

На правах рукописи

ГАБРИЛЬЧАК
Анастасия Ивановна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ХРОНИЧЕСКОГО
ТЕЧЕНИЯ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ
ПУРПУРЫ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук профессор **Гусякова Оксана Анатольевна**

Официальные оппоненты:

Бессмельцев Станислав Семенович - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», руководитель научных исследований;

Сироткина Ольга Васильевна - доктор биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, институт медицинского образования, кафедра лабораторной медицины и генетики, профессор; факультет биомедицинских наук, декан;

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А.Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «10» октября 2023 г. в 15:30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, дом 54 и на сайте <https://nrcerm.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Морфологическое описание костного мозга в настоящее время остается ведущим лабораторным исследованием для пациентов с гематологическими заболеваниями, миелограмма отражает качественный и количественный состав ядродержащих клеток кроветворной ткани, однако дает неполную информацию о возможных нарушениях гемопоэза (Луговская С.А., Почтарь М.Е., 2018).

Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) относится к наиболее частым причинам развития геморрагического синдрома (Морозова В.Т., Авдеева Н.А., 2006). Заболеваемость ИТП в мире у взрослых составляет около 10 на 100 тыс. населения в год (Segal J.B., Powe N.R., 2006; Rodeghiero F., Marranconi E., 2020), а среди детей, по данным разных исследователей, заболеваемость первичной ИТП колеблется от 1,5-2,0 до 13,0 на 100 тыс. детского населения (Кривова С.П., 2006; Волкова К.Б., 2010; Shaw J. et al., 2020). Хроническая идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура входит в Перечень жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, которые приводят к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности (утверждено постановлением Правительства РФ от 26 апреля 2012 г. № 403 с изменениями и дополнениями от 20 ноября 2018 г. № 1390, 5 июня 2020 г. № 829). Использование стандартного комплексного обследования пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой имеет низкую диагностическую ценность, и этот диагноз остается «диагнозом исключения». В большинстве случаев причину развития ИТП установить не удастся (Меликян А.Л. и др., 2017; Бессмельцев С.С., 2020).

Отмечается рост хронической формы болезни как среди детей, так и среди взрослого населения, наряду с нарастанием частоты тяжелого течения с опасными для жизни кровотечениями (Arnold D.M., 2013; Kubasch A.S. et al., 2020). Таким образом, актуален поиск как новых показателей, так и нового биоматериала. Интерстициальная жидкость костного мозга (миелоплазма) остается мало изученным биоматериалом (Krashin E. et al., 2017). Существует ряд ограничений исследования миелоплазмы, а именно, - сложность получения биоматериала, недостаточность разработки методологии исследования, отсутствие валидированных методик и нехватка накопленных данных о влиянии факторов преаналитического этапа.

В литературе не представлены сведения о прогностической роли тех или иных факторов, влияющих на характер течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. Не решены проблемы оценки прогноза течения и исхода ИТП на основании анализа изменений клинико-лабораторных показателей в дебюте заболевания. Совершенствование методов клинической лабораторной диагностики позволит улучшить диагностику заболевания и оценить риск хронизации болезни, что повысит эффективность лечения ИТП.

Степень разработанности темы исследования. Проведенные исследования установили, что идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура является аутоиммунным заболеванием с неизвестной этиологией (Долгов В.В., Свирин П.В., 2005). Мало изучена возрастная вариабельность показателей мегакариоцитогаммы (Румянцев А.Г., Масчан А.А., 2015; Меликян А.Л., 2017),

На данный момент мало изучен биохимический и цитокиновый состав миелоплазмы. В литературе приводятся разрозненные данные, касающиеся влияния цитокинов на процесс гемопоэза (Iversen P.O., Wiig H., 2005), описания биохимического состава миелоплазмы при миеломной болезни (Krashin E. et al., 2017), протеомного состава миелоплазмы у разных возрастных групп (Wang W. et al., 2010). При этом не разработаны референсные величины для показателей миелоплазмы, не определена диагностическая роль параметров при различных заболеваниях, нет данных по составу интерстициальной жидкости костного мозга при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре.

В научных источниках встречаются единичные сведения о предикторах хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. Показано, что более высокое исходное значение показателя среднего объема тромбоцитов (MPV) может использоваться в качестве прогностического фактора хронического течения ИТП у детей (Lee Y.K. et al., 2021). Отсутствуют сведения о возможных предикторах в центральном звене кроветворения в костном мозге у детей и взрослых.

