых одеждой, в виде эритемы, зуда, появления пузырей и везикул. Содержимое этих образований прозрачное, но при наложении вторичной инфекции оно становится мутным, происходит нагноение с последующим изъязвлени-

ем, некротизированием и рубцеванием пораженных участков кожи. Появление рубцов приводит к деформациям фаланг пальцев, ушных раковин, век, изменениям лица. Если рубцы возникают на роговице, то происходит помутнение ее, хрусталика, что приводит к слепоте. Для ВЭП характерно изменение окраски зубов; при дневном освещении они имеют коричневатую окраску, а при освещении водородной лампой флюоресцируют багрово-красным цветом. Кожные проявления переменные — от легкой до тяжелой степени. Выявляется гипертрихоз лица и конечностей.

Вторым симптомом, характерным для этой болезни, является ГА, которая может отмечаться уже в период новорожденности, проявления которой также могут быть переменными — от легкой степени до тяжелой. Описаны случаи водянки плода неиммунного характера с гибелью ребенка *in utero* [Tescan I. et al., 1998]. Внутриклеточный гемолиз сопровождается анемией разной выраженности, анизо- и пойкилоцитозом, ретикулоцитозом, полихромазией и базофильной пунктацией Эр, неконъюгированной билирубинемией, гипогантоглобинемией, увеличением кругооборота железа и уробилиногена. Вследствие аккумуляции железа в митохондриях появляются сидеробласты [Leblanc T., 1995]. При тяжелой степени анемии больные становятся трансфузионно-зависимыми, вторично увеличивается селезенка, иногда печень, могут появляться симптомы гиперспленизма с развитием у больного лейко- и тромбоцитопении. В костном мозге повышено содержание эритрокариодитов. Эритробласты и Эр периферической крови флюоресцируют в ультрафиолетовом свете.

Для ВЭП характерно увеличение содержания уропорфирина и копропорфирина в Эр; содержание протопорфирина нормальное или повы-

шенное. Моча — красного цвета, в ней повышено содержание уро- и копропорфирина. В кале обнаруживается увеличенное количество копро- и протопорфирина.

В костном мозге повышено содержание клеток эритроидного ростка. Под влиянием ультрафиолетовых лучей наблюдается флюоресценция нормобластов. Встречаются аномальные эритрокариоциты с включениями в ядре, вакуолизацией цитоплазмы, с базофильной грануляцией и кристаллами порфиринов в виде игольчатых образований.

Заболевание является врожденным, обусловлено нарушением биосинтеза гема в Эр — отмечается значительное угнетение, но не полное отсутствие активности уропорфириногена III-синтетазы [Desnick R. et al., 1998]. Остаточная активность фермента составляет менее 20% от нормы, а у гетерозиготов около 50% [Leblanc T., 1995]. Вследствие этого в эритрокариоцитах и Эр происходит аккумуляция нефизиологических порфиринов — уропорфирина I и копропорфирина I, приводящих к гемолизу. При гемолизе происходит выделение изомеров I-х типов с последующим их отложением в различных тканях, костях и экскреции с мочой. Поскольку уропорфирин I является светочувствительным веществом и откладывается в коже, то под действием солнечных лучей в коже появляются пузырьки и волдыри [Tezcan I. et al., 1998].

Ген уропорфириногена III-синтетазы расположен на хромосомах 10-й пары (10q25.3→q26.3) и состоит из 10 экзонов [Astrin K. et al., 1991]. При ВЭП наблюдаются мутации гена в виде перестройки, сращений и др. [Fontanellas A. et al., 1996]. По мнению С. Warner и соавт. (1990), изучение клонов гена уропорфириногена III-синтетазы позволяет прогнозировать течение болезни. Наличие множественных мутаций гена

объясняет спорадические случаи при отсутствии кровного родства родителей больного [Deybach J.-C. et al., 1990].

Говорить о прогнозе заболевания всегда следует с осторожностью, поскольку он во многом определяется тяжестью проявлений болезни и проводимым лечением. Так как в клинической картине болезни доминирует кожный синдром, то всегда имеется опасность инфицирования пораженных участков кожи с последующим развитием на них келлоидных рубцов, алопеции и псевдосклеродермии. ГА иногда трудно корригировать, и возможны летальные исходы. Может наблюдаться образование пигментных камней в желчном пузыре. Вследствие отложения порфиринов в костях возникает остеодистрофия, которая является причиной переломов [Pullon H. et al., 1991]. Наиболее тяжелое течение заболевания и появление симптомов в раннем детстве отмечается у гомозиготных больных (или смешанных гетерозиготов).

Поскольку частым симптомом при порфириях являются изменения кожи, то прежде всего следует избегать воздействия инсоляции. Для этого открытые части тела прикрывают одеждой, а если это полностью невозможно, то накладывают мази (цинка оксид) на открытые части тела (нос, ушные раковины, кисти и др.). При тяжелом течении применяют лекарственные препараты, наиболее эффективным является β-каротен, который назначают взрослым по 60—180 мг в день. Терапевтический эффект от него определяется симптомами и признаками болезни, измерением содержания каротена в плазме крови. Считается, что оптимальной концентрацией в плазме крови является 6—8 мг/л. Лечение больные переносят хорошо, но единственным отрицательным моментом является косметический — кожа окрашивается

в желтый цвет. Наличие спленомегалии в сочетании с повышенным гемолизом является основанием для спленэктомии, после которой иногда улучшаются состояние ребенка и образование эритроидных клеток [McGovern M. et al., 1996]. У некоторых больных внутривенное введение гематина (методика и дозы см. в разделе «Наследственная копропорфирия») улучшает течение болезни, и можно полагать, что введенный гематин в какой-то степени внедряется в эритробласты, как и в гепатоциты, угнетая чрезмерное образование порфиринов.

По мнению L.Guarini и соавт. (1994), такая тактика оправдана и эффективна у детей до пубертатного возраста, так как с наступлением половой зрелости образование и аккумуляция порфиринов резко возрастает, и для уменьшения их образования требуется более агрессивное лечение — назначение гидроксимочевны.

Наиболее радикальным методом лечения (излечения) является ТКМ. После ТКМ у больных уменьшается экскреция уропорфирина I и копропорфирина I, исчезают изменения на коже и анемия [Kaufman L. et al., 1991; Zix-Kieffer I. et al., 1996; Thomas G. et al., 1996; Rowbottom A. et al., 1997]. По мнению I.Tezcan и соавт. (1998), ТКМ показана тяжело больным. В последние годы разрабатываются методы генной терапии. В опытах *in vitro* H. de Verneuil и соавт. (1997) установили, что перенос ретровирус-опосредованного ген-трансфера в сДНК уропорфириноген-III-синтетазы в человеческие фермент-дефицитные фибробласты позволило повысить активность фермента с 2% до 121—274%, что приводило к коррекции метаболизма порфиринов: аккумуляция порфиринов снижалась до нормы. В опытах на мышах R.Pawliuk и соавт. (1998) выявили, что при ТКМ и генной

терапии удается достигнуть нормальной активности феррохелатазы в костном мозге с исчезновением системного патологического фенотипа. Поэтому надо полагать, что внедрение генной терапии в клиническую практику позволит полностью излечить это тяжелое наследственное заболевание.

ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ ПРОТОПОРФИРИЯ

Эритропоэтическая протопорфирия (протопорфирия, эритропеченочная протопорфирия) — это наследственное заболевание, характеризующееся повышенной чувствительностью к инсоляции. Болезнь впервые описана N.Magnus и соавт. в 1961 г. Частота ее возникновения составляет 1:(75 000...200 000). В основе заболевания лежит дефицит активности фермента феррохелатазы. Болезнь может наследоваться доминантно или рецессивно, болеют преимущественно мужчины, вне зависимости от расы [Bonkovsky H., 1999]. Хотя первые признаки болезни возникают в детском возрасте, но диагностика заболевания обычно запаздывает и происходит в юношеском или взрослом возрасте [Baart de la Faille H. et al., 1991].

Как и при врожденной эритропоэтической порфирии кожа больных высоко чувствительна к солнечным лучам. Под их воздействием появляются отек кожи, покраснение, зуд, иногда может повышаться температура тела и наблюдаться геморрагические высыпания. Редко отмечаются пузыри с последующим изъязвлением и появлением небольших рубцов. Иногда может отмечаться гипохромная анемия с нормальным или повышенным содержанием железа в плазме крови [Mascaro J., 1992; Sassa S. et al., 1993]. ГА отмечается редко, но может возникнуть при тяжелом гепатите [Key N. et al., 1992].

Под действием ультрафиолетовых лучей наблюдается флюоресценция красным цветом Эр и ретикулоцитов.

При биохимическом исследовании в Эр повышено содержание уро- и копропорфирина, но особенно значительно протопорфирина, количество которого увеличено в 5 раз и более по сравнению с нормой. Моча — нормальной окраски, содержание в ней АЛК-С, ПБГ, уро- и копропорфирина нормальное. В кале содержание копропорфирина — нормальное, а протопорфирина нормальное или повышенное [Piotte M. et al., 1989; Jerkin F., 1996]. Остаточная активность феррохелатазы в Эр, ген (FECN) которой находится на хромосомах 18-й пары (18q21.3), у больных составляет 10—25% от нормы, иногда менее 5% [Tezcan I. et al., 1998]. Аккумуляция протопорфирина происходит в костном мозге. В пунктате костного мозга, наряду с увеличением количества эритрокариоцитов, определяется повышенное содержание сидеробластов; железо в них располагается в виде крупных зерен, кольцевидно окружая ядро.

В основе диагностики заболевания лежит определение активности феррохелатазы в фибробластах или лимфоцитах [Nordmann Y. et al., 1992]. Однако иногда возникают затруднения в постановке диагноза. Точная диагностика болезни стала возможной благодаря клонированию гена феррохелатазы — FECN [Sellers V. et al., 1998]. Причиной заболевания является мутация гена феррохелатазы, которая катализирует включение железа в протопорфирин. Наблюдаются в основном мутации гена в эксонах 1 и 2 в виде сращений. По данным A.Lichtin и соавт. (1998), при тяжелом течении заболевания наблюдаются две мутации гена эритропоэтической протопорфирии. С генетической точки зрения, болезнь гетерогенна. Мутации гена представлены от точечных до полной делеции

FECN. Не отмечено взаимосвязи между генотипом и фенотипом и поражениями печени и светочувствительности кожи. При снижении активности фермента клинические симптомы отмечаются менее чем у 10% больных, т. е. имеется неполная пенетрация болезни. Клинические признаки возникают только тогда, когда активность фермента менее 50% и при этом имеется мутация аллеля и низкообразующего аллеля [Deubach J., 2001].

Течение заболевания доброкачественное. У некоторых больных может наблюдаться желчнокаменная болезнь. У детей редко возникают нарушения функции печени, а у взрослых это отмечается в 25% случаев, редко развивается цирроз печени [Frank M. et al., 1991]. Описан больной, у которого развился МДС с трансформацией в острый миелобластный лейкоз [Lichtin A. et al., 1998].

Лечение эритропоэтической порфирии включает в себя санацию локальных изменений кожи и осложнений, снижение образования и увеличение экскреции протопорфирина. О лечении изменений кожи см. раздел «Врожденная эритропоэтическая порфирия». Как и при острых кризах (см. ниже) повышенное потребление углеводов уменьшает содержание протопорфирина в плазме крови и кале, поэтому больные должны получать полноценную диету, энергетический баланс у них должен быть положительным, в суточном рационе (у взрослых) должно быть не менее 300 г углеводов. Успешное лечение возможно при выяснении факторов, способствующих увеличению образования протопорфирина или его аккумуляции. Так, у некоторых больных лечение препаратами железа может дать удовлетворительный результат. Поскольку иногда у больных наблюдается повышенный гемолиз, то спленэктомия может уменьшить

как патологический гемолиз, так и сверхпродукцию протопорфирина. При наличии у больных высокого содержания протопорфирина в плазме крови и вовлечения в процесс печени показано лечение гематином (см. схему лечения ниже в разделе «Наследственная копропорфирия»). Доказано назначение холестирамина (взрослым по 12—16 г в день), который связывается с порфиринами, растворяют протопорфирин в желчи и усиливает его элиминацию.

У больных отмечается повышенная склонность к желчнокаменной болезни, но наиболее серьезным осложнением эритропоэтической протопорфирии является цирроз печени. Вследствие прогрессирующей аккумуляции протопорфирина в печени у больных могут развиться фиброз и цирроз печени, печеночная недостаточность. К развитию этого осложнения предрасполагают прием алкоголя, острые и хронические вирусные гепатиты. Наличие цирроза печени, особенно протекающего с гипербилирубинемией и(или) с нейропатическим синдромом, напоминающим таковой при острой порфирии, является показанием для пересадки печени [Polson R. et al., 1988]. Пересадка печени спасает жизнь больному, хотя аномальная гиперпродукция протопорфирина не исчезает, так как это происходит в костном мозге, поэтому полное выздоровление может наступить лишь после пересадки костного мозга или генной терапии [Bonkovsky H., 1999].

ПЕЧЕНОЧНЫЕ ПОРФИРИИ

К печеночным порфириям относятся острая перемежающаяся, вариетная и ПКП, порфирия DOSS и НК. За исключением ПКП остальные клинически могут проявляться в виде острых кризов, патогенез и клинические проявления которых представлены выше.

ОСТРАЯ ПЕРЕМЕЖАЮЩАЯСЯ ПОРФИРИЯ

Эта форма встречается наиболее часто и, по данным F.Orkin (1996), составляет 75% от всех форм порфирий. В г. Сигле (США) ОПП составляет 1 случай на 7088 поступлений больных. Наиболее часто она встречается в Швеции, особенно в Лапландии (1:1000), поэтому ОПП называют еще «Шведским» типом порфирии [Waldenström J., 1957]. Частота заболевания в Европе составляет 1:20 000, в Северной Ирландии — 1:5000, во Франции — 1:10 000, в Ирландии — 1:80 000, Западной Австралии — 3:100 000. В Соединенном Королевстве на долю ОПП приходится 1/3 от всех случаев порфирий [Elder G. et al., 1997; Sassa S., 2000]. Однако истинную частоту заболевания определить трудно, так как у многих людей заболевание протекает бессимптомно и выявляется только в период криза. При биохимическом обследовании родственников больных установлено, что у 90% из них имеется латентная форма, так что частота заболевания составляет 1—2 на 10 000 жителей. По данным P.Mustajoki и соавт. (1992), проводивших скрининг среди доноров крови, в Финляндии частота дефицита активности ПБГ-Д составляет 1:500. Чаще болеют женщины [Ward R., 1965; Tschudy D. et al., 1975; Leblanc T., 1995].

ОПП — это наследственная болезнь, передается аутосомно-доминантно. Вследствие недостаточной активности ПБГ-Д происходят аккумуляция и повышенная экскреция с мочой АЛК и ПБГ — предшественников синтеза порфиринов [James M. et al., 2000]. Ген ПБГ-Д расположен на хромосомах 11-й пары (11q23→qter), содержит 15 экзонов [Gubin A. et al., 2001]. Иммунологическими исследованиями установлено, что существуют 4 класса неполноценного фермента. Эта молекуляр-

ТАБЛИЦА 21. Клинические и лабораторные дифференциально-диагностические признаки различных форм порфирий

| Показатель | Эритроэритическая порфирия | Эритропоэтическая порфирия | Острая перемежающаяся порфирия | | Вариантная порфирия | | Наследственная копропорфирия | | Поздняя кожная порфирия |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------|---------------------|--------|------------------------------|----------|-------------------------|
| | | | латентная | острая | латентная | острая | латентная | острая | |
| Наследственность | АР | АД и АР | АД | | АД | | АД | | АД |
| Поражение кожи | Да | Да | — | Да | — | Да | — | Да | — |
| Неврологический синдром | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Эр | | | | | | | | | |
| уропорфирин | +++ | ++ | — | — | — | — | — | — | — |
| копропорфирин | ++ | ++ | — | — | — | — | — | — | — |
| протопорфирин | —/+ | +++ | — | — | — | — | — | — | — |
| Моча: | | | | | | | | | |
| цвет | Кр | N | N | Кр | N | Кр | N | N или кр | Кр |
| порфодилиноген | — | — | + | +++ | — | + | + | + | — |
| уропорфирин | +++ | — | + | + | — | +++ | — | + | +++ |
| аминолевулиновая кислота | — | — | + | ++ | — | ++ | + | ++ | — |
| копропорфирин | ++ | — | ++ | ++ | — | +++ | +/- | +++ | ++ |
| Кал: | | | | | | | | | |
| копропорфирин | + | — | — | + | +++ | ++ | ++ | +++ | — |
| протопорфирин | + | +/- | — | + | +++ | ++ | — | + | — |

Примечание. АР — аутосомно-рецессивное; АД — аутосомно-доминантное; — — отрицательная; + — слабо положительная; ++ — положительная; +++ — резко положительная; Кр — красная.

ная генетическая гетерогенность ПБГ-Д объясняет причину варибельности клинических проявлений заболевания при ОПП. При ОПП установлены более 90 мутаций в гене фермента [Elder G. et al., 1997].

Как правило, клинически заболевание проявляется после пубертатного периода, чаще у женщин. У детей ОПП наблюдается крайне редко. Для заболевания характерны острые кризы, без кожной симптоматики, проявляющиеся в виде картины острого живота, появления красной мочи в ближайшие часы после начала криза вследствие наличия в ней ПБГ, повышения артериального давления и неврологических симптомов (перифе-

рических и центральных), вплоть до развития синдрома Guillain-Barré. Картина «острого живота» может напоминать симптомы прободной язвы желудка, острого аппендицита или холецистита, почечной колики, внематочной беременности. Во время операции эти диагнозы отвергались. Поражения нервной системы могут протекать по типу тяжелого полиневрита, больные с трудом передвигаются из-за болей и двигательных нарушений; при прогрессировании болезни могут наблюдаться тетрапарез, паралич дыхательной мускулатуры и летальный исход. Из всех форм порфирий ОПП является наиболее тяжелой, приводит к смерти,

наиболее частыми причинами которой в период острого криза являются артериальная гипертензия и почечная недостаточность [Church S. et al., 1992].

В период острого криза у больных содержание в Эр уро-, копро- и протопорфиринов нормальное. Моча — красного цвета, в ней повышено содержание АЛК, ПБГ, уро- и копропорфирина. Значительно увеличена экскреция копро- и протопорфирина с калом. В межприступном периоде клинических проявлений нет, но в Эр может отмечаться дефицит активности ПБГ-Д.

Особо опасно появление кризов у больных с латентной формой и лиц, находящихся в состоянии ремиссии, у которых не выявлена причина развития криза, поскольку у таких больных заболевание клинически протекает бессимптомно. Такие больные относятся к группе риска, так как назначение им «пусковых» лекарственных и химических веществ может спровоцировать первые симптомы заболевания.

Диагноз основывается на клинических и лабораторных данных (табл. 21). О лечении см. в разделе «Наследственная копропорфирия».

ВАРИАГЕТНАЯ ПОРФИРИЯ

ВП является наследственным заболеванием, передается аутосомно-доминантно. Ее называют также протокопропорфирией, Южно-Африканской генетической порфирией, королевской болезнью, поскольку ряд членов королевских семейств Стюартов и Виндзоров болели этой формой заболевания. В Великобритании ВП составляет $\frac{1}{3}$ от всех форм порфирий, а в США — $\frac{1}{5}$ [Orkin F., 1996; Elder G. et al., 1997]. При биохимическом обследовании родственников больных ВП установлено, что около 90% из них имеют латентную форму,

т. е. истинная частота ВП в Соединенном Королевстве составляет 1—2 на 10 000 жителей. Чаще всего ВП наблюдается в Южной Африке, где ее частота составляет 1:(250...500) для жителей белой расы [Dean G., 1971; Sassa S., 2000]. Поскольку ВП очень часто встечается в Южной Африке, то ее называют еще «Южно-Африканским типом порфирии». Считается, что заболевание завезено в Южную Африку из Голландии в 1688 г. колонистом, у которого была точечная мутация в гене фермента R59W [Meissner P. et al., 1996].

Клинически болезнь напоминает ОПП, но имеются кожные проявления. Болеют лица обоего пола. Острые кризы чаще отмечаются у женщин, тогда как кожные проявления — у мужчин. Кожа высоко светочувствительна, и под действием ультрафиолетовых лучей возникают буллезные высыпания с мацерацией на лице, кистях и других открытых участках тела. Эти буллезные высыпания эрозируются с последующим пигментированием. Реакция кожи на солнечные лучи связана с тем, что под их влиянием порфириногены превращаются в порфирины. Поражения кожи не всегда сочетаются с острыми кризами. Так, по данным G.Elder и соавт. (1997), из 61 больного, наблюдавшегося в Соединенном Королевстве, только кожные проявления отмечались у 73% больных, у 12% — только кризы и у 15% — сочетание острых кризов с кожными проявлениями. N.Key и соавт. (1992) описали двоих больных с гомозиготной формой ВП. У обоих больных наблюдались выраженная фотосенсибилизация, задержка психомоторного развития и нистагм.

В период острого криза содержание уро-, копро- и протопорфирина в Эр нормальное. Моча может быть нормальной или красной окраски, в ней повышено содержание АЛК, ПБГ, уро- и копропорфирина, а в

кале — копро- и протопорфирина. В латентный период все показатели, исключая данные исследования кала, нормальные (см. табл. 21).

Заболевание связано с неполноценностью фермента протопорфириногенаксидазы, ген которого располагается на хромосомах 1-й пары (1q23) и содержит 13 экзонов. Наблюдается снижение активности ПБГ-Д. По данным Р. Meissner (1990), при ВП в избытке образуются копропорфириноген и протопорфириноген, которые могут ингибировать активность ПБГ-Д.

Так же, как и больные с ОПП, лица с латентной формой ВП представляют опасность развития острого криза под воздействием «пусковых» лекарств, так как латентная форма протекает клинически бессимптомно. Подробности лечения см. в разделе «Наследственная копропорфирия».

НАСЛЕДСТВЕННАЯ КОПРОПОРФИРИЯ

НК — это острая печеночная порфирия, встречается редко, впервые описана Н. Berger и соавт. в 1955 г. По данным F. Orkin (1996), НК составляет около 5% от всех случаев порфирий. Поскольку около 50% случаев протекают бессимптомно, то установить истинную частоту НК невозможно. Болезнь наследуется аутосомно-доминантно с неполной пенетрацией, не связана с полом, обусловлена снижением активности копропорфириногенаксидазы. Ген фермента расположен на хромосомах 3-й пары (3q12), содержит 7 экзонов. Копропорфириногенаксидаза — это митохондриальный фермент, который катализирует превращение копропорфириногена III в протопорфириноген IX через промежуточный продукт, известный под названием гардеропорфириноген. У больных активность фермента снижена во всех тканях.

У больных описаны 8 различных мутаций в гене фермента — у 7 гетерозиготов и у 1 гомозигота [Cacchoux V. et al., 1994; Fugita H. et al., 1994; Martasek P. et al., 1994; Lamogil J. et al., 1998]. Мутации в гене фермента вызывают 3 различных клинических состояния: НК, ее гомозиготный вариант и гардеропорфирию [Martasek P., 1998].

Клинические проявления НК напоминают таковые при ОПП и вариететной форме, но они менее выражены. Клинические симптомы возникают обычно после пубертатного периода. У больных, как правило, наблюдаются нейровисцеральные кризы, часто спровоцированные лекарствами, приемом алкоголя или эндокринными факторами. Возникающие острые кризы менее тяжелые и переносятся больными относительно удовлетворительно. У 1/3 больных в период криза отмечаются буллезные фотодерматиты, но менее распространенные, чем при других формах порфирий; вне криза кожные проявления наблюдаются редко [Kuhnel A. et al., 2000]. У 70% больных нейровисцеральные кризы отсутствуют, и таких больных по клиническим симптомам трудно отличить от больных с острой интермиттирующей порфирией. Если же у больных имеются кожные проявления, то они напоминают таковые у пациентов с вариететной формой. Исключительно редко отмечаются только кожные проявления.

В период кризов и в латентный период содержание уро-, копро- и протопорфиринов в Эр нормальное. В период криза моча может быть нормальной или красной окраски, в ней повышено содержание АЛК, ПБГ, уро- и копропорфиринов. Кал содержит большое количество копропорфирина, а содержание протопорфирина незначительно. В латентном периоде окраска мочи нормальная, содержание в ней АЛК и ПБГ уме-

ренно увеличено, уропорфирина нормальное, а копропорфирина может быть нормальным или же незначительно увеличенным. В этот же период в кале содержание копропорфирина увеличено, но протопорфин не определяется (см. табл. 21).

Прогноз болезни более благоприятный, чем при других порфириях, кризы более редки.

Гардеропорфирия характеризуется неонатальной ГА, которая иногда сопровождается поражением кожи, и при ней происходит аккумуляция гардеропорфирина в кале. Описаны две семьи с гардеропорфирией [Lamoril J. et al., 2001].

Гардеропорфирия — это эритропоэтический вариант НК, которая биохимически характеризуется выраженной сверхпродукцией в Эр и увеличенной экскрецией с калом трикарбоксильного порфирина, называемого гардеропорфирином, и значительным снижением активности фермента в лимфоцитах. Впервые гардеропорфирия была диагностирована у троих сиблингов здоровых неродственных родителей [Nordman Y. et al., 1983].

При молекулярном исследовании гена копропорфириногенаксидазы было установлено, что в гене фермента в эклоне 6 в позиции 1210 лизин замещен на глутаминовую кислоту [Lamoril J. et al., 1995].

J.Lamoril и соавт. (1998) описали больного из второй семьи. Больной родился доношенным от неродственных родителей-французов. Вскоре после рождения развились выраженная желтуха, гепато- и спленомегалия, отмечалась гипоспадия. Содержание билирубина в сыворотке крови составляло 243 мкмоль/л, Hb 119 г/л, Эр — 160×10^9 /л, из них 85% составляли эритробласты. Сделаны 4 обменных гемотрансфузий в течение 10—91 ч после рождения, после чего наступила частичная регрессия гепато- и спленомегалии и исчезла желтуха. К 3-месячному воз-

расту у ребенка в крови определялось 14% эритробластов с базофильной пунктацией Эр. В биоптате печени отмечалось значительное депонирование железа в гепатоцитах без каких-либо других структурных изменений. В возрасте 2—7 лет отмечалась повышенная резистентность Эр, в костном мозге до 50% составляли эритробласты без признаков дизэритропоэза, 46% составляли сидеробласты без наличия кольцевидных форм. В этот период содержание Hb колебалось в пределах 90—110 г/л, содержание ретикулоцитов было постоянно повышенным (5—15%), средний объем Эр (до 19-летнего возраста) составлял 50—59 фл. Рост и масса тела были нормальными. Наблюдались признаки персистенции ГА и спленомегалии. Печеночная порфирия была заподозрена только в возрасте 18 лет, так как имелись признаки поражения кожи в сочетании с хронической ГА. У больного отмечался атипичный профиль экскреции порфиринов с калом с массивной аккумуляцией гардеропорфирина. Активность копропорфириногенаксидазы в лимфоцитах составляла 78% от нормы. У больного в гене фермента определялись 2 точечные мутации.

По мнению J.Lamoril и соавт. (2001), НК является более гетерогенным состоянием, чем другие острые порфирии. При ней имеются мутации гена различного типа, при этом, несмотря на то, что остаточная активность копропорфириногенаксидазы колеблется от 1 до 64%, клинические проявления идентичны. Установлено, что тяжесть фенотипа не коррелирует со степенью инактивации фермента, вызванной мутацией гена фермента.

Таким образом, НК клинически напоминает ОПП и вариатетную порфирию. Различают 2 клинических фенотипа болезни — НК и гардеропорфирию. При последней отмечается персистирующая ГА и спленомегалия.

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПОРФИРИЙ

Лечение порфирий должно быть комплексным и включать в себя исключение провоцирующих агентов, вызывающих проявления болезни, и ликвидацию клинических и лабораторных признаков. Поскольку большинство порфирий являются наследственными, то на сегодняшний день реализация полного излечения очень ограничена.

При острых кризах больным назначают полноценное питание, следует избегать отрицательного азотистого и энергетического баланса. В рацион обязательно должны быть включены углеводы, у взрослых — не менее 300 г глюкозы в день, которые возмещают не только энергию и общую энергетическую ценность пищи, так как установлено, что введение больших доз глюкозы или других легко метаболизирующихся углеводов угнетает повышенную активность печеночной АЛК-С. Внутривенно раствор глюкозы вводят из расчета 10—20 г/ч чистого вещества, в сутки можно вводить до 500 г взрослому. Однако отмечено, что после отмены инфузий глюкозы нередко наблюдается «реакция отскока» — увеличиваются активность АЛК-С и экскреция предшественников порфиринов [Orkin F., 1996]. Механизм действия глюкозы остается неясным; возможно, происходит изменение стабильности мРНК АЛК-синтазы или блокирование внедрения фермента в митохондрии, или же косвенно переполнение пула регуляторного гема. Например, голодание вызывает увеличение активности оксигеназы печеночного гема. Снижение или же блокада увеличенной активности наступает при введении больших доз глюкозы, и таким образом регуляторный пул гема стабилизируется.

По данным R.Medenica и соавт. (1997), назначение соматостатина снижает интенсивность образования

АЛК-С, и в сочетании с плазмаферезом у больных наступает ремиссия после острого криза.

Поскольку у больных с острым кризом часто наблюдается неврологическая симптоматика с возможным появлением параличей, слабости мышц дыхательной мускулатуры, приводящей к ателектазам, пневмонии, дыхательной недостаточности, то необходим тщательный уход за больными, назначение им соответствующего лечения, иногда прибегают к механической вентиляции легких. При возникновении болей назначают анальгетические опиаты. Для контроля тахикардии и гипертензии используют β -адреноблокаторы, пропранолол, которые могут снижать активность АЛК-С. Для купирования гипомагнемии назначают инфузии магния сульфата [Taylor R., 1981].

Нередко течение острых кризов осложняется судорогами. Их купирование является большой проблемой, так как многие препараты, используемые для этого, являются порфириногенными (см. выше). Возникшие судороги можно купировать магния сульфатом или бензодиазепинами (диазепам), но постоянное их применение малоэффективно. Бромиды не порфириногенны, но они токсичны, так как порог, отделяющий эффективную от токсической дозы, незначителен. В последние годы для лечения судорог успешно применяют габапентин и вигабатрин, которые не порфириногенны. Однако вся указанная терапия является симптоматической и синдромологической и за редким исключением (глюкоза) не влияет на основные пусковые звенья патогенеза развития порфирий. Разработаны и применяются средства специфической терапии.

Специфическим средством лечения острых кризов порфирий является гем (гематин). Внутривенно введенный гем увеличивает объем пула регуляторного гема, вследствие чего

снижается активность АЛК-С и увеличивается содержание АЛК и ПБГ в плазме крови и их экскреция с мочой.

Это приводит к тому, что уже через 2—4 дня после начала лечения все биохимические показатели обмена порфиринов приходят к норме. Обычная доза гематина (Panhematin, США) составляет 3—5 мг/кг в день, но эффект может наступить и при меньших дозах. Суточную дозу вводят либо 1 раз в сутки, либо каждые 12 ч в течение 1 ч, так как водный раствор гематина нестабилен, и, возможно, из-за продуктов его деградации может возникнуть коагулопатия потребления. При передозировке препарата может развиться гемолиз или транзиторная почечная недостаточность. По мнению P. Mustajoki и соавт. (1993), гем-аргинат более стабилен, чем гематин, и не вызывает побочных реакций. Побочные реакции можно предотвратить или же смягчить, если лиофилизированный гем растворить не в стерильной воде, а в растворе альбумина (человеческого) в соотношении 1:1 (в молярном отношении), т. е. в 132 мл 25% сывороточного альбумина человека растворяют 313 мг лиофилизированного гематина. Схема регуляции метаболизма печеночного гема представлена на схеме 3.

При успешном лечении острого криза наступает ремиссия, длительность которой вариабельна у разных лиц, и рецидив острого криза может быть спровоцирован не только лекарственными и химическими веществами, но и другими факторами. Так, у женщин в течение фазы образования желтого тела нередко возникает острый криз, обусловленный увеличением в крови содержания прогестерона, поэтому для профилактики кризов рекомендуется прием пероральных контрацептивов, угнетающих эндогенный цикл. Для этого же назначают очень низкие дозы эстрогенов или комбинацию эстрогена и прогес-

терона. Однако следует помнить о том, что оба препарата сами по себе являются порфобилиногенными, поэтому их назначение является своего рода «палкой о двух концах».

Альтернативой этому лечению является назначение лютеинизирующего гормона, который вызывает у женщин «медицинскую менопаузу». Для этого используют Leuprolide (Lupron) по 1 мг (0,2 мл), подкожно 1 раз в сутки, но иногда требуется повысить дозу. Следует помнить о том, что после 6—12 мес лечения необходимо постараться отменить препарат, так как возникает большой риск развития остеопороза. Больным следует принимать по 1 г в день кальция.

Для профилактики рецидивов острых кризов необходимо исключить использование лекарств и химических веществ, оказывающих порфириногенное действие, употребление напитков, содержащих алкоголь. Больные должны получать полноценную диету, не проводить разгрузочные дни, избегать низкоэнергетичную пищу. Помнить, что интеркуррентные заболевания, физический и эмоциональный стресс провоцируют криз. Для профилактики инфекций проводят вакцинацию против гриппа, пневмококковой инфекции, гепатита А и В и др. В медицинской карте должны быть указаны препараты, которые не следует назначать при возникновении экстремальных состояний у больного. Некоторым больным для профилактики рекомендуется назначать гематин (1—3 раза в неделю, иногда 1 раз в 2—3 нед).

ПОРФИРИЯ DOSS

Она относится к группе острых порфирий. Порфирию DOSS называют также порфирией, связанной с тяжелым дефицитом АЛК-Д, наследственным дефицитом дегидратазы АЛК, пльмбпорфирией. Всего опи-

саны 4 больных [Sassa S., 2000]: двое мужчин из Германии, у которых болезнь проявилась в юношеском возрасте [Doss M. et al., 1979], один мальчик из Швеции, страдавший заболеванием с периода новорожденности [Thunell S., 1987], и один больной мужчина из Бельгии, у которого заболевание выявилось в возрасте 63 лет [Hassoun A. et al., 1989].

δ -АЛК-Д является цитозольным ферментом, который участвует в биосинтетическом пути синтеза гема. Она катализирует образование монопиррольного ПБГ из двух молекул δ -АЛК. Фермент находится в большом количестве в нормальных клетках, поэтому его частичный дефицит не всегда приводит к клиническим проявлениям.

Отличительной особенностью этого заболевания от других форм острых порфирий является:

1) наследование происходит аутосомно-рецессивно, а не доминантно;

2) болезнь наблюдается в раннем детстве и клинические признаки как у гомозиготов.

Клиническая картина напоминает таковую при острой интермиттирующей порфирии — рвота, боли в верхних и нижних конечностях, признаки нейропатии, усиливающиеся после стресса, приема алкоголя. У младенцев наблюдаются общая гипотония мышц и признаки легочной недостаточности [Akagi R. et al., 2000].

Заболевание обусловлено дефицитом активности АЛК-Д (до 2% от нормы). Ген фермента находится на хромосомах 9-й пары (9q34). При этой форме болезни энзиматический дефект обычно экспрессирован в Эр, наблюдается повышенное выделение аналогов АЛК с мочой, которые обычно отмечаются при отравлении свинцом, хотя содержание свинца в организме — в пределах нормальных значений. Содержание порфиринов

увеличено в моче и в Эр в 100 раз и более, экскреция порфиринов с калом нормальная или повышенная [Goldberg A. et al., 1987; Nordmann Y. et al., 1992; James M. et al., 2000].

ПОЗДНЯЯ КОЖНАЯ ПОРФИРИЯ

ПКП — это метаболическое заболевание, связанное с нарушением активности декарбоксилазы уропорфириногена III, пятого фермента в биосинтетическом пути образования гема, который катализирует образование копропорфириногена. Заболевание широко распространено повсеместно среди лиц различных рас. Существуют три типа заболевания:

1-й тип — это приобретенное заболевание, на долю которого приходится около 80% от всех случаев ПКП, оно типично для взрослых людей со снижением активности УПГ-Д в печени, но не в Эр; заболевание встречается спонтанно, чаще у страдающих алкоголизмом, связано с приемом эстрогенов, лекарственных препаратов или сочетается с другими заболеваниями;

2-й тип — наследственная форма, передающаяся аутосомно-доминантно, при которой наблюдается снижение активности фермента во всех тканях организма;

3-й тип — это также наследственная форма, при которой отмечается снижение активности фермента в печени, а в Эр она нормальная [Jackson H. et al., 1997; Sassa S., 2000]; на долю наследственных форм приходится 20% от всех случаев заболевания.

Клинически заболевание характеризуется кожной симптоматикой в виде повышенной фотосенсибилизации, чувствительности к механической травме, отмечается гипотрихоз, гипо- или гиперпигментация кожи, могут быть признаки псевдосклеродермии. После солнечного ожога или

механической травмы на коже остаются мелкие рубцы, возможно появление мелких (1—5 мм в диаметре) ретенционных кист. При морфологическом исследовании кожи выявляются изменения эндотелия сосудов дермы (набухание, разрыхление, нарушения целостности базальной мембраны), периваскулярная инфильтрация лимфоцитами, дегенерация коллагеновых и фрагментация эластических волокон [Кузнецова Н.П. и др., 1981]. Наблюдаются вовлечение в процесс печени, появление желчнокаменной болезни и наличие избытка железа в организме [Saudubray J. et al., 1995]. Заболевание может проявиться у детей с врожденным дефицитом фермента, чаще после перенесенного вирусного гепатита или приема лекарственных средств. У взрослых болезнь чаще возникает после 40 лет (спорадическая форма), в основном с изолированным дефицитом фермента в гепатоцитах [Fujita H. et al., 1987]. Дефицит активности УПГ-Д у 80% больных ограничивается только печенью, но у 20% больных с наследственной формой болезни снижение активности фермента (до 50% от нормы) наблюдается во всех тканях. При гомозиготной форме болезнь протекает по типу гепатоэритропоэтической формы. Описаны 20 гомозиготных больных, у которых активность фермента была менее 10%. Клиническая картина у этих больных напоминала таковую при ВЭП [Leblanc G., 1995].

В период обострения болезни у больных отмечается красная моча, в которой повышено содержание уробилиногена; содержание порфиринов в Эр и кале нормальное (см. табл. 21).

В основе заболевания лежит мутация гена УПГ-Д. Ген фермента расположен на хромосомах 1-й пары (1pter→p21). Мутации гена УПГ-Д могут быть изолированными, точечными, в виде делеций, наличия до-

полнительных включений [Martinez Di Montemuros F. et al., 1997, 1998]. По мнению J. Phillips и соавт. (1998), все мутации гена УПГ-Д можно подразделить на 4 класса.

1-й класс. Наблюдается нормальное содержание мРНК в клетках, уменьшение клеточного белка и нерастворимого рекомбинантного белка. Эти мутации (G25E, M165R, R193P) приводят к выраженным структурным изменениям белка.

2-й класс. Также наблюдается нормальное содержание мРНК в клетках и уменьшено содержание клеточного белка, но снижено содержание растворимого белка с нормальной или сниженной активностью фермента. Эти мутации (V134Q, E167K, G168R, F232L, L253G, и 1260T) располагаются вдали от активной части гена и образуют УПГ-Д-белки, которые чувствительны к действию клеточных протеаз.

3-й класс. Содержание мРНК в клетках нормальное, уменьшено содержание УПГ-Д клеточного белка и растворимого рекомбинантного УПГ-Д белка со значительным снижением его активности. Эти мутации связаны с активными участками гена (G156D) или A80S.

4-й класс. Поражается клеточная УПГ-Д мРНК. Имеются незначительные мутации, делеции и включения.

Клинический фенотип наследственной ПКП относительно постоянен, но мутации, возникающие в различных участках гена УПГ-Д, изменяют активность фермента через различные молекулярные механизмы [Phillips J. et al., 1998].

Как уже отмечалось, у больных, наряду с поражением кожи и печени, имеются признаки гемохроматоза. Перенасыщение железом организма связано с тем, что имеется связь железозависимой инактивации с уровнем печеночной УПГ-Д. H. Jackson и соавт. (1997) обследовали 82 больных с ПКП и установили, что

мутация гена гемохроматоза С282У отмечалась у 56% больных с семейной формой и у 47% — со спорадической. Гомозиготность С282У сопровождается ранним началом болезни при спорадических случаях.

При назначении лечения следует руководствоваться патогенезом болезни.

Частой причиной развития ПКП является чрезмерное употребление больными алкогольных напитков, а у некоторых это связано с приемом эстрогенов, поэтому на первый план выступает отмена этих веществ. Поскольку при ПКП имеется значительное накопление железа в печени и 30—45% больных являются гетерозиготами HLA-связанного HГ, то краеугольным камнем в лечении таких больных является отмена препаратов железа, кровопускания, назначение хелатов (см. подробнее раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»).

Экسفוזии крови взрослым больным проводят 1—2 раза в неделю по 500 мл за один прием, при котором удаляется до 250 мг железа. Кровопускания проводят до тех пор, пока не наступит умеренная анемия, насыщение Тф сыворотки крови не снизится до уровня менее 45%, а ферритина менее 50 мкг/л. По достижении нормальных показателей экسفוזии крови назначают 1—4 раза в год, поддерживая содержание ферритина в сыворотке крови менее 50 мкг/л.

Применение деферроксамина имеет ограниченное значение, так как за 1 нед удаляется около 100 мг железа. Препарат назначают парентерально по 20—50 мг/кг в день в виде инфузий в течение 10—12 ч; общее количество препарата за 1 прием может составлять до 16 г для взрослого.

Для уменьшения содержания порфиринов в печени больным назначают антималярийные препараты (хлорохин или гидроксихлорохин). Эти

препараты, взаимодействуя с уропорфирином и гепатокарбоксилпорфирином, образуют водорастворимый комплекс, который выводится из печени и экскретируется с мочой. Первоначальная доза у взрослого не должна превышать по 125 мг 2—3 раза в неделю, так как большие дозы могут приводить к симптомам острого гепатита.

В патогенезе ПКП играет роль вирусная инфекция гепатита С. В США 50—60% больных с ПКП инфицированы гепатитом С, в Европе — 75—90%, а в Северной Европе, Австралии и Новой Зеландии — 0—25%. Каким образом и почему гепатит С предрасполагает к появлению ПКП не ясно, но имеется четкая связь аккумуляции железа в печени с обострениями хронического гепатита С.

Возможно, HCV-инфекция и железо увеличивают кислородный стресс на гепатоциты, способствуя окислению уропорфириногена в уропорфирин, который в последующем не метаболизируется УПГ-Д, а аккумулируется в печени с последующим выделением в плазму крови. Поэтому следует назначать лечение гепатита С — назначают интерферон, по действие последнего более эффективно после снижения содержания железа в печени [Bonkovsky H., 1999].

Эффект от комплексного лечения ПКП (кровопускания, антималярийные препараты, лечение гепатита и др.) наступает через 4—9 мес от начала терапии. Больные могут находиться в состоянии ремиссии в течение многих лет, если они не употребляют алкогольные напитки и у них отсутствует активный гепатит С.

Следует проводить контроль мочи на содержание порфиринов 1—2 раза в год, и при его повышении назначать повторный курс лечения для снижения содержания железа [James M. et al., 2000].

ГЕПАТОЭРИТРОПОЭТИЧЕСКАЯ ПОРФИРИЯ

Эта форма заболевания встречается очень редко. Считают, что она представляет собой тяжелую гомозиготную (или смешанную гетерозиготную) форму ПКП. Болезнь проявляется в младенческом возрасте в виде фотоиндуцированных кожных проявлений, везикулярно-буллезных высыпаний. При этой форме отмечается сверхвысокая интенсивность образования уропорфирина [Bonkovsky H., 1999].

Поскольку эту форму порфирии рассматривают как тяжелую форму ПКП, были сделаны попытки лечить ее теми же средствами и методами. Однако это не приносит успеха. Больных с этой формой заболевания следует лечить пересадками костного мозга и(или) пересадками печени.

ПРИОБРЕТЕННЫЕ ПОРФИРИИ

Увеличение содержания порфиринов в Эр и в печени может наблюдаться при многих состояниях, но оно является вторичным, и по мере выздоровления от основного заболевания патологические изменения исчезают.

Так, при ЖДА, ГА, анемии при воспалительном процессе содержание протопорфирина в Эр может быть увеличено; при голодании увеличивается содержание протопорфирина в Эр, повышается экскреция с мочой АЛК и копропорфирина; при болезнях печени может увеличиваться концентрация копропорфирина в моче [Leblanc T., 1995; Méschinaud-Lacgoix F., 1995]. Однако наиболее важной и угрожающей приобретенной анемией, связанной с нарушением синтеза порфиринов, является анемия, связанная с хроническим отравлением свинцом.

АНЕМИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ СВИНЦОМ

При попадании в организм свинца может наблюдаться гипохромная анемия, выраженность которой зависит от концентрации этого микроэлемента в крови. Источником интоксикации организма чаще всего является производство, где добывается или используется свинец. Нередко у больных в бытовых условиях источниками интоксикации свинцом могут быть белила, используемые для окраски помещений, которые загрязняют воздух, соприкосновение воды со свинцовыми трубами водопровода, употребление пищи, приготовленной в свинцовой посуде, и из тарелок, покрытых эмалью, вдыхание пыли, находящейся на одежде, коже и др. у лиц, работающих со свинцом.

Свинец попадает в организм в основном через желудочно-кишечный тракт и из него абсорбируется в кровь. Абсорбция усиливается в присутствии Fe^{2+} и Ca^{2+} . У детей абсорбция свинца в 5—7 раз интенсивнее, чем у взрослых, и до 50% свинца, попавшего в желудочно-кишечный тракт, может абсорбироваться. Попав в кровь, свинец откладывается в различных органах и тканях, но главным местом его накопления являются кости, в которых содержится до 90% всего свинца в организме; период полувыведения ($T_{1/2}$) свинца из костей составляет около 10 лет. В крови содержится около 2% свинца организма и 90% его находится в Эр, $T_{1/2}$ из них составляет 20—30 дней. Свинец аккумулируется также в зубах, костном мозге, печени, селезенке, головном мозге. До 75% абсорбированного свинца экскретируется с мочой. Свинец легко проникает через плацентарный барьер; у кормящих матерей содержание свинца в молоке выше, чем в плазме крови.

Клинические признаки отравления свинцом многообразны, симпто-

мы чаще всего неспецифичны — апатия, бледность, боли в животе и др. Могут быть диспепсические явления, схваткообразные боли, боли в надчревной области. Степень и характер поражения нервной системы также разнообразны и определяются степенью интоксикации. В легких случаях и умеренно выраженной интоксикации отмечаются слабость, недомогание, головные боли и головокружения, повышенная возбудимость, нарушения сна; в тяжелых случаях (содержание свинца в крови более 1000 мкг/л) может наблюдаться синдром острой энцефалопатии с повышением внутричерепного давления — рвота, кома, судороги. Иногда могут развиваться свинцовые параличи и парезы, расстройство чувствительности. Может наблюдаться поражение проксимальных частей канальцев почек (тубулопатия). На рентгенограммах костей в местах аккумуляции свинца на уровне метафизарного хряща обнаруживаются плотные участки.

Изменения периферической крови проявляются в виде гипохромной микроцитарной анемии, степень которой зависит от содержания свинца в организме. Среди Эр обнаруживаются мишеневидные, с базофильной пунктацией, полихроматофильные. Содержание ретикулоцитов колеблется от 2 до 8%. Количество лейкоцитов и тромбоцитов, лейкоцитарная формула — в пределах нормальных значений. В костном мозге повышено содержание эритрокариоцитов и сидеробластов с кольцевидным расположением зерен железа вокруг ядра. Изменения клеток эритроидного ряда связаны с тем, что свинец ингибирует синтез гема на уровне δ -АЛК-Д и феррохелатазы (см. схему 14). Вследствие этого увеличивается экскреция АЛК и протопорфиринов с мочой, обычно в виде протопорфирин-свинцовой формы.

Патогенез анемии обусловлен как нарушением синтеза эритроидного

гема, так и укорочением длительности жизни Эр. Иногда гипохромия Эр увеличивается за счет дефицита железа в организме.

Диагноз основывается на клинических признаках и верифицируется определением содержания свинца в крови и протопорфирина в Эр. При интоксикации свинцом повышено содержание свободного протопорфирина в Эр. В моче резко увеличено содержание АЛК; концентрация порфириногена может быть нормальной или незначительно повышена. Содержание копропорфирина увеличено, а уропорфирина нормальное [Leverger G., 1995].

Определение содержания свинца в крови отражает только динамическое равновесие между уровнем его абсорбции и элиминации почками и пулом хранения. В норме содержание свинца в крови — менее 100 мкг/л. Наличие протопорфириновой — свинцовой формы в моче указывает на тяжесть интоксикации, но появление этой формы может наблюдаться и при дефиците железа в организме.

Для определения степени тяжести интоксикации в 1991 г. предложена классификация CDC (Center FOR Disease Control), согласно которой выделены 5 классов.

Класс I: содержание свинца в крови — менее 100 мкг/л, интоксикация отсутствует.

Класс IIА: содержание свинца в крови — 100—149 мкг/л.

Класс IIВ: содержание свинца в крови — 150—249 мкг/л.

При классе II требуется наблюдение за больным и проведение профилактических мер.

Класс III: содержание свинца в крови — 250—449 мкг/л. Требуется проведение провоцирующего теста для выделения свинца с мочой.

Класс IV: содержание свинца в крови — 450—699 мкг/л. Выраженная интоксикация, требуется проведение хелатотерапии.

Класс V: содержание свинца в крови превышает 700 мкг/л. Требуется проведение ургентной терапии, двойное хелатирование.

При содержании свинца в крови 250—449 мкг/л проводят провоцирующий тест для выделения свинца с мочой. Для этого вводят ЭДТА или *Calcitetracemate disodique*, собирают суточную мочу и в ней определяют содержание свинца через 5 и 8 ч после введения препаратов. На основании этого теста решают вопрос о целесообразности хелатотерапии. Последнюю проводят, если за 5 ч выделяется 170 мкг свинца и больше и(или) индекс плюмбурия (мкг/л) / креатинурия (мкг/л) составляет не менее 2,75, и(или) индекс плюмбурия за 5 ч (мкг) / количество введенного ЭДТА (мг) составляет 0,65 и больше (после введения ЭДТА внутримышечно из расчета 500 мг/м²).

Лечение комплексное. Удаляют источник интоксикации. Назначают сбалансированное питание. Корректируют дефицит кальция, фосфора,

железа. Для лечения используют хелаторы: BAL (British anti Lewisite), унитиол по 300 мг/м² в день, суточную дозу которого вводят в виде 4—6 инъекций; курс лечения 5 дней; ЭДТА перфузию проводят с раствором глюкозы, чтобы предупредить гипергидратацию, по 1000 мг/м² в день в течение 5 дней.

При плюмбемии у детей более 700 мкг/л проводят хелатотерапию обоими препаратами, курсы повторяют каждые 3 нед до тех пор, пока содержание свинца в крови не станет менее 450 мкг/л. Обычно после двух курсов двойной хелатотерапии переходят на лечение одним препаратом, которым проводят 5 курсов лечения. Если содержание свинца в крови составляет 450—700 мкг/л, то обычно лечат одним препаратом в виде двух курсов. При содержании свинца в крови 250—400 мкг/л назначают провоцирующую пробу, и если она положительная, то больных лечат как предыдущую группу [Yver A. et al., 1991; Glotzer D. et al., 1992].

СИДЕРОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ

Это гетерогенная группа анемий, при которых наблюдаются нарушение синтеза гема, микроцитарная гипохромная регенераторная анемия, признаки дизэритропоэза с наличием в костном мозге сидеробластов с синим перинуклеарным валikom (обусловлен насыщением митохондрий неорганическим железом), гиперсидеремия. Различают врожденные и приобретенные сидеробластные анемии. Приобретенные формы могут быть связаны с интоксикацией, нарушающей синтез гема (алкоголь, свинец, прием инозинзида, левомецитина, пеницилламинов, прогестерона и др.), с опухолевыми заболеваниями (лейкозы, лимфомы, солидные опухоли и др.), воспалительными забо-

леваниями различной этиологии, лечением алкилирующими препаратами и другими причинами. Нескольким в стороне стоит рефрактерная анемия с сидеробластами, относящаяся к МДС, при которой в патологический процесс нередко вовлечены другие ростки кроветворения (миелоидный и мегакариоцитарный). Часто при этой форме заболевания удается выявить клональный характер заболевания, нередко с поражением хромосом 5-й и 7-й пар.

К группе рефрактерной сидеробластной анемии относится и синдром Pearson (см. раздел «Синдром Pearson»), при котором отмечаются вакуолизация клеток-предшественниц костного мозга и экзокринная недостаточность поджелудочной железы.

Исходя из сказанного, становится очевидным, что сидеробластная анемия может быть обусловлена различными этиологическими факторами с различным патогенезом, наблюдаться при разных состояниях с различным подходом в лечении и исходом, поэтому, наверное, правильнее называть ее не сидеробластной анемией, а сидеробластным синдромом.

