

## ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.155.194.7-085.37-07:616.663.963.42

Фидарова З.Т.<sup>1</sup>, Михайлова Е.А.<sup>1</sup>, Гальцева И.В.<sup>1</sup>, Луговская С.А.<sup>2</sup>, Наумова Е.В.<sup>2</sup>, Троицкая В.В.<sup>1</sup>, Устинова Е.Н.<sup>1</sup>, Давыдова Ю.О.<sup>1</sup>, Капранов Н.М.<sup>1</sup>, Абрамова А.В.<sup>1</sup>, Паровичникова Е.Н.<sup>1</sup>, Савченко В.Г.<sup>1</sup>

### ДИНАМИКА ПНГ-КЛОНА У БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ В ПРОЦЕССЕ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup>ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, 125167, Москва; <sup>2</sup>ГОУ ДПО РМАПО, кафедра клинической лабораторной диагностики, 125993, Москва, Российская Федерация

Внедрение принципов высокочувствительной проточной цитометрии в диагностику пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) увеличило частоту обнаружения ПНГ-клона у больных апластической анемией (АА) уже на ранних этапах установки диагноза (до 79%). Однако выявление ПНГ-клона представляет интерес не только с точки зрения прогрессии в гемолитическую форму ПНГ (от 2 до 19% больных АА). Наличие ПНГ-клона у пациентов с апластической анемией может сопровождаться скрытыми нарушениями гемопоэза, риск проявления которых увеличивается в условиях пролиферативного стресса, — в связи с чем необходимо мониторировать данный клон в течение всего времени наблюдения.

Настоящая работа является проспективным исследованием, в котором анализ динамики ПНГ-клона в процессе иммуносупрессивной терапии (ИСТ) проводился 47 больным АА, среди которых ПНГ-клон первоначально выявлен у 59,6%. Медиана наблюдения составила 27 (9—48) мес. В зависимости от размера гранулоцитарного ПНГ-клона больные были распределены на четыре условные группы: 1-я группа — от 0,01 до 0,99% (n = 11); 2-я группа — от 1 до 9,99% (n = 8); 3-я группа — от 10 до 49,9% (n = 4); 4-я группа — от 50 и более (n = 5).

В ходе исследования была выявлена разнонаправленная динамика ПНГ-клона. У 3 из 11 больных 1-й группы произошло увеличение медианы ПНГ-клона с минорных значений (менее 1%) до 3,55%; при этом у одного больного к 12-му мес наблюдения произошла полная элиминация ПНГ-клона. Заметная однонаправленная динамика была выявлена среди больных 3-й группы: уже к 3-му месяцу наблюдения одновременно со становлением ремиссии медиана ПНГ-клона в группе уменьшилась с 22,9% (18,39—24,77%) до 5,6% (1,5—6,7%). ПНГ-клон среди больных 2-й и 4-й групп оставался стабильным. Развитие гемолитической формы ПНГ наблюдалось у всех больных из 4-й группы, т. е. у 18% больных АА с первоначально выявленным ПНГ-клоном. В процессе наблюдения у 37% больных АА без первоначально выявленного ПНГ-клона отмечалось его появление и персистенция (медиана — 0,34% (0,1—6,2%).

Судя по результатам настоящего исследования, изменение размеров ПНГ-клона или его появление происходят при ответе на ИСТ и, вероятнее всего, зависят от преимущественного роста в процессе восстановления нормального (ГФИ-позитивного) или клонального (ГФИ-негативного) кроветворения. Получить более достоверные выводы позволят совершенствование методов молекулярной диагностики одновременно с динамическим наблюдением за течением болезни у данных пациентов.

Ключевые слова: апластическая анемия; ПНГ-клон; пароксизмальная ночная гемоглобинурия; проточная цитометрия.