Цель исследования: выявить лабораторные предикторы развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры.

Задачи исследования:

1. Изучить характер морфофункциональных изменений мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза в костном мозге и периферической крови у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой.
2. Оценить изменения мегакариоцитогаммы у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой в зависимости от формы течения заболевания и возраста.
3. Установить аналитические характеристики биохимических методик исследования миелоплазмы – линейность, прецизионность, правильность и аналитическую специфичность.
4. Изучить диагностическую значимость биохимических и иммунологических показателей – содержание ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина, уровня железа, активности аланинаминотрансферазы, уровни интерлейкинов 6 и 8, эритропоэтина, фактора роста эндотелия сосудов в миелоплазме у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой.

5. Разработать дифференциально-диагностический алгоритм прогнозирования развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры.

Научная новизна. Получены новые данные, раскрывающие возрастные особенности морфофункциональных изменений мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. На основе этих данных предложено разделение характерных изменений мегакариоцитограмм на 2 типа – детский и взрослый.

Впервые предложен преаналитический стандарт исследования интерстициальной жидкости костного мозга с детализацией этапов пробоподготовки и способа получения миелоплазмы. Проведено определение линейности, прецизионности, правильности и аналитической специфичности для пяти биохимических методик (определение содержания железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы) с целью их валидации для определения возможности тестирования образцов миелоплазмы.

Определена диагностическая значимость исследования показателей миелоплазмы у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой с выделением характерных предикторов хронического течения.

Разработан способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга (Патент № 2018109674).

На основе выявленных предикторов предложен диагностический алгоритм ведения пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой с выделением группы риска хронизации течения.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Получены новые теоретические знания об интерстициальной жидкости костного мозга, впервые охарактеризованы метаболические показатели (содержание железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы) и уровни цитокинов (интерлейкины 6 и 8, эритропоэтин, фактор роста эндотелия сосудов) в миелоплазме при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. Валидация биохимических методик миелоплазмы позволяет использовать их для практического применения.

Внесены дополнительные критерии при описании мегакариоцитограммы при ИТП у детей и взрослых, предложена типизация вариантов отклонения показателей мегакариоцитарного ростка.

Предложен новый диагностический алгоритм прогноза хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, использование которого дает возможность дифференцированно подходить к лечению ИТП в гематологических центрах.

Методология и методы исследования. Согласно поставленным целям и задачам была сформирована методология диссертационного исследования, основанная на принципах биоэтики. Методологическая основа диссертационной работы состоит в последовательном применении общенаучных, теоретико-эмпирических и специальных методов научного познания, включает в себя поиск и изучение лабораторных, клинических данных отечественной и зарубежной литературы по диагностике ИТП. Дизайн работы основывается на ретроспективном исследовании и представляет собой комплекс сравнительного клинического и экспериментального исследования с применением современных статистических методов обработки полученных данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Возрастные особенности мегакариоцитопоза отражают различия в ответе костного мозга на аутоиммунную агрессию, что находит проявление в характере типизации мегакариоцитограмм.

2. Определение содержания железа, ферритина, интерлейкина-8 и фактора роста эндотелия сосудов в интерстициальной жидкости костного мозга и плазме крови может использоваться для прогноза хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры.

3. Применение новой модели прогноза хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры с использованием выявленных предикторов позволяет определить риски развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у юношеской группы и взрослых с чувствительностью 85,25%, специфичностью 93,55% и диагностической точностью 88,0%.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов диссертационного исследования основана на детальном теоретическом анализе данных, соответствии разработанному дизайну, достаточности выборки обследованных (311 пациентов). Использованы современные методы исследования, статистический анализ соответствует поставленным целям и задачам.

Апробация и внедрение. Результаты исследований были доложены на XXI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Качество лабораторных исследований – условие безопасности пациентов» (Москва, 2016); на научно-практической конференции, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета, по теме: «Лабораторная диагностика на этапе обследования и мониторинга лечения пациентов» в рамках тридцать второй образовательной недели (Самара, 2018); IV, V Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2018, 2019); на XVII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов,

посвященной 75-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета (Челябинск, 2019); на XXIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Лабораторная служба в современных реалиях» (Москва, 2019); на научно-практической конференции «Актуальные вопросы лабораторной медицины» (Самара, 2021).