Первые описания сидеробластной анемии под названием семейной гипохромной анемии, наследственная анемия (возможно, связанная с полом) были опубликованы Т. Cooley (1945), R. Rudles и соавт. (1946). В 1956 г. S. Bjorkman ввел термин «сидеробластная анемия» для больных со сходной клинико-гематологической картиной болезни, но не семейного характера. И до сих пор среди сидеробластных анемий выделяют две группы: врожденные и приобретенные.

ВРОЖДЕННАЯ СИДЕРОБЛАСТНАЯ АНЕМИЯ

Наследственная сидеробластная анемия гетерогенна по клиническим проявлениям, молекулярным изменениям, лежащим в ее основе. Заболевание чаще встречается у мужчин, так как наследование сцеплено с хромосомой X, но оно встречается и у женщин с аутосомно-рецессивным типом наследования. Понимание генетических и молекулярных основ заболевания стало наиболее успешным при изучении X-связанной сидеробластной анемии (XLSA), которая вызвана мутациями в эритроидно-специфическом гене 5-АЛК-С (ALAS2), который контролирует первый фермент в биосинтетическом пути гема [Furuuama K. et al., 1998].

Все мутации гена ALAS2 при XLSA связаны с эксонами 5—11, которые кодируют каталитический участок фермента. Выявлены более

25 точечных мутаций в гене ALAS2, большинство из которых уникальны, присущи больным только одной семье; но описаны мутации, свойственные для многих семей, в виде мутаций в аминокислотных остатках (R170, R448 и R452) [Bishop D. et al., 1998]. По данным S. Bottomley и соавт. (1998), имеется значительная гетерогенность точечных мутаций в ALAS2, и у каждого второго больного имеются неопределенные нарушения, наблюдается тот же клинический фенотип.

Мутация гена ALAS2 приводит к изменению активности фермента путем различных механизмов [Furuuama K. et al., 1998].

Заболевание может отмечаться и у лиц женского пола, гетерозиготов при наличии у них инактивации одной из хромосом X. У большинства женщин-гетерозиготов нет клинических признаков болезни, так как незрелые эритроидные клетки в достаточной степени экспрессируют ген ALAS2 для нормального образования Эр. Но, как и при других X-связанных заболеваниях, клинический фенотип у женщин-носительниц может изменяться под влиянием реактивации хромосомы X [Lyon M. et al., 1996], этому могут способствовать различные генетические механизмы [Puck J. et al., 1998; Christensen K. et al., 2000]. L. Tonon и соавт. (1998) установили, что отклонения в инактивации хромосомы X могут быть приобретенными в гемопоэтических клетках, поэтому проявления XLSA могут выявиться в позднем и даже в старческом возрасте (71 год) с появлением мутации гена ALAS2 только в ретикулоцитах [Cazzollo M. et al., 2000].

У большинства больных клинические и гематологические проявления XLSA возникают в детском и юношеском возрасте, иногда и в более позднем возрасте. Клинические признаки и степень их выраженности

зависят от показателей анемии, наличия признаков гемосидероза и гемохроматоза; у некоторых больных может наблюдаться увеличение селезенки и печени. Гетерогенность клинических проявлений может быть также обусловлена с одновременным наследованием мутаций в гене HГ (HFE), вследствие чего происходит аккумуляция железа в организме, увеличивается тяжесть течения болезни.

Симптомы микроцитарной гипохромной анемии (средний объем Эр менее 60 фл, содержание Hb от 80 до 100 г/л) обычно у аффертных гемизиготных мужчин возникают во 2-м десятилетии жизни, а клинико-лабораторные признаки перегрузки организма железом — в среднем возрасте [Cotter P. et al., 1999]. Не отмечено корреляции между степенью тяжести анемии и характером специфической мутации в гене ALAS2 или же ответом на лечение пиридоксином [Bottomley S. et al., 1998]. В периферической крови определяются пойкилоциты, часто Эр с тельцами Паппенгейма, возникновение которых, возможно, связано с преципитацией рибосом. Содержание ретикулоцитов нормальное или сниженное. При отсутствии изменений в органах число лейкоцитов и тромбоцитов, лейкоцитарная формула нормальные.

В костномозговом пунктате повышено содержание эритроидных клеток, особенно базофильных форм, увеличено количество кольцевидных сидеробластов. Их появление связано с отложением железа в митохондриях. К сидеробластам относят те клетки, в которых определяются более 5 сидероцитных гранул и которые окружают более $1/3$ ядра [Phatak P. et al., 1997].

При биохимическом исследовании крови определяется значительная гиперсидеремия, степень насыщения железом Tf приближается к 100%, концентрация свободных протопор-

фиринов не увеличена [Schwartz E., 2000]. Наличие признаков гемосидероза может быть обусловлено усилением неэффективного эритропоэза, наличием мутации гена HГ [Kos S. et al., 1997].

Описаны больные с XLSA с атаксией (XLSA/A). У них отмечается весь симптомокомплекс, свойственный для сидеробластной анемии. Установлено, что у этой группы больных (XLSA/A) имеется неполноценность гена ABC7-транспортера. ABC-транспортеры — это большая группа аденозинтрифосфатзависимых трансмембранных белков, которые участвуют в специфическом транспорте различных субстратов в клетку и через мембрану органелл. Ряд генетических болезней связаны с нарушением способности этих белков транспортировать субстраты. Так, при болезни Tangier нарушен перенос холестерина [Young S. et al., 1999], при болезни Stargardt — в сетчатку [Sun H. et al., 1999], при cystic fibrosis — Cl — [Riordan J. et al., 1998], при синдроме Дубина — Джонсона — конъюгированного билирубина [Toh S. et al., 1999]. При XLSA/A образуется мутантный белок ABC7, который в норме участвует в образовании цитозольного Fe/S-белка [Bekri S. et al., 2000].

Для лечения сидеробластной анемии назначают пиридоксин (витамин B₆) в дозе 200—300 мг/сут, per os. Большинство больных положительно реагируют на это лечение и у них полностью или частично восстанавливаются показатели красной крови [Edgar A. et al., 1998]. При наличии признаков гемосидероза проводят комплекс лечебных мероприятий, описанных в разделе «Гемохроматоз и гемосидероз».

Прогноз заболевания благоприятный, если болезнь поддается лечению пиридоксином. Хуже, если лечение начато поздно, появились признаки гемосидероза и гемохроматоза.

ПРИОБРЕТЕННЫЕ СИДЕРОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ

Этиология приобретенных сидеробластных анемий различна. Наиболее частой их причиной является хроническое отравление свинцом (см. раздел «Анемия при отравлении свинцом»). Некоторые лекарственные препараты (изониазид, левомецетин и др.) также могут вызвать появление сидеробластной анемии.

Кольцевидные сидеробласты — это нормобласты с перинуклеарно-нагруженными железом митохондриями. Появление сидеробластов связано с тем, что ряд лекарственных препаратов способствуют отложению железа в митохондриях, и этот микроэлемент вызывает специфическое повреждение генома ДНК, уменьшая синтез ферритина и витамина В₆ [Bridges K. et al., 1997]. Пиридоксин влияет на синтез δ-АЛК. Описаны редкие случаи приобретенной сидеробластной анемии у больных, связанные с дефицитом витамина В₆ [Dallman P. et al., 1993; Méschinaud-Lacroix F., 1995]. Лечение этих форм заболевания предусматривает исключение провоцирующих факторов, назначение витамина В₆.

К группе приобретенных сидеробластных анемий относится рефрактерная анемия с избытком кольцевидных сидеробластов (РАС). Это заболевание является одной из форм МДС — гетерогенной группы заболеваний, который, согласно FАВ классификации, включает в себя рефрактерную анемию, РАС, рефрактерную анемию с увеличенным содержанием бластов, рефрактерную анемию с увеличенным содержанием бластов в стадии трансформации и хронический миеломоноцитарный лейкоз.

МДС — это клональное заболевание с поражением всех трех ростков кроветворения на уровне ГСК. Он характеризуется экспансией аномального клона с развитием признаков

гемопоэтической дисплазии, неэффективного гемопоэза, апоптозом клеток CD34⁺, аномальной морфологией и функцией клеток-предшественниц гемопоэза [Dar S. et al., 1998; Parker J. et al., 1998]. Как и при ОЛ, при МДС первоначально может отмечаться активация онкогенов, участвующих в регуляции пролиферации и дифференциации гемопоэтических стволовых клеток. При МДС нередко наблюдаются мутации онкогена. Так, мутации *ras* определяются у 9—40% больных, а *p53* — у 5—10%, хотя роль этих мутаций в развитии МДС окончательно не выяснена [Provan D. et al., 2000].

У больных наблюдаются диспластические признаки гемопоэтических клеток, преждевременное разрушение последних происходит в костном мозге, до поступления в периферическую кровь Эр, гранулоцитов и тромбоцитов. Это приводит к панцитопении, реже к би- или моноцитопении, и это в контрасте с нормо- или гиперцеллюлярным костным мозгом. Эти гематологические нарушения отражаются на клинических проявлениях заболевания — у больных наблюдаются симптомы, связанные с анемией (бледность, одышка, тахикардия, общее недомогание и др.), гранулоцитопенией (инфекции), тромбоцитопенией (кровоточивость).

Различают первичный МДС, *de novo* и вторичный, после использования алкилирующих препаратов, в том числе хлорамбуцил, мельфалан, циклофосфамид и др. Частота первичного МДС увеличивается с возрастом больных: дети составляют не более 5% от всех заболевших МДС, в возрасте 50—70 лет частота заболевания составляет 4,9 : 100 000, а старше 70 лет — 22,8 : 100 000 [Provan D. et al., 2000]. Хотя в прошлом МДС называли предлейкозом, но многие больные живут в течение многих лет без признаков лейкоза.

Мы останавливаемся только на одной из форм МДС — рефрактер-

ной анемии с увеличенным содержанием кольцевидных сидеробластов (РАС), так как эта форма заболевания может напоминать по клинико-гематологическим параметрам наследственную сидеробластную анемию.

Рефрактерная анемия с избытком кольцевидных сидеробластов является одной из форм МДС. Она встречается приблизительно у каждого 3-го больного с МДС, в равной частоте у мужчин и женщин, в основном у лиц старше 50 лет; дети с РАС составляют 1% от числа всех больных с МДС [Алексеев Н.А., 1998].

Характерными особенностями РАС являются нормохромная, часто макроцитарная анемия, арегенераторная. Отмечаются анизопойкилоцитоз Эр, наличие двойной популяции Эр — одной с гипохромией, а другой с нормохромией. Иногда в периферической крови определяются эритробласты. Количество лейкоцитов, нейтрофилов и тромбоцитов — в пределах нормы, но иногда у некоторых больных может быть гипертромбоцитоз или тромбоцитопения. Костный мозг обычно гиперцеллюлярный, в нем увеличено содержание клеток эритроидного ростка с выраженными в них признаками дизэритропоэза — гигантские, многоядерные эритроидные клетки, с аномальными формами ядра, с асинхронизмом созревания ядра и цитоплазмы с резкой базофилией последней, в ряде клеток эритроидного ростка определяется базофильная пунктация, карioreкسيس. У некоторых больных встречаются мегалобластоподобные клетки, более 15% клеток эритроидного ростка составляют сидеробласты с кольцевидным расположением зерен железа вокруг ядра (3-го типа — с многочисленными гранулами, располагающимися вокруг ядра в виде кольца). В других клетках костного мозга признаков аномалии

морфологически не выявляется или же они незначительные.

У большинства больных эритропоэтическая активность костного мозга увеличена, содержание ферритина и железа в сыворотке крови повышено. Кругооборот железа в плазме увеличен, утилизация эритроидными клетками ^{59}Fe снижена, а $T^{1/2}$ исчезновения ^{59}Fe из плазмы крови нормальное. Длительность жизни Эр укорочена. Все эти данные указывают на неэффективный эритропоэз при РАС [Jacobs A., 1987; Yoshida Y. et al., 1987].

При РАС количество БОЕ-Э и КОЕ-Э уменьшено в 10—20 раз. При цитогенетическом исследовании гемopoэтических клеток хромосомные aberrации наблюдаются у 21—36% больных. Наиболее часто вовлечены хромосомы 5-, 8- и 11-й пары — del (5q), del (11q), имеется трисомия 8-й пары, del (20q), del (7q) и др. [Yunis J. et al., 1988; Flandrin G. et al., 1998].

Лечение РАС предусматривает гемотрансфузии, хелатотерапию, при необходимости антибиотикотерапию. Глюкокортикоиды, андрогены, витамин D, ретиноиды, ИФ α заметно не влияют на течение болезни. Назначение Эпо (по 100 МЕ/(кг·сут) подкожно, при необходимости дозу увеличивают до 150—300 МЕ) в течение 8 нед дает положительный эффект у 94,4% больных с сохранением ремиссии в среднем в течение 11 мес [Negrin K. et al., 1996; Wallvik J. et al., 1998]. Отсутствие эффекта при лечении Эпо у некоторых больных может быть связано со снижением активности комплекса, содержащего рецептор Эпо и связанных с ним киназ [Lindern M., von, et al., 1998]. При отсутствии эффекта от Эпо возможно использование последнего в комбинации с другими цитокинами (КСФ-Г, КСФ-ГМ или ИЛ-3) [Musto P. et al., 1998]. При наличии неблагоприятных прогностических факторов у больного (наличие выра-

женной тромбоцитопении, хромосомных aberrаций — del (7q), del (20q) и др.— показаны ТКМ или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [Bjerke J. et al., 1998; Grayson G. et al., 1998].

Средняя длительность жизни больных с РАС составляет 50 мес;

около 20% больных умирают в течение первых 2 лет от начала заболевания.

Прогноз неблагоприятный при наличии хромосомных аномалий — (—7), del (7q), del (17p) и др. [Cazzolla M. et al., 1988; Provan D. et al., 2000].

АПЛАЗИЯ КОСТНОГО МОЗГА

Аплазиями костного мозга называют состояния, при которых отмечаются уменьшение миелоидных клеток и(или) снижение их способности к самоподдерживанию, пролиферации и дифференциации в клетки-предшественницы всех ростков гемопоэза. Аплазии костного мозга могут быть одно-, двух- и трехростковыми. Частота гемопоэтических аплазий в Европе в среднем составляет 2×10^6 жителей, а в Азии она в 10 раз чаще [Espérou-Bourdeau H., 1995].

Причины развития аплазии гемопоэза в 85% остаются не выясненными, поэтому говорят об идиопатической аплазии. В остальных случаях иногда удается установить причинно-следственную связь. Особую группу составляют так называемые конституциональные аплазии костного мозга, которые составляют около 25—30% от всех аплазий костного мозга у детей, передаются в большинстве случаев аутомно-рецессивно. По данным N.Young и соавт. (1993), всего опубликованы сведения о 2070 этих больных. Диагностика этих форм анемий существенно важна, поскольку их лечение отличается от приобретенных форм аплазий.

Все аплазии костного мозга можно разделить на 2 группы, включающие подгруппы.

I. Конституциональные:

- 1) анемия Фанкони;
- 2) синдром Швахмана — Дайемонда;
- 3) дискератоз врожденный;
- 4) анемия Дайемонда — Блекфэна;

- 5) амегакариоцитарная тромбоцитопения;
- 6) тромбоцитопения с отсутствием лучевой кости.

II. Приобретенные:

- 1) апластическая анемия;
- 2) эритробластопения, вызванная парвовирусом В19, другими вирусами и бактериями;
- 3) идиопатическая транзиторная эритробластопения у детей раннего возраста;
- 4) эритробластопения иммунного генеза;
- 5) эритробластопения при тимоме;
- 6) эритробластопения, связанная с другими причинами.

КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫЕ АНЕМИИ

Конституциональные анемии — это гетерогенная группа заболеваний, различающихся по патогенезу, лечению и прогнозу. Эти заболевания являются врожденными, наследственными, первые симптомы болезни возникают в детстве и редко больные доживают до зрелого возраста. К числу этих заболеваний относятся анемия Фанкони, синдром Швахмана — Дайемонда, дискератоз врожденный, анемия Дайемонда — Блекфэна и др.

АНЕМИЯ ФАНКОНИ

АФ — это аутомно-рецессивно наследуемое заболевание, характеризующееся прогрессивной панцитопенией, наличием различных врожденных аномалий, предрасположенностью к злокачественным заболеваниям.

ям, главным образом острому миеобластному лейкозу.

Эта конституциональная аплазия костного мозга впервые была описана G.Fanconi в 1927 г. у троих sibсов, так что наследственный ее характер сомнений не вызывает. С тех пор опубликованы данные более чем о 800 больных с этим заболеванием; оно наблюдается во всех географических регионах, этнических группах, у нескольких членов одной и той же семьи. Болезнь наследуется аутосомно-рецессивно, но пенетрация переменчива. По мнению T.Schroeder и соавт. (1976), гетерозиготы в Западных странах встречаются с частотой 1:300.

Клинические признаки заболевания довольно типичны. Помимо общих признаков, свойственных анемии (бледность кожи и видимых слизистых оболочек, астения, одышка, учащение частоты сердечных сокращений и др.), у больных имеются аномалии в различных органах и системах. Общим клиническим признаком является наличие меланодермии, задержка роста. Пигментация кожи отмечается преимущественно на туловище, шее, в подмышечных ямках. Наблюдается задержка роста и увеличения массы тела, больные низкорослые, что иногда является первопричиной обращения к врачу. Отмечается микроцефалия, могут быть изменения глаз (маленькие глаза, страбизм, эликантус, гипертелоризм), ушей (аномальная форма, глухота, атрезия, дисплазия, сужение слухового прохода и др.), лица (микрогнатия, триангулярное лицо), короткая шея. Могут наблюдаться аномалии скелета (отсутствие или гипоплазия большого пальца, дополнительный большой палец на кистях, раздвоенный палец, гипоплазия или отсутствие лучевой кости и др.), мочеполовой системы (гипогонадизм, крипторхизм, пороки развития матки и влагалища, подковообразная, эктопич-

ная почка и др.). Могут наблюдаться аномалии сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, ЦНС, в том числе гидроцефалия, энцефалоцеле и spina bifida. Все указанные аномалии отмечаются в различных сочетаниях у разных больных и с разной частотой. Отмечается выраженный геморрагический синдром в виде петехий, экхимозов, кровотечений из десен, носа и других локализаций. Размеры печени, селезенки и лимфатических узлов нормальные. Могут быть локальные очаги инфекции. Относительно удовлетворительное самочувствие контрастирует с тяжестью болезни [Торубарова Н.А. и др., 1987; Никитин Д.О., 1990; Калинин В.И., 1998]. По данным Международного регистра анемии Фанкони, эндокринные нарушения (низкий рост, недостаток гормона роста, гипотиреозидизм, гиперинсулинизм, сахарный диабет и др.) наблюдаются у 81% больных с АФ [Wajrgrajh M. et al., 2001].

Характерными признаками АФ являются гематологические изменения — панцитопения. Анемия носит нормохромный нормоцитарный характер с тенденцией к макроцитозу Эр, повышено содержание HbF, увеличена экспрессия АГ 1 на Эр, снижено количество ретикулоцитов. Резко уменьшено количество нейтрофилов и тромбоцитов. Однако у некоторых больных первоначально может наблюдаться моно- или бицитопения, чаще это нейтропения.

На основе показателей периферической крови выделяют 4 степени тяжести цитопении: 0, I, II и III степени. При их выделении руководствуются показателями периферической крови: содержание Hb 80 г/л и меньше, число лейкоцитов $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и меньше, тромбоцитов $20 \times 10^9/\text{л}$ и меньше. Суммируют наличие этих патологических значений. Костномозговой пунктат типичен — сниже-

но количество миелокариоцитов и мегакариоцитов, вплоть до полного отсутствия последних. В миелограмме резко снижено содержание клеток эритроидного и миелоидного ростков за счет увеличения содержания лимфоцитов и плазматических клеток [Alter B. et al., 1991].

Гематологические изменения возникают несколько раньше у лиц мужского пола — в возрасте в среднем 8 лет (от 0 до 32 лет), чем у женского пола — в возрасте в среднем 9 лет (от 0 до 48 лет) [Young N. et al., 1993]. У некоторых больных клинический фенотип болезни выражен умеренно, отсутствуют изменения скелета, наблюдаются субклинические изменения гемопоэза. У других больных с АФ проявления болезни возникают рано, протекают тяжело, наблюдаются выраженные изменения скелета, рано отмечаются опухолевые заболевания.

В последнее десятилетие на основе генетических и молекулярных исследований получены новые данные, свидетельствующие о том, что АФ — это довольно разнородная группа заболеваний. Было установлено, что гемопоэтические клетки больных характеризуются повышенной хромосомной абберацией. В культивируемых лимфоцитах периферической крови повышено число клеток со спонтанной поломкой хромосом, с их перестройкой или же появлением трех- и четырехрадиальных фигур. Эти изменения значительно увеличиваются под влиянием алкилирующих препаратов, митомицина С, окислителей, DEB (Dіероxybutane) [Hameline L. et al., 1998]. Цитометрическими исследованиями было установлено, что в присутствии указанных веществ в клетках происходит избыточное накопление ДНК в фазе G2—М клеточного цикла деления. Задержка восстановления ДНК связана с отсутствием фермента экзонуклеазы, при этом недостаток восстановления

ДНК наблюдается во всех клетках организма, но в наибольшей степени поражаются гемопоэтические. Эти аномалии, возникающие в клетках больных в культуре, проявляются в виде поломок хромосом, в одной клетке больного наблюдаются в среднем 8,96 поломок, тогда как в клетках здорового человека наблюдаются в среднем 0,06 поломок. Не отмечено корреляции между числом поломок и степенью клинических и гематологических проявлений болезни [Auerbach A. et al., 1989; Miglierina K. et al., 1991].

Тест по определению наличия хромосомных аббераций в культивируемых клетках больных с АФ и гиперчувствительность гемопоэтических клеток к веществам, действующих на ДНК клеток (митомицин С, диэпоксидбутан и др.), являются качественно новыми диагностическими критериями наличия АФ, поскольку клинические и гематологические данные, наблюдаемые при АФ, могут выявляться и при других заболеваниях и синдромах.

Было установлено, что с генетической точки зрения АФ гетерогенна. С помощью специальных методов исследования с использованием соматических клеток выделены 8 элементарных групп АФ, обозначенных буквами латинского алфавита от А до Н: FANCA (Fanconi Anemia Complementation Group A), FANCB, FANCC, FANCD, FANCE, FANCF, FANCG и FANCH. Наличие гетерогенности АФ было верифицировано путем молекулярного клонирования генов болезни. Ген FANCA расположен на хромосомах 16-й пары (16q24.3) [Pronk J. et al., 1995; Le Ten Foe J. et al., 1996], FANCC — на хромосомах 9-й пары (9q23.3) [Strathdee C. et al., 1992], FANCD — на хромосомах 3-й пары (3p22—26) [Hejna J. et al., 2000], FANCE — на хромосомах 6-й пары (6p21.2—21.3) [de Winter J. et al., 2000], FANCF —

на хромосомах 11-й пары (11p13—15) [de Winter J. et al., 1998], FANCG — на хромосомах 9-й пары (9p13) [de Winter J. et al., 1998]. На основе анализа с использованием специфической клеточной линии EUFA173 H.Joenje и соавт. (2000) пришли к заключению, что группа больных FANCH относится к группе больных FANCA. Благодаря клонированию генов АФ удалось усовершенствовать тест PCR, с помощью которого возможно выделение раличных типов АФ [Hanenberg H. et al., 1998].

На сегодняшний день критериями диагноза АФ являются данные, подтверждающие гиперчувствительность клеток больных к митомицину С или к DEB, или данные молекулярного анализа комплементарной группы на основе анализа имеющихся мутаций гена или Western blot.

Роль специфических белков, продуктов этих комплементарных генов, окончательно не выяснена. Гемопоэтические клетки больных с АФ, помимо склонности к спонтанным хромосомным поломкам, аномально-го клеточного цикла в виде удлинения фазы G2 клеточного цикла деления, обладают повышенной чувствительностью к апоптозному эффекту ФНО α и ИФ γ и др. [Koh P. et al., 1999; Pang Q. et al., 2001]. S.Arkin и соавт. (1998) считают, что апоптоз гемопоэтических клеток не связан с первичным нарушением клетки, а является реакцией этих клеток в ответ на повреждение ДНК. Возможно, что многие из этих аномальностей являются эпифеноменом, и не исключается, что они непосредственно не связаны с первичным поражением клетки. Белки FA-A находятся в цитоплазме и ядре клетки, а протеин FA-C — в цитоплазме. Белок FA-C поддерживает рост и дифференциацию гемопоэтических клеток-предшественниц, и одна из важнейших функций этого белка — это угнетение апоптоза, индуцированного

ИФ γ [Buchwald M. et al., 1998; Rathbun R. et al., 2000]. Fas-индуцированный апоптоз клеток при АФ типа С происходит вследствие активации каспазы 8, которая контролирует активацию каспазы 3. Установлено, что белки FA-A, FA-C и FA-G связываются между собой, образуя комплекс, который в нормальных клетках находится в цитоплазме и ядре. Мутантный белок FA-A-H110P не способен корригировать действие митомицина С на ДНК клетки, но в то же время он образует комплекс с белком FA-G. При наличии мутации 322 del G в гене FANCC не образуется белок [Kupfer G. et al., 1998; Waisficz Q et al., 1999]. В ядре клеток FANCD отмечается нормальная аккумуляция этого белкового комплекса. Белок FANCG является ключевой молекулой в комплексе, и при уменьшении количества этого белка происходит разрушение этого комплекса, изменение функций многих белков АФ. Это приводит к появлению множественных поломок хромосом, более тяжелому клиническому фенотипу, высокой частоте появления МДС/ОМЛ [Yamashita T. et al., 1998; Christianson T. et al., 2000]. Белковый комплекс отсутствует или разрушен в клетках других комплементарных группах АФ — FANCB, FANCE, FANCF и FANCH [Waisficz Q. et al., 1999; Huber P. et al., 2000]. Возможно, что белки генов АФ регулируют образование комплексов. Исследованиями I.Garcia-Higuera и соавт. (2000) было установлено, что взаимодействие генов FANCA и FANCG способствует поддержанию уровня контролируемых ими белков в клетках, регулированию аккумуляции белкового комплекса АФ в ядре и вовлечению в процесс восстановления двойной спирали ДНК. Недостаточная аккумуляция этого протеинового комплекса приводит к появлению характерного спектра клинических и клеточных

аномальностей у больных [García-Higuera I. et al., 2000].

Одним из возможных объяснений широкого спектра клинических фенотипов могут быть различия в комплементарных группах АФ, так как соответствующие гены могут функционировать на различных точках в том же пути, которые приводят к тем же, но не идентичным клиническим проявлениям. Нельзя исключить и того, что тяжесть течения болезни может быть связана с различными мутациями в том же самом гене или же с другими генетическими факторами, или с факторами гемopoэтического микроокружения [Gillio A. et al., 1997; Кос А. et al., 1999]. По данным Т. Yamashita и соавт. (1996), течение заболевания у больных с С-типом более легкое при наличии у них мутаций в гене FANCC в эклоне 1 (delG322), а более тяжелое и более раннее появление патологических гематологических сдвигов отмечается у больных при наличии у них мутации в гене в эклоне 4 (IVS4 + 4A → T), в эклонах 6 и 14.

По данным Европейской исследовательской группы по АФ (2000), обобщившей данные о 246 больных, АФ типа А отмечалась у 70,2% больных, типа В — у 0,4%, типа С — у 13,9%, типа D — у 1%, типа E — у 2%, типа F — у 2,5% и типа G — у 9,8%. Различные мутации в гене FANCA наблюдались у 39,3% больных, FANCC — у 32,4%, FANCF — у 5 из 6 больных и FANCG — у 45,8%; из этого общего числа больных у 75,6% имелись нуль-аллели, а у 24,3% образовывался измененный белок. При АФ типа А нуль-гомозиготы составляли 65%, при типе С — 64,7% и при типе G — 72,7%. Имеются различия в частоте мутаций генов АФ в различных этнических группах. Так, в популяции ирландцев в гене FANCA (содержится 43 эксона) чаще отмечается делеция экзонов

11—14, у евреев Ашкенази и японцев в гене FANCC чаще отмечается IVS4 + 4A → T, у африканцев Южной Америки в гене FANCA чаще выявляется делеция экзонов 12—31 [Auerbach A., 1997; Futaki M. et al., 1998; Faivre L. et al., 2000]. Среди других, более часто встречаемых мутаций гена FANCA (1263 del F) и FANCC (322 del G), не выявлено четкой связи с этническим происхождением больных.

Поскольку большая часть больных с АФ относятся к типам А, С и G, а об остальных в периодической печати приведены лишь описания единичных больных, то более полно можно проанализировать клинико-гематологические данные этих трех основных типов заболевания.

Средний возраст больных к моменту установления диагноза и выявленных гематологических нарушений составляет 7 лет. Средняя степень тяжести цитопении выше при АФ-G (2.11), чем при АФ-A (1.56) и АФ-C (0.89). Среднее количество соматических аномалий выше при типах А и G, чем при С; при последнем реже наблюдаются задержка роста, изменения черепа и изменения лучевой кости, чем при типах А и G. Изменения ЦНС чаще отмечаются при типе С, чем при типе А. Однако хотя и имеются различия в частоте отдельных клинических симптомов при этих трех типах АФ, тем не менее результаты логарифмического регрессионного анализа свидетельствуют о том, что характеристика имеющихся аномальностей не может служить критерием диагностики этих типов АФ — А, С и G. При АФ типов D, E и F часто наблюдаются анатомические аномалии, но сделать конкретные выводы невозможно из-за малого числа наблюдений каждого из этих типов.

С помощью корреляционного анализа удалось установить, что существует взаимосвязь между феноти-

ном и генотипом. Так, наибольшее число аномалий развития отмечено у больных с АФ-А при наличии у них одной мутации (del E 12—31) в гене FANCA (всего описаны более 70 различных мутаций) и у больных с АФ-С при наличии мутации в гене FANCC (IVS4 + 4A → T) [Tamary H. et al., 1998; Futaki M. et al., 2000]. Если у больных с АФ-С отмечалась мутация 322 del G в гене FANCC, то число анатомических аномалий было минимально. При наличии у больных АФ-А мутации в гене FANCA del E 12—32 у них отмечалась более тяжелая степень цитопении, чем у больных с другими мутациями в гене. У гомозиготов с мутацией del G322 в гене гематологические признаки болезни появлялись позднее, и они были выражены более умеренно по сравнению с больными всей группы АФ — к 10 годам эти изменения наблюдались у 33,3% и 78,5% соответственно. У больных с АФ-А не выявлено связи между характером и частотой соматических аномалий, с одной стороны, и наличием у больных двух мутаций в гене FANCA, приводящим к появлению нулевого аллеля или же одной, приводящей к изменению белка, или же при наличии у больных 5' мутаций окончаний в гене FANCA по сравнению с больными, имевшими 3' мутации в гене, с другой. Однако у больных с АФ-С при наличии двух нулевых мутаций по сравнению с больными, имевшими одну мутацию в гене FANCC, частота соматических аномалий встречалась реже.

Установлена связь между числом и характером мутаций в генах АФ и временем появления гематологических признаков болезни, опухолевых заболеваний и выживаемостью. Для всей группы больных с АФ средний возраст к моменту появления гематологических нарушений составляет 7,6 лет. У больных с АФ-А, имевших две мутации в гене FANCA с появ-

лением нуля-аллеля, заболевание возникло раньше (7,2 года), чем у больных с одной мутацией в этом гене (10,3 года). Выживаемость 10 лет для больных с АФ-А при наличии двух мутаций в гене составляет 55,8%, а при одной мутации — 83%. Таким образом, при АФ типа А при наличии у больных двух нулевых аллелей в гене FANCA не образуется FANCA-белок, и это приводит к тяжелому фенотипу (раньше появляются симптомы заболевания, более тяжелая панцитопения, уменьшенная длительность жизни, чаще возникает МДС/ОМЛ); если же у больного образуется измененный белок (при наличии одной мутации в гене), то у него отмечается умеренный фенотип (позднее возникают симптомы болезни, более длительная выживаемость, меньше риск возникновения МДС/ОМЛ).

Более высокая частота развития МДС/ОМЛ отмечается у больных при АФ-Г (33,3%), чем при АФ-С (20,6%) и АФ-А (13,4%). У больных АФ-А при наличии двух мутаций в гене FANCA чаще возникает МДС/ОМЛ, чем у больных с одной мутацией. При мутации del E 12—31 в гене FANCA к 20 годам у 55,3% больных развился МДС/ОМЛ, тогда как при наличии других мутаций в гене — только у 13,3% больных.

Течение болезни вариабельно, во многом определяется генетическими факторами, наличием мутаций в генах и их характером. Основными причинами смерти больных являются состояния, связанные с аплазией костного мозга — геморрагический синдром и инфекция. У больных имеется иммунная недостаточность, снижение содержания в сыворотке крови всех классов Ig (A, M, G₁, G₂, G₃, G₄), цитокина ИЛ-12, контролирующего клеточно-опосредованный иммунитет [Yalman N. et al., 1998]. Поскольку у больных имеется склонность к развитию опухолевых забо-

леваний, то необходимо систематическое изучение кариотипа клеток костного мозга, и при появлении клональной аномалии тактика лечения изменяется [Caruso J. et al., 1998; Gozda S. et al., 2001]. По мнению H.Espéron-Bourdea (1995), L.Faivre и соавт., (2000), частота развития острого лейкоза — миелодиспластического синдрома составляет 15—17%, а негематологических злокачественных новообразований (желудочно-кишечного тракта, гепатоцеллюлярная карцинома) — 6—9%.

Лечение больных с АФ — задача достаточно трудная. Назначение андрогенов в дозе 1 мг/кг в день увеличивает показатели красной крови, лейкоцитов, в меньшей степени тромбоцитов у каждого второго больного после 2—3-месячного лечения. Однако андрогенотерапия лишь удлиняет продолжительность жизни и дает отрицательные эффекты — вызывает вирилизацию, увеличивает риск возникновения опухолей печени. При выраженной нейтропении используют рекомбинантные КСФ (филграстим, КСФ-ГМ, ИЛ-3, ИЛ-6), но их действие не всегда приводит к положительным результатам [Guipon E. et al., 1991]. Наиболее радикальным методом излечения костномозговых нарушений (но не соматических аномалий) являются ТКМ и стволовых клеток (из пуповинной или периферической крови) [Guardiola P. et al., 1998; Lange A. et al., 1998]. Этот метод лечения следует использовать как можно раньше, особенно у больных с высоким риском. Наилучшие результаты от трансплантаций получены у больных молодого возраста с менее тяжелыми гематологическими нарушениями. Менее успешны они у больных с трансформацией в МДС или острый лейкоз. Если источником получения клеток костного мозга для пересадки были сиблинги, то 41-месячная выживаемость наблюдалась у 82% боль-

ных, 5-летняя — у 70%, а при неродственных донорах — у 36% [Dufour C. et al., 1998; Guardiola P. et al., 1998]. В последние годы разрабатывают методы генной терапии. Хотя *in vitro* после гентрансфера в клетки CD34⁺ больных с АФ отмечалось увеличение образования БОЕ-Э и КОЕ-Э, тем не менее использование этого метода *in vivo* у 3 больных не привело к восстановлению гемопоэза [Lin J. et al., 1997; Nisbet-Brow E. et al., 1998].

Хотя в последние годы и достигнуты существенные достижения в области изучения патогенеза и лечения АФ, прогноз болезни *quo ad vitam* остается неблагоприятным.

ВРОЖДЕННАЯ ЭРИТРОБЛАСТОПЕНИЯ

Врожденная эритробластопения (анемия Дайемонда — Блекфэна) является врожденным заболеванием и характеризуется чистой красноклеточной аплазией костного мозга вследствие нарушения созревания эритроидных клеток-предшественниц. Оно фигурирует под различными названиями — врожденная гипопластическая анемия, истинная эритроцитарная анемия, эритрогенезис имперфекта, первичная красноклеточная анемия, синдром Дайемонда — Блекфэна, анемия Дайемонда — Блекфэна и др.

H. Josephs в 1936 г. описал двоих детей с подобным заболеванием, а в 1938 г. L. Diamond и K. Blackfan наблюдали 5 детей и охарактеризовали подробно клинико-гематологическую картину болезни, назвав ее гипопластической анемией. В последующем это заболевание стали называть анемией (болезнью, синдромом) Дайемонда — Блекфэна.

Заболевание является врожденным, поражает с одинаковой частотой (1:100 000) оба пола, встречается во всех этнических группах. Чаще

всего — это спорадические случаи, семейные случаи наблюдаются у 8—20% больных. Наследственность аутосомно-доминантная (75%), причем отмечается во многих поколениях, но описаны и рецессивный тип наследования (25%) [Vlachos A. et al., 1997]. Ген анемии Даймонда — Блекфэна локализован на хромосомах 19-й пары (19q13.2) [Gustavsson P. et al., 1997]. Рибосомальный белок S19 (RPS19 — аббревиатура от Ribosomal Protein S19) идентифицирован как ген анемии Блекфэна — Даймонда, и мутации в этом гене описаны у 25% больных [Draptchinskaja N. et al., 1999; Smejla R. et al., 2001]. В некоторых семьях у больных с отсутствием мутации гена обнаружена связь между фенотипом заболевания и хромосомами 8-й пары. H. Gazda и соавт. (2001) обследовали больных из 38 семей и установили, что в 18 семьях болезнь связана с хромосомами 8-й пары (8p23.3—p22), и пришли к заключению, что существует второй ген анемии Даймонда — Блекфэна. В то же время в 7 из 38 семей у больных не отмечено связи заболевания с хромосомами 8-й и 19-й пары, не выявлено мутаций в гене RPS19, и это заставляет думать о генетической гетерогенности болезни. У родителей и у братьев больных могут отмечаться биологические аномалии в виде увеличения содержания HbF, макроцитоза Эр, повышение активности аденозиндеаминазы при отсутствии у них анемии. Кариотип у больных нормальный.

Этиология и патогенез заболевания многосторонне изучены, но ни одна из гипотез не получила экспериментального подтверждения. Возможная роль иммунологического ингибирования эритропоэза *in vivo*, скорее всего, обусловлена трансфузионной изоиммунизацией.

Изучения *in vitro* клеток-предшественниц эритроидного ростка показали, что результаты вариабельны:

иногда число БОЕ-Э и КОЕ-Э снижено, но иногда и нормально. *In vitro* клетки-предшественницы эритроидного ростка реагируют на Эпо, ИЛ-3 и ФСК, но для их действия следует использовать более высокие концентрации этих факторов [Halperin D. et al., 1989; Tsai P. et al., 1989]. Однако, если *in vitro* число БОЕ-Э и КОЕ-Э у больных снижено, то увеличение концентрации КСФ не нормализует число клеток-предшественниц эритропоэза [Bagnara G. et al., 1991]. По-видимому, это связано с аномалией дифференциации клеток-предшественниц эритроидного ряда. Возможно, эта блокада находится выше, чем КОЕ-Э. У больных без мутации в гене RPS19 снижено образование зрелых эритробластов из популяции КОЕ-Э/проэритробластов. Это сопровождалось апоптозом эритроидных клеток. Если же у больных определялась мутация в гене RPS19, то у них наблюдалось нарушение дифференциации клеток на очень ранних стадиях эритропоэза [Croisille L. et al., 2001]. Установлено, что нет корреляции между показателями КОЕ *in vitro* и течением болезни, реакцией на лечение глюкокортикоидами или ИЛ-3 [Gillio A. et al., 1993]. *In vitro* не обнаружено выраженного изменения в числе LTC-1С [Giri N. et al., 1998]. Известно, что у мышей породы W/W^v наблюдается эритробластопения по типу анемии Даймонда — Блекфэна и у них имеется аномалия рецептора c-kit, а у мышей породы Sl/SII — аномалия лиганда c-kit, ФСК. Однако у людей, больных анемией Даймонда — Блекфэна (DBA), подобных аномалий не установлено [Abkowitz J. et al., 1992]. У больных снижены число клоногенных предшественников клеток стромы и их пролиферативный потенциал [Крыжановский О.И. и др., 1994].

U. Ramenghi и соавт. (1997), обследуя итальянскую семью, в которой были больные с DBA, дети с врож-

денными аномалиями без анемии и здоровые пришли к заключению, что как больные с DBA, так и дети с аномалиями, но без анемии имели тот же гаплотип ДНК в хромосомах 19-й пары (19q13.2.). Это дало основание авторам считать, что DBA наследуется доминантно с низкой пенетрацией и что мутации гена DBA переменны и могут приводить только к аномалиям без нарушения гемопоэза.

Анализ с полиморфными маркерами участка хромосомы 19q13.2 у членов 12 семей больных, в которых болели 2—3 ребенка и имелись здоровые индивидуумы, а также учитываемая переменность срока возникновения анемии во времени, наличие или отсутствие аномалий, различия в реакции на лечение глюкокортикоидами, заставляет считать, что имеется генетическая гетерогенность DBA с одним геным локусом [Gazda H. et al., 1998]. У больных и некоторых их родственников имеются ряд сходных признаков болезни — увеличение содержания HbF, макроцитоз и постоянная экспрессия АГ i на Эр, увеличение активности аденозиндезаминазы (АДА) в Эр.

Исследуя активность АДА в Эр у больных и здоровых членов (149) из 54 семей, а также проведя анализ ДНК с маркерами, связанными с DBA-локусом на хромосомах 19q13.2, T. Willig и соавт. (1998) установили, что изолированная высокая активность фермента в Эр в значительной степени сочеталась с генетическими маркерами на хромосомах 19-й пары. Авторы считают, что эти данные твердо поддерживают точку зрения, что изолированная высокая активность АДА в Эр может представлять «приглушенный» фенотип заболевания. По мнению T. Willig и соавт. (1998), в некоторых случаях наследование происходит доминантно с переменной фенотипической экспрессией в семье, и существуют три

биохимических фенотипа в одной семье:

- 1) с увеличением активности АДА;
- 2) с нормальной активностью АДА;
- 3) с отсутствием анемии, но высокой активностью АДА в Эр.

При транзитной эритробластопении активность АДА в Эр нормальная [Glader B. et al., 1986]. Патологическая связь между DBA и увеличением активности АДА в Эр не ясна, тем более, что ген АДА локализован на хромосомах 20-й пары [Tischfield J. et al., 1974].

По мнению E. Perdahl и соавт. (1994), при DBA отмечается запрограммированная, ускоренная гибель клеток эритроидного ряда. Апоптоз многих гемопоэтических клеток наблюдается при состояниях, когда отсутствует соответствующий КСФ. Возможно, что при болезни Дайемонда — Блекфэна эритроидным клеткам-предшественникам присуща внутренняя аномалия, которая делает их нечувствительными к Эпо, тем самым не предотвращая апоптоз.

Известно, что Fas-лиганд является белком мембраны клетки, которая экспрессирована на активированных Т-лимфоцитах и НК-клетках. При его связывании с Fas-АГ клетки-мишени происходит апоптоз последней. В крови имеется растворимая форма лиганда (sFasL), которая также вызывает апоптоз. У больных с DBA содержание sFasL резко увеличено, поэтому нельзя исключить, что в патогенезе развития анемии Дайемонда — Блекфэна в какой-то степени играет роль sFasL/Fas-система [Hasegawa D. et al., 1997].

Не исключена возможность того, что в механизме развития эритробластопении играют НК-клетки. Рецепторы ингибитора киллерной клетки (KIR) передают ингибиторные сигналы на молекулы I-го класса HLA. НК-клетки лизируют преимущественно те клетки-мишени, в которых снижена экспрессия HLA-I, и

именно эритробласты могут быть этой клеткой-мишенью, так как на них наблюдается низкая экспрессия HLA-I [Grau R. et al., 1998].

Заболевание обычно распознают тогда, когда у ребенка уже выраженная тяжелая анемия. Сразу после периода новорожденности диагноз устанавливают у каждого четвертого ребенка, в первые 6 мес жизни — у 60%, к одному году — у 90%. По данным регистра анемии Дайемонда — Блекфэна США и Канады (263 больных) средний возраст больного к моменту установления диагноза составляет 12 нед и колеблется от периода новорожденности до 24 лет [Vlachos A. et al., 1997].

Уже на ранней стадии болезни в период новорожденности у ребенка иногда отмечается бледность, у 25—40% наблюдаются аномалии развития. К их числу относятся низкая масса при рождении, черепно-лицевой дисморфизм (гипертелоризм, микроцефалия, микрофтальмия, врожденная глаукома или катаракта, аномалии развития неба), задержка роста и увеличения массы тела, аномалии развития шеи или трапециевидной мышцы (синдромы pterygium coli, Клиппеля — Фейля), нарушения развития большого пальца (сращение, рудиментарные, раздвоение), синостоз лучевой и локтевой костей, аномалии развития почек и мочеточников, гипогонадизм и др. Не установлена причинно-следственная связь между врожденными аномалиями и нарушениями эритропоэза. У некоторых членов семьи пробанда наблюдаются указанные аномалии без сопутствующей анемии. Возможно, имеется неполноценность фактора роста, влияющего как на развитие эмбриона, так и на эритропоэз [Ramenghi U. et al., 1997]. Если исключить из нарушений развития короткую стaturу, то частота аномалий составляет 48,1%, при этом у 22,6% больных имеется более чем одна

аномалия. Чаще всего аномалии касаются лица и черепа (41%), верхних конечностей (36%), мочеполовой (33%) и сердечно-сосудистой систем (27%) [Vlachos A. et al., 1997; Willig T. et al., 2000]. При стойкой анемии у больных могут отмечаться сонливость, ухудшение аппетита, диспепсические явления, задержка роста и увеличения массы тела [Chen S. et al., 2001]. Поскольку для лечения анемии используют гемотрансфузии, то у больных появляются признаки вторичного гемосидероза (сероватый оттенок кожи, увеличение печени и селезенки, повышение в сыворотке крови содержания железа, ферритина и др.). Однако все указанные клинические признаки не являются основанием для постановки диагноза.

Первоначальными ориентирами для интерпретации заболевания могут служить следующие признаки:

1) раннее развитие стойкой анемии, корригирующей только гемотрансфузиями; лечение препаратами железа, фолиевой кислотой и витамином В₁₂ бесполезно;

2) наличие нормохромной, макроцитарной анемии при практически полном отсутствии ретикулоцитов в периферической крови; повышено содержание HbF, Эр с экспрессией АГ i;

3) нормальное или даже несколько увеличенное количество тромбоцитов в течение первого года жизни, хотя с увеличением возраста больного может развиваться тромбоцитопения;

4) нормальное количество лейкоцитов и лейкоцитарная формула, но по мере развития заболевания через несколько лет может появиться тенденция к лейкопении;

5) увеличение активности АДА в Эр больного, а также нередко у родителей, братьев и сестер больного, у которых отсутствует анемия.

Однако все эти признаки являются косвенными, неспецифическими. Главными критериями в постановке

диагноза являются динамическое исследование костного мозга, и лишь стойкая эритробластопения в совокупности с клинико-гематологическими признаками позволяет утверждать в диагнозе синдрома Дайемонда — Блекфэна [Glader B. et al., 1988; Leblanc T., 1995; Sébahoun G., 1998].

Европейское общество педиатров, гематологов и иммунологов определило критерии анемии Дайемонда — Блекфэна [Willig T. et al., 1998]:

1) анемия возникла до 2-летнего возраста;

2) исключена инфекция, вызванная парвовирусом 19, с помощью серологического метода и изучения полимеразной цепочечной реакции в клетках костного мозга;

3) исключена АФ — при изучении хрупкости хромосом тест отрицательный.

Длительное наблюдение за больными (3—35 лет) показало, что по мере развития процесса у 44% пациентов в среднем через 9,8 года (от 0,5 до 21 года) отмечались постоянная нейтропения и(или) тромбоцитопения, а у 5,9% — АА [Taylor C. et al., 1998]. Динамическое исследование биоптата костного мозга показало, что в среднем через 6 лет у 60% больных отмечается снижение клеточности костного мозга до 10—50% от нормы, при этом в поздние стадии заболевания гипоплазия не ограничивается только эритроидным ростком, но и затрагивает другие гемопоэтические ростки. У 4% больных развивается циклическая нейтропения. Возможно развитие миелофиброза с трехростковой дисплазией [Giri N. et al., 1998]. Описаны редкие случаи перехода ДВА в ОЛ [Krischan E. et al., 1978]. Опасны для больного частые гемотрансфузии, способствующие развитию изоиммунизации и гемохроматоза, увеличивающие риск заражения вирусным гепатитом и другими вирусными инфек-

циями, передающимися с компонентами крови.

По данным регистра ДВА США и Канады, из 263 зарегистрированных больных умерли 60. Причинами смерти были гемохроматоз, тяжелая АА, осложнения от ТКМ [Vlachos A. et al., 1997].

Лечение ДВА комплексное и включает в себя кортикостероиды, хелатотерапию, гемотрансфузии и ТКМ или стволовых клеток.

В 1951 г. С.Gasser впервые для лечения ДВА использовал кортизон и получил положительный результат. С тех пор использование глюкокортикоидов прочно вошло в практику лечения этого синдрома. Первоначальная положительная реакция (ремиссия) при лечении глюкокортикоидами возникает у 80% больных; у 15—19% больных наступает спонтанная ремиссия со средней длительностью 5 лет 6 мес (от 8 мес до 36 лет 8 мес) [Vlachos A. et al., 1997].

Спонтанные ремиссии (в среднем у 14% больных) наступают обычно в юношеском возрасте и(или) в период беременности. Молекулярные основы в ответ на гормональные изменения в организме не известны. Интерес представляет наблюдение J.Abkowitz (1998) за больной женщиной, у которой со II триместра каждой беременности и в течение 22 мес кормления детей наступала ремиссия. Поскольку при этом состоянии увеличено содержание пролактина, то в период обострения болезни автор лечил больную препаратом Reglan (Metoclopramide) по 10 мг в день, per os, который увеличивает содержание пролактина в сыворотке крови. Через 2 мес после лечения больная стала гемотрансфузионно независима. По-видимому, пролактин обеспечивает стимуляцию эритроидного ростка в обход генетического дефекта.

Обычно лечение начинают преднизолоном по 2 мг/кг в день, фрак-

ционно. Если больной чувствителен к этому лечению, то уже через 1—1½ нед отмечается увеличение содержания ретикулоцитов, но иногда ретикулоцитарная реакция может наступить позднее, через 3 нед. При отсутствии эффекта дозу увеличивают в 1,5 раза. При положительных результатах лечения содержание гемоглобина увеличивается до 90—100 г/л, обычно не выше. Если величина этого показателя сохраняется без гемотрансфузий, то постепенно дозу преднизолона снижают до того уровня, который обеспечивает концентрацию Hb в пределах 90—100 г/л, и эту дозу сохраняют в течение 1—2 лет [Tchernia G., 1995]. Однако иногда наблюдаются больные с задержкой во времени ответной реакции на кортикостероиды либо с нестойкой ремиссией. В этих случаях следует провести повторный курс преднизолонотерапии.

Около 15% больных остаются резистентными к лечению глюкокортикоидами, и в этих случаях нет альтернативы, кроме гемотрансфузий. Во избежание развития гемохроматоза необходимо назначать хелатотерапию (см раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»). Поскольку больные регулярно получают гемотрансфузии, им следует обязательно проводить вакцинацию против гепатита В.

Поскольку *in vitro* улучшается дифференциация и созревание клеток-предшественниц эритропоэза под влиянием ИЛ-3, то сделаны попытки лечить этим препаратом, но гематологическое улучшение наблюдалось только у 5—10% больных [Gillio A. et al., 1993; Giri N. et al., 1998]. Лечение андрогенами бесполезно. Иногда для лечения глюкокортикоидорезистентных форм DBA назначают циклоспорин, но эффект от его применения непостоянен [Sébahoun G., 1998].

Как альтернатива лечению гемотрансфузиями резистентных форм болезни являются ТКМ или гемопоэти-

ческих стволовых клеток [Wagner J. et al., 1997]. По данным A.Vlachos и соавт. (1998), при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток результаты плохие — только 3 из 7 больных живы, и поэтому авторы считают, что рекомендовать этот вид терапии следует с осторожностью. После ТКМ, проведенной от HLA-совместимых сиблингов, все 8 детей живы в среднем 2,3 года (от 0,3 до 5,4 года) и у них нормальный эритропоэз [Niemer S. et al., 1998]. Хотя описаны более 20 больных с успешной ТКМ, тем не менее не всегда последняя приводит к положительным результатам, о чем свидетельствуют R.Wynn и соавт. (1998), описавших мальчика 10 лет, которому в возрасте 24 мес была проведена ТКМ и доказано приживление донорских клеток, однако у ребенка после ТКМ содержание ретикулоцитов в периферической крови никогда не превышало 0,2%, а в костном мозге отсутствовали клетки-предшественницы эритропоэза, хотя у донора они имелись. Исходя из этого, R.Wynn и соавт. (1998) считают, что DBA — это гетерогенное состояние с различными сопутствующими признаками и различной реакцией на стероиды, и не всегда болезнь корригируется ТКМ несмотря на приживление донорского костного мозга.

Медиана выживаемости составляет более 40 лет, и наилучшие результаты отмечены у больных, которые реагируют на лечение глюкокортикоидами [Schwartz E., 2000].

