

# ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТРОМБОЦИТОПЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРОЙ И ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ (на примере клинических случаев)

И.А. Родионова,  
С.В. Скрипниченко,  
Т.С. Скрипниченко

Национальный медицинский  
университет им. А.А. Богомольца

## Резюме

В работе представлен анализ литературы и собственный опыт проведения дифференциальной диагностики тромбоцитопении «*de novo*» и у пациентов с ВИЧ, сопровождающейся геморрагическим синдромом.

## Ключевые слова

Тромбоцитопения, геморрагический синдром, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, мегакариоциты.

ВИЧ-инфекция ассоциирована с многочисленными нарушениями гемопоэза, воздействуя как на лимфоидный, так и на миелоидный ростки кроветворения на уровне стволовых клеток кроветворения. У 70-80% ВИЧ-инфицированных пациентов развивается анемия, нейтропения может быть прослежена у более чем 50% индивидуумов с выявленным ВИЧ-ассоциированным иммунодефицитом. Тромбоцитопения также часта, она затрагивает приблизительно 40% пациентов, а у 10% пациентов с ВИЧ является первым симптомом или знаком инфекции [1].

Этиология этих нарушений различна. Существует дискуссионное утверждение о том, что гемопоэтические стволовые клетки или CD34+ клетки-предшественницы резистентны к инфицированию ВИЧ. Однако многие относящиеся к миелоидным предшественникам клетки могут быть инфицированы, и становятся функционально неполноценными, с заметным снижением роста колоний. Более того, нарушается микросреда костного мозга, необходимая для роста и развития нормальных клеток крови. Такие клетки, как Т-клетки и макрофаги, составляющие это микроокружение (строму), подвержены заражению ВИЧ, в результате снижается продукция различных гемопоэтических ростовых факторов, что способствует дальнейшим нарушениям роста клеток предшественниц. Все перечисленные факторы

вместе с многочисленными дополнительными нарушениями в конечном итоге приводят к частому развитию цитопении, включая тромбоцитопению, анемию и нейтропению [2].

Клиническая значимость костномозгового микроокружения состоит в способности к продукции различных гемопоэтических ростовых факторов (ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, М-КСФ – макрофагальный колониестимулирующий фактор), необходимых для пролиферации, дифференцировки и функционирования зрелых грануло-, моноцитов, базо- и эозинофилов. Эритропоэтин, синтезируемый интерстициальными клетками почек, играет роль в продукции эритроцитов. Тромбопоэтин, создаваемый печенью, стимулирует продукцию тромбоцитов. К тому же тромбопоэтин, Flt3 и фактор стволовых клеток (kit-лиганд) являются ранними активаторами гемопоэтических стволовых факторов, помогающих инициации роста всех линий гемопоэза (эритроцитов, гранулоцитов и мегакариоцитов/моноцитов) [3].

Характерным для ВИЧ-инфекции является уменьшение числа CD4-лимфоцитов, заканчивающееся выраженным иммунодефицитом. Schittman с соавт. [4] считают, что ВИЧ может инфицировать все клетки крови, имеющие CD4-рецептор. Этого же мнения придерживаются Р.М. Хаитов и Г.А. Игнатъева [5], выделяя прямые клетки-мишени для ВИЧ в организме человека. Наиболее отчетливые нару-

© И.А. Родионова, С.В. Скрипниченко, Т.С. Скрипниченко

шения отмечаются в позднюю стадию заболевания.

Довольно частым и единственным проявлением гематологических изменений у ВИЧ-инфицированных как в стадии СПИДа, так и при асимптомном течении инфекции может быть тромбоцитопения. Как известно, рецепторы CD4 на тромбоцитах отсутствуют, что исключает прямое воздействие ВИЧ на эти клетки. R.S. Busch с соавт. [6], исследуя кроветворный костный мозг с использованием специфических моноклональных антител к мегакариоцитам, установили, что мегакариоциты составляют около 0,4% от ядерно-содержащих клеток костного мозга и на 25% этих клеток экспрессирован антиген CD4, примерно в тех же количествах, что и на Т-лимфоцитах. Наличие CD4-антигена на этих клетках дает право говорить о прямом поражении ВИЧ мегакариоцитов и объясняет патогенез тромбоцитопении при ВИЧ-инфекции [6]. Помимо этого механизма тромбоцитопения у ВИЧ-инфицированных может быть обусловлена аутоиммунной агрессией.

Тромбоцитопения может развиваться у ВИЧ-положительных людей по различным причинам. Первая причина в том, что ВИЧ инфицирует мегакариоциты, что означает, что ВИЧ сам по себе может привести к нехватке тромбоцитов.