Публикации по результатам исследования. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК России для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и в международную базу Scopus, получен 1 патент.

Личный вклад автора. Диссертант непосредственно выполнял все этапы проведения исследования. Совместно с научным руководителем д.м.н., доцентом Гусяковой О.А. проведена формулировка цели и задач, а также разработка дизайна исследования. Самостоятельно выполнен сбор и анализ зарубежной и отечественной литературы, проведены лабораторные исследования и статистическая обработка результатов, написан текст диссертации. Подготовка публикаций и докладов по теме исследования осуществлялась совместно с сотрудниками кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава РФ. Разработка алгоритма ведения пациентов с ИТП выполнена совместно с врачами-гематологами Самарского областного гематологического центра.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Тема работы, использованные материалы и методы, полученные результаты, их обсуждение, выводы и практические рекомендации соответствуют паспорту специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (пункты 1, 2, 3, 7).

Внедрение результатов в практику. Результаты исследований используются в работе клиничко-диагностических лабораторий Клиник Самарского государственного медицинского университета, ГБУЗ «Самарская областная детская клиническая больница имени Н.Н. Ивановой», Тольяттинской городской клинической больницы № 5. Результаты проведенного исследования включены в программу практических занятий и лекционного курса для студентов, ординаторов и врачей клинической лабораторной диагностики на кафедре фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Структура и объем диссертации. Текст диссертации изложен на русском языке в объеме 201 страницы машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований (3 главы), а также заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка

литературы и приложения. Диссертация иллюстрирована 31 таблицей и 54 рисунками. Список литературы содержит 307 источников, из них 15 отечественных и 292 – зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Исследования проводились на базе клинико-диагностической лаборатории Клиник Самарского государственного медицинского университета и Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Самарская областная детская клиническая больница имени Н.Н. Ивановой». Под наблюдением находились 272 человека в возрасте от 0 до 90 лет с 2014 по 2020 гг. с клиническим диагнозом «Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура» (код по МКБ 10: D69.3), которые состояли на стационарном лечении и диспансерном учете в Самарском областном гематологическом центре и Центре детской гематологии и онкологии Самарской области. В качестве группы сравнения были обследованы 39 пациентов с рефрактерной железодефицитной анемией (код по МКБ 10: D50.0). Средний возраст обследуемой группы составил $51,4 \pm 18,7$, распределение по полу было следующим: 38,6% составили мужчины и 61,4% - женщины. Критерии включения в клиническую часть исследования: пациенты с впервые установленным диагнозом идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; пациенты с железодефицитной анемией, которым по медицинским показаниям проводили пункцию костного мозга; информированное согласие на участие в письменной форме. Критерии исключения из клинической части исследования: пациенты со вторичными тромбоцитопениями; отказ пациента от участия в исследовании; пациенты, у которых сочетались признаки тромбоцитопении и анемии; положительные маркеры воспаления – количество лейкоцитов крови более $10,0 \times 10^9/\text{л}$, сдвиг лейкоформулы влево, СОЭ >10 мм/ч у мужчин и >15 мм/ч у женщин, уровень С-реактивного белка >3 мг/л, фибриногена >4 г/л.

Учитывая особенности возрастных изменений, все пациенты с ИТП были разделены на группы детского и взрослого населения (Крылов А.А., 2005). Первую группу составили пациенты от 10 дней до юношеского возраста, а именно, - мальчики до 21 года и девочки до 20 лет. Вторая группа включала в себя мужчин от 22 до 90 лет и женщин от 21 года до 90 лет. В дальнейшем, учитывая особенности возрастных изменений (Крылов А.А., 2005), группа детского населения была разделена на 6 подгрупп: грудной возраст – дети в возрасте от 10 дней до года; раннее детство – 1-3 года; первое детство – 4-7 лет; второе детство – мальчики от 8 до 12 лет и девочки от 8 до 11 лет; подростковый возраст – мальчики от 13 до 16 лет и девочки от 12 до 16 лет; юношеский возраст – юноши 17-21 года, девушки 17-20 лет. Группа взрослого населения – на 4 подгруппы: первый период зрелости – мужчины 22-35 лет и женщины 21-35 лет; второй период зрелости – мужчины 36-60 лет и женщины 36-55 лет; пожилой возраст –

мужчины 61-74 года и женщины 56-74 года; старческий возраст – от 75 до 90 лет. Исследование проводилось в соответствии с представленным дизайном (рисунок 1).