**Для цитирования:** Фидарова З.Т., Михайлова Е.А., Гальцева И.В., Луговская С.А., Наумова Е.В., Троицкая В.В., Устинова Е.Н., Давыдова Ю.О., Капранов Н.М., Абрамова А.В., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Динамика ПНГ-клона у больных апластической анемией в процессе иммуносупрессивной терапии. Клиническая лабораторная диагностика, 2016; 61(8): 490-494. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-8-490-494

Fidarova Z.T.<sup>1</sup>, Mikhailova E.A.<sup>1</sup>, Galtseva I.V.<sup>1</sup>, Lugovskaya S.A.<sup>2</sup>, Naumova E.V.<sup>2</sup>, Troitskaya V.V.<sup>1</sup>, Ustinova E.N.<sup>1</sup>, Davydova Yu.O.<sup>1</sup>, Kapranov N.M.<sup>1</sup>, Abramova A.V.<sup>1</sup>, Parovichnikova E.N.<sup>1</sup>, Savchenko V.G.<sup>1</sup>

THE DYNAMICS OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA CLONE IN PATIENTS WITH APLASTIC ANEMIA IN PROCESS OF IMMUNE SUPPRESSIVE THERAPY

<sup>1</sup>The hematological research center of Minzdrav of Russia, 125167 Moscow, Russia; <sup>2</sup>The Russian medical academy of post-graduate education of Minzdrav of Russia, 123995 Moscow, Russia

The implementation of principles of highly sensitive flow cytometry into diagnostic of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria increased rate of detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in patients with aplastic anemia already at early stages of diagnosis establishment (up to 79%). However, detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone attracts interest not only from point of view of progression in% of patients with aplastic anemia. The occurrence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in patients with aplastic anemia can be accompanied by hidden disorders of haemopoiesis with increasing risk in conditions of proliferative stress. Hence, it is necessary to monitor the given clone during all period of observation.

The study is a prospective investigation analyzing dynamics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in process of immune suppressive therapy applied to 44 patients with aplastic anemia. The mentioned clone was initially detected in 59.6% of patients. The median of observation amounted to 27 (9—48) months. Depending on size of granulocytic paroxysmal nocturnal

hemoglobinuria clone patients were allocated in four conditional groups: group I - from 0.01% to 0.99% (n=11); group II - from 1% to 9.99% (n=8); group III - from 10% to 49.9% (n=4); group IV - from 50% and more (n=5). In the course of study the differently directed dynamics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone was revealed. In 3 out of 11 patients from group I median of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone increased from minor values (less than 1%) to 3.55%; at that in one patient occurred total elimination of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone to 12th month of observation. The noticeable unidirectional dynamics was established in patients of group III: already to 3d month of observation, simultaneously with becoming of remission, median of size of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in group diminished from 22.9% (18.39%-24.77%) to 5.6% (1.5%-6.7%). Among patients of groups II and IV paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone remained stable. The development of hemolytic form of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria was observed in all patients of group IV i.e. in 18% of patients with aplastic anemia with primarily detected paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone. In the process of observation, in 37% of patients with aplastic anemia without primarily detected paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone its occurrence and persistence (median - 0.34% (0.1%-6.2%)) was noticed. According to the results of study, alteration of sizes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone or its occurrence develop in case of response to ISP and, most probably, depend on advantage of growth in the process of repair of normal (GPI positive) or clonal (GPI negative) hemopoiesis. To acquire more reliable conclusions will be possible through development of techniques of molecular diagnostic simultaneously with dynamic observation of course of disease in the given patients.

**Key words:** aplastic anemia; paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; clone; flow cytometry

**For citation:** Fidarova Z.T., Mikhailova E.A., Galtseva I.V., Lugovskaya S.A., Naumova E.V., Troitskaya V.V., Ustinova E.N., Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Abramova A.V., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. The dynamics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in patients with aplastic anemia in process of immune suppressive therapy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (8): 490-494 (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-8-490-494

**For correspondence:** Fidarova Z.T., research worker of scientific clinical department of chemotherapy of hemoblastosis and depression of hemopoiesis. e-mail: zalinafidarova@mail.ru

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Financing.** The study had no sponsor support.

Received 03.04.2016  
Accepted 15.04.2016

**Введение.** ПНГ-клон — это клон стволовой клетки крови с мутацией в *PIG-A* гене, в результате которой нарушается синтез гликозилинозитолфосфата (ГФИ) — гликолипида, с помощью которого к мембранам клеток крепятся белки ГФИ-комплекса, защищающего мембраны клеток крови от воздействия терминальных компонентов системы комплемента [1—4].

Однако одно лишь присутствие ПНГ-клона не подразумевает диагноза пароксизмальной ночной гемоглобинурии, которая характеризуется не только наличием клона клеток с дефицитом или полным отсутствием ГФИ, но и четкой клинической картиной [5].