СИНДРОМ ШВАХМАНА — ДАЙЕМОНДА

У больных с синдромом Швахмана — Дайемонда наблюдаются эндокринная недостаточность поджелудочной железы, карликовый рост, метафизарная хондродисплазия, нейтропения, иногда анемия и тромбоцитопения, нередко задержка психомоторного развития.

В 1964 г. H.Schwachman и соавт. описали 6 детей, у которых отмечалась экзокринная недостаточность поджелудочной железы и у 4 из них отмечались необъяснимая анемия, не корригируемая препаратами железа, интермиттирующая и персистирующая нейтропения и тромбоцитопения, нормальное содержание хлоридов в поте. M.Bodian и соавт. (1964) описали двоих детей в возрасте 9 и 12 нед, у которых отмечалась задержка физического развития, обильный с гнилостным запахом кал и выраженная абсолютная нейтропения в периферической крови — $(0,369...0,871) \times 10^9/\text{л}$. Через 3 года V.Burke и соавт. (1967) описали изменения в костях у 3 из 11 больных: у 1 ребенка наблюдался эпифизарный дизостоз, у 2 других — изменения в ребрах. С тех пор опубликованы данные о более чем 200 больных с этим синдромом [Young N. et al., 1994; Kwak Y. et al., 1998].

Болезнь поражает лиц обоего пола, наследуется аутосомно-рецессивно, отмечается у 1 из 20 000 новорожденных детей. Окончательная причина болезни неизвестна. Лocus гена синдрома располагается на хромосомах 7q [Ginzberg H. et al., 2000; Werlin S., 2000].

Клинические проявления заболевания возникают в раннем возрасте, нередко в период новорожденности. Некоторые дети рождаются с малой массой тела. В течение периода новорожденности и первого года жизни у детей отмечаются замедленное увеличение массы тела, мальабсорбция, диарея, стеаторея, затруднение питания, общая гипотония. Медленное увеличение массы тела является следствием недостаточности поджелудочной железы; коррекция диеты и назначение ферментов поджелудочной железы не ликвидирует это состояние, как и диарею. Недостаточность поджелудочной железы, стеаторея могут быть транзиторными,

исчезнуть спонтанно, чаще до 4-летнего возраста [Aseniev L. et al., 1996; Werlin S., 2000]. Характерны рецидивирующие респираторные заболевания, у некоторых детей могут наблюдаться пневмонии, средний отит, абсцессы, экзема, пятнисто-папулезная сыпь, возможно развитие остеомиелита, септицемии; с возрастом частота легочных инфекций увеличивается, и они протекают более тяжело. У некоторых больных может развиваться дистресс-синдром [Kalra R. et al., 1995]. К 4-месячному возрасту у большинства больных появляются признаки мальабсорбции. По данным Итальянского регистра «Schwachman — Diamond syndrome», диагноз заболевания устанавливается в возрасте 0—14 лет, в среднем в 10 мес [Giglio L. et al., 2001].

Вследствие изменений скелета у детей на 2-м году жизни появляются явные признаки задержки физического развития, и с возрастом ребенка низкорослость становится особенно заметной. Характерным признаком заболевания является наличие изменений костной системы в виде аномалий развития позвонков и ребер, приводящих к изменению конфигурации грудной клетки, которая становится развернутой. Тяжелые структурные изменения (метафизарная хондродисплазия) в шейке бедренной кости и коленного сустава, плечевого сустава, ребер, позвонков, запястья приводят к появлению *coxa varum*, *genu varum* и другим патологическим изменениям, в том числе и к патологическим переломам. Возможны генерализованный остеопороз, укорочение малоберцовой и лучевой костей [Baechner R., 1991]. Могут наблюдаться и другие дисморфические признаки — синдактилия, короткое мягкое небо, расщепление *uvula*, гипертелоризм. У некоторых детей отмечается увеличение печени и селезенки, задержка полового со-

зревания. У большинства больных снижен интеллект. Редко у больных имеются признаки сахарного диабета, но обычно имеется семейный анамнез. У некоторых больных могут быть признаки кардиомиопатии [Savilahti E. et al., 1984].

В анализах крови с раннего детства выявляется абсолютная нейтропения, у 95% больных она составляет менее $1,5 \times 10^9/\text{л}$, а у $2/3$ больных — менее $1 \times 10^9/\text{л}$, нередко до $(0,2...0,4) \times 10^9/\text{л}$. Однако у некоторых больных гематологические показатели остаются относительно стабильными до взрослого возраста. У $2/3$ больных число нейтрофилов колеблется циклически каждые 3 нед, а у остальных наблюдается постоянная хроническая нейтропения [Oksef F. et al., 1997]. Моноцитоза не наблюдается. Иногда на фоне инфекционных осложнений может наблюдаться нейтрофильный лейкоцитоз.

В сегментоядерных нейтрофилах отмечается гипосегментация ядер. Не всегда характер и частота инфекции коррелируют со степенью нейтропении, поэтому было высказано предположение о наличии нарушения функции нейтрофилов в сочетании с нейтропенией. Часто наблюдается нарушение хемотаксиса [Azzara A. et al., 1991]. P. Agget и соавт. (1979, 1980) изучали функцию нейтрофилов у больных и их родителей и установили, что у них имеется нарушение хемотаксиса. Поскольку нарушение хемотаксиса наблюдалось у здоровых гетерозиготов, то авторы пришли к заключению, что нарушения хемотаксиса генетически обусловлены.

У 50—66% больных отмечается анемия с ретикулоцитопенией, при этом у 80% этих больных в Эр повышено содержание HbF, и у каждого третьего больного содержание HbF превышало 10% [Smith O. et al., 1996]. Число тромбоцитов снижено у 24—70% больных, при этом у 70% из них наблюдается

циклическая тромбоцитопения. У 25% больных отмечается панцитопения [Alter B., 1993]. Количество T4- и T8-лимфоцитов снижено, а число В-лимфоцитов нормальное. Пrolиферация лимфоцитов при действии митогенов нормальная, но снижена их цитотоксичность [Aseniev L. et al., 1996]. Уровень иммуноглобулинов (IgA, IgG и IgM) в сыворотке крови снижен, а IgE — нормальный [Oksef F. et al., 1997].

При исследовании дуоденального содержимого отмечается снижение активности амилазы, липазы и трипсина, вплоть до полного отсутствия активности этих ферментов. Активность амилазы в плазме крови нормальная или сниженная. При копрологическом исследовании обнаруживается большое количество жира, суточная его потеря с калом может достигать до 4 г, но экскреция ксилоты нормальная. При наличии увеличенной печени, которая часто является в первые 5 лет жизни ребенка, активность аминотрансфераз в сыворотке крови, как правило, нормальная. У некоторых больных может отмечаться интермиттирующая и вариабельная по количеству глюкозурия, дисфункция почечных канальцев с увеличенным содержанием в моче аминокислот, галактозы, фруктозы и лактозы [Bachner R., 1991].

В биоптате слизистой оболочки тонкой кишки патологических изменений не выявляется, однако при биопсии (или на аутопсии) поджелудочной железы отмечается жировое замещение ткани железы с сохранением островков нормальной ткани, вкрапленных в жировую ткань; фиброзных изменений не выявляется. Тотальная жировая дистрофия поджелудочной железы выявляется и при компьютерной томографии [Goeteyn M. et al., 1991].

В пунктате костного мозга число миелокарицитов может быть нор-

мальным, повышенным и сниженным, может наблюдаться задержка созревания нейтрофилов. Хотя у 50% больных отмечаются диспластические признаки клеток костного мозга, тем не менее каких-либо типичных изменений гемопоэза не установлено, и изучение костномозгового пунктата не вносит ясности при постановке диагноза [Smith O. et al., 1996; Oksel F. et al., 1997].

Патогенез заболевания окончательно не выяснен. Наличие мальабсорбции связано с жировой дегенерацией поджелудочной железы, со снижением ее экзокринной функции. Костный возраст больных не уменьшен. Нарушена минерализация костей, при этом содержание в сыворотке крови кальция, фосфора и активность щелочной фосфатазы нормальные. При электронной микроскопии хряща отмечаются неспособность хондроцитов к гипертрофии, признаки дегенерации хондроцитов, наличие в последних цитоплазматических включений. Задержку роста больных детей нельзя объяснить исключительно только хондродисплазией метафизов, так как карликовый рост наблюдается и при отсутствии рентгенологических изменений в них [Agget P. et al., 1980].

Повышенная склонность к респираторным заболеваниям может объясняться изменениями конфигурации грудной клетки вследствие положения ребер и, как следствие этого, нарушается вентиляция легких с нарушениями респираторных функциональных тестов. Частота инфекций и их тяжесть у больных не всегда коррелируют со степенью нейтропении. При данном синдроме у больных постоянно определяется нарушение хемотаксиса сегментоядерных нейтрофилов, следствием чего является нарушение контроля за направленным движением клетки. Это наводит на мысль, что, возможно, при синдроме Швахмана — Дайемонда имеются мультисистемное нарушение

цитоскелета клеток, недостаточность функции микротрубочек и микрофиламентов в различных клетках, ответственных за экзокринную функцию желез, хемотаксис нейтрофилов, функцию хондроцитов [Azzaga A. et al., 1991; Baehner R., 1991].

Окончательная причина нейтропении также не выяснена. Выраженность нейтропении не коррелирует с количеством миелокариоцитов. Колониеобразующая способность клеток костного мозга (КОЕ-ГМ, КОЕ-Г, КОЕ-Э) у больных может быть нормальной или сниженной [Smith O. et al., 1996]. Колонии (КОЕ-ГМ) имели те же размеры, как и при изучении колониеобразующей способности клеток костного мозга здоровых людей, и при их исследовании в световом микроскопе состояли из клеток гранулоцитарного роста в различной стадии созревания. Колониеобразующая активность мононуклеарных клеток периферической крови у больных была нормальной. Также не обнаружены ингибиторы КСФ; лимфоциты, выделенные из периферической крови больных, при их добавлении к культуре костного мозга у здоровых людей, не угнетали КОЕ-ГМ. Эти данные указывают на то, что пул коммитированных клеток-предшественниц гранулоцитов интактен, их пролиферативная активность *in vitro* нормальная, и нет ни дефицита гуморальных стимуляторов, ни сывороточных ингибиторов гранулоцитопоэза, поэтому патогенез развития нейтропении окончательно не выяснен. Высказывают гипотезу о том, что имеется либо внутренний дефект на уровне стволовой клетки, либо нарушения связаны с гемопоэтическим микроокружением [Aseniev L. et al., 1996]. У некоторых больных снижено количество КОЕ-ГЭММ, БОЕ-Э и LTC-IC [Ciardelli L. et al., 2001].

Некоторую ясность в этот вопрос вносят данные, полученные У.Дюг

и соавт. (1998). Авторы изучали в долгосрочных культурах клеток костного мозга влияние клеток CD34⁺, полученных от больных и здоровых людей, на рост стромальных клеток, полученных от здоровых и больных людей.

Было установлено, что при синдроме Швахмана — Дайемонда имеется двойной дефект — и стволовой клетки, и клеток стромы, причем эти патологические изменения наблюдались у больных вне зависимости от наличия или отсутствия у них МДС. Y.Drog и соавт. (1998) пришли к заключению, что эти изменения в стволовой и стромальных клетках являются либо наследственными, либо результатом трансформации в острый миелоидный лейкоз. Эти данные являются серьезным основанием для аллогенной трансплантации клеток CD34⁺ при тяжелой форме болезни и трансформации синдрома в миелодиспластический синдром или острый миелобластный лейкоз. У больных снижено общее количество клеток CD34⁺ и повышен их апоптоз; стромальные клетки больных обладают сниженной способностью поддерживать нормальный гемопоэз, на костномозговых клетках увеличена экспрессия FAS-АГ. По мнению M.Freedman и соавт. (2001), ведущим патогенетическим механизмом костномозговой недостаточности у больных являются внутриклеточные нарушения клеток-предшественниц гемопоэза и повышенный их апоптоз в связи с увеличенной на них экспрессией FAS-АГ и гиперактивацией сигнального пути FAS.

У 80% больных отмечается повышение содержания фетального Hb в Эр. Причина этого явления не ясна. Высказывают мнение, что увеличение концентрации HbF является отражением стресса гемопоэза и(или) неэффективности эритропоэза; возможно, это признак наличия МДС, поскольку у большинства первичных больных

с МДС наблюдается увеличение синтеза HbF [Abbondanzo S. et al., 1988].

Большинство авторов указывают на то, что при синдроме Швахмана — Дайемонда нет хромосомных аномалий, и лишь у единичных больных выявляются хромосомные aberrации [Woods W. et al., 1981; Tada H. et al., 1987; Fraccaro M. et al., 1988]. Однако динамическое наблюдение за больными показало, что у некоторых из них на определенном этапе заболевания отмечаются хромосомные изменения. Так, в наблюдениях L.Aseniev и соавт. (1966) у 24-летней женщины были признаки МДС с последующим переходом в острый миеломоноцитарный лейкоз. В клетках костного мозга не отмечались ни хромосомные aberrации, ни хромосомные поломки, но выявлялась инверсия 9-й пары хромосом. O.Smith и соавт. (1996) за 25-летний период наблюдали 21 больного с синдромом Швахмана — Дайемонда; у 25% больных отмечены структурные изменения хромосом с вовлечением хромосомы 7-й пары, и у 1 из 12 больных выявлена делеция хромосомы 7 (не клонального характера). У 5 из этих 12 больных, у которых проводилось динамическое изучение костномозгового кроветворения, через фазу МДС (рефрактерная анемия — 2, рефрактерная анемия с увеличением количества бластов — 1, рефрактерная анемия с увеличением количества бластов с трансформацией — 2) развился острый нелимфобластный лейкоз: миелобластный — у 2, монобластный — у 2, эритролейкоз — у 1. Кроме того, еще у 2 больных отмечался МДС без признаков трансформации в лейкоз. В целом МДС наблюдался у каждого 3-го больного (у 7 из 21). L.Voxer и соавт. (1997) отмечают, что из наблюдавшихся ими 13 больных у 3 была приобретенная делеция хромосомы 7 и у 1 из этих 3 отмечалась трансформация в острый миелобластный лейкоз. На

возможность возникновения моносомии 7 указывает и S.Werlin (2000).

Риск возникновения ОЛ у больных с синдромом Швахмана — Дайемонда составляет около 5%, при этом описаны больные с острым лимфобластным лейкозом, острым нелимфобластным лейкозом, ювенильным хроническим миелолейкозом [Woods W. et al., 1981; Alter B., 1993].

Поскольку при указанном синдроме на определенном этапе болезни может развиться ОЛ лимфоидного и нелимфоидного характера, то высказана гипотеза, что при данном синдроме имеется нарушение на уровне полипотентной ГСК.

У большинства больных лейкозу предшествуют признаки МДС в гемопозитических клетках, клональные цитогенетические аномалии. Согласно Международной номенклатуре по цитогенетическим исследованиям у человека ISCN (1985), наличие патологического клона констатируется, если при цитогенетическом анализе определяется:

1) в двух клетках и более — одинаковые структурные aberrации или дополнительные хромосомы;

2) в трех клетках и более — моносомия.

При МДС у 55% детей выявляются клональные цитогенетические аномалии, при этом у 3% больных с клональными изменениями имеется приобретенная структурная аномалия 7-й пары хромосом; у 25% больных происходит трансформация МДС в острый миелобластный лейкоз [Pasmore S. et al., 1995]. По данным O.Smith и соавт. (1996), у детей с синдромом Швахмана — Дайемонда при возникновении de novo острого миелобластного лейкоза цитогенетическая клональная аномалия выявлялась у 81% больных, в том числе у 10% больных имела место структурная аномалия 7-й пары хромосом.

В свете приведенных данных синдром Швахмана — Дайемонда представляет большой интерес как модель развития лейкозов. Если больной живет долго (описаны больные 43-летнего возраста), то как и при АФ имеется высокий риск возникновения клональной аномалии с последующей трансформацией через фазу МДС в ОЛ [Butturini A. et al., 1994]. Наличие клональной аномальности в сочетании с диспластическими признаками гемопозитических клеток периферической крови и костного мозга или без него является важным прогностическим признаком. H.Maschek и соавт. (1993) указывают на то, что если имеется агрессивный тип МДС (рефрактерная анемия с увеличенным содержанием blasts или рефрактерная анемия с увеличенным содержанием blasts в стадии трансформации), либо МДС с наличием аномального клона, особенно при вовлечении 7-й пары хромосом, то очень высока вероятность возникновения ОЛ по сравнению с больными, у которых имеется МДС с нормальным кариотипом, или же имеется одна цитогенетическая аномалия без вовлечения 7-й пары хромосом.

S.Paterson и соавт. (1988) высказывают гипотезу, что, возможно, некоторые или же все случаи синдрома Швахмана — Дайемонда связаны с дефицитом меди в раннем возрасте, поскольку ряд патологических симптомов при данном синдроме и при дефиците меди очень сходны. Это наличие патологических изменений в поджелудочной железе, которые аналогичны таковым у экспериментальных крыс с дефицитом меди, анемия, аномальности ребер и мегафизов длинных трубчатых костей, остеопороз. Поэтому синдром Швахмана — Дайемонда следует дифференцировать от других синдромов, имеющих многие сходные признаки болезни. В табл. 22 представлены основные дифференциально-ди-

ТАБЛИЦА 22. Основные дифференциально-диагностические признаки различных синдромов

| Признак | Синдром Shwachman — Diamond | Гипоплазия хряща и волос | Трихотриодистрофия | Синдром Neterton |
|--------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------|------------------|
| Нейтропения | + | +/- | +/- | +/- |
| Ихтиоз | +/- | +/- | +/- | + |
| Мальабсорбция | + | — | +/- | + |
| Задержка развития | + | + | +/- | + |
| Иммунодефицит | +/- | +/- | +/- | — |
| Дефекты метафизов | +/- | + | — | — |
| Дефект волос в виде тигрового хвоста | — | — | + | — |

Примечание. — — признаки отсутствуют; +/- — признаки непостоянны; + — признаки положительные.

агностические признаки указанных синдромов.

Лечение больных комплексное. В связи с мальабсорбцией назначают диету с ограничением жиров, предпочтительно назначать жиры, содержащие среднецепочечные триглицериды. Обязательно назначение больших доз ферментов поджелудочной железы, которые могут полностью компенсировать ее недостаточность. Однако заместительная терапия ферментами не ликвидирует ни карликовость, ни гематологические изменения [Oksel F. et al., 1997]. При возникновении инфекционных осложнений назначают антибиотики широкого спектра действия до выявления возбудителя и после его идентификации — соответствующие препараты направленного действия. При наличии выраженных изменений опорно-двигательного аппарата следует проконсультироваться с ортопедом для назначения соответствующего лечения.

У некоторых больных назначение глюкокортикоидов в сочетании с андрогенами или без последних может приводить к увеличению числа сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови. Назначение лития карбоната может повышать число лейкоцитов, хотя и без увеличения

числа сегментоядерных нейтрофилов; препарат оказывает модулирующее действие на хемотаксис и фагоцитоз нейтрофилов, воздействуя на микротубулярную систему клеток [Szutz A. et al., 1984; Azzara A. et al., 1987, 1988, 1991].

С внедрением в практику рекомбинантного человеческого КСФ-Г вопрос о лечении лейкопении и нейтропении практически решен [Grill J. et al., 1993]. По данным Международного регистра тяжелых хронических нейтропений, назначение филграстима в дозе 0,4—10 мкг/кг в день подкожно увеличивало число сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови у больных с синдромом Швахмана — Дайемонда в среднем с $0,43 \times 10^9/\text{л}$ до $3,25 \times 10^9/\text{л}$ [Boxer L. et al., 1997]. D.Dale (1993) рекомендует при данном синдроме среднюю дозу препарата — 3,6 мкг/кг в день, подкожно; если в течение ближайших дней не отмечается увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов в крови, то дозу увеличивают в 2 раза. При достижении количества сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови $10 \times 10^9/\text{л}$ и более дозу филграстима уменьшают. При такой тактике лечения практически у всех больных число сегментоядерных нейтрофилов в периферической

крови увеличивалось в среднем в 16 раз по сравнению с исходными данными.

При развитии панцитопении с аплазией костномозгового кроветворения иногда успешно применение циклоспорина А по 10 мг/кг в день, *per os*. N.Barris и соавт. (1990) успешно использовали этот препарат и отметили, что через 6 нед после начала лечения у больных наступила полная нормализация показателей периферической крови.

Особо стоит вопрос о пересадках костного мозга. Дискуссии по этому вопросу проводятся по двум причинам:

1) недостаточность костномозгового кроветворения проявляется только нейтропенией, которая хорошо корригируется современными средствами;

2) является ли данный синдром следствием хромосомных поломок [Koiffman C. et al., 1991], которые представляют более высокий риск, чем трансплантация костного мозга.

ТКМ успешно проведена 5 из 10 больных с синдромом Швахмана — Даймонда [Boxer L. et al., 1997; Beltz S. et al., 1998; Messina C. et al., 1998]. Из 5 умерших в разные сроки после ТКМ у двоих причиной смерти являлась кардиотоксичность. По данным E.Savilahi и соавт. (1984), на аутопсии у 50% лиц с синдромом Швахмана — Даймонда (без ТКМ) выявляются фиброз и некроз миокарда желудочков без признаков поражения венечных артерий. Это обстоятельство заставляет полагать, что у больных повышен риск кардиотоксичности при проведении химиотерапии. По данным Французского регистра тяжелых нейтропений, из 10 наблюдаемых ими больных с указанным синдромом один (без ТКМ) умер от кардиомиопатии [Donadieu J. et al., 1998].

Больных с синдромом Швахмана — Даймонда необходимо расце-

живать как лиц с высоким риском возможности развития ОЛ, поэтому им следует регулярно исследовать пунктат костного мозга с проведением цитогенетических исследований и при обнаружении приобретенных цитогенетических аномалий, особенно клонального характера, следует рассматривать вопрос о ТКМ. Необходимо подчеркнуть, что приживление аллогенного костного мозга не корригирует функцию поджелудочной железы.

Учитывая сказанное, прогноз заболевания следует рассматривать с большой осторожностью в каждом конкретном случае. Прогнозируемая медиана выживаемости составляет около 35 лет, а при развитии аплазии костного мозга — 14 лет [Espérou-Bourdeau H., 1995]. Многолетние наблюдения за больными показывают, что с возрастом больных у некоторых из них проблема мальабсорбции уменьшается. Может прогрессировать умственная отсталость. Лечение выраженных костно-суставных изменений, в особенности тазобедренного сустава, у большинства больных малоуспешно. При сохраняющейся панцитопении риск инфекционных осложнений и кровоточивости крайне высок, летальность от инфекционных осложнений в раннем детстве составляет 15—25% [Hagget P. et al., 1980]. Но наиболее грозными прогностическими признаками для жизни являются МДС и ОЛ [Smith O. et al., 1996; Boxer L. et al., 1997].

ВРОЖДЕННЫЙ ДИСКЕРАТОЗ

Врожденный дискератоз (синдром Zinsser — Engman — Cole) представляет собой редкую форму эктодермальной дисплазии. При этом редком наследственном заболевании приблизительно у каждого второго ребенка отмечаются недостаточность костномозгового кроветворения и предрас-

положенность к развитию опухолевых заболеваний. Опубликованы данные примерно о 200 случаях заболевания [Nobili B. et al., 1998].

По клинико-гематологическим параметрам заболевание напоминает АФ, но отличается от нее рядом признаков: при врожденном дискератозе наблюдаются гиперпигментация кожи, которая имеет сетчатый рисунок, главным образом в области лица, шеи, плеч, лейкоплакия видимых слизистых оболочек полости рта, дистрофические изменения ногтей, сужение слезного канала. Отмечаются значительные вариации фенотипа болезни — могут быть изменения зубов, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой и нервной систем, офтальмологические, легочные и скелетные изменения.

Впервые синдром был описан F. Zinsser в 1906 г., а впоследствии этот синдром был классифицирован как врожденный дискератоз [Egmann M., 1926; Cole H. et al., 1932]. Болезнь проявляется обычно во втором десятилетии жизни.

У большинства из описанных больных (85%) заболевание наследовалось рецессивно, X-связанное, хотя описаны больные, у которых наследование болезни было аутосомно-рецессивным и аутосомно-доминантным [Alter B., 1993]. При X-связанной форме мальчики болеют в 4,7 раза чаще, чем девочки [Espérou-Bourdeau H., 1995].

Клинические проявления болезни разнообразны как по характеру симптомов, так и по частоте их встречаемости. Однако постоянными признаками синдрома являются кожные и дистрофические изменения ногтей, лейкоплакия видимых слизистых оболочек [Блинникова О.Е. и соавт., 1998].

Гиперпигментация кожи первоначально поражает лицо, шею, руки, поверхность груди и живота. С возрастом общая площадь пигментированной

поверхности кожи увеличивается, пигментация может распространиться по всей поверхности кожи. Пигментация имеет сетчатый вид, напоминает кружево. С наибольшей частотой (94%) пигментация наблюдается у больных с X-рецессивной формой и при аутосомно-рецессивном (80—88%) типе наследования, реже при аутосомно-доминантном (58—67%). У больных могут наблюдаться телеангиэктазии, экзематозная сыпь, атрофия и эритема кожи ладоней и подошв.

Вторым по частоте патогномичным признаком заболевания являются дистрофические изменения ногтей пальцев рук и ног. При X-рецессивной форме заболевания они отмечаются у 92% больных, при аутосомно-рецессивном — у 68—100%, при аутосомно-доминантном — у 33—50%.

Лейкоплакия обычно выявляется на слизистой оболочке полости рта (язык, твердое небо), но может наблюдаться на конъюнктиве, в области заднего прохода, наружного отверстия мочеиспускательного канала, слизистой оболочке половых органов; при X-рецессивной форме лейкоплакия отмечается у 71% больных, при аутосомно-рецессивной форме — у 52—75% и при аутосомно-доминантной форме — у 20—33% [Stephan J. et al., 1995].

С меньшим постоянством наблюдаются другие клинические признаки заболевания. Это аномалии и болезни глаз (конъюнктивиты, блефариты, закупорка слезных протоков и слезотечение, страбизм, катаракта, атрофия зрительного нерва, гипотрихоз ресниц). Эти симптомы отмечаются приблизительно у каждого второго больного. Нередко у больных отмечается раннее выпадение зубов (у 7—50% больных), умеренная задержка физического и психомоторного развития. Изменения скелета (у 7—28% больных) проявляются в виде

остеопороза, недоразвития нижней челюсти, сколиоза, склонности к переломам и др. Относительно редко могут наблюдаться гипергидроз (7—13%), изменения мочеполовой системы (0—12%) — гипоплазия яичек, фимоз, стеноз мочеиспускательного канала, подковообразная почка и др. Облысение чаще наблюдается при аутосомно-рецессивной (32—50%) и аутосомно-доминантной формах (25—27%), чем при Х-рецессивной (10%). У больных могут быть изменения желудочно-кишечного тракта (0—63%), что проявляется в виде стриктуры пищевода, увеличения и цирроза печени. У единичных больных отмечались тяжелая гипоксемия, артериовенозное легочное шунтирование. Могут наблюдаться кальцификаты в головном мозге [Conter V. et al., 1988; Drachtman R et al., 1995].

Чаще всего первые признаки заболевания возникают в детском возрасте. Пигментация кожи и типичные дистрофические изменения ногтей обычно возникают к 10-летнему возрасту, а лейкоплакия видимых слизистых оболочек — несколько позднее. К середине юношеского возраста, хотя возможно и раньше, появляются более серьезные осложнения, в том числе изменения костномозгового кроветворения и опухолевые заболевания.

Интерес гематологов к врожденному дискератозу заключается в том, что при этом синдроме, наряду с поражением кожи и видимых слизистых оболочек, у некоторых больных наблюдаются изменения в периферической крови — панцитопения, изолированная анемия, тромбоцитопения, нейтропения, чаще во втором-третьем десятилетии жизни больного. По данным R. Drachtman и соавт. (1995), недостаточность костномозгового кроветворения в виде аплазии наблюдается при Х-рецессивной форме у 47% больных, при аутосомно-рецессивной форме — у 38—64% и

при аутосомно-доминантной форме — у 7—17%. Обычно аплазия костномозгового кроветворения отмечается после развернутой клинической картины заболевания, хотя описаны больные, у которых изменения гемопоэза возникли раньше, чем кожные симптомы [Forni G. et al., 1993; Stephan J. et al., 1995]. У больных отмечаются увеличение активности щелочной фосфатазы в лейкоцитах, увеличение содержания фетального гемоглобина, гипогаммаглобулинемия [Nobili B. et al., 1998].

Установление диагноза только на основании клинических критериев нереально, особенно при наличии конституциональных аномалий, предшествующим проявлениям на коже и слизистых оболочках, поэтому важны надежные диагностические тесты. К сожалению, пока что неизвестны метаболические и клеточные аномалии, которые могли бы помочь в диагностике синдрома, поэтому на сегодняшний день единственными реальными данными, подтверждающими диагноз, являются генетические.

Этиология заболевания неизвестна. Ген Х-связанного врожденного дискератоза располагается на хромосоме X (Xq28) [Arngrimsson R. et al., 1993]. N. Heiss и соавт. (1998) установили, что тяжелый наследственный синдром костномозговой недостаточности связан с геном на Xq28 (1,4 Mb интервал между Xq 3274 и DXS 1108). Исследуя сДНК, авторы установили, что у больных с Х-связанным рецессивным заболеванием мутации наблюдаются в ХАР-101 сДНК, что указывает на то, что ХАР-101 является геном врожденного дискератоза. Был клонирован ген синдрома — DKC1 (Dyskeratosis congenita 1). Благодаря этому сейчас имеется ценный точный тест для диагностики синдрома, позволяющий использовать его в сомнительных случаях и в антенатальной диагностике. Было установлено, что существующие тяже-

лые варианты врожденного дискерато-за, например синдром Нюугаал — Hreidarsson (тяжелые расстройства роста, аномальность развития головного мозга, АА, иммунодефицит), связаны с мутацией гена ДКС 1.

Генетические исследования синдрома позволили выяснить некоторые стороны его патогенеза. Установлено, что ген ДКС 1 экспрессирован в клетках всех тканей организма, и этим объясняется гетерогенность проявлений болезни, наличие мультисистемных фенотипов. Белок, образующийся под контролем ДКС 1, — дискерин — тесно связан с рибосомальной РНК, участвуя в биогенезе рибосомы, с теломеразным (hTR) компонентом РНК. Теломераза является ферментным комплексом, необходимым для поддержания окончаний (теломеров) хромосом. У больных с X-связанной формой синдрома содержание hTR снижено, длина теломеров укорочена; у больных с аутосомными формами синдрома длина теломеров также укорочена. Это заставляет полагать, что синдром связан с нарушением распределения активности теломеразы в хромосомах, так как ген аутосомно-доминантной формы синдрома располагается на 3-й паре хромосом (3q), т. е. в том же участке, где и ген hTR. Установлено также, что аутосомно-доминантная форма заболевания связана с мутацией гена hTR. Поскольку и дискерин, и hTR являются компонентами теломеразного комплекса, то, вероятно, врожденный дискератоз обусловлен аномальной активностью теломеразы [Vulliam T. et al., 1998; Dokal I., 2001].

Как уже было отмечено, заболевание по типу наследования может быть X-рецессивным, аутосомно-рецессивным и аутосомно-доминантным. При этом наблюдается четкая взаимосвязь между характером наследования и клинико-гематологическими проявлениями заболевания.

При X-рецессивном и аутосомно-рецессивном типах наследования отмечаются сходные данные: средний возраст к моменту установления диагноза составляет 15 лет, наблюдаются высокая частота встречаемости 3 ведущих клинических признаков заболевания (кожные проявления, дистрофические изменения ногтей, лейкоплакия), недостаточность костномозгового кроветворения, аномальные показатели периферической крови, сходность прогноза. В отличие от двух предыдущих при аутосомно-доминантном типе наследования у больных отмечаются более мягкое течение болезни, более поздняя диагностика (в среднем в возрасте 28 лет), относительно редко наблюдается недостаточность костномозгового кроветворения (у 7—17% больных), большая длительность жизни (свыше 50 лет).

Некоторые авторы [Aguilar-Martinez A. et al., 1988] указывают на то, что при врожденном дискератозе могут наблюдаться спонтанные, непостоянные нарушения в хромосомах лимфоцитов периферической крови, но не в других клетках, однако это не отмечено другими авторами [Womer R. et al., 1983; Pai G. et al., 1989]. При изучении в культуре фибробластов кожи установлено, что они имеют аномальную морфологию (полигональные, шаровидные, дендритоподобные выросты) и при росте (удвоение времени роста в два раза больше, чем в норме), но длительность жизни фибробластов не изменена. У некоторых больных в метафазах клеток костного мозга и в фибробластах кожи отмечались множественные, несбалансированные хромосомные перестройки (дигцентрические, трицентрические, гиподиплоидия, незрелые центромерные соединения, транслокации) [Dokal I. et al., 1992; Stephan J. et al., 1995]. Наличие хромосомных перестроек в клетках крови и костного мозга, а

также в фибробластах кожи заставляет рассматривать врожденный дискератоз как заболевание с нестабильными хромосомными нарушениями [Dokal I. et al., 1994].

На сегодняшний день остается неясным вопрос, представляют ли аутосомно-рецессивная и аутосомно-доминантная формы заболевания разные локусы врожденного дискератоза. I. Dokal (1996) допускает, что некоторые аллели этого локуса при гетерозиготном состоянии приводят к появлению клинических признаков, свойственных аутосомно-доминантной форме, а при наличии гомозиготного состояния другие аллели способствуют появлению признаков заболевания, характерных для аутосомно-рецессивной формы.

На определенном этапе заболевания у больных отмечается недостаточность кроветворения: у 47% больных с X-рецессивным типом заболевания, у 38—64% — с аутосомно-рецессивным типом и у 7—17% — с аутосомно-доминантным типом болезни [Drachtman R. et al., 1995]. При культивировании клеток периферической крови и костного мозга в метилцеллюлозе содержание КОЕ-ГМ резко снижено или же они полностью отсутствуют, а БОЕ-Э не обнаруживаются [Jonea H. et al., 1987].

По мнению A. Growbridge и соавт. (1977), B. Alter (1993), АА возникает у 50% больных с врожденным дискератозом, а у 1% наблюдается лейкоз. T. Hanada и соавт. (1984), M. Friedland и соавт. (1985) полагают, что в патогенезе развития АА Т-клеточно-опосредованная ингибция грануло- и эритропоэза не играет роли, а имеется количественный дефект коммитированных клеток-предшественниц миелоидного и эритроидного ростков. Наличие количественных изменений миелоидных и эритроидных клеток-предшественниц, качественный дефект тромбоцитообразова-

ния, могут указывать на вовлечение стволовой клетки в патогенез развития панцитопении при врожденном дискератозе.

Учитывая, что врожденный дискератоз по своим клинико-гематологическим проявлениям во многом напоминает другой наследственный синдром недостаточности кроветворения — АФ, необходимо рассмотреть их дифференциальную диагностику. При обоих заболеваниях имеется предрасположенность к развитию неопластического процесса, отмечается хромосомная нестабильность. Возможно, прогрессирующее истощение пула стволовых клеток приводит к аплазии костномозгового кроветворения, которое проявляется панцитопенией у больных с АФ в первое десятилетие жизни, а у больных с врожденным дискератозом — в юношеском возрасте. Однако не исключена возможность, что гематологические нарушения обусловлены также недостаточностью созревания и дифференциации клеток. Как отмечают G. Segal и соавт. (1994), ген АФ играет важную роль в нормальном гемопоэзе. Возможно, это применимо и по отношению к гену (генам) врожденного дискератоза. Эта точка зрения может быть подкреплена работой T. Vulliamy и соавт. (1997). Авторы изучали характер инактивации хромосом X в клетках крови у женщин — носительниц заболевания, в семьях которых наследственность была X-связанной; у всех женщин-кондукторов отмечены отклонения в характере инактивации. У таких женщин могут быть локальные кожные проявления заболевания, что является следствием мозаицизма, связанного с инактивацией хромосомы X, и, возможно, некоторые больные расценены как аутосомно-рецессивная форма, в действительности являются X-рецессивными носительницами врожденного дискератоза.

Известно, что в ранней стадии развития млекопитающих женского пола одна из хромосом X (отцовская или материнская) инактивируется по случайному пути. При исследовании гемопоэза у женщин — носительниц врожденного дискератоза отмечено, что клетки, экспрессирующие нормальный аллель врожденного дискератоза, растут быстрее и преимущественнее клеток, имеющих мутантный аллель. Эти данные подкрепляют идею о том, что продукт гена врожденного дискератоза играет важную роль в поддержании нормального кроветворения.

Средняя длительность жизни больных с врожденным дискератозом составляет 30 лет. Основными причинами смерти больных являются недостаточность костномозгового кроветворения (70%) и опухоли (30%) [Dokal I., 1996].

Лечение больных малоуспешно. Назначение антигипокситарного глобулина, преднизолона, больших доз преднизолона (до 500 мг), циклоsporина А не улучшает гематологические показатели. Применение андрогенов может вызвать транзиторное улучшение гемопоэза. Отмечается преходящее улучшение гемопоэза при использовании рекомбинантного человеческого КСФ-ГМ, КСФ-Г, ИЛ-3 [Oehler L. et al., 1994]. При развитии анемии показаны трансфузии эритроцитной массы, а при тромбоцитопении с выраженными проявлениями кровоточивости — тромбоцитной массы. При развитии АА с успехом применяют ТКМ [Stephan T. et al., 1995]. В последние годы с положительным результатом для трансплантации используют стволовые клетки, выделенные из пуповинной крови [Howey R. et al., 1998; Rocha V. et al., 1998].

Изучение характера инактивации хромосом X способствует выявлению женщин — носительниц X-связанного врожденного дискератоза [Vulliamy T. et al., 1997].

АПЛАЗИИ КОСТНОГО МОЗГА, СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ДРУГИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

При ряде генетических заболеваний и синдромов может наблюдаться аплазия костного мозга. Так, у детей с трисомией 21 увеличен риск развития ОЛ, возможно развитие АА [Алексеев Н.А. и др., 1988; Weinblatt M. et al., 1981].

При синдроме Дубовица (задержка роста и увеличения массы тела, микроцефалия, умственная отсталость, аномалия строения лицевого черепа и др.) у 10% больных наблюдаются гематологические нарушения, панцитопения с аплазией костного мозга, лейкоз, лимфомы. Синдром Seckel характеризуется нанизмом, задержкой роста и увеличения массы тела, выраженной микроцефалией, умственной отсталостью, с типичным лицом — выступающий нос и подбородок, скошенный лоб. При этом синдроме у 1% больных наблюдается АА.

Во всех этих случаях при наличии гематологических нарушений лечение андрогенами не корригирует эти изменения. Используют ТКМ [Espérou-Bourdeau H., 1995].

ПРИБРЕТЕННЫЕ АПЛАЗИИ КОСТНОГО МОЗГА

Приобретенные аплазии костного мозга — это разнородная группа заболеваний и по этиологии, и по патогенезу, и по тактике лечения, и по прогнозу. Аплазии костного мозга могут быть одно-, двух- и трехростковыми. Поскольку в данной книге мы рассматриваем только анемию, с этих позиций мы и освещаем этот вопрос.

К группе приобретенных аплазий костного мозга относятся АА, эритробластопения, вызванные различ-

ными этиологическими факторами и различающимися по патогенезу: эритробластопения, вызванная парвовирусом В19 и другими вирусами, при бактериемии, идиопатическая транзиторная эритробластопения у детей раннего возраста, эритробластопении иммунного генеза, при тимоме, связанные с другими причинами. Общими гематологическими признаками для всех этих форм приобретенных аплазий костного мозга является наличие анемии нормохромного, нормоцитарного, иногда макроцитарного характера, угнетение вплоть до полного отсутствия клеток эритроидного ростка в пунктате костного мозга без угнетения клеток-предшественниц миелоидного и мегакариоцитарного ростков или с угнетением их.

АПЛАСТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ

Приобретенная АА — это тяжелое, как правило, с летальным исходом заболевание, характеризующееся выраженным геморрагическим синдромом, панцитопенией, аплазией костного мозга. У 85% больных выяснить причину развития у них аплазии костного мозга не удается, но у остальных 15% удается установить причинно-следственную связь с рядом экзогенных факторов (химические вещества, лекарственные препараты, ионизирующая радиация, инфекция и др.).

Клинические наблюдения и лабораторные данные указывают на то, что этиологическими факторами развития АА могут быть длительные контакты больного с некоторыми химическими веществами (инсектициды, бензол и его производные и др.), ионизирующая радиация, при которых происходит непосредственное угнетение гемопоэза. Изучение костномозговых клеток в культуре, иммунологические данные позволили

выяснить некоторые патофизиологические механизмы лекарственно-индуцированных аплазий костного мозга. Уменьшение числа клеток-предшественниц миелопоэза в сочетании с гипоплазией костного мозга и нейтропенией указывают на возможность токсического действия некоторых лекарственных средств на костный мозг, причиной развития его аплазии [Salama A., 1993]. Снижение колониеобразования клеток костного мозга *in vitro* при добавлении в кондиционную среду лекарственных препаратов или их метаболитов без добавления аутологичной сыворотки больного или с ее добавлением указывает на то, что некоторые лекарственные средства оказывают прямое токсическое действие на клетки костного мозга. Эти исследования привели к гипотезе, что некоторые препараты могут вызвать нейтропению либо путем иммуноопосредованной деструкции гранулоцитов в периферической крови без иммунной депрессии костного мозга или с ней либо путем прямого угнетения костномозгового кроветворения. Не исключена возможность, что образующиеся АТ направлены непосредственно либо на клетки-предшественницы гемопоэза, либо на зрелые клетки периферической крови, либо на те и другие. Так, при приеме больными производных фенотиазина и гидантоина отмечается дозозависимое развитие нейтропении, которое связано с миелотоксичностью, развитием гипоплазии костномозгового кроветворения и агранулоцитоза [Joyce R., 1992]. У больных алкоголизмом иногда наблюдается панцитопения. Установлено, что добавление этанола в культуру клеток нормального костного мозга вызывает угнетение эритроидных и гранулоцитарных колоний. Противосудорожные препараты (метилгексазолон, дифенин, триметин, карбамазепин, фелбамат и др.), бутадиион вызывают не только нейтро-

пенно, но и аплазию костного мозга. Частота развития АА при приеме карбамазепина составляет 0,7 на 10^6 [Kaufman D. et al., 2000]. Циметидин угнетает миелопоэз, вызывает блокаду стволовых клеток в фазе G₁-S [Schneider E. et al., 1990]. По данным M. Pradal и соавт. (1997), при приеме бутадiona, индометацина, анальгина частота агранулоцитоза составляет 6,2 на 10^6 , АА — 2,2 на 10^6 . Агранулоцитоз, угнетение эритропоэза и аплазия костного мозга вследствие угнетения клеток-предшественниц миелопоэза могут наблюдаться при приеме антибиотиков (карбенициллин, левомицетин и др.), хинидина, карбоангидразных ингибиторов (фонурит, каптоприл) и других лекарственных средств [Meyer D. et al., 1985; Desgrand-Champs D. et al., 1987; Oliphant L. et al., 1988].

По данным Международной группы по изучению агранулоцитоза и АА (1989), при приеме макролидов и бактрима в течение 2 нед риск возникновения агранулоцитоза составляет 7,1 на 10^6 и 1,6 на 10^6 лиц соответственно.

Иногда удается установить связь АА с наличием инфекционных заболеваний. Так, постгепатитные (В, С, ни А, ни В, ни С) и ЦМВ-гепатиты могут иногда вызывать тяжелые, плохо курабельные АА.

Патогенез АА окончательно не выяснен. Известно, что кроветворение обеспечивается пулом гемопоэтических стволовых клеток, которые способны к самоподдерживанию, пролиферации и дифференциации в различные ростки гемопоэза под действием различных цитокинов и клеток микроокружения. Поэтому в патогенез развития АА могут быть вовлечены многие механизмы. Общим моментом для патогенеза АА является то, что при данном заболевании отмечается снижение количества клеток-предшественниц гемопоэза в костном мозге, клеток CD34⁺ и трех субпопуляций клеток-предшест-

венниц: CD34⁺/CD33⁺, CD34⁺/CD33⁻ и CD34⁻/CD33⁺.

Этот количественный дефицит связан с внутренним дефектом клеток, на уровне ГСК, и он может быть обусловлен, как было сказано выше, разнообразными причинами (химическими и физическими агентами, лекарствами, вирусами и др.).

В патогенезе развития АА можно выделить, по крайней мере, три пути воздействия на гемопоэтическую стволовую клетку: непосредственное (прямое), изменение микроокружения и аутоиммунный механизм.

Классическим примером непосредственного действия на гемопоэтическую стволовую клетку является ионизирующая радиация, некоторые химические и лекарственные вещества. При этом происходит либо гибель этих клеток, либо угнетение их способности к самоподдерживанию или дифференциации. Итогом этого является аплазия костного мозга. Механизм этого действия подтвержден в опытах по ТКМ от нормальных мышей мышам фенотипа W/W^v, у которых имеется одна мутация гена kit, вследствие чего образуется мутантный белок kit, обладающий активностью тирозинкиназы и играющего роль рецептора для фактора ГСК [Bernstein A. et al., 1991; Brandt J. et al., 1992].

Защитную роль в идиосинкразии к лекарственным и химическим веществам играют Р-гликопротеин и мультилекарственный резистентно-ассоциированный белок (mRP). По данным R. Calado и соавт. (1998), при АА количество Т-клеток, несущих активный Р-гликопротеин, снижено, и это, возможно, является лимфоцитопосредованной причиной увеличенной гибели клеток-предшественниц гемопоэза.

Второй путь воздействия отрицательных факторов на гемопоэтическую стволовую клетку — это через изменение микроокружения. Послед-

нее, состоящее из моноцитов, макрофагов, фибробластов, адипоцитов и других клеток влияет на нормальное развитие гемопоэза, и при его изменении нарушается нормальное развитие кроветворения, происходит аплазия. Это доказано на классическом примере в опытах на мышцах фенотипа Steel или S/Sid, у которых отмечается наследственная анемия, не корригируемая ТКМ от мышей этого же фенотипа, но исчезающая после ТКМ от нормальных мышей. У мышей фенотипа Steel аномалия связана с геном, регулирующим образование лиганда для рецептора kit, называемого stem cell factor. Дефицит образования этого фактора клетками микроокружения вызывает аплазию костного мозга у мышей фенотипа Steel. Роль дефекта стромы, как аксессуарного компонента костного мозга в патогенезе ИАА доказана клиническими наблюдениями. У некоторых больных лечение циклоспорином было неэффективно, стромальные клетки больных не поддерживали рост нормальных гемопоэтических клеток в культуре *in vitro*. После ТКМ больному с ИАА функция стромальных клеток становилась нормальной [Pocock C. et al., 1997].

Однако выявить причину развития АА и связать ее с механизмом развития аплазии костного мозга удастся не более чем у 15% больных. Остальные же причины остаются не выясненными. Эти формы АА называют идиопатическими. Частота ИАА составляет 2—5 на 1 млн жителей [Provan D. et al., 2000].

Считается, что в основе ИАА лежит аутоиммунный механизм. В пользу этого свидетельствуют многочисленные клинические и биологические аргументы. Так, если монозиготному больному близнецу вводили костный мозг без кондиционирования от здорового близнеца, то у больного восстановления гемопоэза не происходило. Если назначали им-

муносупрессоры, то добивались положительного результата. В опытах *in vitro* было установлено, что Т-лимфоциты больных угнетали колониеобразование нормальных гемопоэтических клеток. Установлено также, что в крови больных с ИАА обнаруживаются Т-лимфоциты с аномальной активностью. Эта популяция Т-супрессоров (CD8⁺ HLA-DR⁺ IL2R⁺) ингибирует колониеобразование *in vitro* и секретирует ингибиторные факторы в культуральную среду. Этими цитокинами являются ИФγ и(или) ФНОβ, содержание которых повышено в крови больных ИАА. Также обнаружено внутриклеточное наличие ИФγ в CD8⁺- и CD4⁺-лимфоцитах периферической крови и костного мозга [Sloan E. et al., 1997]. Оба цитокина (ИФγ и ФНОβ) увеличивают экспрессию FAS-АГ на костномозговых клетках CD34⁺, тем самым индуцируют апоптоз этих элементов [Stoppa A.-M., 1998]. Количество апоптотных CD34⁺-клеток в костном мозге больных с ИАА составляет в среднем 40% при норме менее 1%. В костном мозге больных обнаруживается клон аутореактивных Т-клеток, имеющих HLA-DR В1* 1501 аллель, мишенью которых является гемопоэтическая стволовая клетка; однако аутоАГ аутореактивных Т-лимфоцитов не установлен [Young N. et al., 1997; Zeng W. et al., 1999].

Следствием иммунного процесса является повреждение и уменьшение компартмента стволовых клеток и клеток-предшественниц гемопоэза. Об этом свидетельствуют данные по изучению очень примитивных гемопоэтических клеток (LTC-IC) больных с ИАА. Установлено, что клон клеток CD34⁺ способствует мутации аутологичных клеток CD34⁺, ингибируя их гемопоэтическую активность [Schrezenmeir H. et al., 1996; Maciejewski J. et al., 1998; Zeng W. et al., 2001].

В патогенезе развития ИАА могут играть роль и генетические факторы. Nakao и соавт. (1998) наблюдали больных с ИАА сиблингов и три пары мать/дети в 5 различных семьях. Авторы изучали у этих больных полиморфизм генов HLA-DRB1, HSP70-2, HSP-70-HOM и ген ФНО; при наличии этих генов больные склонны к развитию аутоиммунных заболеваний. Исследования показали, что при генотипе HLA-DRB1*1501 больные склонны к развитию у них ИАА.

Суммируя сказанное, можно сделать заключение, что в основе аплазии костного мозга при ИАА лежат аутоиммунные механизмы, приводящие к количественному и функциональному дефекту клеток CD34⁺ и клеток-предшественниц гемопоэза. Это обстоятельство является обоснованием применения иммуносупрессивных средств и ТКМ.

Клинические признаки ИАА довольно типичны. Дебют заболевания обычно острый, наблюдаются три характерных синдрома, обусловленные поражением всех трех гемопоэтических ростков. Во-первых, у больных отмечаются признаки анемического синдрома — общая астения, бледность кожи и видимых слизистых оболочек, одышка, тахикардия, головокружения, «шум в ушах», систолический шум на вершине сердца и др. Во-вторых, признаки тромбоцитопении в виде геморрагического синдрома — петехии и гематомы на коже, кровоизлияния в глаз, кровотечения из носа, десен, мено- и метроррагии, гематурия и др. В-третьих, признаки лейко- и нейтропении — у больных повышена температура тела, чаще всего неспецифического характера, возможно наличие инфекционных очагов на коже, в легких и в других органах, стоматита. Размеры печени, селезенки, лимфатических узлов нормальные.

При гематологическом обследовании больного в анализах периферической крови отмечена панцитопения. Анемия нормохромного нормоцитарного (может быть с тенденцией к макроцитозу) характера, аргентаторная (число ретикулоцитов меньше $50 \times 10^9/\text{л}$). Лейкопения с выраженной нейтропенией — меньше $1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитопения — меньше $(30...50) \times 10^9/\text{л}$. Степень снижения всех трех клеточных элементов крови переменна у разных больных. Эти изменения могут сосуществовать параллельно или изолированно, может наблюдаться превалирование цитопении однако класса клеток над другим. Но наиболее угрожаемыми признаками является снижение числа нейтрофилов ниже $0,5 \times 10^9/\text{л}$, а тромбоцитов ниже $20 \times 10^9/\text{л}$. При морфологическом исследовании клеток периферической крови нет аномалии среди Эр с незначительным их макроцитозом, лейкоцитов и тромбоцитов. Увеличено содержание НбФ, экспрессия АГ i на Эр. В пунктате костного мозга количество миеокариоцитов резко снижено ($30 \times 10^9/\text{л}$ или ниже), число мегакариоцитов практически равно 0. В окрашенных мазках костного мозга резко снижено количество гемопоэтических элементов, отмечаются жировые капли; в отдельных полях зрения могут выявляться единичные клетки миеоидного ряда, в миеограмме преобладают лимфоциты, повышено содержание плазматических клеток, макрофагов. Клеточные элементы не имеют аномальных признаков, хотя могут быть умеренно выражены признаки дизэритропоэза. Но иногда показатели миеограммы могут быть нормальными, если клетки костного мозга были взяты для исследования при пункции из продуктивного участка. Поэтому если имеются подозрения на аплазию костного мозга, то следует сделать повторную пункцию костного мозга из другого участка.

Более информативными являются данные биоптата костного мозга. При его исследовании четко выявляются преобладание в костном мозге жировой ткани, вкрапления отдельных островков миелоидной ткани, отсутствуют признаки фиброза и инфильтрации.

С учетом показателей периферической крови и миелограммы Международная группа по изучению аплазий костного мозга предложила критерии тяжелой формы АА:

1) показатели крови — число нейтрофилов меньше $0,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов меньше $20 \times 10^9/\text{л}$, ретикулоцитов меньше $20 \times 10^9/\text{л}$;

2) костный мозг — содержание клеток миелоидного ряда меньше 25% или (если клеточность костного мозга менее 30% от нормы) 25—50%.