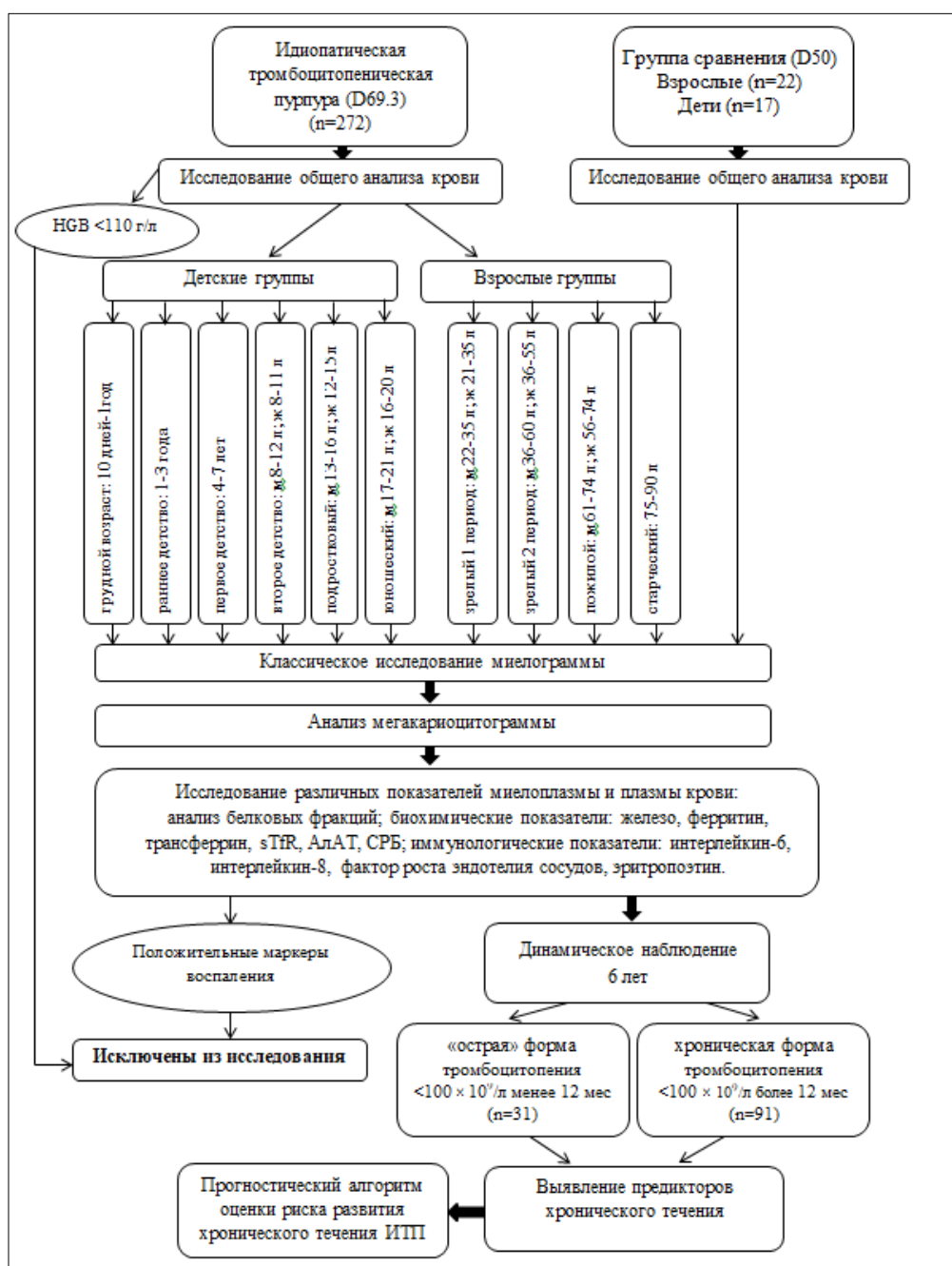


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Материалом для исследования служили костный мозг, интерстициальная жидкость костного мозга (миелоплазма), плазма крови и цельная кровь. Произведен подсчет миелограммы классическим рутинным способом, мегакариоцитограммы с выделением форм диспоэза мегакариоцитов и отдельным подсчетом пластинкосодержащих и пластинкообразующих форм. Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Cobas Integra 400+» с помощью коммерческих наборов реактивов фирмы «Roche-Diagnostics» (Швейцария). Определение цитокинов осуществлялось твердофазным иммуоферментным анализом с использованием тест-систем АО «Вектор Бест»