В настоящее время продолжается поиск причинных связей между развитием и эволюцией ПНГ-клона у больных с костномозговой недостаточностью. Различные исследования свидетельствуют о наличии внутренних факторов эволюции ПНГ-клона [6, 7]. Гипотеза иммунной привилегированности [8] предполагает наличие у ГФИ-дефектного клона преимущества, позволяющего ему избегать иммуноопосредованной атаки на костномозговое кроветворение. Однако причины эволюционного течения ПНГ-клона с развитием гемолитической формы пароксизмальной ночной гемоглобинурии остаются неизвестными. Так, увеличение размера ПНГ-клона продолжается у некоторых больных АА на фоне проведения

иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и после достижения ремиссии, а у больных с гемолитической формой пароксизмальной ночной гемоглобинурии клиническая манифестация не всегда сочетается с клиническими проявлениями костномозговой недостаточности [9]. Более того, небольшие популяции *PIG-A* мутантных клеток могут определяться и у здоровых людей, что свидетельствует о наличии дополнительных внутренних факторов, способствующих экспансии ГФИ-дефектного клона [10]. Таким образом, целью настоящей работы является определение изменений ПНГ-клона в процессе ИСТ.

**Материал и методы.** Анализ динамики ПНГ-клона на фоне ИСТ проводился 47 больным АА, которые впервые были госпитализированы в ФГБУ «ГНЦ» МЗ РФ с мая 2011 г. по июнь 2015 г. Среди них было 25 женщин и 22 мужчины, больных тяжелой АА — 17 человек, нетяжелой АА — 11. На момент диагностики АА ПНГ-клон выявлен у 28 (59,6%) из 47 больных. Медиана наблюдения составила 27 (9—48) мес. Всем больным проводилась программная ИСТ, включающая курсы лечения лошадиным антиtimoцитарным глобулином (АТГАМ) и длительную терапию циклоспорином А в сочетании с лапароскопической спленэктомией или без ее выполнения [11].

В зависимости от размера ПНГ-клона по гранулоцитам,

Таблица 1

**Распределение больных АА в зависимости от размера ПНГ-клона**

Размер ПНГ-клона	1 группа (n = 11)	2 группа (n = 8)	3 группа (n = 4)	4 группа (n = 5)
Размер ПНГ-клона (гранулоциты), %	0,01—0,99	1—9,99	10—49,9	50—100
ПНГ-клон (гранулоциты), медиана (мин—макс), %	0,40 (0,12—0,76)	2,10 (1,09—6,7)	22,80 (18,39—24,77)	89,90 (61,5—99,5)
ПНГ-клон (эритроциты, тип II + тип III), медиана (мин—макс), %	0,04 (0—0,70)	0,20 (0,03—0,7)	2,25 (0,27—14,21)	5,35 (3,5—11,95)
ПНГ-клон (моноциты), медиана (мин—макс), %	0,80 (0,3—10)	5,40 (0,92—47,9)	27,69 (6,12—46,36)	91,10 (76,43—99,2)

Таблица 2

**Набор моноклональных антител для определения ПНГ-клона для разных клеточных популяций**

Набор мкАТ	Клеточные популяции		
	Гранулоциты	Моноциты	Эритроциты
	CD45-PerCP	CD45-PerCP	CD235a-FITC
	CD15-APC	CD64-APC	CD59-PE
	CD24-PE	CD14-PE	
	FLAER-Alexa 488	FLAER-Alexa 488	

определенного в начале заболевания, больные были распределены по четырем условным группам (табл. 1): 1-я группа — от 0,01 до 0,99% — 11 больных (39%); 2-я группа — от 1 до 9,99% — 8 больных (29%); 3-я группа — от 10 до 49,9% — 4 больных (14%); 4-я группа — от 50 и более — 5 больных (18%).

Определение ПНГ-клона проводилось методом высокочувствительной проточной цитометрии, предложенным Международным обществом по клинической цитометрии в 2010 г. [12]. Стандартизация данного метода позволяет при динамическом наблюдении сопоставлять результаты, полученные в разных лабораториях [13, 14]. По данному протоколу возможно выявить ПНГ-клон с чувствительностью 0,01% на трех популяциях клеток — эритроцитах, гранулоцитах и моноцитах. Таким образом исследуется экспрессия характерных для каждой клеточной популяции ГФИ-связанных белков (CD59, CD24, CD14) и FLAER (табл. 2).