При лечении АА следует руководствоваться этиологией и патогенезом болезни. Если речь идет об известном этиологическом факторе, вызвавшем АА, то его следует устранить, так как после этого возможно восстановление гемопоэза (например, лекарственная миелотоксичность). Но в любом случае лечение АА включает в себя синдромологические терапевтические мероприятия, заместительное лечение, профилактику и лечение имеющихся осложнений, патогенетическое радикальное лечение.

Кардинальным признаком ИАА является цитопения, связанная с недостаточной продукцией и преждевременной гибелью клеток крови и костного мозга. Сама по себе анемия (хроническая) не угрожает жизни больному, но снижается кислород-переносная функция крови, нарушается газообмен, изменяются метаболические процессы на уровне системы микроциркуляции и др. — все это приводит к нарушению функции различных органов и систем, поэтому рекомендуется проводить гемотрансфузии концентратами Эр, поддержи-

вать содержание Hb не менее 80 г/л. Тромбоцитопения является ведущей причиной смерти больных от кровоточивости, поэтому рекомендуется назначать концентраты тромбоцитов при числе тромбоцитов менее $20 \times 10^9/\text{л}$, а при наличии выраженного геморрагического синдрома инфузии концентратов тромбоцитов проводят вне зависимости от их количества в периферической крови. Для профилактики кровоточивости или ее уменьшения больным не следует заниматься физическими упражнениями, принимать аспирин, противовоспалительные препараты; молодым женщинам назначают ингибиторы овуляции для уменьшения кровопотери в период менструаций. При переливании гемокомпонентов в организме больных происходит избыточное накопление железа с развитием гемосидероза, увеличивается риск развития гемохроматоза, поэтому больным проводят хелатотерапию (подробнее см. раздел «Гемохроматоз и гемосидероз»). Во избежание иммунологического конфликта и развития БТПХ необходимо все компоненты крови облучать для инактивации донорских лимфоцитов. По данным А.-М. Stoppa (1998), при проведении свыше 50 гемотрансфузий риск иммунизации у реципиента составляет 40%, поэтому в качестве донора рекомендуется использовать одного донора или членов семьи.

Третий гематологический признак ИАА — это лейкопения и нейтропения; число последних обычно менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$. Нейтропения способствует развитию инфекции, которая занимает второе место после геморрагического синдрома как причина смерти больных с ИАА. Коррекция самой по себе нейтропении является непосильной задачей, так как имеет место аплазия костномозгового кроветворения. Заместительная терапия путем инфузии взвеси лейкоцитов практически бесполезна для коррек-

ции нейтропении, так как длительность циркуляции этих клеток в крови составляет несколько часов, поэтому основные мероприятия направлены на профилактику и лечение инфекционных осложнений. С момента поступления больного и начала иммуносупрессивной терапии рекомендуется проводить антибиотикотерапию (норфлоксацин, флуконазол); если больной серопозитивен на *Herpes simplex*, то дополнительно назначают ацикловир. Это лечение проводят постоянно до увеличения числа нейтрофилов до $0,5 \times 10^9/\text{л}$. Если больной получает циклоспорин, то для профилактики *Pneumocystis carinii* назначают пентамидин в виде аэрозоля 1 раз в месяц в течение всего периода лечения циклоспорином. При возникновении температурной реакции на фоне нейтропении назначают антибиотики широкого спектра действия. Если на этом фоне сохраняется повышенная температура тела и персистирует нейтропения, то назначают амфотерицин В, рекомбинантный человеческий КСФ-Г (филграстим, ленограсим по 5—30 мкг/кг). Однако если на фоне всех этих терапевтических мероприятий (антибиотики, амфотерицин В, рекомбинантный КСФ-Г) продолжает персистировать повышенная температура тела, подтверждена или заподозрена инвазия организма грибами (*Candida albicans*, *Aspergillus*), то назначают инфузии гранулоцитов [Espeçon-Bourdeau H., 1995; Gluckman E. et al., 1998; Tisdale J. et al., 2000].

Для лечения аплазии гемопоэза используют различные средства и методы. Кортикостероиды используют лишь в сочетании с другими препаратами, так как изолированное их назначение неэффективно, более того, на фоне их применения увеличивается риск возникновения инфекций.

Андрогены до сих пор широко используют при лечении аплазий

костного мозга, особенно при умеренной степени тяжести ИАА, рецидиве после лечения иммуносупрессорами, иногда в сочетании с ними [Donney K. et al., 1992]. Эффект от их применения зависит от тяжести аплазии костного мозга; лечение андрогенами позволяет снизить частоту гемотрансфузий, улучшить качество жизни. Для достижения положительных результатов требуется прием андрогенов в течение нескольких месяцев и даже лет. Они действуют в основном на эритропоэз, приблизительно у 20% больных отмечается увеличение содержания нейтрофилов и тромбоцитов. Не исключена возможность иммуносупрессивного действия андрогенов. Однако следует помнить о том, что длительный прием андрогенов вызывает осложнения со стороны печени, вплоть до развития гепатоцеллюлярной карциномы, вирусизацию.

Применение цитокинов (КСФ-Г, КСФ-ГМ, Эпо, ИЛ-3, ФСК) может вызвать частичную коррекцию цитопении, если имеется остаточная гемopoэтическая функция. Более эффективны они после ТКМ и использования иммуносупрессоров [Brodsky R. et al., 1997; Kurzrock R. et al., 1997; Gonzalez-Llano O. et al., 1998].

Учитывая то, что в основе ИАА лежат аутоиммунные механизмы депрессии гемопоэза, патогенетически обоснованно использование иммуносупрессивных средств. Для этого используют АТГ, АЛГ или АЛС, циклофосфамид, циклоспорин А в различных сочетаниях и с другими препаратами.

В 1970 г. G. Mathé и соавт. впервые использовали АТГ для лечения АА. Механизм действия АТГ многосторонний — он действует непосредственно на аутореактивные лимфоциты, вызывая их деструкцию, стимулирует гемопоэз и образование КСФ, пролиферацию и дифференциацию гемопоэтических стволовых кле-

ток, ингибирует образование лимфокинов [Guinan E. et al., 1993; Killic S. et al., 1998]. После его назначения при положительных результатах первоначально восстанавливается гранулоцитопоз, затем эритропоз и лишь в последующие 1—3 мес — тромбоцитопоз [Tichelli A. et al., 1992]. АЛС вводят по 10 мг/кг в день. Поскольку вводится чужеродный белок (АЛС кроличья, баранья или лошадиная), то для предупреждения сывороточной болезни или анафилактического шока назначают преднизолон по 2 мг/кг в сутки, а затем его постепенно отменяют в течение 1 мес. Результаты лечения зависят от исходной степени тяжести болезни: при умеренно выраженной аплазии костного мозга положительные результаты отмечаются у 70% больных, при тяжелых — у 50%, при очень тяжелых — у 20% [Nissen C. et al., 1993].

При оценке эффективности лечения руководствуются понятиями полная и частичная ремиссия, без эффекта. При полной ремиссии у больных после лечения наступило полное восстановление гемопоэза или же последнее близко к норме (содержание Нb 100 г/л и больше, содержание нейтрофилов 1×10^9 /л и больше, тромбоцитов — 100×10^9 /л и больше). При частичной ремиссии показатели периферической крови субнормальные, больной гемотранфузионно независим или частично зависим.

При сочетании использования АЛС с циклоспорином А (8—12 мг/кг массы тела, per os, ежедневно в течение 6 мес) положительные результаты лечения наблюдаются у 75% больных, выживаемость 2 года — у 70—90%, при тяжелых и очень тяжелых формах выживаемость 4 года отмечается у 60% больных [Stoppa A.-M., 1998].

J. Tisdale и соавт. (2000) наблюдали две группы больных: одной назначали внутривенно инфузию циклофосфамида в течение 1 ч по

50 мг/кг — всего 4 дня и одновременно проводили гидратацию и назначали месна; второй группе больных — АТГ (40 мг/кг, 4 дня) + per os преднизолон (1 мг/кг в день) за 6 ч до введения АТГ (для профилактики сывороточной болезни), всего 10 дней с последующей постепенной отменой в течение 7 дней. Объем группам больных с первого дня лечения назначали циклоспорин per os из расчета 12 мг/кг в сутки; дозу препарата принимали в два приема, расчетная концентрация циклоспорина в плазме крови должна быть в пределах 200—400 мкг/л. Циклоспорин давали в течение не менее 6 мес, при этом дозу снижали по 5% каждую неделю в течение 20 нед, так что к концу 6-месячного лечения циклоспорин полностью отменяли. Если же эффекта не было, то лечение циклоспорином продолжали. К 6-месячному сроку лечения эффект наступил у 46% больных, принимавших циклофосфамид, и у 75% — при лечении АТГ. По данным S. Rosenfeld и соавт. (1997), при комбинированном лечении АТГ + циклоспорином 5-летняя выживаемость составляет 86%, прогноз лучше у больных моложе 20 лет: при отсутствии рецидива актуальная выживаемость 5 лет составляет 83%. Однако с увеличением сроков болезни риск рецидива повышается: к 5 годам — у 50% больных, к 7 годам — у 87% [Rosenfeld S. et al., 1997].

Для лечения ИАА используют также сочетание циклоспорина (7—12,5 мг/кг в сутки) с преднизолоном (1—2 мг/кг в сутки) с андрогенами или без них. Полная ремиссия наблюдалась у 24—52% больных, частичная — у 10—14,6%. При отсутствии эффекта от 6-месячного лечения прогноз неблагоприятный [de Medeiros C. et al., 1998; El-Beshlawy A. et al., 2001]. При отсутствии эффекта от лечения АЛГ и циклоспорином у некоторых детей с ИАА может наступить ремиссия после назначения

циклофосамида по 120—200 мг/кг в течение 4 дней или после флюдарабина (по 30 мг/м² в течение 5 дней [Масчан А.А. и др., 2001].

Для лечения ИАА используют ТКМ. Идеально, если имеется HLA-идентичный сиблинг; у таких больных выживаемость составляет около 80—86% [Bacigalupo A. et al., 2000; Marsh J., 2000; Fuhrer M. et al., 2001]. По данным Международного регистра ТКМ, вероятность выживания 3 года при наличии HLA-идентичного сиблинга (1871 больной) составляет (69±4)%, при HLA-идентичного донора-родственника (177 больной) — (45±20)% и от неродственного донора (317 больных) — (40±15)% [Hows J. et al., 1998]. Большая вероятность 5-летней выживаемости отмечается у лиц моложе 30 лет [Deeg J. et al., 1998; Passweg J. et al., 1998]. Тем не менее, даже после восстановления гемопоэза через 5 лет сохраняется дефицит LTC-IC, в полном объеме не восстанавливается компартмент гемопоэтических стволовых клеток [Selleri C. et al., 1999; Brummendorf T. et al., 2001].

Прогноз заболевания зависит от степени угнетения гемопоэза, возраста больного, характера проводимого лечения. Он более благоприятный у больных моложе 30 лет, более пессимистичный при тяжелых и сверхтяжелых формах. Если больным проводится только поддерживающее симптоматическое лечение (гемотрансфузии, антибиотикотерапия), то вероятность выживаемости 1 год имеют только 10% больных [Provan D. et al., 2000]. У детей 5-летняя выживаемость при использовании андрогенов составляет 28,6%, АЛГ — 34,5%, ТКМ — 83% и АЛГ + циклофоспорин — 100%. Если в 1973—1988 гг. 5-летняя выживаемость составляла 36—38%, то в период 1989—1996 гг. — 86% [Webb D. et al., 1998]. Выживаемость к 40 мес от начала болезни у детей выше, чем у взрос-

лых — 57% и 8% соответственно [Gutierrez M. et al., 1998]. При использовании ТКМ и иммуносупрессивной терапии длительность жизни увеличивается во много раз. Так, по данным Европейской группы по ТКМ, наблюдавших 1765 больных с АА, 5-летняя выживаемость больных в 1981 г. при лечении иммуносупрессивными препаратами составляла 58%, а в 1991 г. — 75%; при ТКМ (HLA-идентичные сиблинги) — 54% и 77% соответственно [Bacigalupo A. et al., 1998].

Тем не менее, говорить о прогнозе *quo ad vitam* в каждом конкретном случае следует с большой осторожностью. Как показали наблюдения за больными в течение 10 лет в 20% случаев ИАА может эволюционировать в ПНГ, ОЛ [Масчан А.А. и др., 1997; Dunn D. et al., 1999]. По данным G.Socie и соавт. (2000), вероятность развития ПНГ, ОЛ и МДС составляет 17%. Если у больных под влиянием иммуносупрессивной терапии отмечалась положительная динамика ИАА, то при длительности жизни 10 лет у 40% из этих больных развивается ПНГ, ОЛ или МДС [Provan D. et al. 2000].

ЭРИТРОБЛАСТОПЕНИИ

Эритробластопения — это изолированное уменьшение или полное отсутствие эритроидных клеток костного мозга при сохранности мегакариоцитарного и гранулоцитомоноцитарного ростков. Итогом этого у больного наблюдается анемия разной выраженности с прогрессирующей бледностью и астенией, содержание Hb нередко снижается до 50 г/л и ниже. Анемия носит нормо- или макроцитарный характер, нормохромная, содержание ретикулоцитов резко снижено, вплоть до полного их отсутствия. Морфологически Эр нормальные. Количество лейкоцитов

и тромбоцитов нормальное, лейкоцитарная формула без патологических изменений, хотя у детей первого года жизни возможен резкий сдвиг влево. Костномозговой пунктат содержит нормальное количество миелокариоцитов и мегакариоцитов; при парциальном подсчете полностью отсутствуют эритрокариоциты или встречаются единичные эритробласты больших размеров.

Клинические признаки эритробластопении зависят от вызвавших ее причин, степени анемии, быстроты восстановления, возраста больного: астения, нарастающая бледность, тахикардия, одышка, у детей грудного возраста отмечается диспноэ при сосании.

Задержка образования Эр костным мозгом приводит к тому, что каждый день содержание Hb и Эр снижается на 1%. Если это хроническая эритробластопения, то анемия сохраняется длительно и больные переносят анемию относительно неплохо, так как в ответ на гипоксию включаются адаптационные механизмы. У больных без сопутствующих гематологических заболеваний длительно сохраняющаяся острая эритробластопения может приводить к тяжелым расстройствам функций различных органов и систем. Нередко острая эритробластопения возникает у больных с хроническими ГА (наследственный сфероцитоз, хронические несфероцитарные ГА, серповидно-клеточная анемия, хронический дефицит железа и др.), и в этих случаях состояние больных «на глазах» резко ухудшается.

При эритробластопении, возникшей у больных с хронической ГА, исчезает желтушность кожи и слизистых оболочек, содержание билирубина — в пределах нормы. При эритробластопении любой этиологии уровень сывороточного железа, ферритина и степень насыщения Тф железом повышены, хотя содержания Тф нормальное. Это связано с тем,

что, во-первых, практически отсутствует включение железа в пронормобласты, а, во-вторых, вследствие гемотрансфузий, проводимых больному по поводу анемии.

Если заболевание не является врожденным, то процесс регенерации эритроидного роста может принимать черты «биологического стресса эритропоэза», которые являются лишь признаками быстрого созревания клеток эритроидного ряда: это увеличение HbF, наличие ретикулоцитов с HbF, появление Эр с АГ i, макроцитоз, так как уменьшено число митозов [Blau C. et al., 1993].

В зависимости от причин, вызвавших эритробластопению, их можно разделить на несколько групп:

- 1) физиологическая эритробластопения у младенцев;
- 2) врожденная эритробластопения (болезнь Дайемонда — Блекфэна);
- 3) приобретенные транзиторные эритробластопении (вирус-ассоциированные, медикаментозные, при тимоме, лимфоидных гемопатиях, трансплантациях костного мозга, идиопатические и др.).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ (АНЕМИЯ) ЭРИТРОБЛАСТОПЕНИЯ У МЛАДЕНЦЕВ

У детей периода новорожденности первоначально имеются высокие показатели содержания Hb и Эр, которые постепенно уменьшаются. После рождения ребенка отмечается снижение показателей красной крови и содержания клеток эритроидного ряда в костном мозге. Стабилизация происходит приблизительно к 3 нед жизни, сохраняясь на этом уровне в течение 2—3 мес, но у недоношенных детей может быть и дольше, а затем показатели красной крови и содержание эритрокариоцитов в костном мозге вновь увеличиваются.

Изменения показателей эритропоэза у детей периода новорожденности

и младенцев обусловлены рядом факторов. Так, с появлением у ребенка самостоятельного дыхания эритропоэз резко прекращается, поскольку насыщение артериальной крови кислородом увеличивается до 95%. Параллельно в период новорожденности у ребенка содержание Эпо в плазме крови низкое, поскольку главным местом его образования в этот период является печень, а не почки, которая относительно нечувствительна к выделению Эпо при гипоксии тканей. Кроме того, длительность полужизни Эпо у новорожденных детей короче.

В развитии физиологической анемии у младенцев играют роль и меньшая длительность жизни Эр, быстрое увеличение массы тела и ОЦК, т. е. увеличиваются запросы организма в продукции Эр, с которым не может справиться гемопоэз младенца. Когда содержание гемоглобина достигает 90—100 г/л у здоровых доношенных детей в возрасте 2—3 мес, то возобновляется эритропоэз. Эту «анемию» следует рассматривать как физиологическую адаптацию ребенка к новым условиям жизни.

Поскольку анемия является физиологической, то ее специального лечения не требуется за исключением сбалансированной диеты, содержащей в достаточном количестве вещества, необходимые для нормального гемопоэза, особенно фолиевой кислоты и железа.

Прогноз благоприятный.

ПРИБРЕТЕННЫЕ ТРАНЗИТОРНЫЕ ЭРИТРОБЛАСТОПЕНИИ

Приобретенные транзиторные эритробластопении представляют собой состояния, возникающие под действием различных факторов и исчезающие после исчезновения пускового фактора; при этом показатели

красной крови восстанавливаются. Транзиторные эритробластопении называют еще апластическими кризами [Hatzis T. et al., 1998], приобретенной чистой красноклеточной аплазией [Muller B. et al., 1998], чистой красноклеточной аплазией [Lee T., 1998], эритроидной аплазией [Conesa V. et al., 1998].

Различают следующие приобретенные транзиторные эритробластопении:

- 1) при вирусных и бактериальных инфекциях (парвовирус В19, ВЭБ, ЦМВ, вирус гепатита);
- 2) при использовании некоторых медикаментов;
- 3) при опухоли вилочковой железы;
- 4) при лимфоидных гемопатиях;
- 5) при раковых заболеваниях;
- 6) при ТКМ;
- 7) транзиторная эритробластопения у детей, спонтанно преходящая;
- 8) при заболеваниях соединительной ткани;
- 9) эритробластопения иммунного происхождения;
- 10) эритробластопения, связанная с питанием;
- 11) эритробластопения при почечной недостаточности.

Наибольшее практическое значение имеет эритробластопения, вызванная парвовирусом В19; другие вирусы (ВЭБ, гепатита, ЦМВ) также могут явиться причиной развития эритробластопении, но в клинической практике это наблюдается редко.

Эритробластопения, вызванная парвовирусом В19. В 1948 г. норвежский гематолог P. Owren отметил, что у некоторых больных с ГА наблюдаются периоды, в течение которых возникает аплазия клеток эритроидного ростка, сопровождающаяся выраженной анемией арегенераторного характера и повышенной температурой тела. Автор высказал предположение, что это состояние может быть обусловлено инфекцией. В 1975 г.

Y. Cossart и соавт. выделили из крови образца 19 парвовирус и назвали его парвовирусом В19, который относится к Erythrovirus семейства Parvoviridae. Через 6 лет после этого была установлена взаимосвязь между транзитной эритробластопенией и инфицированием парвовирусом В19 [Pattison J. et al., 1981; Sergeant G. et al., 1981]. С тех пор эта причинно-следственная связь была подтверждена многими авторами [Morinet H. et al., 1995; Conesa V. et al., 1998].

Эпидемиологическими, вирусологическими и иммунологическими исследованиями установлено, что парвовирус В19 вызывает 5-ю болезнь (инфекционную эритему), узловатую эритему, полиартралгии, ревматоидный артрит, ревматоидную пурпуру, миокардит [Okabe N. et al., 1984; Borreda D. et al., 1992; Harris J., 1992]. Инфекционные заболевания, вызываемые парвовирусом В19, могут быть спорадическими и в виде эпидемий, чаще в зимне-весенний период. Инкубационный период составляет 4—19 дней, но может удлиняться до 28 дней. Инфекция парвовирусом очень контагиозна — индекс контагиозности — до 50%, она передается воздушно-капельным путем, при непосредственном контакте, с кровью матери плоду, при гемотрансфузиях. До 70% случаев заболевания приходится на возраст 5—15 лет. До 40—60% взрослых людей в прошлом переносили инфекцию, матери инфицированы чаще, чем отцы.

С гематологической точки зрения, парвовирусная инфекция опасна тем, что она вызывает острую эритробластопению, кратковременную, преходящую, чаще при хронических ГА или же аномалиях эритропоэза. Апластические (одноростковые) кризы описаны при НС, эллиптоцитозе, дефиците активности в Эр ПК, П-5'-Н, АИГА, дизэритропоэзе II типа, ПНГ, дрепанцитозе, талассемии, дефиците железа и др. [Harris J., 1992;

Morinet F. et al., 1995; Hatzis T. et al., 1998; Serjeant B. et al., 2001]. Синдром Дайемонда — Блекфэна не связан с парвовирусом, но при наслоении инфекции течение его ухудшается [Tchernia G. et al., 1993].

Апластический криз у больных с хроническими ГА и аномалиями эритропоэза обычно возникает остро, с повышения температуры тела, сопровождается нарастающим ухудшением соматического благополучия — слабость, вялость, общее недомогание, плохой аппетит, могут быть рвота, понос, артралгии. Отмечается бледность кожи и видимых слизистых оболочек разной выраженности, одышка, тахикардия, функциональный систолический шум.

В анализе периферической крови определяются снижение показателей красной крови, значительное уменьшение, вплоть до полного отсутствия ретикулоцитов, что отражает лизис эритроидных клеток-предшественниц в костном мозге. У некоторых больных может быть лейкопения с нейтропенией, тромбоцитопения, хотя причина этого явления не ясна, так как вирус не влияет на клетки миелоидного ряда. В течение 1—2 дней в крови появляются специфические IgM анти-В19 АТ, контролирующие развитие инфекции и способствующие восстановлению эритропоэза, но титр IgM АТ быстро снижается и АТ персистируют в крови в течение 6—8 нед [Koch W., 2000].

В костномозговом пунктате количество миелокариоцитов нормально, иногда может быть реактивная гиперплазия мегакариоцитарного ростка. Содержание клеток эритроидного ряда резко снижено, вплоть до полного их отсутствия, встречаются единичные эритробласты, иногда многоядерные, гигантских размеров с вакуолизацией цитоплазмы, выбуханием цитоплазмы.

Обычно тяжелое состояние длится около недели, а затем, начиная с

8-го дня от начала болезни, происходит увеличение числа ретикулоцитов, и к 15-му дню все показатели приходят к норме, при этом все это происходит спонтанно. При тяжелой анемии назначают трансфузии эритроцитарной массы.

У здоровых лиц без сопутствующих заболеваний (детей и взрослых) парвовирус также может вызвать преходящую эритробластопению с умеренной анемией. Клиническая симптоматика выражена незначительно. Это связано с тем, что у этого контингента лиц длительность жизни Эр нормальная.

Парвовирус 19 может вызывать у детей первых месяцев жизни хроническую эритробластопению. В таких случаях могут возникнуть затруднения в постановке диагноза, так как клинико-гематологические проявления напоминают таковые при анемии Дайемонда — Блекфэна. При дифференциальной диагностике этих двух состояний могут помочь определение специфических IgG и IgM АТ, использование метода гибридизации ДНК вируса в сыворотке крови и костном мозге. Для диагностики *ex juvantibus* можно ввести 1 дозу иммуноглобулина, увеличение содержания ретикулоцитов после этого может свидетельствовать в пользу вирусного происхождения эритробластопении. При заболевании беременной женщины парвовирус, проникая через плаценту, поражает эритробласты костного мозга и в экстрамедуллярных очагах кроветворения, и это может отмечаться у плода 6-недельной гестации. Итогом этого может быть преждевременное рождение плода, анасарка, фетоплацентарная гибель плода [Sebahoun G., 1998].

Наслоение парвовирусной В19-инфекции у больных с иммунодефицитами (носители ВИЧ, при лимфоидных гемопатиях, после химиотерапии по поводу неопластического процесса и др.) также иногда вызывает

у них эритробластопению, при этом отмечается более продолжительный период спонтанного восстановления гемопоэза, иногда удлиняясь до 2 мес [Conesa V. et al., 1998].

Патогенез развития приобретенной эритробластопении при парвовирусной В19-инфекции следующий. Мишенью парвовируса В19 является АГ системы Р, который присутствует на эритроблестах и Эр, и эти элементы несут рецептор для этого парвовируса [Halperin D. et al., 1989; Brown K. et al., 1993]. Под действием парвовируса Эр, несущие АГ Р, агглютинируются, тогда как Эр, лишенные этого АГ, остаются интактными, эритробласты таких людей резистентны к инфекции. *In vitro* цитотоксичность эритробластов к парвовирусу В19 ингибируется МА анти-Р [Cartron J.-P., 1997].

После попадания в организм парвовируса отмечается виремия, и инфект оседает и начинает размножаться в клетках-предшественниках эритроидного ростка. Это дает возможность выявить парвовирус в эритроидных клетках-предшественниках методами флюоресценции и гибридизации *in situ*. *In vitro* добавление сыворотки больного, содержащей парвовирус В19, к культуре костного мозга ингибирует образование колоний КОЕ-Э и БОЕ-Э; это обусловлено автономным размножением вируса, который вызывает лизис эритробластов [Mortimer P. et al., 1983]. Проникновение вируса через плацентарный барьер беременной женщины в кровь плода может воздействовать на эритроидные клетки-предшественницы плода, и в этих случаях летальность (плода) может достигать 5%, если инфекция возникает в течение первых двух триместров гестации. В этих ситуациях спасти плод можно путем трансфузий крови *intra uterine*, хотя и возможно спонтанное восстановление гемопоэза [Soothil P., 1990; Harger J. et al., 1998].

Виремия обычно длится одну неделю, с 5—7-го дня появляются специфические IgM АТ; начало восстановления костномозгового кроветворения совпадает по времени с появлением АТ. После ликвидации инфекции уровень анти-В19 IgG АТ остается высоким, что свидетельствует о перенесенной инфекции. Среди взрослых людей до 80% являются серопозитивными [Morinet F. et al., 1995; Hatzis T. et al., 1998].

Распределение АГ Р в тканях человека объясняет тропизм инфекции. Так, эндотелиальные клетки, несущие АГ Р, являются мишенью для парвовируса, и это проявляется в виде 5-й болезни (инфекционная эритема). Клетки миокарда плода несут АГ Р, поэтому внутриутробное заражение плода парвовирусом может объяснить причину миокардита у новорожденного ребенка.

Парвовирус В19 может быть причиной развития эритробластопении у больных с иммунодефицитом врожденного и приобретенного характера (после химио- и лучевой терапии, при раковых заболеваниях, после ТКМ и др.). У таких больных может наблюдаться хроническая виремия вследствие того, что они не способны образовывать АТ, постоянно оставаясь вирус-инфицированными. Таким больным показано введение иммуноглобулина, после которого наступает восстановление гемопоэза, хотя возможны рецидивы [Kurtzman G. et al., 1989; Morinet F. et al., 1995].

В целом прогноз эритробластопении, вызванной парвовирусом В19, благоприятный; она проходит в среднем через 2 нед спонтанно. Иногда у больных отмечаются тромбоцитопеническая пурпура, редко асептический менингит и ВАГС [Koch W., 2000]. В тяжелых случаях требуется проведение гемотрансфузий, введение иммуноглобулина или гипериммунной плазмы.

Транзиторная эритробластопения может возникнуть при ВЭБ, вирусе

гепатита В. В отличие от эритробластопении, вызванной парвовирусом В19, в основе патогенеза возникновения этого состояния при этих вирусных инфекциях лежит иммунный механизм, спровоцированный этими вирусами, и аплазия красного ростка костного мозга обусловлена либо действием Т-лимфоцитов костного мозга на клетки-предшественницы эритропоэза, либо секреторией АТ [Wilson H. et al., 1980; Socinski M. et al., 1984].

Нередко анемия отмечается у ВИЧ-положительных больных, при этом она может быть следствием аплазии эритроидного ростка, вызванной парвовирусом В19 [Coneasa V. et al., 1998]. У таких больных не образуются специфические IgG АТ и очень мало IgM АТ. Оба вируса могут сосуществовать в макрофагах [Bowman C. et al., 1990; Frickofen N. et al., 1990]. Часто эритробластопения у ВИЧ-инфицированных больных связана с хронической инфекцией, действием различных вирусов, способствующих иммуносупрессии [Tchernia G., 1995].

Описаны случаи эритробластопении у новорожденных детей с сепсисом, сопровождающимся анемией, умеренным снижением числа тромбоцитов и мегакариоцитов, с гиперлейкоцитозом. По-видимому, при этих состояниях имеет место не непосредственное действие бактерий, а вторичная реакция костного мозга по типу механизма обратной связи, когда требуется повышенная продукция родоначальными клетками-предшественницами гранулоцитов, и итогом этого является ингибция двух других ростков кроветворения [Vial M. et al., 1979; Tchernia G., 1995].

Идиопатическая транзиторная эритробластопения. Эта приобретенная форма эритробластопении чаще всего наблюдается у детей в возрасте 6 мес — 4 лет. Чаще всего она на-

блюдается в виде небольших эпидемий весной и летом, после вирусных инфекций. Наблюдается анемия, для коррекции которой требуются гемотрансфузии, редко нейтропения, тромбоцитоз. Иногда у ребенка могут отмечаться повышенная температура тела, признаки респираторной инфекции, диарея, редко — неврологическая симптоматика. За редким исключением наблюдаются рецидивы эритробластопении [Bhambhani K. et al., 1988; Hays T. et al., 1989]. В отличие от синдрома Дайемонда — Блекфэна болезнь возникает в более старшем возрасте, нет аномалий развития.

Описаны случаи эритробластопении у детей с гипо- и аспленией, которые проходят спонтанно [Lutz P. et al., 1985; Ozkaynak M. et al., 1990].

В период развернутой картины болезни в крови наблюдается анемия, резко снижено число ретикулоцитов, может отмечаться нейтропения, количество тромбоцитов нормальное. СОЭ, содержание HbF, активность аденозиндезаминазы в Эр — в пределах возрастной нормы.

Обычно остро возникшая эритробластопения спонтанно регрессирует через 4—6 нед после начала. В период восстановления эритропоэза наблюдаются макроцитоз, увеличение HbF, появление АГ i в Эр [Link M. et al., 1981].

Клинические и эпидемиологические наблюдения заставляют полагать, что эритробластопения связана с вирусной инфекцией не парвовирусом В19. У ряда больных в крови выявляется вирус герпеса тип 6 [Schwartz E., 2000]. Возможно, в основе болезни лежит аутоиммунизация, иммуноопосредованный IgG механизм, направленный против клеток-предшественниц эритропоэза [Dessypris E et al., 1982; Tchernia G., 1995; Sébahoun G., 1998].

За исключением гемотрансфузий, других методов и средств лечения не

требуется. Глюкокортикоиды неэффективны.

Эритробластопения иммунного генеза. Эта форма чаще встречается у взрослых. У больных с изолированной эритробластопенией *in vitro* определяется нормальное количество эритроидных клеток-предшественниц, которые образуют колонии, как у здоровых людей. Однако при добавлении в культуральную среду *in vitro* IgG или Т-лимфоцитов больного происходит ингибирование колониеобразования, что подтверждает иммунный генез эритробластопении. Выявляются АТ против клеток эритроидного ряда или же против зрелых эритроидных клеток, иногда и против Эпо. Часто обнаруживаются антиэритроцитарные АТ [Mangan K. et al., 1984; Tohda S. et al., 1992].

V.Oie и соавт. (1984) описали семью, в которой мать страдала приобретенной эритробластопенией, у которой родились трое детей с *hydrops foetalis*, из которых двое умерли вскоре после рождения, а третьему проводили трансфузии крови внутривенно, и он родился с признаками эритробластопении, сохранявшейся 3 мес. Авторы считают, что причиной развития *hydrops foetalis* с эритробластопенией являлись АТ, которые трансплацентарно были переданы детям матерью.

Обычно на мысль об иммунологическом генезе эритробластопении наводят случаи, когда эритробластопения осложняется АИГА или она сосуществует в контексте с другими аутоиммунными заболеваниями (СКВ, ревматоидный артрит и др.) [Banavali S. et al., 1989; Hara T. et al., 1990]. При хроническом лимфоидном лейкозе В, лейкоми-лимфоме Т, лимфомах Т и В, миеломной болезни может также наблюдаться эритробластопения [Haas O. et al., 1988; Alter R. et al., 1990; Leuschner S. et al., 1990]. В ее основе также лежит иммунологический ме-

ханизм — обнаруживаются АТ, направленные против эритробластов или же эритробластопения связана с угнетением эритропоэза Т-супрессорными клетками.

Лечение иммунной формы эритробластопении начинают с назначения глюкокортикоидов, но в случае резистентности к ним, длительной сохранности эритробластопении и трансфузионно-зависимой анемии назначают иммунодепрессивные препараты или иммуномодуляторы (циклофосфамид, АЛГ). Методом выбора лечения могут быть внутривенные введения иммуноглобулина (по 3 мг/кг в день, 3 раза), обмен плазмы [Jacobs P. et al., 1988; Vukelja S. et al., 1989]. Назначают также циклоспорин (по 3 мг/кг 2 раза в день) [Leonard E. et al., 1989]. У некоторых больных положительные результаты дает спленэктомия [Miceli-Sopo S. et al., 1990; Ozoylu S., 1992; Lee T., 1998]. В. Muller и соавт. (1998) успешно применили ТКМ 16-летней больной с аутоиммунной эритробластопенией от HLA-идентичного брата; через два года после трансплантации у девочки сохраняется ремиссия.

Прогноз зависит не столько от эритробластопении, сколько от основного заболевания, на фоне которого она возникла.

Эритробластопении, связанные с другими причинами. К этой группе относятся эритробластопении, вызванные приемом некоторых медикаментов: изониазид, дифенилгидантоин, пенициллин, D-пеницилламин, сульфаниламиды, карбамазепин, гидантоины, эстрогены, фуросемид, азотиоприн и др. Механизм их действия точно не выяснен. Высказывают предположение, что эритробластопения вызвана иммуноопосредованным действием комплекса IgG — лекарственный препарат, который ингибирует эритроидные клетки-предшественницы [Dessypri E. et al., 1985; Smith N. et al., 1989; Veale K. et al., 1992].

Имеются наблюдения о возможности развития транзиторной эритробластопении при дефиците железа, рибофлавина, болезни Кваршиоркора, но механизм ее возникновения не ясен [Alfred C. et al., 1968; Zucker J. et al., 1971]. Транзиторные эритробластопении могут наблюдаться при злокачественных новообразованиях, почечной недостаточности, ТКМ, гемотрансфузиях при несовместимости крови по системе АВ0, болезни Кастанеллена [Hanada T. et al., 1986; Tchernia G., 1995; Hattorie K. et al., 1998].

Эритробластопения при тимоме. Тимомы являются наиболее часто встречающейся опухолью верхней — передней части средостения. Интерес к ней связан с тем, что клинически она часто сочетается с тяжелой миастенией (у 47% больных), гипогаммаглобулинемией, СКВ, полимиозитом, синдромом Кушинга и различными гематологическими нарушениями [Шкроб О.С. и др., 1998; Lewis J. et al., 1987]. Среди гематологических нарушений у 50% больных с тимомой отмечается аплазия клеток эритроидного ростка в костном мозге, реже наблюдаются агранулоцитоз и тромбоцитопения. Описаны случаи, протекающие с панцитопенией [Lyonnais J., 1988].

Тимомы чаще встречается у пожилых лиц, чем у молодых, обычно является доброкачественной опухолью. У больных наблюдается аномальная реакция антителообразования в ответ на иммунизацию, у них снижен титр естественных АТ. У 1/3 больных снижено количество лимфоцитов, может наблюдаться повышенная активность Т-супрессорных клеток. Отмечается дефицит пре В- и В-лимфоцитов. В крови может быть увеличено абсолютное и относительное количество двойных положительных лимфоцитов (CD5⁺/CD19⁺-клеток), являющихся субпопуляцией В-лимфоцитов, увеличение которого является плохим прогностическим признаком [Laoutaris N. et al., 1998]. Изолированная

лейкопения с нейтропенией встречается относительно редко.

В 1928 г. А. Matras и соавт. впервые описали тимому в сочетании с анемией. С тех пор многочисленными наблюдениями подтверждена связь тимомы с эритробластопенией. Анемия при тимоме носит нормохромный нормоцитарный характер, в крови определяются единичные ретикулоциты. При исследовании клеток костного мозга в культуре число КОЕ-ГЭММ, КОЕ-Г, КОЕ-М, БОЕ-Э нормальное, но отсутствуют КОЕ-Э, что указывает на наличие блокады созревания на уровне БОЕ-Э [Laoutaris N. et al., 1998]. Прямой тест Кумбса положительный, обнаруживаются анти-ДНК АТ. Эритробластопения при тимоме связана с иммунологической супрессией эритропоэза IgG или Т-лимфоцитами, направленными против клеток-предшественниц эритроидного ростка. У больных образуется большое количество аутоАГ-специфических Т-клеток, которые могут играть роль в возникновении паранеопластических аутоиммунных заболеваний [Hoffacker V. et al., 2000].

У больных с тимомой может наблюдаться агранулоцитоз с гипогаммаглобулинемией. Очень редко встречается тимомы в сочетании с костномозговой аплазией лейкоцитарного ростка; чистая аплазия белого ростка костного мозга в сочетании с тимомой описана у 10 больных [Yip D. et al., 1996]. При агранулоцитозе в сочетании с тимомой могут быть два вида нарушений миелопоэза: чаще наблюдается задержка созревания клеток миелоидного ряда на стадии промиелоцита, реже — полное отсутствие клеток миелоидного ростка [Ackland S. et al., 1988]. У $2/3$ больных наблюдается нормальное число КОЕ-ГМ. У некоторых больных в сыворотке крови обнаруживаются IgG АТ, оказывающие ингибиторное действие на КОЕ-ГМ [Ktvitt L. et al., 1983]. К. Hartman

и соавт. (1994) считают, что IgG АТ могут угнетать пролиферацию и созревание клеток миелоидного ряда, а в некоторых случаях связываться с CD34+-клетками костного мозга, у таких больных наблюдается более тяжелая нейтропения. Эти данные указывают на то, что в основе патогенеза развития нейтропении при тимоме лежат аутоиммунные механизмы.

Лечение кортикостероидами не всегда приводит к исчезновению эритробластопении и анемии. Хирургическое удаление опухоли часто приводит к регрессии анемии, наступает ремиссия, которая может длиться несколько лет. По данным А. Di Maggio и соавт. (1998), после тимэктомии красноклеточная аплазия исчезает у 29% больных. При отсутствии эффекта от кортикостероидной терапии и тимэктомии показано лечение химиопрепаратами, назначение иммуносупрессивной терапии [Sébahou G., 1998]. Тимэктомия не всегда приводит также к исчезновению лейкопении и нейтропении. Более эффективно назначение преднизолона с циклофосфамидом. Иногда панцитопения исчезает при назначении антитимоцитарного глобулина [Firkkin F. et al., 1987], циклоспорина А [Liazon E. et al., 1998]. При наличии задержки созревания клеток миелоидного ряда на уровне промиелоцита эффективно назначение рекомбинантного человеческого КСФ-Г. При полной аплазии клеток миелоидного ряда в костном мозге спленэктомия, тимэктомия, внутривенное введение иммуноглобулина, прием циклофосфамида, метилпреднизолона, назначение рекомбинантного КСФ-Г не давали положительного гематологического эффекта. При иммуноопосредованном агранулоцитозе, наличии гранулоцито-специфических АТ положительно влияет на гемопоэз плазмаферез с последующим назначением циклофосфамида и рекомбинантного КСФ-Г [Postiglione K. et al., 1995].

ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗ

Гемофагоцитарный синдром — это генетически гетерогенное состояние, при котором наблюдается системная пролиферация гемофагоцитирующих гистиоцитов, сопровождающееся лихорадкой, цитопенией, нарушениями функций печени, нередко коагулопатией и гепато- и спленомегалией, возникновением рецидивов.

Генетические дефекты, лежащие в основе гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза, определены только частично [Dufourq-Lagelouse R. et al., 1999; Ohadi M. et al., 1999]. Установлено, что у некоторых больных с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом наблюдается мутация в гене PRF1, который кодирует образование перфорина. Лocus гена перфорина располагается на 10-й паре хромосом (10q21—22) и состоит из 3 эксонов. Перфорин является важным медиатором клеточной цитотоксичности. Он секретируется активными NK-клетками и Т-лимфоцитами. При соединении с эффекторной клеткой и клеткой-мишенью в присутствии кальция перфорин проникает через поры мембраны в клетку-мишень, где полимеризуется, тем самым вызывая цитоллиз клетки. Перфорин играет важную роль в процессе негативной регуляции противовирусного иммунитета [Agiro M. et al., 2001].

В соответствии с Международной классификацией гистиоцитозов гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз относится ко II классу, который включает в себя генетические (СГЛ) и спорадические (ВАГС) случаи [Pritchard J. et al., 1994].

Критериями диагноза гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза являются [Henter J.-I. et al., 1991; Tsuda H. et al., 1996]:

1) повышение температуры тела выше 38,5°C в течение 7 дней и более;

2) спленомегалия и(или) гепатомегалия;

3) панцитопения (содержание Hb менее 90 г/л, нейтрофилов менее $1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$);

4) гипертриглицеридемия;

5) содержание зрелых гистиоцитов в костном мозге свыше 3% или $2,5 \times 10^{12}/\text{л}$;

6) выраженный гемофагоцитоз гистиоцитов или в костном мозге, или в селезенке, или в в лимфатических узлах;

7) отсутствие признаков гипоплазии костномозгового кроветворения и неопластического процесса.

В зависимости от клинических проявлений и течения гемофагоцитарного синдрома В. Favara (1992) выделяет следующие формы заболевания:

1) спорадические;

2) ассоциированные с острой инфекцией;

3) семейные, наблюдаемые у детей;

4) сочетающиеся со злокачественными новообразованиями, иммунодефицитами и нарушениями функций лейкоцитов.

Спорадические случаи молниеносного гемофагоцитарного синдрома — это тяжелые, нередко с фатальным исходом состояния, характеризующиеся высокой температурой тела, желтухой, функциональной недостаточностью многих органов и систем, коагулопатией и гипертриглицеридемией. Они описаны у больных с бактериальной и вирусной инфекциями, при иммунодефиците, СКВ, болезни Стилла, злокачественных новообразованиях и др. [Cline M., 1994; Gill K. et al., 1994].

Гемофагоцитарный синдром может наблюдаться при многих заболеваниях. На основе клинической картины заболевания и морфологических исследований можно достаточно четко отдифференцировать гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз,

возникающий при неопластических заболеваниях, в фазе акселерации при синдроме Чедиака — Хигаси, иммунодефицитных состояниях. Трудности могут возникнуть при дифференциальной диагностике гемофагоцитарного синдрома и Х-связанного лимфопролиферативного синдрома [Loy T. et al., 1991].

Большие трудности возникают при дифференциальной диагностике СГЛ и инфекционно-ассоциированного гемофагоцитарного синдрома (ИАГС). С практической точки зрения, их выделение необходимо, поскольку эти два синдрома различаются по патогенезу, тактике лечения и исходу. Классический тип СГЛ наблюдается в младенческом возрасте, имеется четкая семейная история болезни у других детей или же ранняя смерть сиблингов с неустановленным диагнозом; при отсутствии агрессивной химиотерапии больные с СГЛ быстро умирают. Инфекционно-ассоциированный гемофагоцитарный синдром сопровождается аномальным ответом на инфекцию у иммуносупрессивных больных, и последние часто положительно реагируют на лечение.

Особые трудности при дифференциальной диагностике СГЛ и ИАГС возникают в тех случаях, когда у больного имеется вирусная инфекция. Так, J.-I. Henter и соавт. (1993) наблюдали 16 больных (у всех больных имелся семейный анамнез заболевания), у 11 из которых отмечалась вирусная инфекция с момента начала заболевания. С другой стороны, в оригинальной работе R. Risdall и соавт. (1979), впервые описавших ВАГС у 19 больных, у 4 из них не было вирусной инфекции. На сегодняшний день идентифицировать СГЛ у всех больных на основе молекулярного анализа с достоверностью нет возможности, поэтому на современном этапе Международное общество по изучению гистиоцитозов рекоменду-

ет любого ребенка младенческого возраста с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом при отсутствии предрасполагающих условий (опухоль, иммунодефицит и др.) рассматривать как больного, страдающего СГЛ. Эти рекомендации основаны на анализе заболеваний, проведенных W. Hirst и соавт. (1994).

СЕМЕЙНЫЙ ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗ

СГЛ — это аутосомно-рецессивно генетически наследуемое заболевание, характеризующееся лихорадкой, гепато- и спленомегалией, поражением ЦНС и панцитопенией [Stefani J. et al., 1995; Agico M. et al., 1996]. У 50% больных имеется семейный характер, и у 15% больных родители были кровными родственниками [Goulden N. et al., 1995].

Заболевание впервые описано J. Farquhar и соавт. в 1952 г. под названием «семейный гемофагоцитарный ретикулез» у двоих детей сиблингов в возрасте 9 мес. В 1958 г. эти же авторы описали еще одного ребенка в этой же семье с аналогичной клинико-лабораторной картиной заболевания. Все дети вскоре после появления симптомов умерли. Описаны множество подобных случаев под различными названиями: генерализованная гистиоцитарная инфильтрация [Nelson P. et al., 1961], СГЛ [Stark B. et al., 1984], СГЛ [Geninek A. et al., 1984; Wieszorek R. et al., 1986], семейный гистиоцитарный ретикулез [Varrian V. et al., 1963], семейный лимфогистиоцитоз [Mazziconaci P. et al., 1965], семейный гистиоцитоз [Frisell E. et al., 1977].

При патогистологическом исследовании определяется диффузная инфильтрация лимфоцитами и гистиоцитами печени, селезенки, лимфати-

ческих узлов, костного мозга, ЦНС, и практически не существует ни одного не затронутого этим процессом органа. Инфильтрация более всего выражена в интерстициальном и периваскулярном пространствах, архитектура органов сохранена, хотя могут быть участки некроза клеток [Shapiro D. et al., 1981; Spasov V. et al., 1993].

В печени инфильтраты, состоящие из лимфоцитов и гистиоцитов, располагаются в окружности воротной и центральных вен с распространением на синусоиды. Селезенка громадных размеров, синусы расширены и содержат большое количество фагоцитирующих макрофагов. В печени и селезенке часто отмечаются признаки экстремедуллярного кроветворения [Ngendahayo P. et al., 1982]. Увеличение лимфатических узлов встречается относительно редко, но всегда отмечается лимфогистиоцитарная инфильтрация, эритрофагоцитоз. Другим важным признаком является атрофия лимфоидной ткани. Уменьшение количества лимфоидных клеток отмечается в селезенке, паракортикальном слое лимфатических узлов, наблюдаются маленькие, нечеткие лимфоидные фолликулы с потерей зародышевых центров [Coz-dier M. et al., 1981; Labbe A. et al., 1982]. Лимфогистиоцитарные инфильтраты определяются в мягкой мозговой оболочке и в периваскулярных пространствах головного мозга [Miller C. et al., 1981].

Исходя из гистологической картины СГЛ, G.Janka (1983) считает, что гистиоцитоз носит реактивный характер. Об этом свидетельствуют исследования R.Wieszorek и соавт. (1986), которые выделяют две линии гистиоцитарных элементов — дендритические (нефагоцитирующие Т-клетки) и клетки СМФ. При СГЛ пролиферирующие гистиоциты по своему иммунофенотипу и ультраструктуре являются зрелыми, нор-

мально располагающимися в синусах доброкачественных и реактивных лимфатических узлов. R.Wieszorek и соавт. (1986) указывают на то, что при СГЛ имеется неконтролируемая пролиферация синусоидальных гистиоцитов, причина которой не ясна. Клетки СМФ не содержат S-протеин, в них определяется лизоцим и α_1 -антихимотрипсин; при цитохимическом исследовании выявляется кислая фосфатаза, лизоцим, неспецифическая эстераза.

J.-D.Beck и соавт. (1977), N.Rascio и соавт. (1984), основываясь на данных гистологических исследований (лимфоидная атрофия, гистиоцитарная инфильтрация с гемофагоцитозом), высказывают предположение, что это болезнь «трансплантат против хозяина», и что последняя обусловлена внутриутробной передачей лимфоцитов от матери плоду. Однако эта точка зрения не подтверждается, так как при СГЛ не выявлен химеризм лимфоцитов [Stark B. et al., 1984].

Исследованиями последних лет было установлено, что у больных с СГЛ отмечается гиперцитокинемия (ФНО α , ИФ γ , ИЛ-6), отмечается неконтролируемая активация Т-лимфоцитов и макрофагов. У больных цитотоксическая активность Т-лимфоцитов и NK-клеток отсутствует или же она резко подавлена, она может быть угнетена у родственников больных [Sullivan K. et al., 1998]. Болезнь тесно связана с двумя локусами СГЛ, находящимися на хромосомах 9 (9q21.3—22, FHL1) и 10 (10q21—22, FHL2), чем и объясняется генетическая гетерогенность заболевания [Ohadi M. et al., 1999; Graham G. et al., 2000]. При СГЛ у больных отмечается мутация гена перфорина, располагающегося на участке 10-й пары хромосом (10q21—22). Вследствие наличия мутации гена перфорина лимфоциты больных обладают дефектной цитотоксической

активностью, так как в них либо полностью отсутствует перфорин, либо он содержится в небольшом количестве в гранулах [Dufourq-Lageouse R. et al., 1999; Stepp S. et al., 1999]. По данным К. Ericson и соавт. (2001), обследовавших больных из 34 семей, мутации в гене FHL2 отмечены у 20% больных, а в локусе FHL1 на хромосомах 9 — у 10%. Авторы указывают, что нет корреляции между типом мутации гена и фенотипом больных.

Представляет большой научно-практический интерес исследование М. Agico и соавт. (2001), проведенные у 25 больных с СГЛ. Авторы изучали наличие у больных мутации в гене SH2D1A (син.— SAP, DSHP), который является геном X-связанного лимфопролиферативного заболевания (XLP) и который дефектен при этой болезни. XLP является иммунодефицитным состоянием, характеризующимся высокой чувствительностью к ВЭБ. Под влиянием последнего у больных с XLP развиваются молниеносная форма ИМ, злокачественная лимфома и гипогаммаглобулинемия. На основании генетических исследований, авторы установили, что у 16% больных с СГЛ имело место нераспознанное X-связанное лимфопролиферативное заболевание. Локус гена XLP располагается на хромосоме X (Xq25); частота XLP составляет 1 случай на 1 млн родившихся мальчиков [Vihinen M. et al., 2001].

Клинические проявления СГЛ у $\frac{2}{3}$ больных возникают в течение первого полугодия жизни, а у 77% — на первом году жизни. Мальчики болеют несколько чаще, чем девочки. У некоторых детей симптомы болезни появляются вскоре после рождения. Обычно первым признаком СГЛ является лихорадка, сопровождающаяся инфекцией верхних дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта. В этот же период определя-

ется гепато- и спленомегалия. Отмечаются бледность кожи, анорексия, рвота, вялость; умеренное увеличение лимфатических узлов наблюдается у 30% больных. Иногда отмечаются неврологические симптомы в виде судорог, геморрагический синдром. У ряда детей могут быть желтуха, сыпь.

У большинства больных с момента клинических проявлений СГЛ отмечаются нормохромная, нормоцитарная анемия с адекватным содержанием ретикулоцитов, тромбоцитопения. Лейкопения отмечается у 39% детей, лейкоцитоз — у 15%. У большинства больных определяются абсолютная нейтропения (менее $1 \times 10^9/л$), абсолютный лимфоцитоз, атипичные крупные лимфоциты с резко базофильной цитоплазмой; гистиоциты в периферической крови обычно не встречаются.

В костномозговом пунктате число ядерных элементов нормальное или повышенное, хотя описаны единичные больные с гипоплазией всех трех ростков кроветворения. Миелоидный росток несколько сужен, отмечается сдвиг влево с задержкой созревания на стадии миелоцитов. Содержание клеток эритроидного ростка повышено, иногда встречаются мегалобластоподобные элементы. Число мегакариоцитов обычно нормальное, но имеется сдвиг влево, снижен процесс тромбоцитобразования. Редко, но может быть увеличено содержание лимфоцитов и лимфобластов. В начальном периоде болезни у $\frac{1}{3}$ больных повышено содержание гистиоцитов с эритрофагоцитозом; на последующих стадиях заболевания гистиоцитарная инфильтрация более выражена, наблюдается фагоцитоз Эр, тромбоцитов и лимфоцитов. Однако гемофагоцитоз в костном мозге может выявляться очагово, поэтому в таких случаях для уточнения диагноза следует прибегать к изучению биоптата костного мозга.