Другая причина может быть в том, что иммунная система может вырабатывать антитела, которые направлены против здоровых тромбоцитов организма. Такое состояние называется тромбоцитопеническая пурпура (или геморрагическая пурпура). Такие антитела называются аутоантителами, а состояние - аутоиммунным, это означает, что организм вырабатывает антитела «против самого себя». Аутоантитела подают сигнал селезенке, которая уничтожает и удаляет тромбоциты из организма [7].

Если количество тромбоцитов становится ниже 30000 в мкл – это означает высокий риск неконтролируемого кровотечения, включая кровоизлияние в мозг.

Многие люди с тромбоцитопенией, особенно умеренной, не замечают никаких специфических симптомов. При более тяжелых случаях тромбоцитопении, сопровождающихся частыми и чрезмерными носовыми кровотечениями, появлением на теле синяков «без причины», слишком сильные кровотечения при ранах или из десен, у женщин возможны чрезмерные кровотечения во время менструаций [8].

**Идиопатическая (иммунная) тромбоцитопеническая пурпура (ИТП)** – заболевание, при котором происходит повышенная деструкция покрытых аутоантителами тромбоцитов макрофагами селезенки, костного мозга и печени. ИТП при ВИЧ-инфекции выявляется у 10-15% инфицированных, и ее частота растет по мере уменьшения количества CD4+ лимфоцитов. ИТП не служит маркером СПИДа, так как встречается на всех стадиях ВИЧ-инфекции – от ранней до развернутой. У большинства пациентов количество тромбоцитов превышает  $10 \times 10^9/\text{л}$ , проявлений кровоточивости нет или они незначительны [9]. Однако всегда существует потенциальный риск угрожающего жизни кровотечения, включая кровоизлияние в ЦНС.

Иногда количество тромбоцитов самостоятельно возвращается к норме, но в большинстве случаев без патогенетического лечения, ИТП рецидивирует и прогрессирует. Подтверждением служат клинические случаи тромбоцитопений.

### Материалы и методы

Исследования костного мозга и проведение иммуноцитохимических исследований мазков костного мозга и периферической крови пациентов проводились в иммуноцитохимическом отделе НИИ экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени Р.Е. Кавецкого НАН Украины. Стандартные лабораторно-инструментальные исследования (общий анализ крови, подсчет миелограммы, рентгенография и компьютерная томография органов грудной полости, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, биохимическое исследование крови) выполнены на базе клинично-диагностической лаборатории Киевской городской клинической больницы (КГКБ) №9.

### Результаты и их обсуждение

В сентябре 2012 года в гематологическое отделение №1 КГКБ №9 поступила пациентка 26 лет в связи с появлением обильных кровотечений из десен и снижением количества тромбоцитов до  $8,0 \times 10^9/\text{л}$ . Впервые появление кровотечений отметила 2 года назад, когда внезапно была госпитализирована и прооперирована по поводу гемоторакса в одной из больниц г. Киева. Причины гемоторакса установлены не были. На протяжении 2-х лет наблюдались незначительные носовые кровотечения и постепенное снижение количества тромбоцитов в пределах  $40-50 \times 10^9/\text{л}$  с остальными нормальными показателями анализа крови. При полном обследовании пациентки в гематологическом отделении, включающем анализ крови (лейкоциты –  $2,8 \times 10^9/\text{л}$ , эритроциты –  $3,9 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобин – 110 г/л), в лейкоцитарной формуле обращал на себя внимание относительный лимфоцитоз – 48% лимфоцитов, наличие 4% плазматических клеток и 3% атипичных мононуклеаров или вирицитов, что указывало на наличие возможной вирусной причины данной ситуации. При исследовании костного мозга (определялось наличие единичных действующих в препарате мегакариоцитов) с иммуноцитохимическими исследованиями препаратов костного мозга и периферической крови, а также рядом иммунологических исследований для исключения наличия вирусных гепатитов, вирусов группы герпеса, ВИЧ-инфекции – заболеваний системы крови не выявлено. Учитывая низкое содержание тромбоцитов с геморрагическим синдромом, была проведена симптоматическая терапия (ε-аминокапроновая кислота, дицинон), гормонотерапия (медрол 1мг/кг/сут. с положительной динамикой к моменту получения результатов обследований на ВИЧ (тромбоциты –  $200 \times 10^9/\text{л}$ ) и переводом пациентки на лечение в специализированное отделение.