Образцы периферической крови забирали у больных в объеме 2 мл в пробирку с ЭДТА.

Пробоподготовку для эритроцитов проводили следующим образом: из пробирки с цельной кровью отбирали 20 мкл, разбавляли Cellwash (BD) в 100 раз, затем отбирали 20 мкл и добавляли моноклональные анти-CD235 и анти-CD59 антитела в объемах, указанных в рекомендациях производителя, после чего инкубировали 20 мин при комнатной температуре в темноте с последующей двойной отмывкой Cellwash (BD) при 1000 об/мин в течение 5 мин.

Линейноспецифичные антитела к CD235a, меченные FITC, использовали для исключения из анализа «дebrиса», ГФИ-специфичные антитела к CD59, меченные PE, — для выявления эритроцитов с ПНГ-фенотипом. Эритроциты с нормальным фенотипом имели высокую экспрессию CD59 (тип I) по сравнению с ПНГ-эритроцитами с частичным (тип II) и полным отсутствием CD59 (тип III). Полный размер клона ПНГ на эритроцитах является суммой «тип II + тип

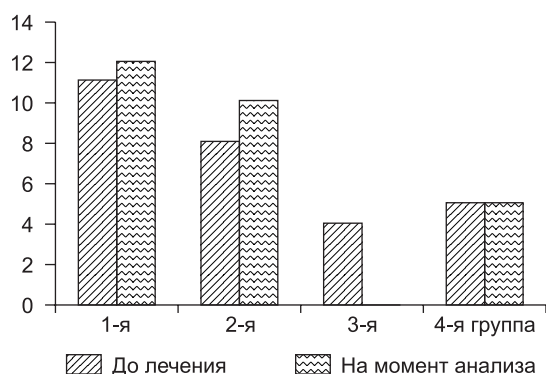


Рис. 1. Изменение соотношения числа больных в группах в зависимости от размера ПНГ-клона до и после лечения.

III». Соответственно, процент клеток с фенотипом CD235+ / CD59– от общего числа эритроцитов определял размер ПНГ-клона среди эритроцитов.

Пробоподготовку для лейкоцитов проводили следующим образом: из пробирки с цельной кровью отбирали 50 мкл, лизировали PharmLyse (BD) согласно инструкции производителя, затем осаждали при 1000 об/мин в течение 5 мин.

Осадок встряхивали, после чего клетки разносили по двум цитометрическим пробиркам: добавляли комбинацию линейноспецифичных антител, FLAER и GPI-специфичные антитела для гранулоцитов (CD24) и моноцитов (CD14). Антитела добавляли в объемах, указанных в рекомендации производителя, 20 мин инкубировали в темноте при комнатной температуре, затем отмывали Cellwash (BD) при 1000 об/мин в течение 5 мин.

Выделение гранулоцитарного гейта проводили по параметрам каналов светорассеяния, показателям экспрессии CD45, CD15 и бокового светорассеяния. Гранулоциты с нормальным фенотипом имели высокую активность флуоресценции по CD24 и FLAER по сравнению с ПНГ-гранулоцитами с полностью отсутствующей флуоресценцией по FLAER и CD24 одновременно.

Моноциты также выделяли по параметрам каналов светорассеяния, показателям экспрессии CD45, CD64 и бокового светорассеяния. Определение экспрессии FLAER и CD14 на моноцитах проводили с помощью точечных графиков. Процентное отношение числа моноцитов с полным отсутствием одновременной флуоресценции по FLAER и CD14 ко всем моноцитам определяли как размер ПНГ-клона среди моноцитов.

ПНГ-гранулоциты/ПНГ-моноциты находились в левом нижнем квадранте точечных графиков, нормальные гранулоциты/моноциты — в правом верхнем.

В контрольную группу вошло 10 доноров в возрасте от 23 до 42 лет. Данные выявления ПНГ-клона у доноров не привели к ложноположительным результатам.

**Результаты.** Анализ динамики размеров ПНГ-клона, оцененного по гранулоцитам, позволил выявить следующие изменения.

В 1-й группе увеличение ПНГ-клона в размерах, превышающих первоначальные значения более чем в 10 раз, наблюдалось у 3 больных уже через 3 мес после начала лечения, с медианой размера клона по гранулоцитам до и после лечения 0,4 и 3,55% соответственно. В дальнейшем, как и у остальных больных из данной группы, значительных изменений в размере ПНГ-клона не наблюдалось. Уменьшение вплоть до полной элиминации к 12-му месяцу произошло у одного больного из этой группы (с 0,1 до 0,00%).