К моменту установления диагноза у 73% больных наблюдаются признаки поражения нервной системы — судороги, признаки повышения внутричерепного давления, опистотонус. При исследовании спинномозговой жидкости наблюдаются протеиноракия, гликорахия, плеоцитоз за счет лимфоцитов, иногда определяются гистиоциты. По мере развития процесса появляется очаговая симптоматика, атаксия, кома и др. [Haddad E. et al., 1997].

Вовлечение в процесс мягкой мозговой оболочки отмечается в ранней стадии заболевания в виде периваскулярной лимфогистиоцитарной инфильтрации. В более поздние стадии болезни вовлекается паренхима, может наблюдаться очаговая лейкомаляция с кальцификацией в мозжечковой области. При компьютерной томографии головного мозга выявляется уменьшение соотношения N-ацетиласпартат/креатинин с одновременным уменьшением числа нейронов [Kollias S. et al., 1994].

При биохимическом исследовании крови выявляются изменения функциональных проб печени (билирубинемия, гипопротейнемия, гипоальбуминемия, повышение активности аминотрансфераз), липидемия. У 90% детей наблюдаются выраженная гипертриглицеридемия и гиперхолестеринемия; возможно, что нарушения липидного обмена связаны со снижением активности липопротеиновой липазы [Favara B. et al., 1991; Henter J.-I. et al., 1991]. Нарушения в иммунном ответе и липидном метаболизме влияют на клиническое течение болезни [Tsuda H. et al., 1996].

Одним из характерных признаков СГЛ является гипофибриногенемия, наблюдаемая у 74% детей [Janka G. et al., 1983]. D. Devictor (1979) полагает, что при СГЛ отмечается повышенная секреция активатора плазминогена, что ускоряет превращение

последнего в плазмин, который расщепляет фибриноген. Отсутствие продуктов деградации фибрина обусловлено их фагоцитозом клетками СМФ [McClure P. et al., 1974]. По данным Y. Usuda и соавт. (1997), ДВС крови отмечается у 72,7% больных с СГЛ.

В зависимости от клинических проявлений и течения болезни B. Stark и соавт. (1984) выделяют 3 типа СГЛ:

1) молниеносный тип составляет 45% от общего числа наблюдений, характеризуется лихорадкой, гепато- и спленомегалией, иногда признаками поражения ЦНС, панцитопенией; проводимая терапия не влияет на течение болезни, заболевание молниеносно прогрессирует и заканчивается смертью ребенка в течение 1 мес;

2) подострый тип встречается у 40% больных; он имеет те же признаки болезни, что и предыдущий тип, но при лечении у больных всегда наступает ремиссия, иногда спонтанно, но она непродолжительна (несколько недель), и длительность заболевания составляет от 1 до 6 мес;

3) хронический тип наблюдается у 15% детей, обычно более старшего возраста, у которых наступает ремиссия, длящаяся от нескольких месяцев до нескольких лет.

Лечение СГЛ малоуспешно, так как около 40% больных умирают в течение 1 мес от начала заболевания, 60% — в течение 2 мес, 86% — в течение 6 мес и 96% — в течение одного года [Janka G., 1983]. Используют различные методы и средства. По данным S. Ladisch и соавт. (1982), при лечении кортикостероидами улучшение наблюдалось у 43% больных. Из 17 детей, которым проводили спленэктомию, клинико-гематологическое улучшение наступило у 9; 1 ребенок живет 8 лет. Назначают также обменные трансфузии плазмы и (или) крови. Обоснованием этого

метода лечения явилось то обстоятельство, что у больных в плазме крови присутствует аномальный фактор с иммуносупрессивной активностью. У некоторых детей удалось достичь клинического и иммунологического улучшения. У некоторых больных эффект наступает от использования вибластина в сочетании с преднизолоном. При поражении мозговых оболочек эффективно интралиомбальное введение метотрексата.

В последние годы для индукции ремиссии используют VP16 и VM26 в сочетании с высокими дозами кортикостероидов и интралиомбальным введением метотрексата. После такого лечения у большинства больных исчезают повышенная температура тела и органомегалия [Nepster J.-I. et al., 1993; Haddad E. et al., 1997]. Хотя у большинства больных после такой индукционной терапии наступает ремиссия, у многих из них раньше или позже наступает рецидив несмотря на противорецидивную терапию этими же препаратами [Ware R. et al., 1990].

Поскольку в активной фазе заболевания повышено число активированных Т-клеток и увеличено в крови содержание растворимой формы рецептора ИЛ-2, то привлекает внимание назначение иммуносупрессивной терапии. J.Stephan и соавт. (1993) для индукции ремиссии применяли 5-дневный курс антигематопоэтического глобулина в сочетании с кортикостероидами и циклоспорином у 6 больных. У 5 из 6 больных наступила ремиссия; в качестве противорецидивной терапии авторы назначали циклоспорин. В.Lochelet и соавт. (1994) рекомендуют использовать циклоспорин для противорецидивного лечения.

Хотя лечение кортикостероидами, циклоспорином и этопозидом может приводить к стабилизации процесса, тем не менее 5-летняя выживаемость наблюдается только у

10% больных; дефект цитотоксичности Т-клеток сохраняется, т. е. полного выздоровления нет [Ericson K. et al., 2001]. У большинства больных наступает рецидив и редко наблюдаются длительные ремиссии, поэтому единственным радикальным методом излечения больных с СГЛ являются трансплантации аллогенного костного мозга или стволовых клеток [Jabado N. et al., 1997; Dürken M. et al., 1999; Zipursky A., 2001]. По данным А.Филарович (1997), из 122 больных, лечившихся химиотерапевтическими средствами, только у 10% выживаемость составляет 6 мес, а при применении ТКМ 6-месячная выживаемость наблюдалась у 66% больных, а 30-месячная — у 40%. По мнению автора, если ТКМ проведена в активную фазу болезни, то 3-летняя выживаемость наблюдалась у 7% больных, а если в период ремиссии — то у 53% больных. М.Dürken и соавт. (1998) применили ТКМ 12 детям, и у всех из них наступила ремиссия, сохраняющаяся 6—70 мес, в среднем 19,5 мес. По данным К.Вакер и соавт. (1997), после ТКМ 3-летняя выживаемость составляет 45%.

Поскольку у больных часто нарушается функция печени, а у некоторых из них развивается печеночно-почечная недостаточность, приводящая больного к смерти, то наряду с ТКМ и аллогенными трансплантациями гемопоэтических стволовых клеток, применяют ортотопическую пересадку печени [Reding R. et al., 1999; Matthes-Martin S. et al., 2000]. Такая тактика дает возможность добиться полного выздоровления больного с восстановлением цитотоксичности Т-лимфоцитов.

Таким образом, СГЛ является тяжелым заболеванием, прогноз которого во многом зависит от своевременного его распознавания и интенсивного лечения, включая иммуносупрессивную терапию, ТКМ и ортотопическую пересадку печени.

РЕАКТИВНЫЙ, ИНФЕКЦИОННО- АССОЦИИРОВАННЫЙ ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ СИНДРОМ

Реактивный (не семейный) гемофагоцитарный синдром (РГС) часто сопровождается вирусной инфекцией, и его называют ВАГС. Как указывают J.-I.Henter и соавт. (1991), нет убедительных клинических, лабораторных и гистопатологических признаков, позволяющих различить СЛГ и ВАГС, за исключением наличия семейного анамнеза заболевания и младенческого возраста больных с СЛГ. Вместе с тем реактивный (не семейный) гемофагоцитарный синдром наблюдается не только при вирусных инфекциях, но и при бактериальной, грибковой, микобактериальной, риккетсиозной и других инфекциях, а также при иммунодефицитных, опухолевых и других заболеваниях.

В 1975 г. P.Chandra и соавт. описали больного с транзиторным гемофагоцитарным гистиоцитозом. В

1979 г. R.Risdall и соавт., на основании изучения историй болезни 19 больных, подробно охарактеризовали клинико-лабораторные данные о синдроме, при котором отмечалась выраженная би- или панцитопения, пролиферация не малигнизированных гистиоцитов с выраженной их гемофагоцитарной активностью в костном мозге, лимфатических узлах, печени и селезенке. Авторы назвали это заболевание «вирус-ассоциированным гемофагоцитарным синдромом с доброкачественной пролиферацией гистиоцитов», так как у большинства больных синдрому предшествовали вирусные заболевания. В последующем спектр заболеваний, при которых может наблюдаться доброкачественная пролиферация гемофагоцитирующих гистиоцитов, был значительно расширен и включает в себя не только иммунодефицитных больных, но и больных с различными патологическими состояниями, в том числе инфекционными и паразитарными заболеваниями, злокачественными, болезнями кроветворной и других систем (табл. 23).

ТАБЛИЦА 23. Патологические состояния, при которых наблюдается реактивный гемофагоцитарный синдром

| Патологическое состояние | Авторы |
|--------------------------|---|
| Инфекция: | |
| Вирусная: | |
| ЦМВ | R.Risdall и соавт., 1979; A.Reiner и соавт., 1988 |
| Herpes simplex | E.Jaffet и соавт., 1983; A.Reiner и соавт., 1988 |
| ВЭБ | K.Kaito и соавт., 1997; E.Estlin и соавт., 1996 |
| Herpes zoster | R.Risdall и соавт., 1979; P.Close и соавт., 1990 |
| Аденовирус | J.Sullivan, 1987; McKlaine и соавт., 1988 |
| Парвовирус B19 | T.Smith и соавт., 1995; H.Tsuda и соавт., 1996 |
| Вирус инфлюэнцы | H.Tsuda и соавт., 1996 |
| Вирус гепатита С | D.Bobev и соавт., 1993 |
| Бактериальная: | |
| E. coli | M.Procimer и соавт., 1985; M.Uden и соавт., 1986 |
| Nemophilus endocarditis | A.Reiner и соавт., 1988 |
| Пневмококкоз | R.Risdall и соавт., 1979 |
| Стафилококкоз | E.Jaffet и соавт., 1983 |
| Бруцеллез | G.Kokkin и соавт., 1984 |
| Сальмонеллез | M.Udden и соавт., 1986; J.Chan и соавт., 1987 |

| Патологическое состояние | Авторы |
|--|--|
| Микозы: | |
| Микоплазмоз | K. Gill и соавт., 1987 |
| Гистоплазмоз | A. Reiner и соавт., 1988; P. Koduri и соавт., 1995 |
| Кандидоз | A. Manoharan и соавт., 1982 |
| Криптококкоз | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Микобактериальная: | |
| Туберкулез | E. Campo и соавт., 1986; P. Koduri и соавт., 1995 |
| Риккетсии: | |
| Лихорадка Q | Z. Estrov и соавт., 1984 |
| Паразитарные, простейшие: | |
| Бабезиоз | M. Auerbach и соавт., 1986; P. Gupta и соавт., 1995 |
| Лейшманиоз | Y. Matzner и соавт., 1979 |
| Шистозоматоз | R. Warnke и соавт., 1975 |
| Pneumocystis carinii | P. Koduri и соавт., 1995 |
| Иммунодефицитные состояния: | |
| Иммунодепрессивная или цитотоксическая терапия | R. Risdall и соавт., 1984; A. Reiner и соавт., 1983 |
| Синдром Чедиака — Хигаси | A. A. Macchan и соавт., 1997 |
| Спленэктомия | A. Monaharan и соавт., 1982; R. Risdall и соавт., 1984 |
| СПИД | A. Reiner и соавт., 1988; P. Koduri и соавт., 1995 |
| X-связанный лимфопролиферативный синдром | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Алкоголизм | R. Risdall и соавт., 1984; A. Reiner и соавт., 1988 |
| Трансплантация почек | R. Risdall и соавт., 1979 |
| Иммуноопосредованные заболевания: | |
| СКВ | A. Reiner и соавт., 1988; K. Kaito и соавт., 1997 |
| Ревматоидный артрит | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Саркоидоз | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Болезнь Крона | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Опухолевые заболевания: | |
| Острый лимфобластный лейкоз | R. Liang и соавт., 1987; N. Takasaki и соавт., 1987 |
| Острый нелимфобластный лейкоз | C. Chane и соавт., 1989; K. Kaito и соавт., 1997 |
| Т-клеточная лимфома | C. Ng и соавт., 1986; B. Falini и соавт., 1990 |
| В-клеточная лимфома | M. Rubin и соавт., 1984; A. Reiner и соавт., 1988 |
| Хронический лимфоидный лейкоз | A. Manoharan и соавт., 1981 |
| Злокачественный гистиоцитоз | T. Hanada и соавт., 1989 |
| Гистиоцитарная лимфома | E. Estlin и соавт., 1996 |
| Ангиоцентрическая лимфома | B. Kueck и соавт., 1989 |
| Болезнь Ходжкина | L. Korman и соавт., 1979 |
| Миеломная болезнь | K. Kaito и соавт., 1997 |
| Волосатоклеточный лейкоз | A. Manoharan и соавт., 1982 |
| Метастазы рака | A. Reiner и соавт., 1988; K. Kaito и соавт., 1997 |
| Другие состояния: | |
| Мелодиспластический синдром | G. Tchernia и соавт., 1989; K. Kaito и соавт., 1997 |
| Подострый бактериальный эндокардит | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Синдром Эванса | F. de la Serna и соавт., 1989 |
| Реакции на лекарственные препараты | A. Reiner и соавт., 1988 |
| Болезнь Стилла | C. Baldoni и соавт., 1997; K. Kaito и соавт., 1997 |
| Синдром Омена | D. Bobev и соавт., 1993 |
| ХПН | K. Kaito и соавт., 1997 |
| Цирроз печени | K. Kaito и соавт., 1997 |
| Болезнь Kikuchi | U. Mahadeva и соавт., 2000 |

Истинная частота РГС неизвестна. По данным John Hopkins Hospital, из общего числа поступивших больных, которым по тем или иным причинам исследовалась миелограмма, РГС был выявлен у 0,8% больных, в 2 раза чаще у мужчин, чем у женщин. Y.Kwak и соавт. (1998) за 15 лет наблюдали 76 больных с ВАГС. D.Bohev и соавт. (1993) за период с 1974 по 1992 г. наблюдали 75 детей с гистиоцитарным синдромом, в том числе ВАГС отмечен у 6.

Клинические признаки инфекционно-ассоциированного синдрома (ИАГС) характеризуются повышением температуры тела, слабостью, недомоганием, отсутствием аппетита, ознобом и потливостью, снижением массы тела, головной болью и миалгией, редко наблюдается кровоточивость. Иногда определяются сыпь на теле, генерализованная лимфоаденопатия, увеличение печени и селезенки; последняя чаще увеличена у детей, чем у взрослых [Koduri P. et al., 1995]. Клинические проявления ИАГС разнообразны, и нет патогномоничных клинических признаков заболевания, клиническая симптоматология определяется в основном симптомами инфекционного заболевания, вызвавших ИАГС [Mehta N. et al., 2000].

При исследовании крови у 63—90% больных определяется панцитопения. Анемия наблюдается у 73—100% больных, лейкопения с нейтропенией — у 73—90%, а тромбоцитопения — у 75—100% больных. У 43—65% больных определяется абсолютная нейтропения, а у 47—96% — абсолютная лимфоцитопения. У 22% больных в периферической крови выявляются гемофагоцитирующие гистиоциты и(или) атипичные вакуолизированные моноциты.

При изучении пунктатов и биоптатов костного мозга характерным признаком является наличие гемофагоцитирующих гистиоцитов. В зави-

симости от числа гистиоцитов и их фагоцитарной активности A.Reiner и соавт. (1988) выделяют 4 степени: 0—I — гемофагоцитирующие гистиоциты отсутствуют или встречаются редко; II—IV — большое число гемофагоцитирующих гистиоцитов, так что установление диагноза РГС не представляет трудности.

Следует помнить о том, что не всегда результаты изучения пунктатов костного мозга совпадают с данными при изучении биоптатов. По данным A.Reiner и соавт. (1988), у каждого второго больного с РГС в биоптате костного мозга определялось повышенное число гистиоцитов, но только у 20% из них определялись гемофагоцитирующие гистиоциты. Могут отмечаться изменения архитектоники костного мозга, явления миелофиброза. Нередко отмечаются расхождения данных при изучении пунктата и биоптата костного мозга. Так, иногда при исследовании пунктата костного мозга определяется типичная картина гемофагоцитарного синдрома, но при исследовании биоптата может выявляться Т- или В-клеточная лимфома и другие состояния. Эти возможные расхождения при изучении пунктата и биоптата костного мозга диктуют необходимость обязательного исследования костного мозга методами аспирации и трепанобиопсии [Mac-heta M. et al., 2001].

При гистологическом исследовании различных органов и тканей обнаруживается повышенное количество цитологически доброкачественных гистиоцитов с выраженным фагоцитозом. В лимфатических узлах инфильтрация гистиоцитами отмечается в синусоидах и мозговом веществе, реже в кортикальной и паракортикальных областях. Инфильтрация гистиоцитами может определяться в красной пульпе селезенки, в синусоидах и по ходу портального тракта в печени [Christensson B. et

al., 1987]. Характерным признаком ИАГС является уменьшение количества лимфоцитов в зародышевых центрах лимфатических узлов и в белом веществе селезенки. Эта лимфоцитарная гипоплазия обычно сочетается с асептическим некрозом и наблюдается у больных с тяжелой инфекцией, например вызванной ВЭБ [Reisman R. et al., 1984; Ezdinli E et al., 1986]. В. Christensson и соавт. (1987) указывают, что при ВЭБ-ассоциированном гемофагоцитарном синдроме может отмечаться диффузная атипичная лимфоидная инфильтрация, состоящая из лимфоцитов, плазматических клеток и иммунобластов, в костном мозге, лимфатических узлах, печени, легких, селезенке. По данным R. Risdall и соавт. (1979), структура лимфатических узлов не изменена, однако A. Reiner и соавт. (1988) указывают, что у некоторых больных с ИАГС структура лимфатических узлов была стертой, имелись выраженные фиброзные изменения в лимфатических узлах, печени и селезенке. В печени, помимо синусоидальной и перипортальной инфильтрации гемофагоцитирующими гистиоцитами, могут обнаруживаться некротические участки, признаки неспецифического гепатита [Matzner Y. et al., 1979; Wilson E et al., 1981]. Гемофагоцитирующие гистиоциты могут обнаруживаться в тканях сердца, надпочечников, ЦНС, почек, желудка, матки [Campro E. et al., 1986].

Хотя признаки РГС хорошо известны, патофизиологические механизмы, лежащие в его основе, не совсем ясны. Выраженное снижение в периферической крови содержания форменных элементов вызвано различными этиологическими факторами, и гемофагоцитоз является одним из них. В костном мозге снижено содержание клеток-предшественниц всех трех ростков гемопоэза. Несомненно, наряду с усиленной деструкцией клеток путем их фагоцитоза, в

развитии цитопении важная роль принадлежит угнетению пролиферации клеток-предшественниц гемопоэза вследствие повышенной активности ингибиторных цитокинов (ИФУ ИЛ-1, ФНО) и уменьшения образования КСФ [Murphy M. et al., 1986; Broxmeyer H. et al., 1986; Schooley J. et al., 1987]. В сыворотке крови больных также увеличено содержание растворимой формы Fas-лиганда (в среднем в 25 раз по сравнению с нормой), повышение которого происходит параллельно с увеличением содержания ИФУ. Fas-лиганд — это мембранный белок, который экспрессирован на активированных Т-лимфоцитах и NK-клетках, и прикрепление его к клетке-мишени вызывает апоптоз последней [Hasegawa D. et al., 1997]. В развитии цитопении не менее важное значение имеет и изменение соотношения клеток CD4/CD8, которое часто наблюдается при вирусных инфекциях.

Почему при инфекционных, неопластических и других заболеваниях у одних больных возникает РГС, а у других нет, остается неясным. Однако поскольку у большинства больных этой группы имеются приобретенные иммунологические нарушения, это заставляет полагать, что в основе реактивного гистиоцитоза лежат изменения иммунной регуляции, в частности имеет значение нарушение образования цитокинов. Так, E. Jaffee и соавт. (1983) предполагают, что возникновение гемофагоцитарного синдрома у больных Т-клеточной лимфомой является следствием секретирования неопластическими Т-клетками цитокина, активирующего макрофаги. Известно, что другие цитокины, в частности ИФУ, способны не только угнетать гемопоэз, но и активировать макрофаги; КСФ-ГМ также обладает способностью активировать макрофаги [Reed S. et al., 1987; Weiser W. et al., 1987].

G. Palumbo и соавт. (1997) установили, что у больных с неходжкинской лимфомой наблюдается несбалансированная продукция Th1/Th2-цитокинов — отмечалось образование Т-хелпер 1 (Th1)-подобных цитокинов (ИЛ-2, ИФγ и ФНОβ), но полностью отсутствовала экспрессия Th2-подобных цитокинов (ИЛ-5, ИЛ-10). Кроме того, отмечалась экспрессия мРНК ИЛ-3, ФНОα и ингибиторного фактора лейкемии (ИФЛ). Таким образом, при РС лимфоциты больных подвержены цитокиновому «взрыву», что приводит к дисбалансу иммунной системы. ИФγ, известный как фактор, активирующий макрофаги, может играть главную патогенетическую роль в развитии гемофагоцитарного синдрома, так как он, наряду с КСФ-М, определяется в большом количестве у больных с гемофагоцитарным синдромом и может активировать макрофаги путем увеличения экспрессии HLA-II на этих клетках. Кроме того, ИФγ может индуцировать эндогенную продукцию ФНОα, который играет роль ко-стимулятора в активации макрофагов. ФНОα вместе с ИЛ-1, главным источником которого являются макрофаги, могут стимулировать ИФЛ; последний вместе с ФНОα может быть ответствен за развитие кахексии у больных, а ИЛ-1 может быть ответствен за развитие температурной реакции у больных, действуя как пироген. ИФγ, ФНОα и ФНОβ также способствуют угнетению гемопоэза, внося свой вклад в развитие панцитопении.

Исходя из изложенного, очевидно, что при РС имеется дисбаланс в продукции Th1/Th2-цитокинов, у больных отсутствует экспрессия Th2-цитокинов, которые могли бы быть противовесом активации Th1-клеток.

Реакция Th1- и Th2-клеток определяется балансом ИЛ-12 и ИЛ-4 [Jones D. et al., 1994]. ИЛ-12 образуется главным образом В-клетками и

макрофагами после воздействия на них бактерий или же их продуктов. ИЛ-12 способствует дифференциации Th₀-клеток в Th1-клетки, индуцирует образование последними Th1-цитокинов и активирует НК-клетки. Образовавшийся ИФγ стимулирует дальнейшую выработку ИЛ-12 моноцитами-макрофагами, и этим объясняется высокое содержание ИЛ-12 в плазме крови больных РС [Abbasi O. et al., 1993].

При гемофагоцитарном синдроме у больных увеличено содержание в плазме крови ИЛ-10, который образуется активированными В-лимфоцитами, Th1- и Th2-клетками, моноцитами-макрофагами. Содержание ИЛ-10 в плазме крови больных коррелирует с содержанием ИФγ. ИЛ-10 угнетает синтез Th1-цитокинов (ИФγ, ИЛ-2 и ФНОα), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и КСФ-ГМ [Luscincas F. et al., 1995; Sornasse T. et al., 1996]. Цитокины воспаления (ИЛ-1, ФНОα, ИЛ-6, ИЛ-8), образовавшиеся вследствие активации моноцитов-макрофагов интерфероном-γ, могут способствовать выделению из клеток эндотелия кровеносных сосудов прокоагулянта, чем объясняются причины развития ДВС крови у больных [Jones D. et al., 1996]. Напротив, ИЛ-4, образовавшийся Th2-хелперными клетками, как и ИЛ-10, угнетает секрецию ИЛ-10 моноцитами-макрофагами, но он не определяется у больных с гемофагоцитарным синдромом.

Y. Osugi и соавт. (1997) высказывают гипотезу о взаимосвязи цитокинов и их роли в патогенезе развития гемофагоцитарного синдрома (схема 16). Стимулированные патогенами Th1-клетки секретируют ИЛ-2 и ИФγ; последний индуцирует макрофаги к выработке ИЛ-1, ИЛ-10, ИЛ-12 и ФНОα. ИЛ-1 активирует Т-лимфоциты и вызывает образование ИЛ-2. ИЛ-10 образуется Th1- и Th2-клетками, но, по-видимому, главным образом Th1-клетками, так

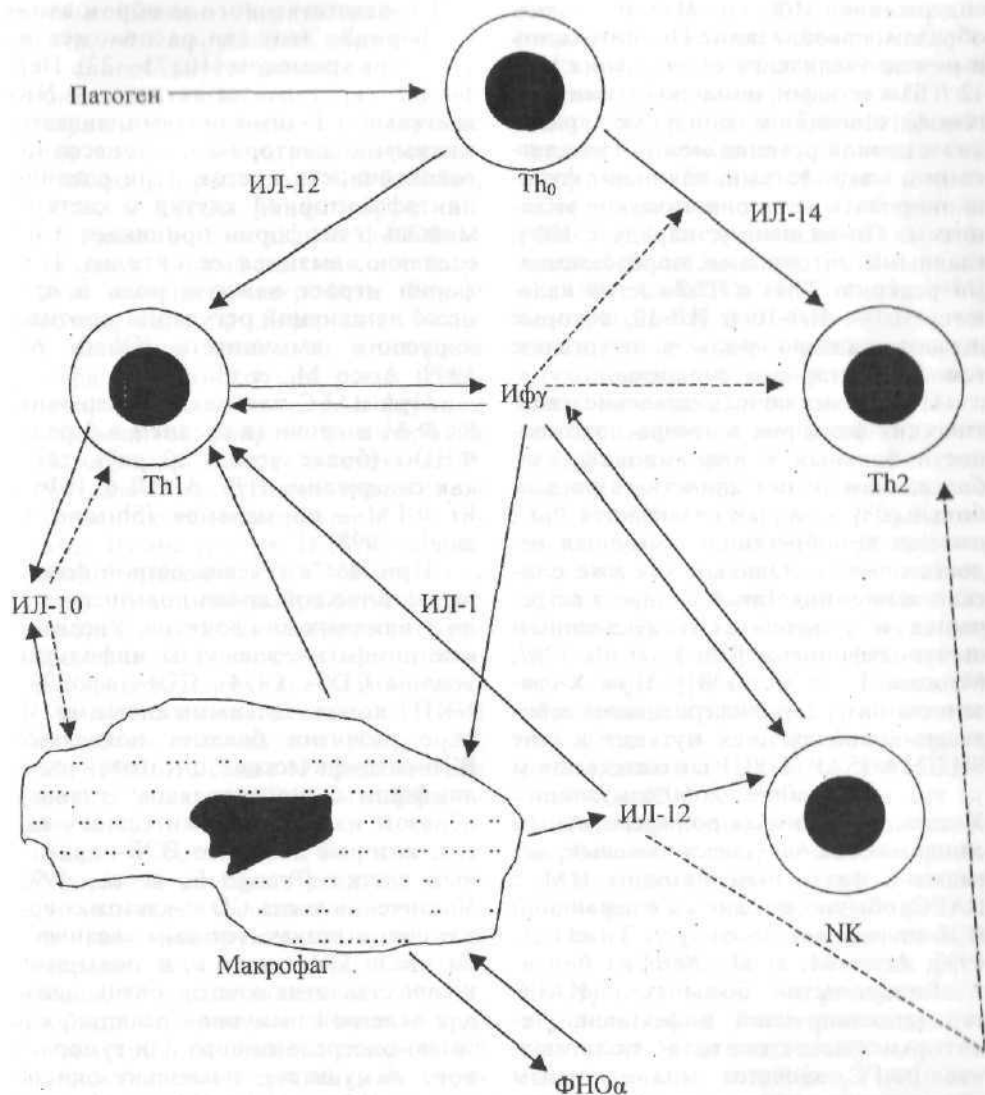


Схема 16. ВЗАИМОСВЯЗЬ ЦИТОКИНОВ, ОПОСРЕДОВАННАЯ ТН1- И ТН2-КЛЕТКАМИ, МАКРОФАГАМИ И НК-КЛЕТКАМИ ПРИ ГЕМОФАГОЦИТАРНОМ СИНДРОМЕ.

Сплошная линия — стимулирующий и секреторный эффект; прерывистая линия — ингибирующий эффект.

как эти клетки активированы при гемофагоцитарном синдроме, а ИЛ-4, главным источником образования которого являются Th2-клетки, в плазме крови не определяется. ИЛ-10

ингибирует Th1-клетки и образование ими цитокинов и отрицательно регулирует образование ИЛ-1-макрофагами, следствием чего является снижение содержания в плазме крови

содержания ИФγ и ИЛ-10. Таким образом, преобладание Th1-цитокинов и резкое увеличение образования ИЛ-12 Th1-клетками и макрофагами при гемофагоцитарном синдроме приводит к цепной реакции между Th1-клетками и макрофагами, начинают функционировать антагонистические механизмы. По-видимому, наряду с ИФγ, главными цитокинами, определяющими реакцию Th1- и Th2-клеток являются ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-12, которые играют важную роль в патогенезе гемофагоцитарного синдрома.

Нельзя исключить значение генетических факторов в предрасположенности больных к инфекционным заболеваниям. У большинства взрослых больных, у которых развивается РГС, имеется приобретенная иммунная недостаточность. Однако, как уже описано выше, подобный синдром встречается и у детей с наследственным иммунодефицитом [Ishi E. et al., 1987; Mroczek E. et al., 1987]. При X-связанном лимфопролиферативном заболевании наблюдается мутация в гене SH2D1A (SAP, DSHP), ответственном за это заболевание. У 60% мужчин с X-связанным лимфопролиферативным синдромом наблюдается тяжелый, нередко с фатальным исходом ИМ с ВАГС, обычно связанным с первичной ВЭБ-инфекцией [Seemayer T. et al., 1995; Arico M. et al., 2001].

Большинство больных с ИАГС страдают вирусной инфекцией. Некоторые исследователи полагают, что ВАГС является молниеносным прямым ответом на вирусную инфекцию, а другие считают, что вирус запускает неконтролируемую пролиферацию гистиоцитов у людей, у которых нарушен клеточный регуляторный иммунный механизм.

К настоящему времени только частично выяснены генетические механизмы, лежащие в основе гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза. Было установлено, что у некоторых больных отмечается мутация в гене

PRF1, ответственного за образование перфорина. Этот ген расположен на 10-й паре хромосом (10q21—22). Перфорин секретируется активными НК-клетками и Т-лимфоцитами, является важным медиатором в процессе цитотоксичности клеток. При соединении эффекторной клетки с клеткой-мишенью перфорин проникает в последнюю, вызывая ее цитоллиз. Перфорин играет важную роль в процессе негативной регуляции противовирусного иммунитета [Ohadi M., 1999; Arico M. et al., 2001].

При ВАГС повышено содержание КСФ-М в крови (в среднем в 3 раза), ФНОα (более чем в 20 раз), тогда как содержание ИЛ-1β, ИЛ-6, ИФγ и КСФ-ГМ — нормальное [Shirono K. et al., 1995].

При ИМ в течение острой фазы в периферической крови повышено число атипичных лимфоцитов. Увеличенные лимфатические узлы инфильтрированы CD3-, CD4-, CD8-, CD20- и НКН1-положительными клетками. По мере развития болезни появляются ВЭБ-специфические цитотоксические лимфоциты, происходящие главным образом из CD8-положительных клеток, которые лизируют ВЭБ-пораженные клетки [Prange E. et al., 1992]. Увеличение числа CD8⁺-клеток сопровождается незначительным увеличением числа CD4⁺-клеток, и повышение количества этих клеток очень важно для ответной иммунной реакции, клеточно-опосредованного или гуморального иммунитета, поскольку они образуют ИФγ и ИЛ-4 [Okano M. et al., 1992]. Глубокие изменения (или нарушения) иммунной защиты против ВЭБ-инфекции часто приводят к летальному исходу ИМ от молниеносного гепатита или ВАГС.

По данным М.Окано и соавт. (1993), в острой фазе ИМ содержание ИФγ и ИФα в плазме крови не увеличено, но у больных с легальным исходом заболевания от ВАГС содержание этих цитокинов в плазме крови

было повышено. Это заставляет полагать, что нарушение образования ИФ способствует развитию ВАГС. Кроме того, у больных с гемофагоцитарным синдромом в сыворотке крови повышено содержание растворимой формы рецептора ИЛ-2, ИЛ-6, КСФ-М и ФНО α [Akashi K. et al., 1994; Imashuku S. et al., 1995]. КСФ-М образуется Т-лимфоцитами и стимулирует моноциты-макрофаги. Таким образом, гиперпролиферация Т-клеток является одним из признаков гемофагоцитарного синдрома и активация и(или) гиперпролиферация Т-лимфоцитов, направленных против ВЭБ-инфицированных клеток, является одной из ступеней патогенеза реактивного гемофагоцитарного синдрома. Иначе говоря, ВЭБ непосредственно внедряется в Т-лимфоциты и(или) моноциты-макрофаги и это приводит к резкому увеличению пролиферации Т-клеток и моноцитов-макрофагов. Последние активируются и поглощают различные типы гемопоэтических клеток [Okano M. et al., 1996]. На схеме 17 представлена гипотеза развития ВАГС и фатального ИМ.

Если у больного с би- или панцитопенией, особенно если он получал иммуносупрессивную терапию или гемотрансфузии, наблюдается лихорадка или явные признаки инфекции, то следует исключить ИАГС. Необходимо произвести посевы крови и серологические исследования для исключения вирусных, бактериальных, грибковых и паразитарных инфекций, исследовать костный мозг. При эффективной комплексной терапии восстановление клинико-лабораторных показателей происходит в течение нескольких недель.

С гистологической точки зрения, отличить ИАГС от злокачественного гистиоцитоза нередко трудно. Главная проблема в морфологическом диагнозе реактивного гистиоцитоза — это отсутствие специфических марке-

ров, с помощью которых можно было бы установить диагноз. Гемофагоцитоз — это не исключительный признак только макрофагов или тканевых гистиоцитов. Гемофагоцитоз гемопоэтическими опухолевыми клетками наблюдается при остром лимфобластном и нелимфобластном лейкозах, Т-клеточной лимфоме, миеломной болезни и др. [Kadin M. et al., 1981; Colon-Otero G. et al., 1984]. Гемофагоцитарную активность могут проявлять и негемопоэтические опухолевые клетки, и в случае метастаза последних в костный мозг иногда трудно отдифференцировать гемофагоцитирующие опухолевые клетки от гемофагоцитирующих гистиоцитов [Falini B. et al., 1980]. Кроме того, при метастазах опухолевых клеток в костный мозг может наблюдаться реактивный гистиоцитоз без клинических проявлений. Поскольку до настоящего времени нет четких идентифицирующих клональных маркеров для злокачественного гистиоцитоза, то единственным критерием диагноза остаются гистологические признаки (табл. 24).

Ряд авторов пытались установить дифференциально-диагностические признаки реактивного и злокачественного гистиоцитоза на основе цитологических и цитохимических исследований гистиоцитов, степени их фагоцитарной активности и распределения в тканях. Было установлено, что гистиоциты при злокачественном гистиоцитозе — это типичные, незрелые, обычно не фагоцитирующие клетки, в меньшей степени они инфильтрируют костный мозг и в большей степени вызывают стертость архитектоники лимфатических узлов, чем реактивные гистиоциты. Однако не всегда все эти гистопатологические признаки имеют место. Во-первых, иногда у некоторых больных наблюдается диффузная инфильтрация костного мозга злокачественными гистиоцитами. Во-вторых, при реактивном гистиоцитозе может

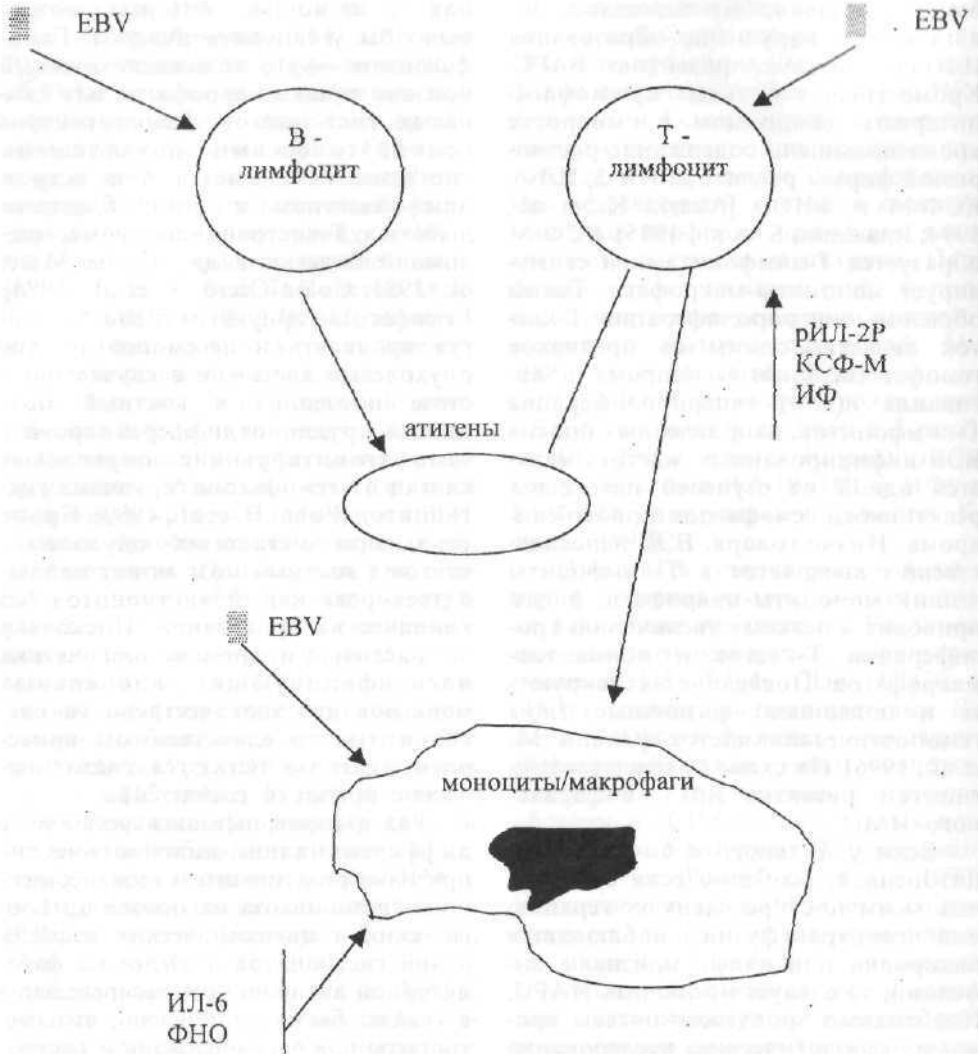


Схема 17. ГИПОТЕЗА РАЗВИТИЯ ВИРУС-АССОЦИИРОВАННОГО ГЕМОФАГОЦИТАРНОГО СИНДРОМА И ФАТАЛЬНОГО ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА.

наблюдается нарушение архитектоники лимфатических узлов и встречаются атипичные гистиоциты. Так, M.Wick и соавт. (1981) описали больного, у которого в костномозговом пунктате наблюдались морфологически нормальные гистиоциты, и ему поставили диагноз реактивного гис-

тиоцитоза; проводимое лечение было неэффективным, и больной умер. При посмертном гистологическом исследовании во многих органах была выявлена диффузная инфильтрация злокачественными гистиоцитами. Все эти данные свидетельствуют о возможных трудностях прижизнен-

ТАБЛИЦА 24. Морфологические изменения при некоторых гистиоцитарных нарушениях
(по С. Cozzito и соавт., 1989)

| Заболевание | Структурные нарушения | Анаплазия гистиоцитов | Тип инфильтрации | Клетки воспаления | Фагоцитоз | Инфильтрация капсулы | Некроз |
|--|---|-------------------------------------|------------------|---|----------------------|------------------------|---------------------|
| Синусовый гистиоцитоз с массивной лимфоаденопатией | Частичные | Отсутствует | Синусоидальный | Плазматические клетки | Фагоцитоз лимфоцитов | Перикапсулярный фиброз | Отсутствует |
| Злокачественный гистиоцитоз | Массивные или частичные | От средневыраженной до значительной | Синусоидальный | Плазматические клетки | Наблюдается | Наблюдается | Наблюдается |
| Гистиоцитарная лимфома | Тотальные | Значительная | Диффузный | Отсутствуют | Отсутствует | Наблюдается | Наблюдается |
| Лангергансовоклеточный гистиоцитоз | Частичные | Отсутствует | Синусоидальный | Эозинофилы, нейтрофилы | Отсутствует | Отсутствует | Эозинофильного типа |
| Инфекционно-ассоциированный гемофагоцитарный синдром | Сохранение архитектоники, уменьшение полей из В-клеток | Отсутствует | Синусоидальный | Плазматические клетки, иммунобласты | Гемофагоцитоз | Отсутствует | Отсутствует |
| Х-связанный лимфопролиферативный синдром | Частично уменьшено лимфоцитов | Отсутствует | Синусоидальный | Плазматические клетки | Эритрофагоцитоз | Отсутствует | Наблюдается |
| Ангиоиммунобластная лимфоаденопатия | Значительные, отсутствие или уменьшение зародышевых центров | Отсутствует | Диффузный | Плазматические клетки, иммунобласты, трансформированные лимфоциты | Фагоцитоз Эр | Отмечается | Эозинофильного типа |
| Ксантогранулематозный лимфоаденит | Значительные или полные | Гистиоциты жировые ксантоподобные | Диффузный | Плазматические клетки | Эритрофагоцитоз | Отмечается | Отмечается |
| Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз | Частично уменьшено лимфоцитов | Отсутствует или незначительная | Синусоидальный | Плазматические клетки, иммунобласты | Фагоцитоз Эр | Отмечается | Отмечается |

но отличить реактивный от злокачественного гистиоцитоза у больных [Kaito K. et al., 1997].

Поскольку отсутствуют специфические маркеры реактивного гемофагоцитарного синдрома, то при постановке этого диагноза важное значение приобретает тщательное изучение анамнеза (инфекции, сопутствующие заболевания и др.), морфологии клеток периферической крови и аспирата костного мозга, при необходимости — биоптатов костного мозга и других органов. В периферической крови следует обратить внимание на наличие фрагментированных клеток, фагоцитирующих моноциты. При изучении костномозгового пунктата и биоптата обычно определяются снижение клеточности и миелофиброз, наличие фагоцитирующих гистиоцитов и сохранность мегакариоцитарного ростка. Количество гистиоцитов может быть немногочисленно, чаще они располагаются по периферии мазка и очень легко разрушаются при приготовлении мазка, так что детальная их морфология может быть не различима, поэтому необходимо тщательное изучение многих клеток, чтобы исключить переваренные тромбоциты от микроорганизмов, и не проглядеть некоторые макрофаги, содержащие патогены; для этого применяют специальные методы окраски.

При лимфомах в костном мозге могут определяться изменения, свойственные и лимфоме, и гемофагоцитарному синдрому. Поскольку в пунктате костного мозга могут наблюдаться только реактивные гистиоциты, то обязательно необходимо исследовать биоптат костного мозга, чтобы исключить лимфому. Следует также производить биопсию лимфатического узла и печени, поскольку различия между реактивным и злокачественным гистиоцитозом основываются на фенотипических признаках. В любом случае диагноз злока-

чественного гистиоцитоза должен быть исключен. Однако даже при исследовании биоптатов лимфатических узлов и печени дифференциальная диагностика между реактивным и злокачественным гистиоцитозом может быть трудной.

У. Kaneko и соавт. (1995) провели кариологический анализ у 9 больных детей: СГЛ был у 3, ИАГС — у 6. У 6 больных выявлены хромосомные аномалии: у 2 детей — клонального характера, у 3 — неклонального и у 1 ребенка — клонального характера в сочетании с единичными клетками с аномалиями неклонального характера. У 4 детей определялись нормальные клетки с различными хроматидными поломками. Хотя у всех больных не было гистологических (или) гематологических признаков неопластического заболевания, тем не менее наличие хромосомных аномалий клонального характера и фатальный исход у некоторых больных заставляет полагать, что гемофагоцитарный синдром гетерогенен по своей природе и включает в себя злокачественные заболевания, при наличии кариологических изменений больным следует назначать более интенсивную терапию, их следует рассматривать как кандидатов на ТКМ.

В отличие от СГЛ у детей у взрослых при инфекционно-ассоциированном гемофагоцитарном синдроме реже (у 25% больных) отмечается увеличение в плазме крови содержания триглицеридов и холестерина. Возможно, различия в иммунном ответе и липидном метаболизме при этих двух состояниях могут влиять на клинические проявления синдромов [Tsuda H. et al., 1996]. У некоторых больных с ВАГС может отмечаться гиперферритинемия, которая может быть обусловлена увеличением сывязывания ферритина гемофагоцитирующими гистиоцитами, индукцией ИЛ-1 α синтеза ферритина активированными моноцитами и выделением ферритина повре-

жденными клетками тканей [Schwarz-Eywill M. et al., 1992; Koduri P. et al., 1995].

Лечение больных с ВАГС комплексное и включает различные методы и средства.

Для лечения используют антивирусные препараты (ацикловир, ганцикловир, аденинарабинозид), внутривенно иммуноглобулин, иммуномодулирующие средства (рекомбинантные ИЛ-2, ИФ α , ИФ γ , кортикостероиды), однако не отмечено четкого эффекта каждого из этих препаратов в отдельности. D.Fort и соавт. (1994), C.Balduni и соавт. (1997) наблюдали выздоровление больных с ВАГС при назначении им внутривенно иммуноглобулина (доза взрослым по 20 мг, 4 дня). По мнению авторов, механизм действия Ig комплексный и включает в себя блокаду Fc-рецепторов гистиоцитов, снижение числа активных Т-хелперов и увеличение количества Т-супрессоров. Эти механизмы влияния высоких доз Ig при ВАГС могут способствовать снижению гиперцитокинемии и активации гистиоцитов, играющих важную патогенетическую роль при этом синдроме.

Также используют внутривенно иммуноглобулин и(или) этопозид, лечение которыми значительно улучшает прогноз при РГС [Chen R.-L. et al., 1995].

Поскольку ИФ действует непосредственно на вирус и оказывает иммунорегуляторное действие на макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки, то оправданно использование ИФ α .

E.Estlin и соавт. (1996) для лечения ВАГС рекомендуют использование ИФ α в сочетании с внутривенным введением Ig. В 1-ю неделю ИФ α назначают по 2 млн ЕД/м² поверхности тела, ежедневно, внутримышечно, а затем по 3 млн ЕД/м², 3 раза в неделю; Ig в 1-ю неделю вводят по 500 мг/кг 3 дня, а затем 1 раз в неделю в течение 2 мес. При соче-

танном использовании внутривенно Ig, ацикловира и ИФ α возможно наступление длительной ремиссии (до 12 лет) [Bethune C. et al., 2001].

По мнению M.Okano и соавт. (1996), можно также использовать циклоспориин А, этопозид с иммуномодуляторами или без них. H.Tsuda и соавт. (1997) лечили 8 взрослых больных с ИАГС (с вирусной и бактериальной инфекциями) циклоспорином А (per os по 200—250 мг в день) и при наличии тяжелой нейтропении дополнительно назначали КСФ-Г. У всех больных с ВАГС наступило выздоровление, рецидива не было.

Эффект от циклоспориина А объясняется ингибиторным действием препарата на Th1-клетки, прямо или косвенно происходит активация субпопуляции Th2-клеток. При X-связанном лимфопролиферативном синдроме в сочетании с ВАГС методом выбора может служить ТКМ [Pracher E. et al., 1993; Seemayer T. et al., 1995].

Прогноз в каждом конкретном случае не всегда предсказуем, во многом зависит от фона, на котором развился ИАГС, характера инфекции его вызвавшего, примененных методов и средств лечения. Еще 20 лет назад было отмечено, что при ИАГС, вызванном ВЭБ, аденовирусом и вирусом герпеса, у большинства больных наблюдалось спонтанное исчезновение синдрома, поэтому данный синдром рассматривали как состояние с относительно благоприятным прогнозом. Однако по мере накопления наблюдений эта точка зрения изменилась и в настоящее время считают, что ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитарный синдром имеет плохой прогноз. Так, все 6 больных, которых D.Vobev и соавт. (1993) лечили консервативными методами, умерли. По данным S.Imashuku и соавт. (1995), при увеличении у боль-

ных в сыворотке крови содержания ИФУ 5-летняя выживаемость составляет 45%, а при отсутствии — 70,6%; при увеличении содержания в крови растворимой формы рецептора ИЛ-2 более чем в 10 раз 5-летняя выживаемость составляет 36,1%, а при увеличении менее чем в 10 раз — 78,1%.

К. Kaito и соавт. (1997) считают, что на сегодняшний день имеются успехи в лечении гемофагоцитарного синдрома, но реальной стратегии решения этой проблемы нет, поэтому необходимо выработать новые подходы к лечению этого патологического состояния.

АНЕМИИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Для обеспечения защиты организма от инфекции и кровоточивости, нормального газообмена костный мозг должен вырабатывать форменные элементы крови в том количестве, в каком организм ежедневно их теряет по различным причинам. Однако костный мозг очень чувствителен к различным патологическим процессам, происходящим в организме, и в ответ на них образуются и действуют на гемопоэз факторы роста, антипролиферативные и противовоспалительные цитокины, нарушается интегральность тканей. Поэтому одним из первых признаков дисфункции определенного органа или же системного заболевания являются показатели периферической крови. Механизмы, вовлеченные в этот процесс, включают в себя угнетение или стимуляцию костномозгового кроветворения, увеличение деструкции или секвестрации клеток крови, гемодилюцию или гемоконцентрацию, кровоточивость. Поэтому при трактовке изменений крови следует тщательно, всесторонне обследовать больного, решить вопрос, являются ли изменения показателей периферической крови следствием заболеваний негематологической природы или же эти изменения *suu generis* являются проявлением заболеваний системы крови.

Поскольку книга посвящена анемиям, то в этом разделе мы основной упор делаем на них.

АНЕМИИ ПРИ ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Эпо является гормоном эритропоэза, на который прямо или косвенно действуют гормоны эндокринных желез, поэтому при гипофункции эндокринных желез могут наблюдаться изменения показателей красной крови.

При недостаточности функции *передней доли гипофиза* может наблюдаться умеренная нормохромная нормоцитарная анемия или анемия с незначительным макроцитозом. Морфология Эр не изменена. Анемия при гипопитуитаризме является вторичной вследствие дефицита гормонов, которые выделяются и контролируются гипофизом: тиреоидные, надпочечниковые, андрогены. Дефицит гормонов, таких как гормоны роста и пролактин, могут вызвать анемию как при гипотиреозидизме. Гипопитуитаризм ингибирует эритропоэз вследствие изменения потребления кислорода тканями. Это приводит к снижению выработки Эпо, уменьшению массы Эр.

При недостаточности *передней доли гипофиза* отмечается ретикулоцитопения с выраженным уменьшением числа клеток эритроидного ростка в костном мозге. При данном заболевании длительность жизни Эр укорочена, налицо признаки неэффективного эритропоэза. Лечение гормоном роста нормализует пока-

зители красной крови [Ucci G. et al., 1986; Orwall S. et al., 1987].

Недостаточность функции половых желез сопровождается снижением выработки андрогенов. Это приводит к снижению содержания Hb на 10—20 г/л в сочетании с макроцитозом Эр. При избыточной выработке андрогенов у больных наблюдается эритроцитоз. После пубертатного периода число Эр увеличивается на 10—13%. У мужчин вырабатывается в 3 раза больше Эпо, чем у женщин. Эти различия зависят от стимулирующего эффекта андрогенов на эритропоэз, прямого влияния андрогенов на КОЕ-Э и ингибирования эстрогенов [Cogni G. et al., 1995].

Надпочечники. При хронической недостаточности надпочечников наблюдается уменьшение массы Эр, но она маскируется за счет снижения объема плазмы крови, дегидратации. После коррекции дегидратации выявляется нормохромная нормоцитарная анемия. Иногда анемия может принимать черты мегалобластной. Механизм появления анемии не известен.

Гипотиреозидизм. У больных отмечается снижение эритропоэза и гематокритного числа. Анемия (содержание Hb меньше 90 г/л) отмечается у 20—60% больных, в среднем у каждого третьего ребенка с гипотиреозидизмом [Chu J. et al., 1981]. По своему характеру анемия может быть гипохромной микроцитарной, нормохромной нормоцитарной и макроцитарной. Анемия может не выявляться (маскироваться) из-за уменьшения у больного объема плазмы крови и макроцитоза Эр. У ряда больных отмечаются акантоциты.

Причины развития анемии смешанные. Наиболее часто отмечается нормохромная нормоцитарная анемия, которую называют «физиологической анемией гипотиреозидизма», так как она обусловлена собственно дефицитом тиреоидного гормона

[Green S. et al., 1986]. У некоторых больных анемия гипохромного микроцитарного характера связана с дефицитом железа в организме, вызванным различными причинами. Эта анемия хорошо корригируется препаратами железа несмотря на наличие гипофункции щитовидной железы.

У ряда больных анемия носит макроцитарный характер, может быть связана с дефицитами витамина В₁₂ или фолатов, по-видимому, иммунного генеза [Cogni G. et al., 1995]. Но даже при отсутствии дефицита этих витаминов у больных отмечается макроцитоз Эр, увеличен средний объем Эр даже при отсутствии анемии.