Другой случай наличия тромбоцитопении и

геморрагического синдрома (периодические необильные носовые кровотечения) у пациента 40 лет, который был направлен на дообследование и лечение в гематологическое отделение №1 КГКБ №9. Количество тромбоцитов на период поступления было в пределах  $20 \times 10^9/\text{л}$ . После проведения необходимых клинико-лабораторных исследований, включающих анализ крови (лейкоциты в пределах нормы –  $4 \times 10^9/\text{л}$ , эритроциты –  $3,7 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобин – 118 г/л, патологических изменений в лейкоцитарной формуле не выявлено), миелограмму (нормальное содержание мегакариоцитов, большая часть которых недействующая), иммуноцитохимические исследования костного мозга и периферической крови, пациенту был установлен диагноз ИТП и назначено лечение согласно стандартам диагностики и лечения заболеваний системы крови. Пациент получал преднизолон в дозе 1 мг/кг/сут., симптоматическую терапию. Через 1,5 месяца от момента начала терапии, геморрагический синдром полностью отсутствовал, а количество тромбоцитов нормализовалось ( $220 \times 10^9/\text{л}$ ), пациент был выписан с рекомендациями о постепенном снижении дозы преднизолона до полной отмены. Спустя 1 месяц и при достижении дозы преднизолона 30 мг/сут. у пациента возобновились носовые кровотечения, а уровень тромбоцитов снизился до  $30 \times 10^9/\text{л}$ . Пациент был повторно госпитализирован в гематологическое отделение КГКБ №9 для дообследования и лечения. Проведение исследований на наличие вирусных инфекций, включая ВИЧ, подтвердило инфицированность пациента ВИЧ.

Обращает на себя внимание третий клинический случай у пациентки 28 лет, которая в марте 2013 года была направлена на обследование и лечение в терапевтическое отделение КГКБ №9 в связи с невыясненной причиной панцитопении в крови (эритроциты –  $3,5 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобин – 100 г/л, лейкоциты –  $2,6 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоциты –  $49 \times 10^9/\text{л}$ , в лейкоцитарной формуле – относительный лимфоцитоз – 52% лимфоцитов). Клинически признаков какой-либо инфекции не было установлено, хотя температура тела в вечерние часы поднималась в пределах 37,2-37,4 °С. Иммуноцитохимические исследования костного мозга, включающие подсчет миелограммы, данных за заболевания системы крови не подтвердили. Проведения иммунологических исследований для исключения вирусной инфекции выявило у пациентки ВИЧ, дальнейшее ее лечение проводилось в условиях специализированной клиники.

На примере клинических случаев видно, что одними из факторов, способствующих прогрессированию ВИЧ-инфекции, являются нарушения, развивающиеся в системе кроветворения у ВИЧ-инфицированных больных. Спектр этих изменений довольно многообразен и касается всех звеньев гемопоэза как периферической крови, так и костномозгового кроветворения. Изменения периферической картины крови у больных ВИЧ-инфекцией сопровождалась тромбоцитопенией, нейтропенией и анемией. Во всех случаях прихо-

дилось проводить дифференциальную диагностику с заболеванием системы крови, а именно идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, при которой тромбоциты с антителами на мембране тромбоцитов устраняются макрофагами селезенки. В отличие от ВИЧ-инфицированных пациентов, у которых не отмечена кровопотеря или она была незначительной, истинная ИТП сопровождается значительными по количеству и распространенности кровотечениями (задействованы множественные слизистые оболочки и кожа). К тому же вероятность кровотечений очень мала у пациентов с ВИЧ пока количество тромбоцитов не снизится до  $10 \times 10^9/\text{л}$  и ниже, в отличие от ИТП, где потенциально риск угрожающего жизни кровоизлияния в головной мозг требует внимательного наблюдения и незамедлительного лечения в полном объеме.

### Выводы

1. Обычно «*de novo*» тромбоцитопения возникает у людей, не инфицированных ВИЧ, в силу выработки специфических аутоантител против собственных антигенов тромбоцитов, таких как IIb/IIIa рецепторов. С током крови тромбоциты попадают в синусоиды селезенки, где контактируют с макрофагами. Макрофаги имеют рецепторы к Fc-молекулам антител, что позволяет комплексу тромбоцита с антителом захватываться макрофагом, который перерабатывает его посредством фагоцитоза. В итоге тромбоцитопения становится результатом периферической деструкции тромбоцитов. В ответ на это компенсаторно возрастает продукция тромбоцитов, что выражается увеличением количества мегакариоцитов костного мозга. Однако это не позволяет полностью компенсировать повышенное разрушение тромбоцитов, и в периферической крови появляется выраженная тромбоцитопения. Несмотря на низкий уровень тромбоцитов при ИТП, кровотечения возникают редко. Причина состоит в том, что поступающие из костного мозга молодые тромбоциты более крупные и функционально активные. Так, если нормальные тромбоциты живут в кровотоке 7-10 дней, они прогрессивно уменьшаются в размерах и теряют активность. При ИТП тромбоциты несут на себе антитела, они покидают кровоток гораздо быстрее [9]. В результате в крови циркулируют молодые, более функционально активные тромбоциты, поступившие из костного мозга. По этой причине пациенты с ИТП на ранней стадии не страдают от угрозы развития существенного кровотечения.
2. Как и при ИТП «*de novo*», тромбоцитопения у ВИЧ-инфицированных пациентов обусловлена повышенным распадом тромбоцитов при фагоцитозе макрофагами селезенки. Однако при ВИЧ-инфекции описан несколько отличающийся механизм действия тромбоцитасоцированных антител. Так, обнаружение у ВИЧ-инфицированных пациентов с тромбоцитопенией специфических антител к тромбо-