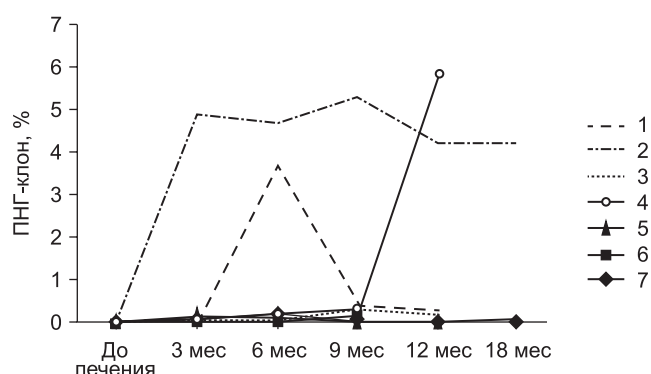


Рис. 2. Динамика ПНГ-клона на фоне иммуносупрессивной терапии среди больных без первоначального клона.

**Динамика ПНГ-клона среди больных 3-й группы**

Больные, включенные в 3-ю группу	ПНГ-клон до лечения, %			ПНГ-клон через 3 месяца после начала лечения, %			Характер ответа (к 3-му месяцу)
	Гранулоциты	Моноциты	Эритроциты	Гранулоциты	Моноциты	Эритроциты	
№1	18,39	6,12	0,27	5,39	8,06	0,29	Полная ремиссия
№2	22,40	26,57	14,21	6,70	11,69	1,67	Частичная ремиссия
№3	23,31	28,80	2,20	5,76	22,6	6,20	Частичная ремиссия
№4	24,77	46,36	2,29	1,50	3,76	1,80	Полная ремиссия

Среди больных 2-й группы значимых изменений размера ПНГ-клона, оцененного по гранулоцитам, не отмечено: медиана клона до ИСТ и на момент анализа составила 2,1% (1,09—6,7) и 2,03% (0,07—5,4) соответственно. И только у 3 больных из этой группы произошло снижение ПНГ-клона до минорных значений.

Заметная однонаправленная динамика отмечена в 3-й группе: у всех 4 больных произошло уменьшение ПНГ-клона с 22,9% (18,39—24,77) до 5,6% (1,5—6,7) уже к 3-му месяцу наблюдения одновременно со становлением ремиссии. В дальнейшем его размер оставался без значительных изменений. Все больные данной группы достигли хорошего ответа на ИСТ в кратчайшие сроки (табл. 3). Разнонаправленная динамика у данных больных отмечена в эритроцитарном и моноцитарном клонах.

Изменения в размере ПНГ-клона среди больных 4-й группы не наблюдались.

За время наблюдения процентное соотношение больных АА с ПНГ-клоном менее 10% увеличилось с 68 до 82% (рис. 1).

При анализе данных, полученных при динамическом исследовании больных, у которых ПНГ-клон не был выявлен в начале заболевания, его появление и персистенция были зафиксированы в процессе ИСТ у 7 (37%) из 19 больных без ПНГ-клона, ответивших на лечение (рис. 2). Следует отметить, что у большинства больных (5 из 7) значения ПНГ-клона не выходили за пределы минорного диапазона.

При оценке проявлений внутрисосудистого гемолиза получены следующие данные: повышение ЛДГ более 1,5 ВГН на момент установки диагноза АА и до начала ИСТ отмечалось у 2 больных из 3-й группы и у 3 больных из 4-й группы (медиана ПНГ-клона 61,5% (18,39—98,2)), что составило 5 (18%) из 28 больных с ПНГ-клоном. На момент последнего обследования нарастание внутрисосудистого гемолиза с развитием ПНГ-синдрома при достижении гематологического улучшения наблюдалось у всех больных ( $n = 5$ ) 4-й группы (медиана ПНГ-клона 89,9% (61,5—99,5)), и регрессия у 2 больных из 3-й группы при уменьшении размера гранулоцитарного ПНГ-клона. Таким образом, при динамическом наблюдении размеры ПНГ-клона у больных 4-й группы (размер ПНГ-клона — более 50%) существенно не изменялись, однако на фоне становления ремиссии отмечалось развитие ПНГ-синдрома у всех больных данной группы (5 (18%) из 28 человек), что к концу наблюдения позволило констатировать у них гемолитическую форму пароксизмальной ночной гемоглобинурии с предшествующей или сопутствующей аплазией костного мозга.