Таким образом, сам по себе гипотиреозидизм способствует макроцитозу Эр.

Заместительная терапия гормоном щитовидной железы корригирует гематокритное число и ликвидирует макроцитоз Эр в течение 3—6 мес после начала лечения. Назначение препаратов железа, витамина В₁₂ и фолатов без препаратов тиреоидного гормона неэффективно.

Гипертиреозидизм. При его наличии у больных наблюдается увеличение эритропоэтической активности костного мозга. Это связано с увеличенной потребностью тканей в кислороде, связанной с тиреотоксикозом, как ответная реакция на это увеличивается выработка Эпо. Однако гормоны щитовидной железы оказывают и прямое действие на эритропоэз, возможно, через рецепторы катехоламинов.

Поскольку при тиреотоксикозе одновременно увеличиваются объем плазмы крови и число Эр, то гематокритное число не изменяется. Но у 10—25% больных наблюдается анемия.

Этиология и патогенез анемии многофакторные. У некоторых больных анемия связана с дефицитом

железа, фолатов и витамина В₁₂, сопровождается соответствующими изменениями морфологии Эр. У других больных анемия носит нормохромный нормоцитарный характер и, по видимому, связана собственно с тиреотоксикозом. Эритропоэз неэффективен.

Возможно, что в ряде случаев развитие анемии связано с гемодилуцией [Orwoll E. et al., 1987]. Описаны больные с сидеробластной анемией с тиреотоксикозом.

Лечение проводят по поводу основного заболевания, если подтвержден лабораторными тестами дефицит железа, витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, то назначают соответствующее лечение

Гиперпаратиреозидизм и гипопаратиреозидизм. При гиперпаратиреозидизме анемия встречается относительно редко, по данным различных авторов [Malette L. et al., 1974; Falko J. et al., 1976; Delwiche F. et al., 1983], она встречается у 5—21% больных. Анемия встречается только в тяжелых случаях болезни, когда налицо признаки резорбции костей, очень высоки содержание в крови Са²⁺ и паратгормона, активность щелочной фосфатазы. Паратгормон ингибирует пролиферацию клеток эритроидного ростка, вызывает миелофиброз. После удаления парашитовидных желез анемия исчезает [Voxer M. et al., 1977].

Снижение функции парашитовидных желез само по себе не вызывает анемию, но при иммунологических формах гипопаратиреозидизма в сочетании с другими эндокринными нарушениями могут наблюдаться анемия мегалобластного характера, эритробластопения [Spivak J., 2000]. M.Matta и соавт. (2001) описали новорожденного ребенка с гипопаратиреозидизмом, у которого через 12 ч после рождения возникли признаки ГА с положительным прямым тестом Кумбса с тепловыми IgG АТ.

АНЕМИЯ ПРИ БОЛЕЗНЯХ ПЕЧЕНИ

Изменения показателей красной крови нередко сопутствуют заболеваниям печени.

При *циррозе печени* снижены аффинность Hb к кислороду, образование Эпо и эритропоэз, в костном мозге увеличено накопление железа [Sicilliano M. et al., 1995]. При наличии цирроза печени и портальной гипертензии анемический синдром обусловлен дефицитом железа из-за кровопотерь из расширенных вен пищевода и желудка, которым способствует снижение синтеза коагуляционных факторов (фибриногена, факторов II, V, VII, IX, X) и тромбоцитопения.

При *алкогольном циррозе печени* снижены абсорбция и энтеропеченочный цикл фолиевой кислоты, что приводит к мегалобластной и сидеробластной анемии. При хроническом алкоголизме у больных повышено содержание железа в сыворотке крови, в костном мозге отмечается вакуолизация эритрокариоцитов. Поскольку при хроническом алкоголизме может развиваться хронический панкреатит, то последний может вызывать снижение абсорбции витамина В₁₂, вызывать портальную гипертензию, увеличение объема плазмы, спленомегалию с явлениями гиперспленизма. Этанол и его метаболит ацетальдегид непосредственно угнетают образование Эр и тромбоцитов, функцию гранулоцитов. Даже при отсутствии дефицита фолиевой кислоты и витамина В₁₂ у больных отмечается макроцитарная анемия.

При тяжелых поражениях печени в периферической крови могут отмечаться акантоцитозные Эр. Вирусные гепатиты могут сопровождаться ГА, в особенности при наличии дефицита активности Г-6-ФД; иногда у больных развиваются эритробластопения и апластическая анемия [Ohara A. et al., 1998].

При болезни Вильсона, при которой наблюдается накопление меди в печени, ЦНС, почках, у некоторых больных возникают гемолитические кризы.

При этом заболевании увеличена печень, отмечается желтуха, признаки хронического гепатита, может развиваться острая печеночная недостаточность.

В крови обнаруживается купрёмия, иногда повышена активность аминотрансфераз.

Поражение нервной системы происходит на уровне серых ядер головного мозга. Отмечается перикорнеальное кольцевидное изменение роговицы, симптом, который является важным диагностическим признаком болезни. Для лечения используют хелаторы меди (D-пеницилламин, Trintine) [Billette de Villemeur T. et al., 1995].

АНЕМИЯ ПРИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Генез анемии при почечной недостаточности различается при острой и хронической формах.

Анемия при острой почечной недостаточности. Наблюдается нарушение образования Эпо, но первопричиной анемии являются лекарства или же нарушения, вызывающие ОПН. К ним относятся гемолиз, связанный с переливаниями несовместимой крови, с оксидантами, при дефиците активности Г-6-ФД в Эр, сепсе при Clostridium, ГУС, ТТП, ДВС, малярия, эклампсия, системный васкулит, с приемом некоторых медикаментов (митомидин, циклоsporин, цисплатина и др.) и другие причины. Главным признаком анемии является наличие фрагментированных Эр в периферической крови. Анемия купируется при лечении и устранении основного этиологического фактора.

При хронической почечной недостаточности анемия связана с рядом факторов:

1) по мере увеличения ХПН постепенно нарастает дефицит синтеза Эпо;

2) с накоплением в организме токсичных веществ, наличием инфекции и хронического воспалительного процесса в организме — все это приводит к ингибированию эритропоэза и способствует повышенному гемолизу;

3) с наличием дефицита железа и фолиевой кислоты;

4) иногда с наличием микроангиопатии [Pollak V. et al., 1998; Skikne B. et al., 1998].

Степень анемии прямо пропорциональна тяжести ХПН. Имеется отчетливая прямо пропорциональная зависимость между степенью анемии и клиренсом креатинина менее 40 мл/(мин·1,73 м²). Показатели красной крови зависят от степени гидратации больных с ХПН. Обычно анемия нормохромного нормоцитарного характера. Количество ретикулоцитов может быть нормальным, сниженным или незначительно повышенным. В костном мозге отмечается увеличение количества клеток эритроидного ростка. Содержание железа в сыворотке крови снижено при наличии кровоточивости, инфекции и воспаления, но может быть увеличено у больных, получающих гемотрансфузии. Содержание Эпо снижено [Lee G., 1993].

При заболеваниях почек, в частности при ХПН, нарушается образование Эпо. При увеличении в сыворотке крови содержания креатинина выше 133 ммоль/л нарушается нормальное взаимоотношение между содержанием гемоглобина и Эпо в плазме крови. Поэтому для увеличения образования Эпо требуется более значительная гипоксия. Не существует прямой корреляции между тяжестью нарушения экскреторной функ-

ции почек и нарушением образования Эпо почками. При некоторых заболеваниях почек, например при фокальном склерозирующем гломерулонефрите, опухоли почек или после трансплантации почек, увеличение образования Эпо может происходить неадекватно и иногда вызывать даже эритроцитоз [Spivak J., 2000].

Считается, что главной причиной развития анемии при ХПН является нарушение образования Эпо. В пользу этого свидетельствует тот факт, что после лечения рекомбинантным Эпо анемия исчезает. Действительно, после использования этого препарата содержание НЬ у больных с ХПН увеличивается пропорционально суммарной вводимой дозе. У больных кривая диссоциации дезоксигемоглобина сдвинута вправо вследствие увеличения у них содержания 2,3-ДФГ в Эр. Снижение аффинности к кислороду уменьшает распределение кислорода в тканях и, следовательно, снижается стимуляция синтеза Эпо.

В развитии анемии не исключена и роль токсичных веществ, экскретируемых почками. Эти вещества могут угнетать эритропоэз, к ним относится мочевины. В пользу этой точки зрения свидетельствует тот факт, что после гемодиализа выраженность анемии уменьшается вне зависимости от того, проводилась ли терапия Эпо или нет. К развитию анемии предрасполагает также гемолиз, укороченные сроки жизни Эр. Гемолиз связан как с внутри-, так и с внеэритроцитарными факторами. Так, у каждого пятого больного с ХПН имеет место аномалия пентозофосфатного шунта в Эр, увеличен транспорт Na^+ в Эр с одновременным изменением количества и качества натриевых насосов [Shih L.-Y. et al., 1997; Donnelly S. et al., 1998].

Безусловно, в развитии анемии при ХПН имеют значение и другие факторы. Так, дисфункция тромбоцитов предрасполагает к кровотоци-

ности, имеет место укорочение длительности жизни Эр. Проведение гемодиализа способствует разрушению Эр, появлению в плазме крови эритроцитарных токсинов (меди, формальдегида, нитратов, хлорамина и др.), вымыванию фолатов. Гемодиализ может способствовать накоплению фосфатов и алюминия; последний угнетает КОЕ-Э, снижает гемоглобинизацию эритрокариоцитов и внутриклеточную утилизацию железа. При гемодиализе в крови увеличивается содержание цитокинов воспаления (ФНО, ИЛ-1) [Pérez G. et al., 1998; Vittori D. et al., 1998; Schwartz E., 2000].

Для коррекции анемии лучше всего производить трансплантацию почки. Но поскольку произвести ее удастся не всегда и не всем, то больным назначают гемодиализ в сочетании с рекомбинантным Эпо, препараты железа, фолиевую кислоту; иногда эффект достигается при назначении андрогенов [Bjarnason G. et al., 1997; Yared K. et al., 1997; Pollak V. et al., 1998].

АНЕМИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

При хронических системных заболеваниях отмечаются количественные и качественные изменения показателей периферической крови, которые происходят параллельно тяжести основного заболевания. Гематологические изменения полиморфны, но они сходны при разных заболеваниях, и ни одна гематологическая аномалия не является исключительно патогномоничной только для данного патологического состояния. С другой стороны, показатели периферической крови в сочетании с клиническими проявлениями и другими лабораторными тестами могут ориентировать врача в нужном направлении при постановке диагноза.

Наиболее частым признаком хронического системного заболевания является анемия. Механизм ее возникновения различен при разных заболеваниях и зависит от характера собственно системной болезни, протекает ли она хронически, имеются ли сопутствующие заболевания, осложнения, в том числе от применяемых средств лечения, и целого ряда других причин. Обычно при хронических системных заболеваниях анемия носит черты, свойственные анемии при воспалении. Показатели красной крови снижены умеренно, колеблются в небольших пределах в течение нескольких недель без тенденции к ухудшению. У большинства больных анемия носит нормоцитарный нормохромный характер, но иногда со временем принимает черты микроцитарной анемии, интенсивность которой происходит параллельно с развитием воспалительного процесса. Содержание железа в сыворотке крови и коэффициент насыщения этим микроэлементом Тф снижены, когда имеется дефицит железа в организме, снижено содержание ферритина (подробнее см. раздел «Анемия при воспалении»).

Этиология и патогенез анемии при системных заболеваниях многофакторны, связаны с основным заболеванием и его осложнениями, с укорочением длительности жизни Эр, аномальной реакцией костного мозга на анемию и со снижением усвоения железа для синтеза Hb [Janckilla A. et al., 1998].

Классическим осложнением является АИГА, но, к счастью, она встречается относительно редко. Укорочение длительности жизни Эр наблюдается при СКВ, смешанных и не классифицированных заболеваниях соединительной ткани. При этой форме ГА тест Кумбса положительный, определяются аутоАТ. Обычно анемия протекает в среднетяжелой форме, слабо компенсирована за счет

увеличения эритропоэза. Исключение составляет гемолиз, в основе которого лежит микроангиопатия при развитии почечной недостаточности при СКВ, узелковом периартериите и склеродермии. В этих случаях тест Кумбса отрицательный и диагностика основывается на наличии признаков ДВС, фрагментированных Эр в периферической крови и других тестов (подробнее см. раздел «Гемолитические анемии (механические) с фрагментацией эритроцитов»).

У больных часто наблюдается нарушение эритропоэза. Изучение кинетики ^{59}Fe , связанного с Тф, освобождение и захват железа эритроидными клетками для синтеза Hb обычно нормально или же умеренно увеличено, но без полной компенсации гемолиза. Причины этого явления не ясны, и, возможно, в этом процессе какую-то роль играют цитокины — ИФВ и ИФУ, ФНО α , факторы роста эритроидных клеток-предшественниц [Means R. et al., 1992; Schwartz E., 2000]. Уменьшение содержания Эпо не объясняет полностью снижение интенсивности эритропоэза, но, безусловно, имеет значение угнетение образования Эпо цитокинами воспаления — ФНО и ИЛ-1 [Spivak J., 2000]. Увеличение депонирования железа в макрофагах может частично объяснить снижение содержания железа в сыворотке крови и в Эр. Сидеропения может усиливаться за счет снижения абсорбции железа в кишечнике.

Снижение показателей красной крови может происходить под влиянием и других ятрогенных факторов — приема противовоспалительных препаратов, наличия гиперспленизма, снижения эритропоэза, почечной недостаточности, гемофагоцитарного синдрома и др. Таким образом, патогенез анемии при хронических системных заболеваниях многогранный и во многом определяется как основным заболеванием, так и сопут-

ствующими состояниями и осложнениями, а также целым рядом других факторов [Fitzsimons E. et al., 2001].

В данном разделе мы ограничиваемся описанием лишь некоторых заболеваний, которые, с нашей точки зрения, представляют интерес для практического врача.

Хронический ревматоидный артрит. Обычно при нем анемия микроцитарного характера с признаками, свойственными анемии при хроническом воспалении и дефиците железа, по-видимому, обусловлена в известной степени кровопотерей после приема салицилатов. Иногда относительно редко анемия может носить макроцитарный характер, поскольку имеет место нарушение метаболизма фолатов [Fitzsimons E. et al., 1998].

У некоторых больных анемия носит черты АИГА, возможно развитие эритробластопении в связи с наличием ингибиторов эритропоэза в циркулирующей крови [Spivak J., 2000]. Иногда анемия является следствием активации клеток СМФ, поскольку нередко отмечается синдром воспаления, как это отмечается при болезни Стилла, вследствие наслоения вторичной инфекции или же эта активация обусловлена действием некоторых лекарственных препаратов, например препаратов золота. В этих случаях у больных определяется выраженная ферритинемия, иногда свыше 1000 мкг/л.

У 3% больных наблюдается лейкопения [Dale D., 1991]. Иногда при системном ювенильном ревматоидном артрите может наблюдаться панцитопения со снижением числа нейтрофилов в периферической крови менее $0,1 \times 10^9/\text{л}$, причиной которой является массивный гемофагоцитоз клеток [Attias D. et al., 1998]. Часто нейтропения сочетается с повышенной пролиферацией больших гранулярных лимфоцитов и одновременным увеличением селезенки [Saway P. et al., 1989].

При развитии панцитопении с явлениями гемофагоцитарного синдрома применяют циклоспорин А, АТГ [Attias D. et al., 1998].

При синдроме Фелти могут отмечаться признаки ДВС и гемофагоцитарного синдрома. Он впервые описан в 1924 г. G.Felty и наблюдается у 1% больных ревматоидным артритом [Blumfelder T. et al., 1998]. Для этого синдрома характерна триада: нейтропения, спленомегалия и ревматоидный артрит с высоким титром ревматоидного фактора в сыворотке крови. По данным K.Richert-Voe (1987), период между началом возникновения ревматоидного артрита и появлением синдрома Фелти составляет в среднем 15 лет, и к моменту его появления только у 60% больных наблюдаются признаки активного артрита.

Клинические проявления синдрома Фелти характеризуются снижением массы тела больного, наличием хронических язвенных поражений нижних конечностей, ревматоидных узелков, лимфаденопатии, спленомегалии и периферической нейропатии. У больных часто наблюдаются инфекции, прежде всего — кожные. Наблюдаются также инфекционные поражения дыхательных путей, хронические вялотекущие синуситы, остеомиелиты, редко наблюдается септицемия.

У большинства больных отмечается умеренная морфохромная нормоцитарная анемия, тромбоцитопения. Число нейтрофилов обычно составляет $(0,5...2,5) \times 10^9/\text{л}$, хотя количество этих форменных элементов крови может снижаться до $0,1 \times 10^9/\text{л}$ и ниже. У некоторых больных в периферической крови определяются большие гранулоцитарные лимфоциты с иммунофенотипической характеристикой незрелых НК-клеток [Rothko K. et al., 1989]. Нередко отмечается лимфоцитопения с увеличением числа CD8-клеток.

В костно-мозговом пунктате количество миелокариоцитов и мегакариоцитов нормальное или незначительно увеличенное, но у некоторых больных отмечается гипоцеллюлярность.

Морфология клеток миелоидного и эритроидного ряда нормальная. Может наблюдаться задержка созревания клеток миелоидного ряда на стадии миелоцита — метамиелоцита с резким уменьшением содержания зрелых нейтрофилов, увеличено содержание клеток эритроидного ряда.

Лечение синдрома Фелти проводят общепринятыми средствами лечения этого заболевания. При наличии ДВС лечение проводят теми же средствами и методами, которые описаны в разделе о диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови, а при наличии гемофагоцитарного синдрома назначают циклоспорин А, АТГ [Attias D. et al., 1998].

Системная красная волчанка. Анемический синдром часто наблюдается при данном заболевании (до 75%), нередко отмечается ГА, тромбоцитопения (у 20% больных), лейкопения с нейтропенией (у 50%) [Kwak Y. et al., 1998]. Чаще всего эти гематологические нарушения протекают изолированно, в виде моноцитопении, но могут быть бицитопения в различных сочетаниях и панцитопения, которая может быть результатом миелофиброза [Mouzan M. et al., 1988]. У большинства больных показатели миелограммы нормальные, созревание клеточных элементов не нарушено, за исключением редких случаев миелофиброза [Yamasaki K. et al., 1983].

Тест Кумбса положителен, IgG-комплемментарного или комплементарного типов, отмечается у 29—45% больных. ГА связана с поликлональной активацией В-лимфоцитов, вследствие чего образуются анти-

эритроцитарные АТ. ГА сопутствует СКВ у 10—15% больных [Levy M. et al., 1992]. Нередко ГА предшествует СКВ за несколько лет до начала клинических признаков СКВ. Но у больных может наблюдаться ГА вследствие использования β-лактамов и D-пенициллина.

Классическим при СКВ является наличие иммунной тромбоцитопенической пурпуры и иммунной ГА (синдром Эванса). Он выявляется у 3—28% больных и нередко предшествует клиническим проявлениям СКВ [Miescher P. et al., 1992]. Проведение спленэктомии по поводу тромбоцитопенической пурпуры может способствовать появлению клинических признаков СКВ, хотя некоторые авторы не разделяют эту точку зрения [Chastagner P. et al., 1995].

В основе лечения анемии — лечение основного заболевания. Если имеются признаки дефицита железа, фолиевой кислоты, то назначают эти препараты.

При *узловом периартериите*, особенно при наличии почечной недостаточности, имеется вторичная ГА микроангиопатического характера.

Анемия при *склеродермии* выявляется нередко. При этой форме болезни поражается соединительная ткань кожи и желудочно-кишечного тракта, наблюдаются кровотечения из последнего и мальабсорбция железа. Вследствие нарушения абсорбции витамина В₁₂ анемия может быть макроцитарного характера. Редко у больных могут отмечаться АИГА, тромбоцитопения и нейтропения. Поскольку при данном заболевании имеется гипергаммаглобулинемия, то это заболевание называют также эозинофильным фасцитом или болезнью Шулман, которая является острой формой склеродермии. Сыворотка крови у некоторых больных ингибирует клетки-предшественницы миело- и эритропоэза, т. е. у больных в процесс вовлечены не только кожа

и мышцы, но и костный мозг. Редко у больных наблюдаются гематологические изменения, характерные для тяжелой формы АА [Cetkovsky P. et al., 1998].

Лечение анемии предполагает терапию основного заболевания, при необходимости назначают препараты железа, фолиевую кислоту. Лечение АА проводят соответствующими средствами и методами.

Гранулематоз Вегенера представляет собой системный некротизирующий васкулит, при котором поражаются преимущественно сосуды легких и почек, сопровождается увеличенным титром антицитоплазматических гранулоцитарных АТ. Для за-

болевания характерны температурные реакции, кашель, хронический ринит, обструкция синусов, артрит, нефрит и узелковая инфильтрация паренхимы легких.

Анемия носит, как правило, нормоцитарный нормохромный характер, отмечаются все те признаки, которые свойственны анемии при воспалении. Кроме того, в периферической крови определяются анизоцитоз, пойкилоцитоз Эр, шизоциты, что является отражением микроангиопатической ГА. При развитии ХПН анемический синдром усиливается.

Лечение анемии — это терапия основного заболевания.

Приложения

**НОРМАЛЬНЫЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ**

Нормативные
Технические
Положения

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Содержание некоторых гемопоэтических клеток-предшественниц в процессе онтогенеза человека*

| Вид клеток | Плод | | | Пуповинная кровь | Периферическая кровь | | Костный мозг взрослых |
|--|--|--------------------|---------------------|------------------|--------------------------|----------|-----------------------|
| | Кровь | Печень | Костный мозг | | детей | взрослых | |
| CD34+ | 5%* ² | 23%* ² | 25,4%* ² | 1,13% | 1,87×10 ⁴ /мл | | 3,1% |
| LTC-IC, × 10 ⁵ мононуклеарных клеток | | | | | | 1,4±0,2 | 13,8±3,8 |
| КОЕ-ГЭММ, ×10 ⁵ мононуклеарных клеток | 20,4* ³ 98,9* ⁵ 79±11* ⁶ 35±26* ⁷ | 2,46* ⁴ | 202,5 | 73,5 | 72,6 | 15±8 | 57,4 |
| БОЕ-Э, ×10 ⁵ мононуклеарных клеток | 0,2* ³ 58* ⁵ 433±95* ⁶ 111±34* ⁷ | 6,74 | | 130,8 | 35 — 400 | 25±15 | 70±30 |
| КОЕ-Э, ×10 ⁵ мононуклеарных клеток, М±σ | 421±45* ⁶ 93±27* ⁷ | | | | 124±45 | 20±10 | 90±40 |

*¹По данным Н.В.Замараевой и соавт.(1997), А.Аuerbach и соавт. (1989), D. Bowen и соавт. (1989), D. Clarr и соавт. (1989), J. Laver и соавт. (1990), M. Michejda и соавт. (1997), H.-J. Buhning и соавт. (1998), H. Croizat и соавт. (1998), H. Engel и соавт. (1998), N. Giri и соавт. (1998), J. Maciejewski и соавт. (1998), M. Peichev и соавт. (1998), M. Poznansky и соавт. (1998), H. Shen и соавт. (1998), G. Solar и соавт. 1998.

- *²16—22 нед.
- *³7,6—11,2 нед.
- *⁴19—21 нед.
- *⁵12,2—20 нед.
- *⁶25—31 нед.
- *⁷32—36 нед.

НОРМАЛЬНЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Содержание некоторых цитокинов в сыворотке крови взрослых*

| Цитокин | Содержание |
|--------------------------------|------------|
| Фактор стволовой клетки, пг/мл | 3,3 |
| КСФ-Г, мг/мл | 51,1±34,6 |
| Тромбопоэтин, пг/мл | 22,1±8,2 |
| ИЛ-2, пг/мл | 2,1±0,8 |
| ИЛ-4, пг/мл | 2,3±0,9 |
| ИЛ-6, пг/мл | 8,8±3,6 |
| ИЛ-8, пг/мл | 7,3±4,8 |
| ФНО α , пг/мл | < 20 |

Содержание эритропоэтина в сыворотке крови*

| Возраст | Содержание |
|--|-----------------|
| Новорожденные недоношенные | 7,4—10,3 |
| 0,9—2 мес | 8 (4—13) |
| 2,8—3 ¹ / ₂ мес | 17,6 (12—38) |
| 3 ¹ / ₂ мес — 16 лет | 15,8 (9,1—27,6) |
| Взрослые | 16,2 11,2—23,3 |

* По данным M. Brown (1988), M. Hollebostad и соавт., (1988), K. Langley и соавт., (1993), K. Shirono и соавт., (1995), B. Krafe — Jacobs и соавт., (1996), A. Diina и соавт., (1997), S. Carbacioglu и соавт., (1998), Y. Higoumatata и соавт., (1998), S. Mursito и соавт., (1998), L. Kavallierou и соавт., (2000).

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Некоторые показатели крови у плодов различных сроков гестации (m±σ)*

| Показатель | Гестационный возраст, нед | | | | | | Доношенный |
|--|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 18—20 | 21—22 | 22—25 | 23—25 | 26—30 | Более 30 | |
| Эр, ×10 ¹² /л | 2,66±0,29 | 2,96±0,26 | 3,09±0,34 | 3,06±0,26 | 3,52±0,32 | 3,82±0,64 | 4,7±0,4 |
| Гб, г/л | 114,7±7,8 | 122,8±8,9 | 122±16 | 124±7,7 | 133,5±11,7 | 136,4±22,1 | 165±15 |
| Ht, | 0,36±0,033 | 0,39±0,032 | 0,39±0,039 | 0,39±0,024 | 0,42±0,033 | 0,44±0,072 | 0,51±0,045 |
| СОЭ, фл | 133,9±8,8 | 130,1±6,2 | 125,1±7,8 | 126,2±6,2 | 118,2±5,8 | 114,4±9,3 | 108±5 |
| ССГЭ, пг | 43,1±2,7 | 41,4±3,3 | | 40,5±2,9 | 37,9±3,7 | | |
| СКГЭ, п/л | 320±24 | 317±28 | | 321±32 | 322±36 | | |
| Эритробласты, % | 45±86 | | 21±23 | | 21±67 | 17—40 | |
| Рц, % | 18,6±4,2 | | 16,3±3,1 | | 12,8±2,5 | 7,4±2 | |
| Рц, ×10 ⁹ /л | 505±123 | | 483±83 | | 420±89 | 268±76 | |
| Лейкоциты с нормобластами, ×10 ⁹ /л | 4,68 | | 4,72 | | 5,16 | 7,71 | |
| Лейкоциты, ×10 ⁹ /л | 2,57±0,42 | | 3,73±2,17 | | 4,08±0,84 | 6,4±2,9 | 9—30 |
| Тромбоциты, ×10 ⁹ /л | 234±57 | | 247±59 | | 242±69 | 232±87 | 290±100 |

* По данным F. Forestier и соавт., 1986, F. DafEz и соавт., 1991, Y. Perel, 1995.

НОРМАЛЬНЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Миелограмма недоношенных детей первых двух месяцев жизни (%)
(В.П. Бисерина, Л.М. Казакова, 1979)

| Клетки | Возраст, дни | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--------------|-------|------|-------|------|------|-------|------|-------|------|
| | 1 | | 7 | | 8—14 | | 15—30 | | 31—60 | |
| | М | σ | М | σ | М | σ | М | σ | М | σ |
| Недифференцированные бласты | 1,2 | 0,46 | 1,2 | 0,45 | 1,7 | 0,79 | 3,3 | 1,1 | 2,0 | 0,34 |
| Миелобласты | 1,2 | 0,48 | 1,0 | 0,53 | 1,3 | 0,52 | 1,6 | 0,72 | 1,6 | 0,51 |
| Нейтрофилы: | | | | | | | | | | |
| промиелоциты | 2,5 | 1,51 | 1,7 | 1,76 | 1,8 | 0,91 | 1,9 | 1,04 | 1,5 | 0,67 |
| миелоциты | 11,2 | 4,2 | 13,0 | 4,1 | 11,4 | 4,54 | 9,5 | 4,18 | 10,1 | 3,76 |
| метамиелоциты | 5,4 | 2,64 | 8,6 | 2,32 | 7,8 | 3,7 | 6,9 | 2,93 | 9,2 | 2,67 |
| палочкоядерные | 17,6 | 4,78 | 26,0 | 4,31 | 23,4 | 5,64 | 19,3 | 6,39 | 21,2 | 3,41 |
| сегментоядерные | 7,9 | 10,77 | 6,2 | 3,95 | 6,3 | 3,42 | 6,0 | 5,68 | 4,6 | 3,41 |
| Эозинофилы: | | | | | | | | | | |
| миелоциты | 0,7 | 0,26 | 0,6 | 0,34 | 0,5 | 0,47 | 0,7 | 0,45 | 1,3 | 1,14 |
| метамиелоциты | 0,6 | 0,24 | 0,4 | 0,28 | 0,4 | 0,3 | 0,6 | 0,54 | 1,2 | 1,31 |
| палочкоядерные | 1,5 | 0,81 | 1,4 | 0,84 | 1,2 | 0,64 | 1,2 | 0,67 | 1,0 | 0,65 |
| сегментоядерные | 2,3 | 1,56 | 1,1 | 0,34 | 1,4 | 1,42 | 1,5 | 0,73 | 2,6 | 2,31 |
| Эритробласты | 0,5 | 0,43 | 0,8 | 0,16 | 0,8 | 0,38 | 0,6 | 0,47 | 0,4 | 0,43 |
| Пронормобласты | 0,2 | 0,27 | 0,5 | 0,12 | 0,5 | 0,48 | 0,5 | 0,46 | 0,2 | 0,34 |
| Нормобласты: | | | | | | | | | | |
| базофильные | 3 | 1,0 | 2,0 | 1,11 | 1,9 | 1,06 | 2,7 | 1,33 | 2,2 | 0,94 |
| кодихроматофильные | 8,7 | 6,2 | 12,0 | 6,66 | 1,6 | 4,39 | 13,5 | 6,03 | 10,3 | 3,48 |
| оксифильные | 4,1 | 3,0 | 7,3 | 5,34 | 6,1 | 2,52 | 5,6 | 3,18 | 4,1 | 2,24 |
| Лимфоидные клетки | 13,1 | 7,9 | 16,7 | 11,24 | 17,3 | 8,98 | 26,2 | 10,6 | 21,9 | 7,37 |
| Монобласты | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,19 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,21 | 0,2 | 0,17 |
| Моноциты | 0,8 | 0,46 | 0,6 | 0,69 | 0,8 | 0,57 | 1,0 | 0,71 | 1,0 | 0,45 |
| Плазматические клетки | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 0,14 | | | |
| Лейкоэритробластическое соотношение | 5,9 | 2,3 | 4,5 | 2,95 | 4,6 | 2,12 | 4,4 | 2,82 | 5,0 | 1,99 |
| Индекс созревания: | | | | | | | | | | |
| нейтрофилов | 0,9 | 0,31 | 0,5 | 0,14 | 0,7 | 0,11 | 0,8 | 0,2 | 0,6 | 0,3 |
| эозинофилов | 0,4 | 0,18 | 0,4 | 0,17 | 0,5 | 0,22 | 0,5 | 0,24 | 0,4 | 0,14 |
| нормобластов | 0,7 | 0,06 | 0,8 | 0,07 | 0,8 | 0,06 | 0,8 | 0,05 | 0,75 | 0,04 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Миелограмма здоровых детей первых 3 лет жизни (%)
(по Ю.Е.Малаховскому и соавт., 1963)

| Клетки | Возраст | | |
|---|-------------|-------------|-------------|
| | 6 ч—5 дней | 14—20 дней | 3—7 мес |
| Ретикулярные клетки | 0,58—1,88 | 0,31—1,69 | 0,14—1,38 |
| Недифференцируемые бласты | 0,70—2,14 | 1,32—2,32 | 0,59—3,51 |
| Миелобласты | 0,82—1,84 | 0,22—2,08 | 0,71—2,75 |
| Промиелоциты нейтрофильные | 4,24—6,16 | 4,84—6,96 | 4,20—7,50 |
| Миелоциты нейтрофильные | 8,06—12,34 | 10,14—14,60 | 6,94—11,46 |
| Метамиелоциты нейтрофильные | 6,82—8,78 | 6,75—12,25 | 4,61—7,73 |
| Нейтрофилы: | | | |
| палочкоядерные | 19,96—25,24 | 16,35—23,05 | 13,12—19,80 |
| сегментоядерные | 18,0—23,60 | 10,75—16,85 | 6,06—9,88 |
| Миелоциты эозинофильные | 0,22—0,58 | 0,12—1,08 | 0,05—0,75 |
| Метамиелоциты эозинофильные | 0,33—0,81 | 0,61—1,79 | 0,08—0,78 |
| Эозинофилы: | | | |
| палочкоядерные | 0,18—0,58 | 0,02—0,52 | 0,04—0,80 |
| сегментоядерные | 1,97—3,23 | 0,76—2,14 | 1,0—2,14 |
| Сегментоядерные базофилы | 0,02—0,28 | 0—0,27 | 0—0,22 |
| Эритробласты | 0,95—1,79 | 1,08—2,06 | 1,70—3,08 |
| Нормобласты: | | | |
| базофильные | 2,50—5,10 | 2,54—3,36 | 2,07—4,62 |
| полихроматофильные | 6,85—10,55 | 4,87—7,77 | 8,75—15,03 |
| оксифильные | 5,89—9,97 | 5,44—7,26 | 3,23—8,95 |
| Лимфобласты | 0—0,97 | 0,17—0,97 | 0,05—2,11 |
| Лимфоциты | 1,98—3,78 | 9,77—16,77 | 16,31—25,25 |
| Плазматические клетки | 0,10—0,12 | 0 | 0—0,28 |
| Моноциты | 0—0,13 | 0 | 0—0,26 |
| Лейкоэритробластическое соотношение | 3,02—4,42 | 4,18—5,82 | 2,68—4,32 |
| Число мегакариоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | 0,051—0,108 | 0,071—0,107 | 0,064—0,216 |
| Число миелокариоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | 146,5—222,5 | 120—234 | 195—333 |

| Клетки | Возраст | | | |
|--|-------------|--------------------------------------|-------------|-------------|
| | 1 год | 1-1 ¹ / ₂ года | 2 года | 3 года |
| Ретикулярные клетки | 0,45—2,03 | 1,34—2,12 | 0,44—1,84 | 0,05—1,43 |
| Недифференцируемые бласты | 0,85—4,03 | 1,67—3,53 | 1,59—3,39 | 1,31—2,69 |
| Миелобласты | 1,47—2,65 | 1,15—3,63 | 1,62—2,98 | 0,75—3,25 |
| Промиелоциты нейтрофильные | 4,47—16,53 | 3,87—6,79 | 2,33—4,05 | 2,84—5,78 |
| Миелоциты нейтрофильные | 9,13—14,47 | 6,41—10,23 | 7,21—11,33 | 8,46—11,86 |
| Метамиелоциты нейтрофильные | 6,8—10,2 | 5,27—8,59 | 5,45—8,47 | 7,11—8,97 |
| Палочкоядерные нейтрофилы | 7,64—20,16 | 16,0—18,8 | 14,76—22,44 | 13,98—25,42 |
| Сегментоядерные нейтрофилы | 8,37—16,23 | 11,05—21,75 | 9,75—20,45 | 13,27—22,53 |
| Миелоциты эозинофильные | 0,09—0,73 | 0,33—1,39 | 0,68—1,12 | 0,09—0,85 |
| Метамиелоциты эозинофильные | 0,36—0,96 | 0,4—1,6 | 0,67—1,35 | 0,66—1,54 |
| Палочкоядерные эозинофилы | 0,08—0,56 | 0,05—0,55 | 0,06—0,66 | 0,24—0,74 |
| Сегментоядерные эозинофилы | 1,22—2,26 | 0,9—3,7 | 1,84—3,24 | 1,77—3,31 |
| Сегментоядерные базофилы | 0—0,09 | 0—0,17 | 0—0,21 | 0—0,13 |
| Эритробласты | 0,91—2,39 | 1,08—2,1 | 0,99—1,93 | 0,75—1,97 |
| Нормобласты: | | | | |
| базофильные | 1,73—3,47 | 1,94—3,32 | 1,33—2,41 | 1,44—3,44 |
| полихроматофильные | 7,69—10,65 | 7,32—11,48 | 8,18—10,78 | 7,49—11,21 |
| оксифильные | 4,93—8,17 | 5,25—9,09 | 5,92—8,76 | 5,51—7,29 |
| Лимфобласты | 0—1,71 | 0—1,69 | 0,05—1,21 | 0,04—1,08 |
| Лимфоциты | 10,21—16,39 | 10,21—14,8 | 12,15—17,85 | 6,68—13,52 |
| Плазматические клетки | 0—0,22 | 0—0,3 | 0—0,33 | 0—0,33 |
| Моноциты | 0—0,12 | 0—0,23 | 0,03—0,25 | 0—0,17 |
| Лейко-эритробластическое отношение | 3,38—4,5 | 3,29—4,92 | 3,29—4,51 | 3,2—5,5 |
| Число мегакариоцитов, $\times 10^9/l$ | 0,077—0,161 | 0,057—0,141 | 0,081—0,099 | 0,53—0,113 |
| Число миелокариоцитов, $\times 10^9/l$ | 245,5—316,5 | 154—256 | 193—313 | 170,8—296,8 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Миелограмма (%) здоровых детей от 3 до 14 лет (по Д.Г.Панисовой, 1974) и взрослых (по В.В.Соколову и соавт., 1972)

| Клетки | Возраст | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|
| | 3—6 лет | 7—14 лет | 3—14 лет | Взрослые |
| Недифференцированные клетки | 0—2,0 | 0—2,2 | 0—2,2 | 0,1—1,1 |
| Миелобласты | 0,8—5,0 | 0,8—4,0 | 0,8—5,0 | 0,2—1,7 |
| Промиелоциты | 0,8—5,8 | 0,8—5,8 | 0,8—5,8 | 1,0—4,1 |
| Миелоциты | 3,4—12,0 | 2,6—11,8 | 2,6—12,0 | 7,0—12,2 |
| Метамиелоциты | 4,6—12,8 | 4,6—17,2 | 4,6—17,2 | 8,0—15,0 |
| Палочкоядерные нейтрофилы | 11,0—33,0 | 6,8—33,0 | 6,8—33,0 | 12,8—23,7 |
| Сегментоядерные нейтрофилы | 6,4—17,6 | 5,2—18,2 | 5,2—18,2 | 13,1—24,1 |
| Всего клеток нейтрофильного ряда | 35,8—67,8 | 40,6—66,4 | 35,8—66,4 | 52,7—68,9 |
| Миелоциты эозинофильные | 0,2—2,8 | 0,2—3,0 | 0,2—3,0 | |
| Метамиелоциты эозинофильные | 0,2—3,0 | 0,2—2,6 | 0,2—3,0 | |
| Палочкоядерные эозинофилы | 0,4—4,0 | 0—3,6 | 0—4,0 | |
| Сегментоядерные эозинофилы | 0—3,2 | 0,2—2,6 | 0—3,2 | |
| Всего клеток эозинофильного ряда | 1,61—12,6 | 0,5—8,13 | 0,5—12,6 | 0,5—5,8 |
| Миелоциты базофильные | 0—0,2 | 0—0,2 | 0—0,2 | |
| Сегментоядерные базофилы | 0—1,2 | 0—1,6 | 0—1,6 | |
| Всего клеток базофильного ряда | 0—1,2 | 0—1,6 | 0—1,6 | 0—0,5 |
| Лимфоциты (лимфобласты) | 11,8—33,4 | 12,6—26,4 | 11,8—33,4 | 4,3—13,7 |
| Моноциты (монобласты) | 0—7,8 | 0—6,8 | 0—7,8 | 0,7—3,1 |
| Ретикулярные клетки | 0—2,0 | 0—3,6 | 0—3,6 | 0,1—1,6 |
| Лимфоретикулярные клетки (малые) | 0—0,6 | 0—1,6 | 0—1,6 | |
| Плазматические клетки (плазмобласты) | 0—1,2 | 0—2,4 | 0—2,4 | 0,1—1,8 |
| Мегакариоциты (мегакариобласты) | 0—1,0 | 0—1,2 | 0—1,2 | |
| Эритробласты (пронормобласты) | 0,2—1,2 | 0—2,0 | 0—2,0 | 0,2—1,1 |
| Нормобласты: | | | | |
| базофильные | 0,4—2,8 | 0,2—4,8 | 0,2—4,8 | 1,4—4,6 |
| полихроматофильные | 6,6—23,0 | 7,6—22,0 | 6,4—23,0 | 8,9—16,9 |
| оксифильные | 0,2—3,0 | 0,2—4,6 | 0,2—4,6 | 0,8—5,6 |
| Всего клеток эритроидного ряда | 9,8—26,0 | 9,6—24,4 | 9,6—26,0 | 14,5—26,5 |
| Число миелокариоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | 75—477 | 59—530 | 59—530 | 41,6—195,0 |
| Число мегакариоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | 43—235 | 93—225 | 43—235 | 50—150 |
| Митозы клеток эритроидного ряда на 1000 клеток | 0—3,0 | 0—5,0 | 0—5,0 | |
| Митозы клеток лейкобластического ряда | 0—3,0 | 0—3,0 | 0—3,0 | |
| Ретикулоциты на 1000 эритроцитов | 6—31 | 10—39 | 6—39 | |

ПРИЛОЖЕНИЕ 7. Показатели эритроблостограммы у здоровых людей ($M \pm m$, %) (собственные данные; Г.И.Козинец и соавт., 1982)

| Возраст | Эритробласты | Нормобласты | | |
|-----------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|
| | | Базофильные | Полихроматофильные | Оксифильные |
| 3 года — 15 лет | $3,4 \pm 0,6$ | $13,4 \pm 0,75$ | $78,4 \pm 1,0$ | $4,1 \pm 1,5$ |
| Взрослые | $5,6 \pm 0,75$ | $14,3 \pm 0,68$ | $76,7 \pm 3,9$ | $3,4 \pm 0,18$ |

ПРИЛОЖЕНИЕ 8. Морфологические особенности эритрокариоцитов у здоровых взрослых людей (%)

(по S.Wickramasinghe и соавт., 1996)

| Морфологические особенности | % | Колебания |
|---|------|-----------|
| Наличие цитоплазматической пунктации | 0,24 | 0—0,91 |
| Цитоплазматическая вакуолизация | 0,39 | 0—0,7 |
| Цитоплазматические мостики между эритробластами | 2,38 | 0,72—4,77 |
| Неправильной формы ядро или кариорексизное | 0,22 | 0—0,55 |
| Двуядерность | 0,31 | 0—0,57 |
| Наличие телец Howell — Jolly в эритроцитах | 0,18 | 0—0,39 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 9. Содержание эритроцитов с различной морфологией у людей различного возраста, (M , % $\pm 2\sigma$)*

| Тип эритроцитов | Недоношенные дети | Доношенные дети | Взрослые |
|-------------------|-------------------|-----------------|---------------------|
| Дискоциты | 39,5 (18—57) | 43 (18—62) | 78 (42—94) |
| В виде «чашки» | 29 (13—53) | 40 (14—58) | 18 (4—50) |
| Дискочашеобразные | 3 (0—10) | 2 (0—5) | 2 (0—4) |
| Дискостоматоциты | — | — | $3,3 \pm 0,8$ |
| Стоматоциты | — | — | $0,6 \pm 0,5$ |
| Сфероциты | 0 (0—3) | 0 (0—1) | 0 (0—0) |
| Сферостоматоциты | — | — | $0,8 \pm 0,8$ |
| Эхиноциты | 5,5 (1—23) | 1 (0—4) | 0 (0—3) |
| Акантоциты | 0 (0—2) | 1 (0—2) | 0 (0—1) |
| Дакроциты | 1 (0—5) | 1 (0—3) | 0 (0—1) |
| Кератоциты | 3 (0—7) | 2 (0—5) | 0 (0—1) |
| Пикноциты | 0,3—5,6 | 0,3—1,9, — | |
| Эллиптоциты | — | <5 | n1 |
| Шизоциты | 2 (0—5) | 0 (0—2) | 3 на 5000 Эр (0—11) |
| Другие | 5 (0—11) | 6 (0—8) | 2 (0—4) |

* По данным P.Tuffy и соавт. (1959), A.Zipursky и соавт. (1983), A.Kazaki и соавт. (1988), A.Olsaka и соавт. (1990), C.Chou и соавт. (1998).

НОРМАЛЬНЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

ПРИЛОЖЕНИЕ 10. Показатели красной крови у новорожденных недоношенных детей в зависимости от сроков гестации ($M \pm \sigma$) (по R.Zaizov и соавт., 1976)

| Показатель | Гестационный возраст, нед | | | | | | | Доношен- ный |
|------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|-----------|-----------------|
| | 24—25 | 26—27 | 28—29 | 30—31 | 32—33 | 34—35 | 36—37 | |
| Нб, г/л | 194±15 | 190±25 | 193±18 | 191±28 | 185±20 | 196±21 | 192±17 | 193±22 |
| Эр, $\times 10^{12}/л$ | 4,65±0,43 | 4,73±0,45 | 4,62±0,75 | 4,79±0,74 | 5,0±0,76 | 5,09±0,5 | 5,27±0,68 | 5,14±0,7 |
| Ht | 63±4 | 62±8 | 60±7 | 60±8 | 60±8 | 61±7 | 64±7 | 61±7 |
| СОЭ, фл | 135±10,2 | 132±14,4 | 131±13,5 | 127±12,7 | 123±15,7 | 122±10 | 121±12,5 | 119±9,4 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 11. Изменение содержания гемоглобина (г/л) в постнатальном периоде у недоношенных детей в зависимости от исходной массы тела при рождении ($M \pm 2\sigma$) (по D.Nathan и соавт., 1987)

| Масса тела при рождении, г | Возраст, мес | | | | | | |
|----------------------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1000—1500 | 163 (117—184) | 109 (87—152) | 88 (71—115) | 98 (89—112) | 113 (91—131) | 116 (102—143) | 120 (94—138) |
| 1501—2000 | 148 (118—196) | 115 (82—150) | 94 (80—114) | 102 (93—118) | 113 (91—131) | 118 (104—130) | 118 (107—126) |

ПРИЛОЖЕНИЕ 12. Объем крови (мл/кг), глобулярный объем и объем плазмы у здоровых людей различного возраста*

| Возраст | Объем крови | Глобулярный объем | Объем плазмы |
|--------------------------|-------------|-------------------|--------------|
| Недоношенные | 35,2 | | |
| Доношенные новорожденные | 86,1 | 43,1 | |
| 1—7 дней | 77,7 | 37,9 | 39,8 |
| 8—90 дней | 78 | 29,5 | 48,5 |
| 90—365 дней | 68,7 | 23,3 | 45,4 |
| 1—3 года | 72,8 | 25,5 | |
| 4—6 лет | 69,6 | 26,7 | 42,9 |
| 8—12 лет | 66,7 | 25,9 | 40,8 |
| 13—15 лет | 67,4 | 26,3 | |
| Взрослые | 55—75 | 25—30 | |

* По данным K.Sukarachana и соавт. (1961), D.Price и соавт. (1975), V.Blanchette и соавт. (1984), R.Hinchliffe и соавт. (1984), G.Doyle и соавт. (1999).

ПРИЛОЖЕНИЕ 13. Показатели красной крови в различные возрастные периоды (M±2σ)*

| Возраст | Hb, г/л | Эр, $\times 10^{12}/л$ | Ht | СОЭ, фл | СКНб, % | ССНб, пр | Толщина Эр, мкм | Рц, % | Рц, $\times 10^9/л$ | Эритрокарионты, $\times 10^9/л$ |
|-----------------------|---------|------------------------|-------|---------|---------|----------|-----------------|---------|---------------------|---------------------------------|
| Новорожденный | 130—203 | 3,9—5,5 | 42—60 | 118—98 | 30—36 | 31—37 | | 0,4—6,0 | 0,004—0,06 | 0,5 |
| 1—2 дня | 145—225 | 4,0—6,6 | 45—67 | 95—121 | 29—37 | 31—37 | 1,9—2,3 | 1,0—5,0 | | 0,2 |
| 5—6 дней | 135—225 | 3,9—6,3 | 42—64 | 102—114 | 28—38 | 28—40 | 1,8—2,2 | 0,1—1,3 | 0,001—0,013 | 0,005 |
| 2 нед | 176—139 | 3,6—6,2 | 39—63 | 88—125 | 28—38 | 28—40 | 1,8—2,2 | <1—1,2 | 0,001—0,012 | 0 |
| 1 мес | 139—106 | 3,0—5,4 | 31—55 | 90—112 | 29—37 | 28—40 | 1,7—2,1 | <1—1,2 | 0,001—0,012 | |
| 2 мес | 90—140 | 2,7—4,9 | 28—42 | 83—107 | 29—37 | 26—34 | 1,8—2,2 | 0,1—2,9 | 0,001—0,029 | |
| 2—4 мес | 95—135 | 3,1—4,5 | 29—41 | 74—95 | 30—36 | 25—35 | 1,7—2,1 | 0,5—3,0 | | |
| 6 мес | 95—135 | 3,1—4,5 | 29—41 | 67—87 | 30—36 | 25—35 | 1,7—2,1 | 0,1—1,3 | 0,001—0,013 | |
| $\frac{1}{2}$ —2 года | 105—135 | 3,7—5,3 | 33—39 | 70—86 | 30—36 | 23—31 | 1,7—2,1 | 0,1—1,3 | | |
| 2—6 лет | 115—125 | 4,0—5,2 | 34—40 | 75—87 | 31—37 | 24—30 | 1,7—2,1 | 0,2—1,4 | | |
| 6—12 лет | 115—155 | 4,0—5,2 | 35—45 | 77—95 | 31—37 | 25—33 | 1,7—2,1 | 0,1—1,1 | | |
| 12—18 лет: | | | | | | | | | | |
| М | 130—160 | 4,5—5,3 | 37—49 | 78—98 | 31—37 | 25—35 | 1,8—2,2 | | | |
| Ж | 120—160 | 4,1—5,1 | 36—47 | 78—102 | 31—37 | 25—35 | 1,8—2,2 | | | |
| 18—49 лет: | | | | | | | | | | |
| М | 135—175 | 4,5—5,9 | | 80—100 | 31—37 | 26—34 | 1,8—2,2 | 0,5—1,5 | 25—75 | |
| Ж | 120—160 | 4,0—5,2 | | 80—100 | 31—37 | 26—34 | 1,8—2,2 | 0,5—1,5 | 29—75 | |

* Данные из работ Е.Н. Мосягиной (1969), А.Ф. Тура и соавт. (1970), P. Dallman (1977), F. Oski (1982), M. Brown (1988), J. Nicholson и соавт. (2000).

ПРИЛОЖЕНИЕ 14. Содержание свободных порфиринов в эритроцитах ($M \pm m$, мкг/л) у здоровых детей различного возраста (собственные данные)

| Возраст | Содержание уропорфирина | Содержание копропорфирина | Содержание протопорфирина |
|----------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 2—12 мес | 0 | 0,84±0,85 | 116,2±11,7 |
| 1—2 года | 0,16±0,11 | 4,15±1,74 | 187,2±26,6 |
| 3—6 лет | 0,56±0,56 | 3,43±1,88 | 161,5±21,6 |
| 7—14 лет | 1,81±1,24 | 11,32±3,51 | 147,3±16,6 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 15. Содержание порфиринов и их предшественников ($M \pm m$) в моче, эритроцитах и кале здоровых взрослых людей (по Л.И.Идельсон, 1968)

| Исследуемый субстрат | Единица измерения | Величина |
|----------------------|-------------------|-----------|
| Моча: | | |
| АЛК | мг/г креатинина | 1,36±0,36 |
| порфибилиноген | мкг/г креатинина | 0,56±0,11 |
| уропорфирин | мкг/г креатинина | 10,0±3,0 |
| копропорфирин | мкг/г креатинина | 40,1±5,3 |
| Эритроциты: | | |
| уропорфирин | мкг/л | 89±19 |
| копропорфирин | мкг/л | 29±3 |
| протопорфирин | мкг/л | 223±28 |
| Биосинтез: | | |
| уропорфирин | мкг | 133±30 |
| копропорфирин | мкг | 2743±222 |
| протопорфирин | мкг | 334±38 |
| Кал: | | |
| копропорфирин | мкг/г сухого кала | 12±4 |
| протопорфирин | мкг/г сухого кала | 18±3 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 16. Содержание различных типов гемоглобина ($M \pm \sigma$) у плодов и у взрослых (по P. Neumeier и соавт., 1987)

| Тип Hb | Гестационный возраст | | | Взрослые |
|--------------|----------------------|-----------|-----------|----------|
| | 28—31 нед | 32—36 нед | 37—41 нед | |
| Hb F | 84,4±6,7 | 80,4±8,4 | 78,2±8,0 | 0,2±0,12 |
| Hb A | 15,6±6,7 | 19,5±8,3 | 21,6±8,0 | 98,1±0,2 |
| Hb A2 | 0,09±0,05 | 0,14±0,09 | 0,18±0,09 | 1,8±0,3 |
| Hb A : Hb A2 | 173:1 | 139:1 | 120:1 | 55:1 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 17. Содержание Hb F, Hb A₂ и F-клеток (%) у детей первых 2 лет жизни*

| Возраст | Hb F | Hb A ₂ | F-клетки |
|---------|---------------------|-------------------|----------|
| 1 день | 74,7 (69,3—80,1) | 0,4 | 81 |
| 14 дней | 74,9 (69,2—80,6), — | 58 | — |
| 30 дней | 60,2 (53,9—66,5) | 0,8 | 63 |
| 2 мес | 45,6 (35,5—66,5) | 1,3 | 32 |
| 3 мес | 26,6 12,1—41,1 | 2,2 | — |
| 4 мес | 17,7 11,6—23,8 | 2,4 | — |
| 6 мес | 6,5 3,5—9,5 | 2,5 | — |
| 8 мес | 5,1 (1,5—8,7) | 2,7 | — |
| 10 мес | 2,1 (1,4—2,8) | 2,7 | — |
| 12 мес | 2,6 (1,1—4,1) | 2,7 | — |
| 18 мес | 0,6 (0,2—1) | 2,9 | — |
| 24 мес | — | 2,8 | — |

*По данным W.Schroter (1981), A.Metaxaton- Mavromati и соавт. (1982), F.Oski (1982), A.Pekrun и соавт. (1989).