цитами, иммунохимически характеризующихся как анти-гликопротеин (gp) IIb и/или gp IIIa, указывает на механизм, сходный с описанным при ИТП «*de novo*». Однако также продемонстрирована перекрестная реакция между антителами к антигенам структур ВИЧ-gp 160/120 и антигенами тромбоцитов IIb/IIIa. Установлено, что сывороточные антитела против ВИЧ-gp 160/120 активны против антигенов тромбоцитов пациентов, имеющих ВИЧ-индуцированную ИТП, и что эти ВИЧ-специфические антитела перекрестно реагируют с антигенными детерминантами тромбоцитов gp IIb/IIIa. Очевидно, что молекулярная мимикрия между ВИЧ-gp 160/120 и тромбоцитарными gp IIb/IIIa-антителами может обуславливать иммунную деструкцию тромбоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов с ИТП. Дальнейший механизм разрушения тромбоцитов состоит в связывании иммунных комплексов против ВИЧ на тромбоцитарных Fc-рецепторах, последующим связыванием с макрофагом и фагоцитозом [10].

3. Были проведены динамические исследования продукции и деструкции тромбоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов с ИТП, результаты сравнивались с пациентами без патологии и с теми, кто имел ИТП «*de novo*». Средняя продолжительность жизни тромбоцитов значительно снижена у пациентов с ВИЧ-ИТП независимо от того, принимали они специфическую терапию или нет. Что интересно, средняя продолжительность жизни тромбоцитов была также значительно снижена у ВИЧ-инфицированных пациентов с нормальным уровнем тромбоцитов. В дополнение к такой повышенной деструкции тромбоцитов, установлено снижение продукции тромбоцитов у пациентов с ВИЧ-

ИТП. Однако пациенты, получающие специфическую терапию, независимо от наличия тромбоцитопении демонстрировали значительное повышение продукции тромбоцитов [11].

4. Снижение продукции тромбоцитов при ВИЧ-инфекции может быть связано с инфицированием мегакариоцитов ВИЧ. Человеческие мегакариоциты, несущие CD4+ рецепторы, способны связываться с ВИЧ-1. ВИЧ-1 способен усваиваться человеческими мегакариоцитами. CXCR4 - хемокиновый рецептор, известный как важный корцептор к ВИЧ, присутствует на предшественниках мегакариоцитов, мегакариоцитах и тромбоцитах. Экспрессия вирусной РНК была обнаружена методом FISH в мегакариоцитах 10 из 10 пациентов. Известны специфические ультраструктурные нарушения в ВИЧ-инфицированных мегакариоцитах, выражающиеся в вакуолизации поверхностной мембраны [8, 9, 11].

И в заключение, хочется подтвердить вышеизложенные данные экспериментом, проведенным Харкер с соавт., которые описали трех шимпанзе, инфицированных ВИЧ-1, и у которых развилась ИТП, связанная с повышением уровня антител к тромбоцитарному gp IIIa. Использование рекомбинантных пегелированных (искусственно связанных с ПЭГ – полиэтиленгликолем – для пролонгирования всасывания) человеческих факторов роста и развития мегакариоцитов привело к снижению протитромбоцитарных антител в плазме крови, а также к повышению уровня тромбоцитов в крови и уровня мегакариоцитов и их предшественников в костном мозге. Эти изменения подразумевают, что механизм ИТП у ВИЧ-инфицированных шимпанзе обусловлен недостаточной продукцией тромбоцитов так же, как это описано у людей.

#### Список использованной литературы

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

Надійшла до редакції 03.03.2014

#### DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THROMBOCYTOPENIA IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA AND HIV-INFECTED PATIENTS

I.A. Rodionova, S.V. Skrypnychenko, T.S. Skrypnychenko

##### Summary

The article presents the literature review and case reports on differential diagnosis of thrombocytopenia in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and HIV-infected patients.

Keywords: thrombocytopenia, hemorrhagic syndrome, idiopathic thrombocytopenic purpura, megakaryocytes.