**Обсуждение.** При динамическом исследовании ПНГ-клона у больных АА в процессе ИСТ и после ее проведения отмечалась разнонаправленная динамика. Однако анализ данных, полученных за период наблюдения, показал увеличение числа больных АА с ПНГ-клоном менее 10% (68% больных до лечения и 82% — после) с одновременным уменьшением числа пациентов с минорным ПНГ-клоном.

В экспериментах *in vitro* был выявлен сниженный ответ

на цитотоксическое воздействие у ГФИ-негативных клеток [15]. Возможно, развитие ГФИ-негативного кроветворения (ПНГ-клона) является «шунтовым» механизмом в условиях аутоагрессии, а его пролиферация, обусловленная внешним преимуществом, позволяет приспособиться к создавшимся условиям. Мы наблюдаем значительные изменения в размере ПНГ-клона при ответе на ИСТ, т. е. восстановление «нормального» кроветворения при блокировании аутоагрессии, и в то же время среди больных с ПНГ-клоном более 50% ответ на лечение достигается при более интенсивном воздействии и за больший промежуток времени. Вместе с тем ГФИ-дефектные клетки появляются при ответе на лечение в периферической крови больных АА без первоначально выявленного ПНГ-клона. Впрочем, количество их не столь велико, и стоит отметить, что данные больные ответили на минимальный объем ИСТ. Судя по вышеизложенному, существует необходимость более детальной оценки костномозгового кроветворения и поиска оптимальных лабораторных подходов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3—10, 12, 14—15)  
см. REFERENCES

1. Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Устинова Е.Н., Троицкая В.В., Гальцева И.В., Шитарева И.В. и др. Комбинированная иммуносупрессивная терапия больных апластической анемией: эффективность повторных курсов антитимоцитарного глобулина. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(4): 11—8.
2. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В., Шилова Е.Р., Цветаева Н.В., Михайлова Е.А. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Онкогематология*. 2014; (2): 20—8.
11. Михайлова Е.А., Савченко В.Г. Протокол программного лечения больных апластической анемией: комбинированная иммуносупрессивная терапия. В кн.: Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012: 135—50.
13. Наумова Е.В., Почтарь М.Е., Кисиличина Д.Г., Плеханова О.С., Сипол А.А., Бабенко Е.В. и др. Стандартизация диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии с помощью проточной цитометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; (7): 54—8.

Поступила 03.04.16

REFERENCES

1. Mikhaylova E.A., Fidarova Z.T., Ustinova E.N., Troitskaya V.V., Gal'tseva I.V., Shitareva I.V. et al. Combined immunosuppressive therapy of patients with aplastic anemia: Efficiency of repeated antithymocytic globulin courses. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59(4): 11—8. (in Russian)
2. Kulagin A.D., Lisukov I.A., Ptushkin V.V., Shilova E.R., Tsvetaeva N.V., Mikhaylova E.A. National clinical guidelines for the

- diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Onkogematologiya*. 2014; (2): 20—8. (in Russian)
- Parker C.J. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp. Hematol.* 2007; 35(4): 523—33.
  - Hillmen P., Lewis S.M., Bessler M., Luzzatto L., Dacie J.V. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333(19): 1253—8.
  - Pu J.J., Mukhina G., Wang H., Savage W.J., Brodsky R.A. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients presenting as aplastic anemia. *Eur. J. Haematol.* 2011; 87(1): 37—45.
  - Araten D.J., Swirsky D., Karadimitris A., Notaro R., Nafa K., Bessler M. et al. Cytogenetic and morphological abnormalities in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br. J. Haematol.* 2001; 115(2): 360—8.
  - Shen W., Clemente M.J., Hosono N., Yoshida K., Przychodzen B., Yoshizato T. et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J. Clin. Invest.* 2014; 124(10): 4529—38.
  - Rotoli B., Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Baillieres Clin. Haematol.* 1989; 2(1): 113—38.
  - Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: stem cells and clonality. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2008: 111—5.
  - Hu R., Mukhina G.L., Piantadosi S., Barber J.P., Jones R.J., Brodsky R.A. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood.* 2005; 105(10): 3848—54.
  - Mikhaylova E.A., Savchenko V.G. The protocol of program treatment of patients with aplastic anemia: a combined immunosuppressive therapy. In: Savchenko V.G., ed. *The Program Treatment of Blood System Diseases [Programmnoe lechenie zabolevaniy sistemy krovi]*. Moscow: Praktika; 2012: 135—50. (in Russian)
  - Borowitz M.J., Craig F.E., DiGiuseppe J.A., Illingworth A.J., Rosse W., Sutherland D.R. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2010; 78(4): 211—30.
  - Naumova E.V., Pochtar' M.E., Kisilichina D.G., Plekhanova O.S., Sipol A.A., Babenko E.V. et al. The standardization of diagnostic of paroxysmal night hemoglobinuria cytometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; (7): 54—8. (in Russian)
  - Sipol A.A., Babenko E.V., Borisov V.I., Naumova E.V., Boyakova E.V., Yakunin D.I. et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology*. 2015; 20(1): 31—8.
  - Nagakura S., Ishihara S., Dunn D.E., Nishimura J., Kawaguchi T., Horikawa K. et al. Decreased susceptibility of leukemic cells with PIG-A mutation to natural killer cells in vitro. *Blood.* 2002; 100(3): 1031—7.

Received 03.04.16

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616-005-022-078

Каргальцева Н.М.<sup>1</sup>, Борисова О.Ю.<sup>1</sup>, Миронов А.Ю.<sup>1</sup>, Алешкин В.А.<sup>1</sup>, Кочеровец В.И.<sup>1</sup>, Пастушенков В.Л.<sup>2</sup>, Бутенко А.Б.<sup>2</sup>

## КЛИНИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА У АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ

<sup>1</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва; <sup>2</sup>Общество ограниченной ответственности «Фарм-Трисан», 197375, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Обследованы 270 амбулаторных пациентов с целью определения ведущих клинических симптомов при инфекции кровотока. У 204 пациентов собраны ведущие клинические симптомы в виде жалоб по разработанной анкете. Наиболее часто пациенты отмечали субфебрилитет, озноб, фурункулы на коже, нестабильный стул (диарея или запор), заболевания верхних дыхательных путей. Микробиологическая диагностика инфекции кровотока включала микроскопию и посев лейкоцитарного слоя образца крови. При микроскопии мазков крови в 98,5% случаев обнаружены микроорганизмы. В 82,6% случаев положительные находки представлены ассоциациями различных морфологических форм. Гемокультура получена у 55,2% пациентов и характеризовалась полимикробностью в 35,7% случаев. Наибольшее число гемокультур получено от пациентов с субфебрилитетом и ознобом (53,4%), фурункулами (55,8%), нестабильным стулом (53,6%), заболеваниями верхних дыхательных путей (53,8%), что подтверждает наличие инфекции кровотока.

Ключевые слова: амбулаторные пациенты; клинические симптомы; инфекция кровотока.

Для цитирования: Каргальцева Н.М., Борисова О.Ю., Миронов А.Ю., Алешкин В.А., Кочеровец В.И., Пастушенков В.Л., Бутенко А.Б. Клинические маркеры инфекции кровотока у амбулаторных пациентов. *Клиническая лабораторная диагностика*, 2016; 61 (8): 494-497. DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-8-494-497

Kargaltseva N.M.<sup>1</sup>, Borisova O.Yu.<sup>1</sup>, Mironov A.Yu.<sup>1</sup>, Aleshkin V.A.<sup>1</sup>, Kotcherovets V.I.<sup>1</sup>, Pastushenkov V.L.<sup>2</sup>, Butenko A.B.<sup>2</sup>

THE CLINICAL MARKERS OF INFECTION OF BLOODSTREAM IN OUT-PATIENTS

<sup>1</sup>G.N. Gabrichevskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology of Rosпотребнадзор, 125212 Moscow, Russia; <sup>2</sup>"Farm-Trisan", 197375 St. Petersburg, Russia

Для корреспонденции: Борисова Ольга Юрьевна, e-mail: olgborisova@mail.ru