ПРИЛОЖЕНИЕ 18. Активность ферментов в эритроцитах у новорожденных доношенных детей и взрослых (M±σ)*

| Фермент | Эр новорожден- ных, МЕ/100 мл | Эр взрослых, МЕ/100 мл | Ретикуло-циты, МЕ/100 мл | Взрослые, МЕ/л Hb |
|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Альдолаза | 42±10 | 24,5±3,7 | 50,1±13,3 | 3,19±0,86 |
| Энолаза | 517±121 | 252±54 | 324±53 | 5,39±0,83 |
| Г-6-ФД | 328±40 | 215±18 | 309±41 | 8,34±1,59 |
| Глицеральдегид—3-фосфат-дегидрогеназа | 884±245 | 885±127 | 1150±406 | 226±41,9 |
| Гексокиназа | 34±6 | 12,9±2,1 | 32,8±8,5 | 1,78±0,38 |
| Лактатдегидрогеназа | 2756±425 | 2033±287 | 2395±718 | 200±26,5 |
| Фосфофруктокиназа | 84,5±24 | 148±24,5 | 200,5±49 | 11,01±2,33 |
| Фосфоглюкозоизомераза | 560±112 | 406±37 | 645±181 | 60,8±11 |
| Фосфоглицераткиназа | 3926±528 | 2794±144 | 3133±474 | 320±36,1 |
| Фосфоглицератмутаза | 1049±160 | 751±99 | 979±169 | 4,78±0,65 |
| Пируваткиназа | 256±50 | 179±16 | 295±74 | 15±1,99 |
| Триозофосфатизомераза | 29111±4100 | 26333±3240 | 29700±5100 | 2111±397 |
| Ацетилхолинэстераза | — | — | — | 36,9±3,83 |
| Аденозиндезаминаза | — | — | — | 1,11±0,23 |
| Глутатионпероксидаза | — | — | — | 31,4±2,97 |
| Глутатионредуктаза | — | — | — | 7,18±1,09 |
| Глутатионсинтаза | — | — | — | 0,19±0,03 |
| Дифосфоглицератмутаза | — | — | — | 3,5—6,1 |
| Монофосфоглицераткиназа | — | — | — | 26,8—46,8 |
| 6-Фосфоглюконатдегидрогеназа | — | — | — | 7,2—10,3 |
| Аденилаткиназа | — | — | — | 199,4—316,6 |
| Пиримидин-5'-нуклеотидаза | — | — | — | 100,5—176,1 |
| Глутатион-S-трансфераза | — | — | — | 3—10,3 |
| γ-Глутамилцистеинсинтаза | — | — | — | 0,82—0,98 |

* По данным F.Oski (1969), R.Hinchliffe и соавт. (1987, 1992), E.Beutler и соавт. (1988), D. de Korte и соавт. (1989), A.Nigrolo и соавт. (1996), H.Fujii и соавт. (1998).

ПРИЛОЖЕНИЕ 19. Содержание промежуточных продуктов гликолиза, аденинуклеотидов и восстановленного глутатиона в эритроцитах здоровых взрослых людей*

| Показатель | Взрослые (колебания) | M±σ, ммоль/г Hb |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------|
| Глюкоза, ммоль/л крови | 4,299—5,465 | |
| Глюкозо-6-фосфат, ммоль/л Эр | 21,4—40,6 | 78,6±17,7 |
| Фруктозо-6-фосфат, ммоль/л Эр | 6,2—8,8 | 31,4±13,3 |
| Дегидроацетон фосфат, ммоль/л Эр | 7,6—11,2 | 36,5±16,4 |
| Глицеральдегид-3-фосфат, ммоль/л Эр | 3,3—4,5 | 9,8±5,2 |
| 1,3-Дифосфоглицерат, ммоль/л Эр | 1,46—3,62 | |
| 2,3-Дифосфоглицерат, ммоль/л Эр | 3,883—4,773 | 10270±1870 |
| 3-Фосфоглицерат, ммоль/л Эр | 33,0—47,8 | 168±24 |
| 2-Фосфоглицерат, ммоль/л Эр | 5,0—9,0 | 37,8±11,3 |
| Фосфоэнолпируват, ммоль/л Эр | 11,6—17,0 | 47,4±11,5 |
| Пируваты, ммоль/л крови | 40,8—82,4 | 57,1±24,3 |
| Лактаты, ммоль/л крови | 564—824 | 968±362 |
| АТФ, ммоль/л Эр | 1,006—1,372 | 4000±620 |
| АДФ, ммоль/л Эр | 218—304 | 581±121 |
| АМФ, ммоль/л Эр | 15,2—19,6 | 92,0±36,0 |
| Восстановленный глутатион, мг/л Эр | 713—959 | |
| Восстановленный глутатион, МЕ/г Hb | 4,5—8,7 | |
| Креатин, МЕ/г Hb | 0,7—1,9 | |
| Фруктозо-1,6-дифосфат | | 15,8±5,8 |

*По данным S.Miwa и соавт. (1983), A.Zanella и соавт. (1985), E.Beutler и соавт. (1988).

ПРИЛОЖЕНИЕ 20. Содержание железа, трансферрина и ферритина в сыворотке крови у людей различного возраста*

| Возраст | Сывороточное железо, ммоль/л | Насыщение трансферрина, ммоль/л | Коэффициент насыщения трансферрина, % | Трансферрин (нефелометрический метод), г/л | Ферритин (радиоиммунологический метод), мкг/л | Содержание ферритина в Эр |
|------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--|---|---------------------------|
| 0 мес | | | | 2,12 (1,54—3,02) | 160 (65—395) | |
| 1/2 мес | 22 (11—36) | 34 | 68 (30—99) | 1,88 (1,31—2,47) | | |
| 1 мес | 22 (10—31) | 36 | 63 (35—94) | | 240 (145—400) | |
| 2 мес | 16 (3—29) | 44 | 34 (21—63) | | 194 (87—430) | |
| 4 мес | 15 (3—29) | 54 | 27 (7—53) | | 91 (37—223) | |
| 6 мес | 14 (5—24) | 58 | 23 (10—43) | | 51 (19—142) | |
| 9 мес | 15 (6—24) | 61 | 25 (10—39) | 2,9 (2,26—3,94) | 39 (14—103) | |
| 12 мес | 14 (6—28) | 64 | 23 (10—47) | | 31 (11—91) | |
| 2—4 года | 16 (7—30) | 64 | 28 (16—40) | 2,92 (1,99—4,03) | 31 (12—95) | |
| 4—6 лет | 20 (11—30) | 60 | 31 (25—35) | 2,84 (2,08—3,78) | 34 (18—95) | |
| 6—8 лет | 20 (11—30) | 60 | 31 (25—35) | 2,83 (2,25—3,61) | 31 (15—68) | |
| 8—10 лет | 20 (11—30) | 60 | 31 (25—35) | | 35 (22—85) | |
| 10—12 лет | 20 (11—30) | 60 | 31 (25—35) | 3,1 (2,24—4,42) | 61 (35—100) | |
| Мужчины взрослые | 23 (12—24) | 58 | 35 (30—40) | 2,81 (2,48—3,92) | 121 (48—374) | 159,4±119,8 |
| Женщины взрослые | 21 (11—32) | 58 | 33 (28—38) | 2,81 (2,48—3,92) | 121 (48—374) | 121,0±6,7 |

* И.А.Алексеев, 1978, В.В.Черепанова, 1986, U.Saarinene, 1977, M.Vernet, 1990, B.Herbeth, 1998.

ПРИЛОЖЕНИЕ 21. Показатели экскреции железа с мочой после введения десферала у здоровых детей по данным различных авторов

| Автор, год | Возраст ребенка | Экскреция железа, мг/сут |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Э.М.Шакирова, 1975 | Новорожденный доношенный | 0,164±0,019 |
| | Недоношенный | 0,092±0,014 |
| Г.В.Бабаш и соавт., 1980 | 3—4 года | 0,41±0,03 |
| | 5—6 лет | 0,57±0,09 |
| | 7—11 лет | 0,71±0,05 |
| | 12—14 лет | 0,73±0,07 |
| В.Маас и соавт, 1969 | 1 год | 0,216 |
| | 1—5 лет | 0,221 |
| | 6—9 лет | 0,357 |
| | 10—12 лет | 0,58 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 22. Содержание кобаламина и метаболитов у здоровых людей различного возраста*

| Показатель | Возраст | | | | |
|---|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------|-----------|
| | Новорожденный | 6 нед | Старше 6 нед и взрослые | Старше 60 лет | 65—99 лет |
| Кобаламина в сыворотке крови (микробиологический метод), нг/л | 591 (160—1300) | | 480 (190—777) | | |
| Кобаламина в сыворотке крови (радиоиммунологический метод) | 314 (238—468) нг/л | 230 (158—287) пмоль/л | 492 (152—989) нг/л | 319 нг/л | |
| Метилмалоновой кислоты в сыворотке крови, нмоль/л | 290 (240—380) | 810 (370—1680) | 73—271 | | 301 |
| Общего гомоцистеина в сыворотке крови, мкмоль/л | 6,22 (5—7,48) | 7,44 (6,49—8,93) | 5,4—16,2 | 14,8 | 11,2 |
| Способность сыворотки крови связывать витамин В ₁₂ | | | 1000—1740 нг/л | | |
| В желудочном соке, мкг/л | | | >40 | | |
| Содержание R-binder: | | | | | |
| в сыворотке крови, нг/л | | | 280—620 | | |
| в желудочном соке, нг/л | | | >10 | | |
| Содержание ВФ в желудочном соке, нг/л | | | >30 | | |

* По данным R.Hinchliffe и соавт. (1987), J.Zittoun и соавт. (1988), R.Allen и соавт. (1990), J.Gueant и соавт. (1990), S.Stobler и соавт. (1997), R.Carmel и соавт. (1998).

ПРИЛОЖЕНИЕ 23. Содержание фолатов в сыворотке крови и в эритроцитах (мкг/л) у здоровых людей различного возраста (радиоиммунологический метод) (по G.Potier de Courcy и соавт., 1990)

| Содержание фолатов | Новорожденные | 1—3 года | 3—16 лет | 16—65 лет |
|--------------------|---------------|----------|----------|-----------|
| В сыворотке крови | 4,5—33 | 3—17 | 1,9—14,5 | 3,2—19 |
| В эритроцитах | 155—1380 | 170—977 | 148—776 | 123—465 |

ПРИЛОЖЕНИЕ 24. Содержание фолатов ($M \pm 2\sigma$) в сыворотке крови (микробиологический метод определения)*

| Возраст | Содержание фолатов в сыворотке крови, мкг/л | | Содержание фолатов в эритроцитах, мкг/л | |
|----------------------------|---|-----------------|---|---------------|
| | Девочки | Мальчики | Девочки | Мальчики |
| Новорожденные недоношенные | 19,2 (10—41) | 19,2 (10—41) | 689 (88—1291) | 689 (88—1291) |
| Недоношенные в 6 мес | 8,9 (4,1—28) | 8,9 (4,1—28) | 299 (139—558) | 299 (139—558) |
| Новорожденные доношенные | 24,5 (3—59) | 24,5 (3—59) | 315 (100—960) | 315 (100—960) |
| Доношенные в 6 мес | 7,7 (3,5—16) | 7,7 (3,5—16) | 247 (100—466) | 247 (100—466) |
| 6 мес — 2 года | 13,6 (3,1—37,1) | 13,6 (3,1—37,1) | 273 (175—909) | 273 (175—909) |
| 2—6 лет | 9,6 (3,1—19,1) | 6,8 (3,4—15,4) | 278 (100—400) | 200 (140—377) |
| 6—10 лет | 6,1 (3,6—23,4) | 6,3 (2,7—16,3) | 187 (89—307) | 187 (118—319) |
| 10—14 лет | 5,9 (2,5—11,4) | 5,9 (2,4—18,5) | 174 (95—538) | 189 (122—483) |
| 14—18 лет | 9,7 (2,3—19,7) | 5 (2,6—10) | 158 (108—355) | 162 (121—373) |
| 18—30 лет | 4,8 (2,6—12) | 4,9 (2,5—8,8) | 159 (99—356) | 178 (101—324) |

* G.Potier de Courcy и соавт. (1990), R.Hinchliffe (1992), A.-L.Morsen и соавт. (2001).

ПРИЛОЖЕНИЕ 25. Содержание витамина Е в сыворотке крови ($M \pm 2\sigma$, мкг/л) у новорожденных недоношенных и доношенных детей (M.Klaus и соавт., 1973)

| Возраст, нед | Гестационный возраст | | | |
|--------------|----------------------|------------|------------|-------------|
| | 28—32 нед | 32—36 нед | 36—40 нед | Доношенные |
| 1 | 40 (30—50) | 45 (35—55) | 50 (40—60) | 55 (43—67) |
| 2 | 30 (22—38) | 40 (30—50) | 45 (35—55) | 55 (43—67) |
| 3 | 25 (19—31) | 40 (30—50) | 50 (40—60) | 55 (43—67) |
| 4 | 25 (19—31) | 45 (35—55) | 60 (48—72) | 60 (48—72) |
| 5 | 25 (19—31) | 45 (35—55) | 70 (58—82) | 75 (61—89) |
| 6 | 25 (19—31) | 45 (35—55) | 75 (63—87) | 80 (66—94) |
| 7 | 25 (19—31) | 50 (40—60) | 75 (63—87) | 85 (69—101) |
| 8 | 25 (19—31) | 50 (40—60) | 75 (63—87) | 85 (69—101) |
| 9 | 35 (27—43) | 60 (48—72) | 75 (63—87) | 85 (69—101) |
| 10 | 45 (35—55) | 70 (58—82) | 80 (66—94) | 85 (69—101) |

НОРМАЛЬНЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

ПРИЛОЖЕНИЕ 26. Содержание некоторых микроэлементов в сыворотке крови у здоровых людей различного возраста
(по данным S.Soldin и соавт., 1997; J. Nicholson и соавт., 2000)

| Возраст | Медь, мкмоль/л | Церулоплазмин, мг/л | Цинк, мкг% |
|-----------|----------------|---------------------|------------|
| 0—5 дней | 1,4—7,2 | 50—260 | 65—140 |
| 1—9 лет | 12,6—23,6 | | |
| 1—19 лет | | 200—460 | |
| 10—14 лет | 12,6—19 | | |
| 15—19 лет | 11,3—25,2 | | |

ПРИЛОЖЕНИЕ 27. Содержание билирубина и гаптоглобина в сыворотке крови у здоровых людей*

| Возраст | Билирубин | | | | Гаптоглобин, мг/л |
|------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|------------------------|--|
| | Общий, мкмоль/л | Свободный, мкмоль/л | Моноглокуринид, мкмоль/л | Диглокуринид, мкмоль/л | |
| Недоношенные: кровь из пуповины | <34 | | | | 0—1 мес <0,058—1,960 1 мес—19 лет 0,220—1,640 |
| 0—1 день | <137 | | | | |
| 1—2 дня | <205 | | | | |
| 2—5 дней | <274 | | | | |
| >5 дней | <340 | | | | |
| Доношенные: кровь из пуповины | <34 | | | | |
| 0—1 день | <103 | | | | |
| 1—2 дня | <137 | | | | |
| 2—5 дней | <205 | | | | |
| > 5 дней | <171 | | | | |
| 6 мес — 15 лет | 17,78±1,03 | 6,67±0,86 | 4,07±0,51 | 4,79±0,34 | 1025±3,1 |
| Взрослые | | | | | |
| Мужчины | | 6,77±2,7 | 0,10±0,04 | 0,12±0,06 | 800—1000 |
| Женщины | | 5,39±3,46 | 0,10±0,07 | 0,09±0,07 | 800—1000 |

* Собственные данные: G. Fevery и соавт. (1987), M. Davis и соавт. (1996), G. Nicholson и соавт. (2000).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Аксенова М.Е.* Рекомбинантный человеческий эритропоэтин в комбинированной терапии гломерулонефрита у детей с дизэмбриогенезом почечной ткани / М.Е.Аксенова, В.В.Длин, Т.Е.Монакова // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1997.— № 1.— С. 44.
- Аксенова М.Е.* Интерстициальный нефрит как исход гемолитико-уремического синдрома / М.Е.Аксенова, Е.А.Харина, В.В.Невструева // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 2000.— № 1.— С. 30.
- Анемии у детей: Руководство для врачей /* Под ред. В.И.Калинической.— 2-е изд.— Л.: Медицина, 1983.— 360 с.
- Бабаев Э.С.* О механизме разрушения эритроцитов при наследственном сфероцитозе и подходах к устранению патологического процесса у детей / Э.С.Бабаев // Гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 1.— С. 34.
- Базыка Д.А.* CD34+ — предшественники в криоконсервированной ткани эмбриональной печени человека / Д.А.Базыка, Н.В.Беляева, В.Г.Бибешко // Украинский журн. гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 3.— С. 30.
- Блишников О.Е.* Врожденный дискератоз у мальчика 15 лет / О.Е.Блишников, С.С.Жилина, М.Е.Карманов // Педиатрия.— 1998.— № 1.— С. 98.
- Воробьев А.И.* Схема кроветворения: 1995 / А.И.Воробьев, Н.И.Дризе, И.Л.Чертков // Пробл. гематол.— 1995.— № 1.— С. 7.
- Дворецкий А.И.* Гипохромные анемии / А.И.Дворецкий // Consilium Med.— 2001.— № 9.— С. 443.
- Дегтярев Д.Н.* Синдром Криглера — Найяра / Д.Н.Дегтярев, А.В.Иванова, Ю.А.Сигова // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1998.— № 4.— С. 44.
- Демихов В.Г.* Распространенность и вероятность перехода дефицита железа в анемию у детей школьного возраста / В.Г.Демихов, Е.Ф.Моршакова, А.Д.Павлов // Пробл. гематол. и трансфуз.— 2001.— № 6.— С. 17.
- Додхаев Д.С.* Особенности проницаемости эритроцитарных мембран и сорбционной способности эритроцитов у новорожденных и их матерей больных сахарным диабетом / Д.С.Додхаев, И.И.Евсюкова, В.Л.Бородина // Педиатрия.— 1999.— № 5.— С. 12.
- Ершов А.Л.* Острая перемежающаяся порфирия в практике врача — реаниматолога / А.Л.Ершов // Анестез. и реаниматол.— 1999.— № 2.— С. 51.
- Замараева Н.В.* Пуповинная кровь как альтернативный источник гемопоэтических клеток — предшественников для трансплантации / Н.В.Замараева, М.Д.Вольнец, Е.Ю.Осинова // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1997.— № 2.— С. 9.
- Замараева Н.В.* Морфологический состав клеток пуповинной крови и их функциональные характеристики / Н.В.Замараева, М.Д.Вольнец, Е.Ю.Осинова // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1997.— № 2.— С. 62.
- Зборовский С.С.* Первый опыт генетического тестирования наследственного гемохроматоза в России / С.С.Зборовский, А.В.Мисюрин, С.П.Щербинина // Пробл. гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 3.— С. 64.
- Каган И.Е.* Изменения костно-суставной системы при наследственном гемохроматозе по данным рентгенологического исследования / И.Е.Каган, Д.А.Сегтарова, Ю.Н.Токарев // Гематол. и трансфузиол.— 1999.— № 10.— С. 19.

- Казакова Л.М. Профилактика дефицита железа у детей в группе риска по этой патологии / Л.М.Казакова // Педиатрия.— 1997.— № 2.— С. 88.
- Казюкова Т.В. Новые возможности ферротерапии железодефицитных анемий / Т.В.Казюкова, Н.В.Калашникова, А.Фаллук // Клинич. фармакол. и терапия.— 2000.— № 9 (2).— С. 88.
- Казюкова Т.В. Лечение железодефицитной анемии у детей раннего возраста / Т.В.Казюкова, А.Фаллук, А.А.Левина // Педиатрия.— 2000.— № 2.— С. 56.
- Калинин Ю.Т. Изучение антиинфекционного потенциала рекомбинантного фактора некроза опухоли α / Ю.Т.Калинин, Н.М.Пустошилова, Л.А.Денисов // Вестн. Рос. Акад. Мед. Наук.— 1998.— № 11.— С. 29.
- Климкович Н.Н. Экология и железодефицитные анемии у детей Республики Беларусь / Н.Н.Климкович, Т.И.Козарезова, Е.И.Слобжанкина // Педиатрия.— 1998.— № 2.— С. 58.
- Крыжановский О.И. Дефект клоногенных предшественников стромальных фибробластов костного мозга при анемии Даймонда — Блэкфана у детей / О.И.Крыжановский, В.В.Лебедев, Е.Б.Владимирская // Сб. НИИ детской гематологии России «Детская гематология, онкология, иммунология».— М., 1994.— С. 82.
- Клиническая онкогематология: Руководство для врачей / Под ред. М.А.Волковой.— М.: Медицина, 2001.— 576 с.
- Левина А.В. Клинические, биохимические и социальные аспекты железодефицитной анемии / А.В.Левина, Н.В.Цветаева, Т.И.Колошейнова // Гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 3.— С. 51.
- Масчан А.А. Гипопластический дебют острого лимфобластного лейкоза у детей: клиника — лабораторные характеристики / А.А.Масчан, Н.Ю.Богачева, Д.В.Литвинов // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1997.— № 2.— С. 12.
- Масчан А.А. Лечение детей с апластическими анемиями, рефрактерных к антилимфоцитарному глобулину и циклоспорино А, высокими дозами циклофосфамида или флюдарабином / А.А.Масчан, Н.Ю.Богачева, Д.В.Литвинов // Гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 6.— С. 3.
- Мещанов А.Ю. Хелаты для выведения избытка железа из организма / А.Ю.Мещанов, М.Ж.Романова, Г.Н.Кольцова // Гематол. и трансф.— 1989.— № 3.— С. 40.
- Мороков В.А. Гемолитическая болезнь новорожденных, обусловленная материнскими антителами анти-gH(E) / В.А.Мороков, И.В.Рау, М.Е.Мороцкая // Рос. Вестн. перинатол. и педиатрии.— 1999.— № 4.— С. 56.
- Моршакова Е.Ф. Эритропоэз и его регуляция в эмбриональном, фетальном и неонатальном периодах / Е.Ф.Моршакова, А.Д.Павлов, А.Г.Румянцев // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1999.— № 3.— С. 12.
- Наследственные анемии и гемоглобинопатии / Под ред. Ю.Н.Токарева, С.Р.Холлан, Х.Ф.Коррала — Альмонте.— М.: Медицина, 1983.— 336 с.
- Новиков П.В. ДНК — диагностика наследственных заболеваний в Российской Федерации: состояние и проблемы / П.В.Новиков, О.В.Евграфов // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.— 1999.— № 5.— С. 9.
- Петухов В.И. Дефицит железа и селена и демографический кризис в России и Латвии / В.И.Петухов, Е.Я.Быкова, Д.К.Бондаре // Пробл. гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 6.— С. 18.
- Попова И.Ю. Патогенетическое применение некоторых микроэлементов при лечении анемии / И.Ю.Попова, Д.Н.Лазарева, Ф.С.Зарудий // Экспер. и клин. фармакол.— 1996.— № 3.— С. 72.
- Румянцев А.Г. Детская гематология / онкология: научные направления и перспективы развития / А.Г.Румянцев, Е.Б.Владимирская // Рос. Вестн. перинатол. и педиатрии.— 1997.— № 2.— С. 4.
- Румянцев А.Г. Фактор некроза опухоли в клинике и эксперименте / А.Г.Румянцев, В.Н.Касаткин, А.Ю.Щербина // Детская гематология, онкология, иммунология.— М., 1994.— С. 252.
- Румянцев А.Г. Проблема использования внутривенных препаратов железа в клинической практике: Обзор литературы / А.Г.Румянцев, В.М.Чернов // Гематол. и трансфузиол.— 2001.— № 6.— С. 34.
- Рядовой Г. Современные достижения в исследовании кислородтранспортной функции гемоглобина и применение их в клинике / Г.Рядовой, В.Н.Тутубалин

- // Анестез. и реаниматол.—1994.— № 2.—С. 3.
- Савва Н.Н. Миелодиспластический синдром: роль цитоморфологического исследования в постановке диагноза / Н.Н.Савва, С.К.Клецкий, Л.Ю.Федорова // Гематол. и трансфузиол.—2001.— № 1.—С. 39.
- Самсыгина Г.А. Железодефицитные анемии у детей: профилактика и лечение / Г.А.Самсыгина // Лечащий врач.—2001.— № 5.—С. 62.
- Санин М.Р. Иммунная система и иммунодефицит / М.Р.Санин // Клин. мед.—1999.— № 1.—С. 5.
- Сметанина Н.С. Соотношение генотипа и особенности клинических проявлений β-талассемии / Н.С.Сметанина, Е.Г.Казанец, Ю.Н.Токарев // Гематол. и трансфузиол.—2001.— № 1.—С. 31.
- Сметанина Н.С. Гемолитические анемии, вызванные аномальными нестабильными гемоглобинами / Н.С.Сметанина, Ю.Н.Токарев // Детская гематология, онкология, иммунология.—М., 1994.—С. 53.
- Тупицын Н.Н. Роль рецептора цитокинов GP130 в росте и дифференцировке нормальных и опухолевых гемопоэтических клеток: I. Общие сведения. Функциональные эпитопы рецепторного комплекса gp130/80 / Н.Н.Тупицын // Пробл. гематол. и трансфузиол.—2001.— № 4.—С. 9.
- Худова С.Ю. Исследования влияния индукторной роли железа на динамику показателей содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови больных гемохроматозом / С.Ю.Худова, С.П.Щербинина, В.Н.Мигунов // Гематол. и трансфузиол.—2001.— № 2.—С. 33.
- Шкроб О.С. Тимомы с миастеническим синдромом / О.С.Шкроб, П.С.Ветшев, И.Х.Ишподитов // Хирургия.—1998.— № 6.—С. 95.
- Abboud S. A novel mammalian iron—regulated protein involved in intracellular iron metabolism / S.Abboud, D.Haile // J. Biol. Chem.—2000.— Vol. 275.— P. 19906.
- Abd El-Latif M. The b+IVS-1-6 (ToC) mutation accounts for half of the thalassemia chromosomes in the Palestinian populations of the mountain regions / M.Abd El-Latif, D.Filon, D.Rund // Hemoglobin.—2002.— Vol. 26.— P. 33.
- Abkowitz J. Absence of abnormalities of c-kit or its ligand in two patients with Diamond—Blackfan anemia / J.Abkowitz, V.Broudy, L.Bennett // Blood.—1992.— Vol. 79.— P. 25.
- Adams P. Evolving expression of hereditary hemochromatosis / P.Adams, L.Valberg // Semin. Liver Dis.—1996.— Vol. 16.— P. 47.
- Akagi R. Molecular analysis of δ-aminolevulinic acid dehydratase deficiency in a patient with an unusual late—onset porphyria / R.Akagi, C.Nishitani, H.Harigae // Blood.—2000.— Vol. 96.— P. 3618.
- Allford S. Current understanding of the pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura / S.Allford, S.Machin // J. Clin Pathol.—2000.— Vol. 53.— P. 497.
- Alloisio N. The cisternae decorating the red blood cell membrane in congenital dyserythropoietic anemia (type II) originate from the endoplasmic reticulum / N.Alloisio, P.Texier, L.Denoroy // Blood.—1996.— Vol. 87.— P. 4433.
- Alter B. Erythropoiesis in Fanconi's anemia / B.Alter, M.Knobloch, R.Weinberg // Blood.—1991.— Vol. 78.— P. 602.
- An X-L. Modulation of band 3—ankyrin interaction by protein 4.1: functional implications in regulation of erythrocyte membrane mechanical properties / X-L.An, Y.Takakuwa, W.Nunomura // J. Biol. Chem.—1996.— Vol. 271.— P. 33187.
- Arico M. Hemophagocytic lymphohistiocytosis due to germline mutations in SH2D1A, the X—linked lymphoproliferative disease gene / M.Arico, S.Imashuku, R.Clementi // Blood.—2001.— Vol. 97.— P. 1131.
- Arico M. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: report of 122 children from the International Registry. FHL Study Group of the histiocyte society / M.Arico, G.Janka, A.Fischer. // Leukemia.—1996.— Vol. 10.— P. 197.
- Arosio C. A new mutation in the iron responsive element of the L-ferritin gene in a sporadic case of the hyperferritinemia cataract syndrome / C.Arosio, L.Fossati, G.Cazzaiga // Blood.—1998.— Vol. 92.— P. 668.
- Auerbach A. Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test / A.Auerbach // Exp. Hematol.—1993.— Vol. 21.— P. 731.

- Auerbach A. International Fanconi anemia registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity / A.Auerbach, A.Rogatko, T.Schroeder-Kurth // *Blood*.—1989.—Vol. 73.—P. 391.
- Avent N. Prenatal determination of fetal blood group status / N.Avent, K.Finning, P.Martin // *Blood*.—2000.—Vol. 95.—P. 375.
- Avent N. The Rh blood group system: a review / N.Avent, M.Reid // *Vox Sang*.—2000.—Vol. 78.—Suppl. 2.—P. 155.
- Bader-Meunier B. Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis / B.Bader-Meunier, F.Gautier, F.Archanband // *Blood*.—2001.—Vol. 97.—P. 399.
- Barosi G. Red cell membrane defect: uncertainty about splenectomy / G.Barosi // *Pediatr. Res*.—2001.—Vol. 50.—P. 136.
- Bechensteen A. Erythropoietin, protein, and iron supplementation and the prevention of anaemia of prematurity / A.Bechensteen, P.Haga, S.Halvorsen // *Arch. Dis. Child*.—1993.—Vol. 69.—P. 19.
- Bekri S. Human ABC7 transporter: gene structure and mutation causing X-linked sideroblastic anemia with ataxia with disruption of cytosolic iron—sulfur protein maturation / S.Bekri, G.Kispal, H.Lange // *Blood*.—2000.—Vol. 96.—P. 3256.
- Belcher J. Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vaso-occlusion / J.Belcher, P.Marker, P.Weber // *Blood*.—Vol. 96.—P. 2451.
- Bernstein A. The murine W/c-kit and steel loci and the control of hematopoiesis / A.Bernstein, I.Forrester, A.Reith. // *Semin. Hematol*.—1991.—Vol. 28.—P. 138.
- Bethune C. Treatment of EBV driven lymphoproliferation with erythrophagocytosis: 12 year follow up / C.Bethune, M.Gompels, C.Taylor. // *J. Clin. Pathol*.—2001.—Vol. 54.—P. 328.
- Beutler E. Estimating the prevalence of pyruvate kinase deficiency from gene frequency in the general white population / E.Beutler, T.Gelbart // *Blood*.—2000.—Vol. 95.—P. 3585.
- Beutler E. Molecular characterization of a case of transferrinemia / E.Beutler, T.Gelbart, P.Lee // *Blood*.—2000.—Vol. 96.—P. 4071.
- Beutler E. Gamma-glutamylcysteine synthetase deficiency and hemolytic anemia / E.Beutler, R.Moroose, L.Kramer // *Blood*.—1990.—Vol. 75.—P. 271.
- Binoletto C. Hydroxyurea promotes the reduction of spontaneous BFU-e to normal levels in SS and S/β thalassemia patients / C.Binoletto, R.Perlingeiro, S.Saad // *Hemoglobin*.—2001.—Vol. 25.—P. 1.
- Blau C. Fetal hemoglobin in acute and chronic states of erythroid expansion / C.Blau, P.Constantoulakis, A.Ai-Khatti // *Blood*.—1993.—Vol. 81.—P. 227.
- Ballekens J. δβ-thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin / J.Ballekens, B.Forget // *Hematol. Oncol. Clin. N. Amer*.—1991.—Vol. 5.—P. 399.
- Barber D. A common epitope is shared by activated signal transducer and activator of transcription-5 (STAT5) and the phosphorylated erythropoietin receptor: implications for the docking model of STAT activation / D.Barber, B.Beattie, J.Mason // *Blood*.—2001.—Vol. 97.—P. 2230.
- Bassères D. β-Spectrin S^{1a} Barbara: a novel frameshift mutation of the β-spectrin gene associated with hereditary spherocytosis / D.Bassères, D.Vicentim, S.Bordin // *Brit. J. Haematol*.—1998.—Vol. 102.—P. 302.
- Boemmer D. Hereditary pyropoikilocytosis (HPP) associated with a de novo α-spectrin mutation in de codon28 (Argo→His, spectrin Corbeil) and low expression of the α-spectrin allele in trans / D.Boemmer, S.Ullman, W.Kugler // *Blood*.—1997.—Vol. 90.—№ 10, Suppl. 1.—P. 5.
- Borreda D. 24 cas d'infection a parvovirus B19 chez l'enfant / D.Borreda, S.Pacomera, S.Gilbert // *Ann. Pediatr*.—1992.—Vol. 39.—P. 543.
- Bosma P. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin VDP-glucuronosyl transferase I in Gilbert's syndrome / P.Bosma, J.Roy-Chowdhury, C.Bakker // *N. Engl. J. Med*.—1995.—Vol. 333.—P. 1171.
- Brown K. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus / K.Brown, S.Anderson, N.Yong // *Science*.—1993.—Vol. 262.—P. 114.
- Boulechfar S. Heterogeneity of mutations in the uroporphyrinogen III synthase gene in congenital erythropoietic porphyria / S.Boulechfar, Silva V.Da, J.Deybach // *Hum. Genet*.—1992.—Vol. 88.—P. 320.

- Breuer W.* Desferrioxamine — chelatable iron, a component of serum non — transferrin — bound iron, used for assessing chelation therapy / W.Breuer, J.Ermers, P.Pootrakul // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— № 3.— P. 792.
- Brümmendorf T.* Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia / T.Brümmendorf, J.Maciejewski, J.Mak // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 895.
- Buddles M.* Complement factor H gene mutation associated with autosomal recessive atypical hemolytic uremic syndrome / M.Buddles, R.Donne, A.Richards // *Am. J. Hum. Genet.*— 2000.— Vol. 66.— P. 1721.
- Cabrera G.* Hemolytic uremic syndrome associated with invasive *Streptococcus pneumoniae* infection / G.Cabrera, J.Fortenberry, B.Warshaw // *Pediatrics*.— 1998.— Vol. 101.— P. 699.
- Canonne-Hergaux F.* The Nramp2/DMT1 iron transporter is induced in the duodenum of microcytic anemia mk mice but is not properly targeted to the intestinal brush border / F.Canonne-Hergaux, M.Fleming, J.Levy // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 3964.
- Caprari P.* Hereditary elliptocytosis associated with α and β spectrin defects: a biochemical study of 25 cases / P.Caprari, A.Tarzia, P.Cianciulli // *Brit. J. Haemat.*— 1998.— Vol. 102.— P. 303.
- Caprioli J.* The molecular basis of familial hemolytic uremic syndrome: mutation analysis of factor H gene reveals a hot spot in short consensus repeat 20 / J.Caprioli, P.Bettinaglio, P.Zipfel // *J. Am. Soc. Nephrol.*— 2001.— Vol. 12.— P. 297.
- Carella M.* Mapping of dehydrated hereditary stomatocytosis (hereditary xerocytosis) locus to chromosome 16 (16q23-qter) by genome wide search / M.Carella, G.Stewart, J.Ajetunmobi // *Am. J. Hum. Genet.*— 1998.— Vol. 63.— P. 810.
- Carey P.* Prevalance of pyruvate kinase deficiency in a northern European population in the north of England / P.Carey, J.Chandler, A.Hendrick // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 4005.
- Carlsson A.* Serological screening for celiac disease in healthy 2,5 year — old children in Sweden / A.Carlsson, I.Axelsson, S.Borulf // *Pediatrics*.— 2001.— Vol. 107.— P. 42.
- Cartron J.-P.* Molecular basis of red cell protein antigen deficiencies / J.-P.Cartron // *Vox Sang.*— 2000.— Vol. 78.— Suppl. 2.— P. 7.
- Cartron J.-P.* Rh-deficiency syndrome / J.-P.Cartron // *Lancet*.— 2001.— Vol. 358, Suppl.— P. 57.
- Cazzolla M.* Familial-skewed X-chromosome inactivation as a predisposing factor for late-onset X-linked sideroblastic anemia in carrier females / M.Cazzolla, A.May, G.Bergamaschi // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 4363.
- Centis F.* The importance of erythroid expansion in determining the extent of apoptosis in erythroid precursors in patients with β -thalassaemia major / F.Centis, L.Tabelini, G.Lucarelli // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 3624.
- Chalasanani N.* Kernicterus in an adult who is heterozygous for Crigler — Najjar syndrome and homozygous for Gilbert-type genetic defect / N.Chalasanani, N.Roy-Chowdhury, J.Roy-Chowdhury // *Gastroenterology*.— 1997.— Vol. 112.— P. 2099.
- Chabert T.* Haemolytic disease of the newborn and antibody anti-KU / T.Chabert, M.Rodrigues, A.Alegria // *Vox Sang.*— 2000.— Vol. 79, Suppl. 1.— P. 121.
- Chamber E.* Structural studies on the effect of the deletion in the red cell anion exchanger (band3, AE1) associated with South East Asian ovalocytosis / E.Chamber, G.Bloomberg, S.Ring // *J. Mol. Biol.*— 1999.— Vol. 285.— P. 1289.
- Chang J.-G.* Unstable HbPerth in a Taiwanese subject: AT \rightarrow C substitution at codon 32 of the β -globin gene creates an M_{sp}I site / J.-G.Chang, H.-C.Liu, M.-C.Shih // *Hemoglobin*.— 2002.— Vol. 26.— P. 91.
- Charborg P.* Early ontogeny of the human marrow from long bones: an immunohistochemical study of hematopoiesis and its microenvironment / P.Charborg, M.Tavian, L.Humeau // *Blood*.— 1996.— Vol. 87.— P. 4109.
- Chen S.* Blackfan — Diamond anemia and growth status: experience from the French registry / S.Chen, J.Dommergues, G.Tchernia // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 49.— P. 873.
- Chérif-Zahar B.* Molecular defects of the RHCE gene in Rh-deficient individuals of the amorph type / B.Chérif-Zahar, G.Matassi, V.Raynal // *Blood*.— 1998.— Vol. 92.— P. 639.

- Christensen K.* X-linked genetic factors regulate hematopoietic stem-cell kinetics in females / K.Christensen, M.Kristiansen, H.Hagen-Larsen // *Blood*.— 2000.— Vol. 95.— P. 2449.
- Cmejla R.* Ribosomal proteins S3a, S13, S16, and S24 are not mutated in patients with Diamond-Blackfan anemia / R.Cmejla, J.Blafkova, T.Stopka // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 579.
- Coghill E.* Erythroid Kruppel-like factor (EKLF) coordinates erythroid cell proliferation and hemoglobinization in cell lines derived from EKLF null mice / E.Coghill, S.Eccleston, V.Fox // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 1861.
- Cook J.* Iron deficiency: the global perspective / J.Cook, B.Skikne, R.Baynes // *Adv. Exp. Med. Biol.*— 1994.— Vol. 356.— P. 219.
- Croisille L.* Is Diamond — Blackfan anemia (DBA) with mutations in RPS19 gene associated with a specific in vitro erythroid differentiation phenotype? / L.Croisille, M.Chiron, W.Vainchenker // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 137.
- Crosby J.* Regulation of hemoglobin synthesis and proliferation of differentiating erythroid cells by heme-regulated eIF-2 α kinase / J.Crosby, P.Chefalo, I.Yeh // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 3241.
- Dai C.-H.* Fas ligand is present in Human erythroid colony-forming cells and interacts with Fas induced by interferon γ to produce erythroid cell apoptosis / C.-H.Dai, J.Price, T.Brunner // *Blood*.— 1998.— Vol. 91.— P. 1235.
- D'Andrea A.* Molecular biology of Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy / A.D'Andrea, M.Grompe // *Blood*.— 1997.— Vol. 90.— P. 1725.
- De Boissieu D.* Hémochromatose périnatale / D.De Boissieu, A.Checoury // *Arch. Fr. Pédiatr.*— 1990.— Vol. 47.— P. 23.
- Deeg J.* Long-term outcome after marrow transplantation for severe aplastic anemia / J.Deeg, W.Leisenring, R.Storb // *Blood*.— 1998.— Vol. 91.— P. 3637.
- Delaunay J.* Overview on red cell membrane defects / J.Delaunay // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 136.
- DeMaria R.* Negative regulation of erythropoiesis by caspase-mediated cleavage of GATA-1 / R.DeMaria, A.Zeuner, A.Eramo // *Nature*.— 1999.— Vol. 401.— P. 489.
- Damina A.* Six previous undescribed pyruvate kinase mutations causing enzyme deficiency / A.Damina, K.Varughese, J.Barot // *Blood*.— 1998.— Vol. 92.— P. 647.
- De Montalembert M.* Traitement de la surcharge en fer post-transfusionnelle par la déféroxamine / M.De Montalembert, A.Llados, T.Hannedouche // *Arch. Fr. Pédiatr.*— 1989.— Vol. 46.— P. 99.
- De Winter J.* Isolation of a cDNA representing the the Fanconi anemia complementation group E gene / J.De Winter, F.Léveillé, C. van Berkel // *Am. J. Hum. Genet.*— 2000.— Vol. 67.— P. 1306.
- De Winter J.* The Fanconi anemia group G gene FANCG is identical with XRCC9 / J.De Winter, Q.Waisfisz, M.Roomains // *Nat. Genet.*— 1998.— Vol. 20.— P. 281.
- De Winter J.* The Fanconi anemia gene FANCF encodes a novel protein with homology to ROM / J. De Winter, M.Roomains, L. van der Weel // *Nat. Genet.*— 2000.— Vol. 24.— P. 15.
- Deybach J.* Painful photosensitivity / J.Deybach // *Lancet*.— 2001.— Vol. 358, Suppl.— P. 49.
- Dhermy D.* Coinheritance of α - and β -spectrin gene mutations in a case of hereditary elliptocytosis / D.Dhermy, C.Galand, O.Bournier // *Blood*.— 1998.— Vol. 92.— P. 4481.
- Di Mario A.* Successful treatment with cyclosporine A of pure red-cell aplasia occurring 11 years after thymectomy / A. Di Mario, V. Da Stefano, I. Musumeci // *Eur. J. Haematol.*— 1998.— Vol. 61.— P. 221.
- Dokal I.* A disease of premature ageing / I.Dokal // *Lancet*.— 2001.— Vol. 358, Suppl.— P. 27.
- Donato J.* Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator / J.Donato, J.Ko, J.Kutok // *J. Clin. Invest.*— 2002.— Vol. 109.— P. 51.
- Donnai D.* The non-deletion α -thalassaemia/mental retardation syndrome: further support for X linkage / D.Donnai, J.Clayton-Smith, R.Gibbons // *J. Med. Genet.*— 1991.— Vol. 28.— P. 742.
- Draptchinskaia N.* The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anemia / N.Draptchinskaia, P.Gustavsson, B.Andersson // *Nat. Genet.*— 1999.— Vol. 21.— P. 169.
- Dufourq-Lagelouse R.* Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis to

- 10q21—22 and evidence for heterogeneity / R.Dufourq-Lagelouse, N.Jabado, F.Deist // *Am. J. Hum. Genet.*—1999.— Vol. 64.— P. 172.
- Dufourq-Lagelouse R. Genetic basis of hemophagocytic lymphohistiocytosis syndrome / R.Dufourq-Lagelouse, E.Pastural, F.Barrat // *Int. J. Mol. Med.*—1999.— Vol. 4.— P. 127.
- Durken M. Improve outcome in haemophagocytic lymphohistiocytosis after bone marrow transplantation from related and unrelated donors: a single-centre experience of 12 patients / M.Durken, M.Kortsmann, P.Bieling // *Br. J. Haematol.*—1999.— Vol. 106.— P. 1052.
- Dzierzak E. A dynamic system / E.Dzierzak // *Lancet.*—2001.— Vol. 358, Suppl.— P. 31.
- Edgar A. X-linked sideroblastic anaemia due to a mutation in the erythroid 5-aminolaevulinic synthase gene leading to an arginine¹⁷⁰ to leucine substitution / A.Edgar, H.Vidyatilake, S.Wickramasinghe // *Eur. J. Haematol.*—1998.— Vol. 61.— P. 55.
- Edwards C. Screening for hemochromatosis / C.Edwards, J.Kushner // *N. Engl. J. Med.*—1993.— Vol. 328.— P. 1616.
- El-Beshlawy A. Long-term cyclosporine therapy for severe acquired aplastic anemia in 144 Egyptian children. Factors influence response / A.El-Beshlawy, N.Kaddah, M.El-Tagi // *Pediatr. Res.*—2001.— Vol. 49.— P. 874.
- Ellervik C. Prevalence of hereditary haemochromatosis in late-onset type 1 diabetes mellitus: a retrospective study / C.Ellervik, T.Mandrup-Poulsen, B.Nordestgaard // *Lancet.*—2000.— Vol. 358.— P. 1405.
- Entezami M. Xerocytosis with concomitant intrauterine ascites: first description and therapeutic approach / M.Entezami, R.Becker, H.Menssen // *Blood.*—1996.— Vol. 87.— P. 5392.
- Erickson K. Spectrum of perforin gene mutations in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis / K.Erickson, B.Fadeel, S.Nilsson-Ardnor // *Am. J. Hum. Genet.*—2001.— Vol. 68.— P. 590.
- Faivre L. Association of complementation group and mutation type with clinical outcome in Fanconi anemia / L.Faivre, P.Guardiola, C.Lewis // *Blood.*—2000.— Vol. 96.— P. 4064.
- Fargion S. Hereditary hemochromatosis in a patient with congenital dyserythropoietic anemia / S.Fargion, L.Valenti, A.Fracanzani // *Blood.*—2000.— Vol. 96.— P. 3653.
- Ferrara M. Hematological and molecular analysis of β -thalassemia and Hb Lepore in Campania, Italy / M.Ferrara, S.Matarrese, M.Francesca // *Hemoglobin.*—2000.— Vol. 25.— P. 29.
- Filipovich A. Experience from the International bone marrow transplant registry and the National Marrow donor program with bone marrow transplantation of genetic diseases / A.Filipovich // *Correction of genetic diseases by transplantation IV.*—Cogent press.—Ruislip.—1997.— P. 75.
- Fitzimons E. The anaemias of chronic disease. Remains hard to distinguish from iron deficiency anaemia in some cases / E.Fitzimons, J.Brock // *Brit. Med. J.*—2001.— Vol. 322.— P. 811.
- Flegel W. Molecular genetics of RH / W.Flegel, F.Wagner // *Vox Sang.*—2000.— Vol. 78, Suppl. 2.— P. 109.
- Flemming R. Ferroportion mutation in autosomal dominant hemochromatosis: loss of function, gain in understanding / R.Flemming, W.Sly // *J. Clin. Invest.*—2001.— Vol. 108.— P. 521.
- Fox J. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation / J.Fox, J.Roy-Chowdhury, S.Kaufman // *N. Engl. J. Med.*—1998.— Vol. 338.— P. 1422.
- Freedman M. Risk of myelodysplasia and acute myeloid leukemia in Shwachman—Diamond syndrome / M.Freedman, Y.Dror // *Pediatr. Res.*—2001.— Vol. 50.— P. 140.
- Freedman M. Shwachman—Diamond syndrome is characterized by faulty marrow microenvironment, aberrant hematopoietic progenitors and abnormally increased apoptosis mediated through the FAS pathway / M.Freedman, Y.Dror // *Pediatr. Res.*—2001.— Vol. 49.— P. 887.
- Fugardi M. Kaposiform haemangioendothelioma (Hac) with Kasabach—Merritt syndrome in a infant: successful treatment with α -2A interferon / M.Fugardi, D.Termini, D.Russo // *Med. Pediatr. Oncol.*—2000.— Vol. 35.— P. 338.
- Führer M. Treatment of aplastic anemia (AA) in childhood. The SAA 94 experience / M.Führer, U.Rampf, I.Bauman // *Pediatr. Res.*—2001.— Vol. 50.— P. 140.
- Gallagher P. Erythropoietin therapy for anemia of prematurity / P.Gallagher, R.Eh-

- renkranz // Clin. Perinatol.—1993.— Vol. 20.— P. 169.
- Gallagher P. Identification of candidate genes in dehydrated hereditary stomatocytosis (HSt) / P.Gallagher, B.Smith // Blood.—1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Part 2.— P. 4.
- Garcia-Higuera I. The Fanconi anemia proteins FANCA and FANCG stabilize each other and promote the nuclear accumulation of the Fanconi anemia complex / I.Garcia-Higuera, Y.Kuang, J.Denham // Blood.—2000.— Vol. 96.— P. 3224.
- Gazda H. Evidence for linkage of familial Diamond — Blackfan anemia to chromosome 8p23.3-p22 and for non-19q non-8p disease / H.Gazda, J.Lipton, T.-N.Willig // Blood.—2001.— Vol. 97.— P. 2145.
- Gbadoé A. Priapism in sickle cell anemia in Togo: prevalence and knowledge of this complication / A.Gbadoé, A.Dogba, A.Ségbéna // Hemoglobin.—2001.— Vol. 25.— P. 355.
- Gessner J. The IgG Fc receptor family / J.Gessner, H.Heiken, A.Tamm // Am. J. Hematol.—1998.— Vol. 76.— P. 231.
- Giglio L. Schwachman — Diamand syndrome Italian registry / L.Giglio, P.Petras // Pediatr. Res.—2001.— Vol. 50.— P. 141.
- Gillio A. Treatment of Diamond — Blackfan anemia with recombinant human interleukin 3 / A.Gillio, L.Faulkner, B.Alter // Blood.—1993.— Vol. 82.— P. 744.
- Ginzberg H. Segregation analysis in Shwachman — Diamond syndrome: evidence for recessive inheritance / H.Ginzberg, J.Shin, L.Ellis // Am. J. Hum. Genet.—2000.— Vol. 66.— P. 1413.
- Girrelli D. A linkage between hereditary hyperferritinemia not related to iron overload and autosomal dominant congenital cataract / D.Girrelli, O.Olivieri, L.Franceschi // Br. J. Haematol.—1995.— Vol. 90.— P. 931.
- Gladwin M. Pathogenesis and treatment of acute chest syndrome of sickle-cell anemia / M.Gladwin, G.Rodgers // Lancet.—2000.— Vol. 355.— P. 1476.
- Gladwin M. Inhaled nitric oxide augments nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin without affecting oxygen affinity / M.Gladwin, A.Schechter, J.Shelhamer // J. Clin. Invest.—1999.— Vol. 104.— P. 937.
- Glutzer D. Management of childhood lead poisoning: a survey / D.Glutzer, H.Bauer // Pediatrics.—1992.— Vol. 89.— P. 614.
- Goddard R. Electronic fetal monitoring. Is not necessary for low risk labours / R.Goddard // Brit. Med. J.—2001.— Vol. 322.— P. 1436.
- Gottsche B. Donath — Landsteiner autoimmune hemolytic anemia in children. A study of 22 cases / B.Gottsche, A.Salama, C.Mueller-Eckhardt // Vox Sang.—1990.— Vol. 58.— P. 281.
- Gözda S. Acute myeloid leukemia in Fanconi's anemia / S.Gözda, A.Çavdar, Ünal // Pediatr. Res.—2001.— Vol. 50.— P. 140.
- Graham G. Further evidence for genetic heterogeneities in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHLH) / G.Graham, L.Graham, P.Bridge // Pediatr. Res.—2000.— Vol. 48.— P. 227.
- Grimber G. Inherited haemolytic anaemia created by insertional inactivation of the α -spectrin gene / G.Grimber, C.Galand, M.Garbarz // Transgenic Res.—1992.— Vol. 1.— P. 268.
- Grootenber S. Pleiotropic syndrome of dehydrated hereditary stomatocytosis, pseudohyperkalemia, and perinatal edema maps to 16q23-q24 / S.Grootenber, P.Schischmanoff, I.Laurendeau // Blood.—2000.— Vol. 96.— P. 2599.
- Gubin A. Human erythroid porphobilinogen deaminase exists in 2 splice variants / A.Gubin, J.Miller // Blood.— Vol. 97.— P. 815.
- Guillevin L. Reintroduction of vitamin B₁₂-induced anaphylaxis / L.Guillevin // Eur. J. Haematol.—1998.— Vol. 60.— P. 269.
- Hall C. Function of vit. B₁₂ in central nervous system as revealed by congenital defects / C.Hall // Am. J. Hematol.—1990.— Vol. 34.— P. 121.
- Halterman J. Iron deficiency and cognitive achievement among school — aged children and adolescents in the United States / J.Halterman, J.Kaczorowski, C.Aligne // Pediatrics.—2001.— Vol. 107.— P. 1381.
- Han K. A severe case of hemolytic disease of the newborn due to anti — M antibody / K.Han, D.Whang, J.Choi // Vox. Sang.—2000.— Vol. 79, Suppl. 1.— P. 123.
- Hankey G. Clopidogrel and thrombotic thrombocytopenic purpura / G.Hankey // Lancet.—2000.— Vol. 356.— P. 269.
- Harger J. Prospective evaluation of 618 pregnant women exposed to parvovirus B19: risk and symptoms / J.Harger,

- S.Adler, W.Koch // *Obstetr. Gynecol.*— 1998.— Vol. 91.— P. 413.
- Harris J. Parvovirus B19 for the hematologist / J.Harris // *Am. J. Hematol.*— 1992.— Vol. 39.— P. 119.
- Haslett C. Why is apoptosis important to clinicians? Because its mechanisms are being used to develop drugs / C.Haslett, J.Savill // *Br. Med. J.*— 2001.— Vol. 322.— P. 1499.
- Hattori K. Multicentric Castleman's disease associated with renal amyloidosis and pure red cell aplasia / K.Hattori, S.Irie, Y.Isobe // *Ann. Hematol.*— 1998.— Vol. 77.— P. 179.
- He Z. Expression, purification, and characterization of human hemoglobin Gower-1 ($\zeta_2\epsilon_2$), Gower-2 ($\alpha_2\epsilon_2$), and Portland-2 ($\zeta_2\beta_2$) assembled in complex transgenic—knockout mice / Z.He, J.Russel // *Blood.*— 2001.— Vol. 97.— P. 1099.
- Hejna J. Localization of the Fanconi anemia complementation group D gene to a 200-kb region on chromosome 3p25.3 / J.Hejna, C.Timmers, C.Reifsteck // *Am. J. Hum. Genet.*— 2000.— Vol. 66.— № 5.— P. 1540.
- Hillmen P. Congenital paroxysmal nocturnal haemoglobinuria / P.Hillmen, S.Richards, A.Baker // *Blood.*— 1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 154.
- Hirono A. Three cases of hereditary nonspherocytic hemolytic anemia associated with red blood cell glutathione deficiency / A.Hirono, H.Iyori, I.Sekine // *Blood.*— 1996.— Vol. 87.— P. 2071.
- Hoffacker V. Thymomas alter the T-cell subset composition in the blood a potential mechanism for thymoma—associated autoimmune disease / V.Hoffacker, A.Schultz, J.Tiesinga // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 3872.
- Hromec A. Kongenitale Atransferrinämie / A.Hromec, J.Payer, Z.Killinger // *Dtsch. Med. Wschr.*— 1994.— Bd. 119.— S. 663.
- Huang C. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system / C.Huang, P.Liu, J.Cheng // *Semin. Hematol.*— 2000.— Vol. 37.— P. 150.
- Huang R.-F.S. Folate deficiency induced a cell cycle specific apoptosis in HepG2 cells / R.-F.S.Huang, Y.-H.Ho, H.-L.Lin // *J. Nutr.*— 1999.— Vol. 129.— P. 25.
- Huang C.-H. Rh50 glycoprotein gene and Rh_{null} disease: a silent splice donor is trans to a Gly2790Glu missense mutation in the converted transmembrane segment / C.-H.Huang, Z.Liu, G.Cheng // *Blood.*— 1998.— Vol. 93.— P. 1176.
- Huber P. Investigation of Fanconi anemia protein interactions by yeast two-hybrid analysis / P.Huber, A.Medhurst, H.Yousoufian // *FEBS Lett.*— 2000.— Vol. 268.— P. 73.
- Hvas A.-H. Increased plasma methylmalonic acid level does not predict clinical manifestations of vitamin B₁₂ deficiency / A.-H.Hvas, J.Ellegaard, E.Nexo // *Arch. Intern. Med.*— 2001.— Vol. 161.— P. 1534.
- Hyland C. A novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rh_{null} blood donor of the regulator type / C.Hyland, B.Chérif-Zahar, N.Cowley // *Blood.*— 1998.— Vol. 91.— P. 1458.
- Ingram C. Evaluation of DNA analysis for evidence of apoptosis in megaloblastic anaemia / C.Ingram, A.Davidoff, E.Marra // *Brit. J. Haematol.*— 1997.— Vol. 96.— P. 576.
- Inoue T. Homozygous missense mutation (band 3 Fukuoka: G130R): a mild form of hereditary spherocytosis with near-normal band 3 content and minimal changes of membrane ultrastructural despite moderate protein 4.2 deficiency / T.Inoue, A.Kanzaki, M.Kaku // *Brit. J. Haematol.*— 1998.— Vol. 102.— P. 932.
- Iolascon A. Results of the last two years research on CDA / A.Iolascon // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 136.
- Iolascon A. UGT1 promoter polymorphism accounts for increased neonatal appearance of hereditary spherocytosis / A.Iolascon, M.Faienza, A.Moretto // *Blood.*— 1998.— Vol. 91.— P. 1093.
- Iolascon A. Familial pseudohyperkalemia maps to the same locus as dehydrated hereditary stomatocytosis (hereditary xerocytosis) / A.Iolascon, G.Stewart, J.Ajetunmobi // *Blood.*— 1999.— Vol. 93.— P. 3120.
- Isolato P. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations / P.Isolato, G.Wells, J.Donnely // *Am. J. Hum. Genet.*— 2000.— Vol. 67.— P. 986.
- Ivanković C. A case of McLeod syndrome with fatal outcome: development of an-

- tibody to high frequency antigens pointed to diagnosis / C.Ivanković, Z.Zivković, B.Jeren-Strujić // *Vox Sang.*— 2000.— Vol. 79, Suppl. 79.— P. 134.
- Janssen H. Factor V Leiden mutation, prothrombin gene mutation, and deficiencies in coagulation inhibitors associated with Budd—Chiari syndrome and portal veins thrombosis: results of a case—control study / H.Janssen, J.Meinardi, F.Vlegaar // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 2364.
- Joenje H. Complementation analysis on Fanconi anemia: assignment of the reference FA—H patient to group A / H.Joenje, M.Levitus, Q.Waisfisz // *Am. J. Hum. Genet.*— 2000.— Vol. 67.— P. 759.
- Joenje H. Evidence for at least eight Fanconi anemia genes / H.Joenje, A.Oostra, M.Wijker // *Am. J. Hum. Genet.*— 1997.— Vol. 61.— P. 940.
- Kaplan M. Onset of jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient neonates / M.Kaplan, N.Algur, C.Hammerman // *Pediatrics.*— 2001.— Vol. 108.— P. 956.
- Kaplan M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient neonates: A potential cause for concern in North America / M.Kaplan, C.Hammerman // *Pediatrics.*— 2000.— Vol. 106.— P. 1478.
- Kaplan M. Differing pathogenesis of perinatal bilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient versus-normal neonates / M.Kaplan, C.Hammerman, P.Renbaum // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 532.
- Kappas A. A single dose of Sn-mesoporphyrin prevents development of severe hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient newborns / A.Kappas, G.Drummond, T.Valaes // *Pediatrics.*— 2001.— Vol. 108.— P. 25.
- Karadimitris A. Abnormal T-cell repertoire is consistent with immune process underlying the pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria / A.Karadimitris, J.Manavalan, H.Thaler // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 2613.
- Kato J. A mutation in the iron-responsive element of H ferritin mRNA, causing autosomal dominant iron overload / J.Kato, K.Fujikawa, M.Kanda // *Am. J. Hum. Genet.*— 2001.— Vol. 69.— P. 191.
- Kaufman D. Epidemiological assessment of drug-induced disease / D.Kaufman, S.Shapiro // *Lancet.*— 2000.— Vol. 356.— P. 1339.
- Koh P. The Fanconi anemia group C gene product modulates apoptotic responses to tumor necrosis factor- α and Fas ligand but does not suppress expression of receptors of the tumor necrosis factor receptor superfamily / P.Koh, G.Hughes, G.Faulkner // *Exp. Hematol.*— 1999.— Vol. 27.— P. 1.
- Konrad P. γ -Glutamylcysteine synthetase deficiency: a new case of hereditary hemolytic anemia / P.Konrad, F.Richards, W.Valentine // *Blood.*— 1971.— Vol. 38.— P. 808.
- Koshy M. 2-deoxy 5-azacytidine and fetal hemoglobin induction in sickle cell anemia / M.Koshy, I.Dorn, L.Bressler // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 2379.
- Koury M. Apoptosis in megaloblastic anemia occurs during DNA synthesis by a p53-independent, nucleoside-reversible mechanism / M.Koury, J.Price, G.Hicks // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 3249.
- Kozyraki R. The human intrinsic factor-vitamin B₁₂ receptor, cubilin: molecular characterization and chromosomal mapping of the gene to 10p within the autosomal recessive megaloblastic anemia (MGA1) region / R.Kozyraki, M.Kristiansen, A.Silahtarolu // *Blood.*— 1998.— Vol. 91.— P. 3593.
- Kruyt F. The Fanconi anemia proteins FAA and FAC function in different cellular compartments to protect against cross-linking agent cytotoxicity / F.Kruyt, H.Youssoufian // *Blood.*— 1998.— Vol. 92.— P. 2229.
- Kuhnel A. Hereditary coproporphyrin in Germany: clinical-biochemical studies in 53 patients / A.Kuhnel, U.Gross, M.Doss // *Clin. Biochem.*— 2000.— Vol. 33.— P. 465.
- Lamoril J. Neonatal hemolytic anemia due to inherited harderoporphyria: clinical characteristics and molecular basis / J.Lamoril, H.Puy, L.Gouya // *Blood.*— 1998.— Vol. 91.— P. 1453.
- Lamoril J. Characterization of mutations CPO gene in British patients demonstrates absence of genotype-phenotype correlation and identifies relationship between hereditary coproporphyrin and harderoporphyria / J.Lamoril, H.Puy, S.Whatley // *Am. J. Hum. Genet.*— 2001.— Vol. 68.— P. 1130.

- Landau D.* Familial hemolytic uremic syndrome associated with complement factor H deficiency / D.Landau, H.Shalev, G.Levy-Finer // *J. Pediatr.*—2001.— Vol. 138.— P. 12.
- Lecomte M.* Hereditary pyropoikilocytosis and elliptocytosis in a Caucasian family. Transmission of the same molecular defect in spectrin through three generations with different clinical expression / M.Lecomte, D.Dhermy, M.Garbarz // *Hum. Genet.*—1987.— Vol. 77.— P. 329.
- Lecomte M.* L'elliptocytose héréditaire en Afrique de l'Ouest: fréquence et répartition des variants de la spectrine / M.Lecomte, D.Dhermy, H.Gautero // *C. R. Acad. Sc. (Paris)*.—1988.— Vol. 306.— P. 43.
- Lecomte M.* Severe recessive poikilocytic anaemia with a new spectrin α chain variant / M.Lecomte, C.Feo, H.Gautero // *Brit. J. Haematol.*—1990.— Vol. 74.— P. 497.
- Lee E.* A case of autoimmune haemolytic anaemia with an IgA anti-Ce autoantibody / E.Lee, R.Knight // *Vox Sang.*—2000.— Vol. 79, Suppl. 1.— P. 130.
- Lee E.* Rituxan in the treatment of cold agglutinin disease / E.Lee, B.Kueck // *Blood.*—1998.— Vol. 92.— P. 3490.
- Lee L.* Advances in hepatocyte transplantation: a myth becomes reality / L.Lee // *J. Clin. Invest.*—2001.— Vol. 108.— P. 367.
- Lee S.* Functional and structural aspects of the Kell blood group system / S.Lee, D.Russo, C.Redman // *Transf. Med. Rev.*—2000.— Vol. 14.— P. 93.
- Lenzner C.* Molecular analysis of 29 pyruvate kinase-deficient patients from central Europe with hereditary hemolytic anemia / C.Lenzner, P.Nurnberg, G.Jacobasch // *Blood.*—1997.— Vol. 89.— P. 1793.
- Leonard J.* Inborn errors of metabolism around time of birth / J.Leonard, A.Marris // *Lancet.*—2000.— Vol. 356.— P. 583.
- Leonard M.* Plasma zinc status, growth, and maturation in children with sickle cell disease / M.Leonard, B.Zemel, D.Kawchak // *J. Pediatr.*—1998.— Vol. 132.— P. 467.
- Levi S.* Analysis of ferritin in lymphoblastoid cell lines and in Lens of subjects with hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome / S.Levi, D.Girelli, F.Perrone // *Blood.*—1998.— Vol. 91.— P. 4180.
- Levy M.* Thromboses et anticorps antiphospholipides dans le lupus érythémateux disséminé à début pédiatrique / M.Levy, de Oca M.Montes, O.Meter // *Arch. Fr. Pediatr.*—1992.— Vol. 49.— P. 249.
- Li J.* Non-transformed colony-derived stromal cell lines from normal human marrows. II. Phenotypic characterization and differentiation pathway / J.Li, L.Sensebÿ, P.Hervÿ // *Exp. Hematol.*—1993.— Vol. 23.— P. 133.
- Lin J.-D.* The role of apoptosis in autoimmune thyroid disorders and thyroid cancer / J.-D.Lin // *Br. Med. J.*—2001.— Vol. 322.— P. 1525.
- Liozon E.* Thymoma-associated pancytopenia: effectiveness of cyclosporine A / E.Liozon, M.Touati, A.Allegraud // *Ann. Hematol.*—1998.— Vol. 77.— P. 175.
- Liu J.* Fanconi anemia and novel strategies for therapy / J.Liu, M.Buchwald, C.Walsh // *Blood.*—1994.— Vol. 84.— P. 3995.
- Louahed J.* Interleukin 9 promotes influx and local maturation of eosinophils / J.Louahed, Y.Zhou, W.Maloy // *Blood.*—2001.— Vol. 97.— P. 1035.
- Luo H.* Embryonic hemoglobins are expressed in definitive cells / H.Luo, L.Xi, C.Frye // *Blood.*—1999.— Vol. 94.— P. 359.
- Lyon M.* X-chromosome inactivation: Pin pointing the centre / M.Lyon // *Nature.*—1996.— Vol. 379.— P. 116.
- Macheta M.* Prominent dyserythropoiesis in four cases of haemophagocytic lymphohistiocytosis / M.Macheta, A.Will, J.Houghton // *J. Clin. Pathol.*—2001.— Vol. 54.— P. 961.
- Mahadeva U.* Haemophagocytic syndrome and histiocytic necrotising lymphadenitis (Kikuchi's disease) / U.Mahadeva, T.Alpport, B.Bain // *J. Clin. Pathol.*—2000.— Vol. 53.— P. 636.
- Maisels M.* Neonatal jaundice and kernicterus / M.Maisels, R.Baltz, V.Bhutani // *Pediatrics.*—2001.— Vol. 108.— P. 763.
- Mari G.* Non invasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunisation / G.Mari // *N. Engl. J. Med.*—2000.— Vol. 342.— P. 9.
- Maroeska D.* Detection of apoptosis in kidney biopsies of patients with D⁺ hemolytic-uremic syndrome / D.Maroeska, L.Mon-

- nens, L. van den Hewel // *Pediatr. Res.*— 2000. — Vol. 49. — P. 413.
- Marsh J. Treatment of aplastic anaemia: first do not harm / J.Marsh // *Lancet.*— 2000. — Vol. 356. — P. 1536.
- Martin M. A point mutation in the bulge of the iron-responsive element of the L-ferritin gene in two families with hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome / M.Martin, S.Fargion, P.Brisso // *Blood.*— 1998. — Vol. 91. — P. 319.
- Mathews-Roth M. Burst-forming units-erythroid from erythropoietic protoporphyria patients fluoresce under 405 nm light / M.Mathews-Roth, R.Wise, B.Miller. // *Blood.*— 1996. — Vol. 87. — P. 4480.
- Mattes-Martin S. Successful stem cell transplantation following orthotopic liver transplantation from the same haploidentical family donor in a girl with hemophagocytic lymphohistiocytosis / S.Mattes-Martin, C.Peters, A.Königsrainer // *Blood.*— 2000. — Vol. 96. — P. 3997.
- McCarthy T. Hemolytic—uremic syndrome and *Escherichia coli* 0121 at a Lake in Connecticut, 1999 / McCarthy T.Mc, N.Barret, J.Hadler // *Pediatrics.*— 2001. — Vol. 108. — P. 991.
- McMullin M. The molecular basis of red cell enzymes / Mullin M.Mc // *J. Clin. Pathol.*— 1999. — Vol. 52. — P. 241.
- McMullin M. The molecular basis of disorders of the red cell membrane / M.McMullin // *J. Clin. Pathol.*— 1999. — Vol. 52. — P. 245.
- Means R. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease / R.Means, S.Krantz // *Blood.*— 1992. — Vol. 80. — P. 1639.
- Mehta N. Haemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) on the intensive care unit / N.Mehta, S.Nadel, M.Levin // *Br. J. Anaesth.*— 2000. — Vol. 84. — P. 687P.
- Mentzer W. Stomatocytosis is absent in «stomatin» deficient murine red cells / W.Mentzer, C.Paszty, Y.Zhy // *Blood.*— 1998. — Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1. — P. 470.
- Messer J. Early treatment of premature infants with recombinant human erythropoietin / J.Messer, J.Haddad, L.L.Donato // *Pediatrics.*— 1993. — Vol. 92. — P. 519.
- Miraglia del Giudice E. Clinical and molecular evaluation of non-dominant hereditary spherocytosis (HS) / E.Miraglia del Giudice, B.Nobili, G.D'Urzo // *Brit. J. Haematol.*— 1998. — Vol. 102. — P. 302.
- Molloy A. termolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations / A.Molloy, S.Daly, J.Mills // *Lancet.*— 1997. — Vol. 349. — P. 1591.
- Monsen A.L. Determinants of cobalamin status in newborns / A.L.Monsen, P.Ueland, S.Vollset // *Pediatrics.*— 2001. — Vol. 108. — P. 624.
- Montosi G. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene / G.Montosi, A.Donovan, A.Totaro // *J. Clin. Invest.*— 2001. — Vol. 108. — P. 619.
- Morlé L. Ankyrin Bugey: a de novo deletional frameshift in exon 6 of the ankyrin gene associated with spherocytosis / L.Morlé, M.Bozon, N.Alloisio // *Am. J. Hematol.*— 1997. — Vol. 54. — P. 242.
- Motta M. Neonatal occurrence of autoimmune hemolytic anemia and hypoparathyroidism / M.Motta, A.Cavazza, C.Migliori // *Pediatr. Res.*— 2001. — Vol. 50. — P. 150.
- Mumford A. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome in two novel mutations in the L-ferritin iron-responsive element / A.Mumford, T.Vulliamy, J.Lindsay // *Blood.*— 1998. — Vol. 91. — P. 367.
- Mura C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis / C.Mura, O.Raguene, C.Ferec // *Blood.*— 1999. — Vol. 93. — P. 2502.
- Murakami K. Organization of the gene for both the erythroid—specific hexokinase isozyme, HK_R and the ubiquitous isozyme HK_I / K.Murakami, H.Kanno, S.Miwa // *Blood.*— 1998. — vol. 92, Suppl. 1, Pt. 2. — P. 154.
- Murray K. Neonatal hemochromatosis / K.Murray, K.Kowdley // *Pediatrics.*— 2001. — Vol. 108. — P. 960.
- Nadkarni A. A novel β^0 -thalassaemia mutation at codon 55 (-A) and a rare 17bp deletion at codons 126—131 in the Indian population / A.Nadkarni, T.Sakaguchi, H.Takaku // *Hemoglobin.*— 2002. — P. 41.
- Namour F. Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood / F.Namour, J.-L.Olivier, I.Abdelmoutaleb // *Blood.*— 2001. — Vol. 94. — P. 1092.

- Newman T.* Evaluation and treatment of jaundice in the term newborn: a kinder, gentler approach / T.Newman, M.Maisels // *Pediatrics*.— 1992.— Vol. 89.— P. 809.
- Niaudet P.* Deletion of the mitochondrial DNA in a case of De Toni — Debré — Fanconi syndrome and Pearson syndrome / P.Niaudet, L.Heidet, A.Munnich // *Pediatr. Nephrol.*— 1994.— Vol. 8.— P. 164.
- Niederer C.* Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis / C.Niederer, R.Fischer, A.Purschel // *Gastroenterology*.— 1996.— Vol. 110.— P. 1107.
- Nilsson S.* Spatial localization of hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches / S.Nilsson, H.Johnst, J.Coverdale // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 2293.
- Oda A.* Erythropoietin induces tyrosine phosphorylation of Jak2, STAT5A, and STAT5B in primary cultured human erythroid precursors / A.Oda, K.Sawada, B.Druker // *Blood*.— 1998.— Vol. 92.— P. 443.
- Oepkes D.* Assessment of fetal anaemia in the management of haemolytic disease of the newborn / D.Oepkes, H.Kanhai // *Proc. of the ISBT 5-th Regional (4-th European) Congress*.— SIMT1, 1997.— P. 122.
- Oh I.-H.* During ontogeny primitive (CD34+CD38-) hematopoietic cells show altered expression of a subset of genes associated with early cytokine and differentiation responses of their adult counterparts / I.-H.Oh, A.Lau, C.Eaves // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 4160.
- Ohadi M.* Localization of a gene for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis at chromosome 9q21.3—22 by homozygosity mapping / M.Ohadi, M.Lalloz, P.Sham // *Am. J. Hum. Genet.*— 1999.— Vol. 64.— P. 165.
- Ohls R.* Effects of early erythropoietin therapy on the transfusion requirements of preterm infants below 1250 grams birthweight: a multicenter, randomized, controlled trial / R.Ohls, R.Ebrenkranz, L.Wright // *Pediatrics*.— 2001.— Vol. 108.— P. 934.
- Okita Y.* Propandol for intractable hemolysis after open heart operation / Y.Okita, S.Miki, K.Kusuhara // *Ann. Thorac. Surg.*— 1991.— Vol. 52.— P. 1158.
- Olivieri N.* Hydroxyurea in children with sickle cell disease: impact on splenic function and compliance with therapy / N.Olivieri, E.Vichinsky // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*— 1998.— Vol. 20.— P. 26.
- Olynyk J.* A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene / J.Olynyk, D.Cullen, B.Aquilina // *N. Engl. J. Med.*— 1999.— Vol. 341.— P. 718.
- Oriol R.* Molecular genetics of H / R.Oriol, J.J.Candelier, R.Mollicone // *Vox Sang.*— 2000.— Vol. 278, Suppl 2.— P. 105.
- Oski F.* Iron deficiency in infancy and childhood. // *N. Engl. J. Med.*— 1993.— v. 329.— p. 190.
- Otsuka A.* No beneficial effect of splenectomy in hereditary high red cell membrane phosphatidylcholine hemolytic anemia: clinical and membrane studies of 20 patients / A.Otsuka, T.Sugihara, Y.Yawata // *Am. J. Hematol.*— 1990.— Vol. 34.— P. 8.
- Pang Q.* The Fanconi anemia protein FANCC binds to and facilitates the activation of STAT1 by gamma interferon and hematopoietic growth factor / Q.Pang, S.Fagerberg, T.Christianson // *Mol. Cell Biol.*— 2000.— Vol. 20.— P. 4724.
- Pang Q.* Role of double-stranded RNA-dependent protein kinase in mediating hypersensitivity of Fanconi anemia complementation group C cells to interferon gamma, tumor necrosis factor-alpha, and double-stranded RNA / Q.Pang, W.Keeble, J.Diaz // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 1644.
- Pawliuk R.* Gene therapy of erythropoietic protoporphyria by retroviral transfer of a human ferrochelatase DNA in a mouse model / R.Pawliuk, M.Mathews-Roth, P.Leboulch // *Blood*.— 1998.— Vol. 10, Suppl. 1.— P. 297.
- Pearson H.* A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with association of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction / H.Pearson, J.Lobel, S.Kocoshis // *J. Pediatr.*— 1979.— Vol. 95.— P. 976.
- Perel Y.* Portal vein thrombosis after splenectomy for hereditary stomatocytosis in childhood / Y.Perel, D.Dhermy, A.Carrere // *Eur. J. Pediatr.*— 1999.— Vol. 58.— P. 628.
- Pérez-Caballero D.* Clustering of missense mutations in the C-terminal region of factor H in atypical hemolytic uremic syndrome / D.Pérez-Caballero, C.C.González-Rubio, E.Gallardo // *Am. J. Hum. Genet.*— 2001.— Vol. 68.— № 2.— P. 478.

- Perrota S.* When to address molecular studies in red cell membrane defects / S.Perrota, E.Miraglia del Giudice, B.Nobili // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 136.
- Pietrangelo A.* Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene / A.Pietrangelo, G.Montosi, A.Totaro // *N. Engl. J. Med.*— 1999.— Vol. 341.— P. 725.
- Poissonier M.* Two hundred intrauterine exchange-transfusions in severe blood incompatibilities / M.Poissonier, Y.Brossard, N. De Meideros // *Am. J. Obstetr. Gynecol.*— 1989.— Vol. 161.— P. 709.
- Pollak A.* Effect of intravenous iron supplementation on erythropoiesis in erythropoietin-treated premature infants / A.Pollak, M.Hayde, M.Haya // *Pediatrics.*— 2001.— Vol. 107.— P. 78.
- Pootrakul P.* A correlation of erythrokinetics, ineffective erythropoiesis, and erythroid precursors apoptosis in the Thai patients with thalassemia / P.Pootrakul, P.Sirankapracha, S.Hemsorach // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 2066.
- Préhu C.* Hb0-Tibesti [β121 (GH4) Glu-Lys;β11 (A8) Val→Ile], a hemoglobin variant carrying in the same β chain the substitutions of Hb0 Arab and Hb Hamilton, found in combination with HbS [β (A3) Glu→Val] / C.Préhu, J.Rieu, I.Sartelet // *Hemoglobin.*— 2002.— Vol. 26.— P. 13.
- Pronk J.* Localization of the Fanconi anemia complementation group A gene to chromosome 16q24.3 A locus for Fanconi anemia on 16q determined by homozygosity of mapping / J.Pronk, R.Gibson, ASavoia // *Nat. Genet.*— 1995.— Vol. 11.— P. 338.
- Proulx F.* Pathogenesis of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome / F.Proulx, E.Seidman, D.Karpman // *Pediatr. Res.*— 2001.— Vol. 50.— P. 163.
- Provan D.* Red cells: acquired anaemias and polycythaemia / D.Provan, D.Weatherall // *Lancet.*— 2000.— Vol. 355.— P. 1260.
- Pullon H.* The osteodystrophy of congenital erythropoietic porphyria / H.Pullon, A.Bellingham, S.Humphreys // *Bone Marrow Transpl.*— 1991.— Vol. 12.— P. 89.
- Quartier P.* Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab / P.Quartier, B.Brethon, P.Philippet // *Lancet.*— 2001.— Vol. 358.— P. 1511.
- Rafie-Kolpin M.* Two heme-binding domains of heme-regulated eIF-2α kinase: N-terminus and kinase insertion / M.Rafie-Kolpin, P.Chefalo, Z.Hassain // *J. Biol. Chem.*— 2000.— Vol. 275.— P. 3171.
- Rathbun R.* Interferon-γ-induced apoptotic responses of Fanconi anemia group C hematopoietic progenitor cells involve caspase 8-dependent activation of caspase 3 family members / R.Rathbun, T.C.Hanson, G.G.Faucher // *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 4304.
- Reding R.* Paediatric liver transplantation with cadaveric or living related donors: comparative results in 90 elective recipients of primary grafts / R.Reding, J.De Gucht, I.Delbeke // *J. Pediatr.*— 1999.— Vol. 134.— P. 280.
- Reich S.* Oral isobutyramide reduces transfusion requirements in some patients with homozygous β-thalassemia / S.Reich, C.Bührer, G.Henze // *Blood.*— 2000.— Vol. 50.— P. 3357.
- Renehan A.* What is apoptosis, and why is it important? / A.Renehan, C.Booth, C.Potter // *Br. Med. J.*— 2001.— Vol. 322.— P. 1536.
- Richards A.* Factor H mutations in hemolytic uremic syndrome cluster in exons 18–20, a domain important for host cell recognition / A.Richards, M.Buddles, R.Donne // *Am. J. Hum. Genet.*— 2001.— Vol. 68.— P. 485.
- Richards S.* Lymphocyte subset analysis and glycosylphosphatidylinositol phenotype in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria / S.Richards, D.Norfolk, D.Swirsky // *Blood.*— 1998.— Vol. 92.— P. 1799.
- Rindi G.* Thiamine transport by erythrocytes and ghosts in thiamine-responsive megaloblastic anaemia / G.Rindi, D.Casirola, V.Poggi // *J. Inher. Metab. Dis.*— 1992.— Vol. 15.— P. 231.
- Ritter K.* Prolonged haemolytic anaemia in malaria and autoantibodies against triosephosphate isomerase / K.Ritter, A.Kuhlencord, R.Thomssen // *Lancet.*— 1993.— Vol. 342.— P. 1333.
- Rotig A.* Pearson's marrow-pancreas syndrome. A multisystem mitochondrial disorder in infancy / A.Rotig, V.Cormier, S.Blanché // *J. Clin. Invest.*— 1990.— Vol. 86.— P. 1601.
- Rovira A.* Stable in vivo expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and rescue of G6PD deficiency in stem cells by gene transfer / A.Rovira,

- M. De Angioletti, O. Camacho-Vanegas // *Blood*.—2000.— Vol. 96.— P. 4111.
- Rowbottom A. Correction of congenital erythropoietic porphyria by allogeneic bone marrow transplantation / A. Rowbottom, D. Bishop, D. Pamphilon // *Correction of Genetic Diseases by Transplantation IV.—The Co-gent Press.—Ruislip.—1997.—P. 121.*
- Rowe P. Haemolytic anaemia after childhood Escherichia Coli 0157.H7 infection: are females at increased risk? / P. Rowe, W. Walop, H. Lior // *Epidemiol. Infect.*—1991.— Vol. 106.— P. 523.
- Roy C. Iron homeostasis: new tales from the crypt / C. Roy, C. Enns // *Blood*.—2000.— Vol. 96.— P. 4020.
- Rugman F. Does HLA-DR predict response to specific immunosuppressive therapy in aplastic anaemia? / F. Rugman, D. Ashby, J. Davies // *Br. J. Haematol.*—1990.— Vol. 74.— P. 545.
- Ruzzo A. An erythroid-specific exon is present in the human hexokinase gene / A. Ruzzo, F. Andreoni, M. Magnani // *Blood*.—1998.— Vol. 91.— P. 363.
- Salojee H. Iron deficiency and impaired child development. The relation may be caused but not be a priority for intervention / H. Saloojee, J. Pettifor // *Br. Med. J.*—2001.— Vol. 323.— P. 1377.
- Salzer U. Stomatin, flotillin-1, and flotillin-2 are major integral proteins of erythrocyte / U. Salzer, R. Prohaska // *Blood*.—2001.— Vol. 97.— P. 1141.
- Scandurro A. Molecular characterization of the key proteins involved in post transcriptional regulation of the erythropoietin gene / A. Scandurro, D. Figeys, R. Aebersold // *Blood*.—1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 207.
- Scheider A. New insights into the interrelationships of the —5,-8 and —24 mutations with triosephosphate isomerase (TPI) deficiency / A. Scheider, L. Forman, B. Westwood // *Blood*.—1997.— Vol. 90, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 273.
- Schrier S. Role of apoptosis in the macrophagic attack on erythroid precursors (EP) in Cooley's anemia / S. Schrier, H. Bai, L. Ma // *Blood*.—1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 531.
- Scott M. Epitopes of Rh proteins / M. Scott, D. Voak, W. Liu // *Vox Sang.*—2000.— Vol. 78, Suppl. 2.— P. 117.
- Sellers V. Examination of ferrochelatase mutations that cause erythropoietic protoporphyria / V. Sellers, T. Dailey, H. Dailey // *Blood*.—1998.— Vol. 91.— P. 3980.
- Seltsam A. Immune haemolysis related to ceftriaxone / A. Seltsam, A. Salama // *Vox Sang.*—2000.— Vol. 79, Suppl. 1.— P. 106.
- Serjeant B. Haematological response to parvovirus B19 infection in homozygous sickle-cell disease / B. Serjeant, I. Hambleton, S. Kerr // *Lancet*.—2001.— Vol. 358.— P. 1779.
- Sham R. Asymptomatic hemochromatosis subjects: genotypic and phenotypic profiles / R. Sham, R. Raubertas, C. Braggion // *Blood*.—2000.— Vol. 12.— P. 3707.
- Shannon K. Anemia of prematurity: progress and prospects / K. Shannon // *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.*—1990.— Vol. 12.— P. 14.
- Shivdasani R. The transcriptional control of hematopoiesis / R. Shivdasani, S. Orkin // *Blood*.—1996.— Vol. 87.— P. 4025.
- Siler U. Characterization and functional analysis of laminin isoforms in human bone marrow / U. Siler, M. Seiffert, S. Puch // *Blood*.—2000.— Vol. 96.— P. 4194.
- Sjöström J. How apoptosis is regulated, and what goes wrong in cancer / J. Sjöström, J. Bergh // *Br. Med. J.*—2001.— Vol. 322.— P. 1538.
- Socie G. Late clonal disease of treated aplastic anemia / G. Socie, S. Rosenfeld, N. Frickhofen // *Semin. Hematol.*—2000.— Vol. 37.— P. 91.
- Spivak J. The blood in systemic disorders / J. Spivak // *Lancet*.—2000.— Vol. 355.— P. 1707.
- Stepp S. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis / S. Stepp, R. Dufour-Lagelouse, F. Deist // *Science*.—1999.— Vol. 286.— P. 1957.
- Tanner M. Red cell membrane disorders associated with the band 3 gene / M. Tanner // *Br. J. Hematol.*—1998.— Vol. 102.— P. 3.
- Tavian M. Aorta-associated CD34+ hematopoietic cells in the early human embryo / M. Tavian, L. Coulombel, D. Luton // *Blood*.—1996.— Vol. 87.— P. 67.
- Tavill A. Clinical implications of the hemochromatosis gene / A. Tavill // *N. Engl. J. Med.*—1999.— Vol. 341.— P. 755.
- Taylor C. Complement factor H and the haemolytic uraemic syndrome / C. Taylor // *Lancet*.—2001.— Vol. 358.— P. 1200.

- Te Loo Monnens L.* Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome / L. Te Loo Monnens, T. van der Velden, M. Vermeer // *Blood*.— 2000.— Vol. 95.— P. 3396.
- Tisdale J.* High-dose cyclophosphamide in severe aplastic anaemia: a randomized trial / J. Tisdale, D. Dunn, N. Geller // *Lancet*.— 2000.— Vol. 356.— P. 1554.
- Toh B.* Pernicious anemia / B. Toh, I. van Driel, P. Gleeson // *N. Engl. J. Med.*— 1997.— Vol. 337.— P. 1441.
- Tonon L.* Unbalanced X-chromosome inactivation in haemopoietic cells from normal women / L. Tonon, G. Bergamaschi, C. Dellavecchia // *Br. J. Haematol.*— 1998.— Vol. 102.— P. 996.
- Tordjman R.* Erythroblasts are a source of angiogenic factors / R. Tordjman, S. Declaire, J. Plouët // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 1968.
- Trinder D.* Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload / D. Trinder, P. Oates, T. Sadleir // *Gut*.— 2000.— Vol. 46.— P. 270.
- Tse W.* Amino-acid substitution in α -spectrin commonly coinherit with nondominant hereditary spherocytosis / W. Tse, P. Gallagher, P. Jenkins // *Am. J. Hematol.*— 1997.— Vol. 54.— P. 233.
- Tung B.* Clinical management of iron overload / B. Tung, K. Kowdley // *Gastroenterology Clin. North Am.*— 1998.— Vol. 27.— P. 637.
- Ulvestad E.* Paradoxical haemolysis in a patient with cold agglutinin disease / E. Ulvestad // *Eur. J. Haematol.*— 1998.— Vol. 60.— P. 93.
- Van Dijk T.* Stem cell factor induces phosphatidylinositol 3'-kinase-dependent *Lyn/Tec/Dok-1* complex formation in hematopoietic cells / T. Van Dijk, E. van den Akker, M. Parren van Amelsvoort // *Blood*.— 2000.— Vol. 96.— P. 3406.
- Vihinen M.* Primary immunodeficiency mutation databases / M. Vihinen, F. Arredondo-Vega, J.-L. Casanova // *Adv. In Genetics*.— 2001.— Vol. 43.— P. 183.
- Viale P.* Clinical features and prognostic factors of HIV-associated thrombotic microangiopathies / P. Viale, L. Pagani, F. Alberici // *Eur. J. Haematol.*— 1998.— Vol. 60.— P. 262.
- Vulliamis T.* Germ line and somatic mosaicism a cryptic polyadenylation site and overlapping transcripts in a case of dyskeratosis congenital caused by a deletion at the 3' end of the *DKC1* gene / T. Vulliamis, S. Knight, N. Heiss // *Blood*.— 1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 522.
- Waghorn D.* Overwhelming infection in asplenic patients: current best practice preventive measures are not being followed / D. Waghorn // *J. Clin. Pathol.*— 2001.— Vol. 54.— P. 214.
- Waisfisz Q.* The Fanconi anemia group E gene. FANCE maps to chromosome 6p / Q. Waisfisz, K. Saar, N. Morgan // *Am. J. Hum. Genet.*— 1999.— Vol. 64.— P. 1400.
- Waisfisz Q.* A physical complex of the Fanconi anemia proteins FANCG/XRCC9 and FANCA / Q. Waisfisz, J. de Winter, F. Kruyt // *Proc. Natl. Ac. Sci., USA*.— 1999.— Vol. 96.— P. 10320.
- Wajnrath M.* Evaluation of growth and hormonal status in patients referred to the International Fanconi Anemia Registry / M. Wajnrath, J. Gertner, Z. Huma // *Pediatrics*.— 2001.— Vol. 107.— P. 744.
- Wald N.* Quantifying the effect of folic acid / N. Wald, M. Law, J. Morris // *Lancet*.— 2001.— Vol. 358.— P. 2069.
- Waller E.* Changes in the growth properties of CD34+/CD38- bone marrow progenitors during human fetal development / E. Waller, S. Huang, L. Terstappen // *Blood*.— 1995.— Vol. 86.— P. 710.
- Waller E.* The «common stem cell» hypothesis reevaluated: human fetal bone marrow contains separate populations of hematopoietic and stromal progenitors / E. Waller, J. Olweys, F. Lund-Johansen // *Blood*.— 1995.— Vol. 85.— P. 2422.
- Waugh R.* Membrane instability in late-stage erythropoiesis / R. Waugh, A. Mantalaris, R. Bauserman // *Blood*.— 2001.— Vol. 97.— P. 1869.
- Weatherall D.* Red cells I: inherited anaemias / D. Weatherall, A. Provan // *Lancet*.— 2000.— Vol. 355.— P. 1169.
- Whitney M.* Microcell mediated chromosome transfer maps the Fanconi anemia group D gene to chromosome 3p / M. Whitney // *Nat. Genet.*— 1995.— Vol. 11.— P. 341.
- Wickramasinghe S.* Transfusion-dependent congenital dyserythropoietic anaemia with non-specific dysplastic changes in eryth-

- roblasts / S.Wickramasinghe, A.Vora, A.Will // *Eur. J. Hematol.*—1998.— Vol. 60.— P. 140.
- Willig T. Diamond—Blackfan anemia / T.Willig, H.Gazda, C.Sieff // *Curr. Opin. Hematol.*—2000.— Vol. 7.— P. 85.
- Wineman J. Functional heterogeneity of the hematopoietic microenvironment: rare stromal elements maintain long-term repopulating stem cells / J.Wineman, K.Moore, I.Lemischka // *Blood.*—1996.— Vol. 87.— P. 4082.
- Yamamoto F. Molecular genetic of ABO / F.Yamamoto // *Vox Sang.*—2000.— Vol. 78, Suppl. 2.— P. 93.
- Yuan B. Linkage of a gene for familial hypobetalipoproteinemia to chromosome 3p21.1—22 / B.Yuan, R.Neuman, S.Duan // *Am. J. Hum. Genet.*—2000.— Vol. 66.— P. 1699.
- Yang G. Unique effects of zinc protoporphyrin on HO-1 induction and apoptosis / G.Yang, X.Nguyen, J.Ou // *Blood.*—2001.— Vol. 97.— P. 1306.
- Ylmaz D. The efficacy of rHuEPO treatment for anemia in children with cancer / D.Ylmaz, N.Çetingül, H.Öniz // *Med. Pediatr. Oncology.*—2000.— Vol. 35.— P. 250.
- Yver A. Saturnisme de l'enfant. A propos de 129 cas. / A.Yver, G.Leverger, J.Iniguez // *Arch. Fr. Pediatr.*—1991.— Vol. 48.— P. 185.
- Zhang A.S. The use of Nramp2- transfected Chinese hamster ovary cells and reticulocytes from mk/mk mice to study iron transport mechanisms / A.S.Zhang, S.Gruenheid, P.Gros // *Blood.*—1998.— Vol. 92, Suppl. 1, Pt. 1.— P. 327.
- Zhang P. PU.1 inhibits GATA-1 function and erythroid differentiation by blocking GATA-1 DNA binding / P.Zhang, X.Zhang, A.Iwama // *Blood.*—2000.— Vol. 96.— P. 2641.
- Zeng W. Limited heterogeneity of T cell receptor BV usage in aplastic anemia / W.Zeng, J.Maciejewski, G.Chen // *J. Clin. Invest.*—2001.— Vol. 108.— P. 765.
- Zeng W. Characterization of T-cell repertoire of the bone marrow in immune-mediated aplastic anemia: evidence for the involvement of antigen-driven T-cell response in cyclosporine-dependent aplastic anemia / W.Zeng, S.Nakao, H.Takamatsu // *Blood.*—1999.— Vol. 93.— P. 3008.
- Zhang D. Crystallographic structure and functional interpretation of the cytoplasmic domain of erythrocyte membrane band 3 / D.Zhang, A.Kiyatkin, J.Bolin // *Blood.*—2000.— Vol. 96.— P. 2925.
- Zipirsky A. Perforin deficiency and familial hemophagocytic lymphohistiocytosis / A.Zipirsky // *Pediatr. Res.*—2001.— Vol. 49.— P. 3.
- Zittoun J. Combined congenital deficiencies of intrinsic factor and R binder / J.Zittoun, J.Leger, J.Marquet // *Blood.*—1988.— Vol. 78.— P. 940.
- Zoller H. Duodenal metal-transporter (DMT-1, Nramp-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis / H.Zoller, A.Pietragelo, W.Vogel // *Lancet.*—1999.— Vol. 353.— P. 2120.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- | | |
|--|---|
| АА — апластическая анемия | ГБН — гемолитическая болезнь новорожденных |
| АГ — антиген | ГК — гексокиназа |
| АГМ — аортогонадомезонефрос | ГСК — гемопоэтическая стволовая клетка |
| АДА — аденозиндезаминаза | ГТФ — гуанозинтрифосфат |
| АДФ — аденозиндифосфорная кислота | ГУС — гемолитико-уремический синдром |
| АИГА — аутоиммунная гемолитическая анемия | ГФИ — глюкозофосфатизомераза |
| АИГАТА — аутоиммунная гемолитическая анемия с тепловыми антителами | ДАФ — диоксиацетонфосфат |
| АК — аденилаткиназа | ДВС — диссеминированное внутрисосудистое свертывание (крови) |
| АКТГ — адренокортикотропный гормон | ДГБ — билирубина диглюкоконид |
| АЛГ — антилимфоцитарный глобулин | ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота |
| АЛК — аминолевулиновая кислота | ДФГ — дифосфоглицерат |
| АЛК-Д — дегидратаза аминолевулиновой кислоты | ДФГМ — дифосфоглицератмутаза |
| АЛК-С — синтетаза аминолевулиновой кислоты | ЖДА — железодефицитная анемия |
| АЛС — антилимфоцитарная сыворотка | ИАА — идиопатическая апластическая анемия |
| АМФ — аденозинмонофосфорная кислота | ИАГС — инфекционно-ассоциированный гемофагоцитарный синдром |
| АТ — антитело | ИЛ — интерлейкин |
| АТГ — антиtimoцитарный глобулин | ИЛ-Р — рецептор интерлейкина |
| АТФ — аденозинтрифосфорная кислота | ИМ — инфекционный мононуклеоз |
| АФ — анемия Фанкони | ИМФ — инозинмонофосфат |
| АФРТ — аденинфосфорибозилтрансфераза | ИПЖ — индекс печеночного железа |
| АХЭ — ацетилхолинэстераза | ИТФ — иоцитинтрифосфат |
| БОЕ-Mer — бурстообразующая единица мегакариоцитарных клеток | ИФ — интерферон |
| БОЕ-Э — бурстообразующая единица эритроидных клеток | ИФЛ — ингибиторный фактор лейкемии |
| БТПХ — болезнь «трансплантат против хозяина» | КОЕ — колониеобразующая единица |
| ВАГС — вирус-ассоциированный гемофагоцитарный синдром | КОЕ-Баз — колониеобразующая единица базофилов |
| ВДА — врожденная дизэритропоэтическая анемия | КОЕ- — колониеобразующая единица бласт бластов |
| ВИЧ — вирус иммунодефицита человека | КОЕ-Г — колониеобразующая единица гранулоцитов |
| ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения | КОЕ-ГМ — колониеобразующая единица гранулоцитов, макрофагов |
| ВП — вариететная порфирия | КОЕ- — колониеобразующая единица гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов, мегакариоцитов |
| ВФ — внутренний фактор | КОЕ-М — колониеобразующая единица моноцитов |
| ВЭБ — вирус Эпштейна — Барра | КОЕ-Mer — колониеобразующая единица мегакариоцитов |
| ВЭП — врожденная эритропоэтическая порфирия | КОЕ-С — колониеобразующая единица селезенки |
| Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат | КОЕ-Э — колониеобразующая единица эритроидных клеток |
| Г-6-ФД — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа | |
| ГА — гемолитическая анемия | |
| ГАФ — глицеральдегид-3-фосфат | |

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- КОЕ-Эо — колониобразующая единица эозинофилов
 КОК-ВНЦ — колониобразующие клетки с высоким пролиферативным потенциалом
 КСА — колониестимулирующая активность
 КСФ — колониестимулирующий фактор
 КСФ-Г — колониестимулирующий фактор гранулоцитов
 КСФ-ГМ — колониестимулирующий фактор граулоцитов, моноцитов
 КСФ-М — колониестимулирующий фактор моноцитов
 КСФ-Эо — колониестимулирующий фактор эозинофилов
 ЛГ — лютеинизирующий гормон
 ЛХА — лецитинхолестеринацилтрансфераза
 МА — моноклональное автитело
 МГБ — билирубина моноглокуронид
 МДС — миелодиспластический синдром
 НАД — никотинамидадениндинуклеотид
 НАД-Н — восстановленный никотинамидадениндинуклеотид
 НАДФ — никотинамидадениндинуклеотид фосфат
 НАДФ-Н — восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат
 НГ — наследственный гемохроматоз
 НК — наследственная копропорфирия
 НПП — наследственный пировойклизитоз
 НС — наследственный сфероцитоз
 НЭ — наследственный эллиптоцитоз
 ОЛ — острый лейкоз
 ОМЛ — острый миелобластный лейкоз
 ОПН — острая почечная недостаточность
 ОПП — острая перемежающаяся порфирия
 ОЦК — объем циркулирующей крови
 ОЦП — объем циркулирующей плазмы
 П-5'-Н — пиримидин-5'-нуклеотидаза
 ПАСК — парааминосалициловая кислота
 ПБГ — порфибилиноген
 ПБГ-Д — порфибилиногендезаминаза
 ПК — пируваткиназа
 ПКП — поздняя кожная порфирия
 ПНГ — пароксизмальная ночная гемоглобинурия
 РАС — рефрактерная анемия с сидеробластами
 РГС — реактивный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз
 РНК — рибонуклеиновая кислота
 Рц — ретикулоцит
 СГЛ — семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз
 СКВ — системная красная волчанка
 СКГЭ — средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах
 СМФ — система мионуклеарных фагоцитов
 ССГЭ — среднее содержание гемоглобина в одном эритроците
 ТК — транскобаламин
 ТКМ — трансплантация костного мозга
 ТПО — тромбоцитин
 ТТП — тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
 Тф — трансферрин
 ТФИ — тризофосфатизмераза
 ТФР — трансформирующий фактор роста
 ТФР — рецептор трансферрина
 УДФ — уридиндифосфат
 УЗИ — ультразвуковое исследование
 УМФ — уридинмонофосфат
 УПГ-Д — уропорфириногендекарбоксилаза
 Ф-1,6-ДФ — фруктозо-1,6-дифосфат
 Ф-6-Ф — фруктозо-6-фосфат
 ФГА — фитогемагглютини
 ФГК — фосфоглицераткиназа
 ФНО — фактор некроза опухоли
 ФСТ — фолликулостимулирующий гормон
 ФСК — фактор стволовой клетки
 ФФК — фосфофруктокиназа
 ХПН — хроническая почечная недостаточность
 цАМФ — циклическая аденозинмонофосфорная кислота
 ЦМВ — цитомегаловирус
 ЦНС — центральная нервная система
 ЭБВ — вирус Эпштейна — Барра ВЭБ
 ЭДТА — этилендиаминтетраацетат
 ЭКГ — электрокардиограмма
 Эпо — эритропоэтин
 ЭпоР — рецептор эритропоэтина
 Эр — эритроцит
 АС — Acute chest syndrome
 АЕ — Anion exchanger
 АQP — аквафорин
 САФС — Cell-stone Area Forming Cell
 Сbl — кобаламины
 СВР — Creb-Binding Protein
 СДТ — карбогидратный дефицитный Тф
 СFU — Colony Forming Cell
 CSIF — Cytokine Synthesis Inhibitory Factor ингибиторный фактор синтеза цитокинов
 DAF — Decay accelerating factor
 DBA — анемия Diamond — Blackfan
 DCT — Divalent — Cation Transporter
 ДЕВ — Diерoxybutane
 DHF — дигидрофолиевая кислота
 DHFR — дигидрофолатредуктаза
 DHS — дегидратированный наследственный стоматоцитоз
 DISC — сигнальный комплекс, индуцирующий смерть
 DKC — dyskeratosis congenita
 DMT — дивалентный транспортер
 DOSS — порфирия
 dTMP — тимидилатмонофосфат
 EGF — эпидермальный фактор роста
 EKLf — Erythroid Kruppel-like Factor
 EM — путь Embden — Meyerhoff
 EPOR-T — укороченная форма ЭпоР

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ERK — MAP-киназа
 Fog — Friend of GATA-1
 GPA — гликофорин А
 GPB — гликофорин В
 GPC — гликофорин С
 GPD — гликофорин D
 GPI — гликозилфосфатидилинозитол
 GST — глутатион-S-трансфераза
 Hb — гемоглобин
 HEMPAS — Hereditary Erythroblastic Multinuclearity Associated with a positive Acidified-Serum Test — наследственная многоядерность эритробластов с положительным кислотно-сывороточным тестом
 HFE — рецептор трансферрина белкового комплекса наследственного гемохроматоза
 HIF — гипоксия-индуцирующий фактор
 HPFH — наследственное персистенция гемоглобина F
 Ht — гематокритное число
 ICE — ИЛ-1 β -конвертирующий фермент
 Ig — иммуноглобулин
 IGF — инсулиноподобный фактор роста
 IL — интерлейкин
 IMP — Intramembrane Particles
 IRE — Iron Responsive Element, элемент, ответственный за железо
 IRE-BP — IRE-Binding Protein, IRE-связанный белок
 IRF — Iron Regulator Factor, регуляторный фактор железа
 IRP — Iron Responsive Protein
 IRS — субстрат инсулинового рецептора
 JAK — Januse kinase
 KIR — ингибитор киллерной клетки
 LCR — Locus Control Region, контролирующая локус участка
 LIF — лейкоэмический ингибиторный фактор
 LTCIC — Long-term culture initiating cell
 MAPK — MAP-киназа
 MCAF — макрофагальный хемотаксический и активирующий фактор
 MGSA — стимулятор роста меланомы
 MRP — Multidrug Resistance Associated Protein
 MTHF — 5-метилтетрагидрофолат
 NK — natural killer
 PI — phosphatidyl inositol
 PRE — Positive Regulatory Element
 rHuEPO — рекомбинантный человеческий эритропоэтин
 RTK — рецептор тирозинкиназы
 SCFL — Stem Cell Factor Leukemia, фактор стволовой клетки лейкемии
 SCR — Short Consensus Repeat
 SDF — stromal derived factor
 sTfP — растворимая форма рецептора трансферрина
 THF — тетрагидрофолат
 VCAM — Vascular Cell Adhesion Molecule
 VEGFA — Vascular Endothelial Growth Factor A
 XLSA — X-связанная сидеробластная анемия
 XLSA/A — X-связанная сидеробластная анемия с атаксией