на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Лазурит» (Dynex, США). Содержание белковых фракций определяли с применением метода капиллярного электрофореза на приборе Sebia, Франция.

После проведения всех необходимых исследований пациенты с ИТП находились под динамическим наблюдением в течение 6 лет. Далее, согласно национальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (Меликян А.Л., Пустовая Е.И. и др., 2018), пациентов с ИТП распределяли по длительности течения заболевания на впервые диагностированную форму (длительность до 3 мес. с момента диагностики), персистирующую форму (от 3 до 12 мес. от момента диагностики) и хроническую форму (длительность более 12 мес. от момента диагностики). Затем группы с впервые диагностированной и персистирующей формой объединили в группу «острые».

Для решения вопросов приемлемости исследований образцов миелоплазмы на тест-системах, рассчитанных на другие биологические материалы, были проведены валидирующие мероприятия с установлением линейности (рабочего диапазона) по протоколу CLSI EP6-A, прецизионности (CLSI EP5-A2), правильности (CLSI EP15-A2), аналитической специфичности (ГОСТ Р 51352–2013, CLSI EP7-A2). Все методики показали допустимый уровень приемлемости. Статистический анализ данных проводили с помощью программы MedCalc версия 9,0 и программы SPSS 21.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные изменения миелограммы при ИТП касаются увеличения количества лимфоцитов (9,2-16,9%, $p<0,05$) и мегакариоцитов в костном мозге (17-61 шт на 250 полей зрения, $p<0,05$). При ИТП низкое количество тромбоцитов индуцирует компенсаторное увеличение количества мегакариоцитов в костном мозге, что проявляется обнаруженной гиперплазией мегакариопоэза. Больше данных показало исследование мегакариоцитарной формулы (Рисунок 2). Так, при ИТП увеличено количество базофильных мегакариоцитов (5,0-18,5%, $p<0,01$), тогда как уровни полихроматофильных (32,5-48,0%, $p<0,001$) и оксифильных форм (9,0-23,5%, $p<0,001$) ниже. Таким образом, наблюдается задержка созревания мегакариоцитарного ростка. С одной стороны, выявлены изменения в мегакариоцитарном ростке, указывающие на усиление процесса тромбоцитопоэза: часто встречаются «голаядерные» мегакариоциты (11,5-28,5%, $p<0,001$), явление эмпериполеза (2,0-6,0%, $p<0,01$), пластинкообразование начинается более рано – с созревающих базофильных форм. С другой стороны, нарастают морфологические изменения мегакариоцитов вплоть до появления признаков диспоэза: увеличены инволютивные формы (1,0-4,0%, $p<0,05$), обнаружены микроформы (1,0-8,0%, $p<0,001$), большую часть составляют мегакариоциты с

гипогранулированной цитоплазмой (20,0-37,0%, $p<0,0001$), значительно снижено количество пластинкообразующих мегакариоцитов (3,0-17,0%, $p<0,001$). Фактически, сочетание всех выявленных признаков указывает на неэффективный тромбоцитопоз.

В периферической крови при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре изменения в основном касались тромбоцитарных параметров. Так, количество тромбоцитов и тромбоцит (PCT) были значительно снижены (медиана PLT – $24,5 \cdot 10^9/\text{л}$, PCT – 0,07%, $p<0,001$), а средний объем тромбоцитов и показатель анизцитоза тромбоцитов (PDW) увеличены (медиана MPV – 11,5 фл, PDW – 22,3%, $p<0,001$). Проведенный корреляционный анализ между параметрами мегакариоцитов костного мозга и тромбоцитов периферической крови показал, что MPV и PDW отражают мегакариопоз и имеют диагностическое значение при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре.

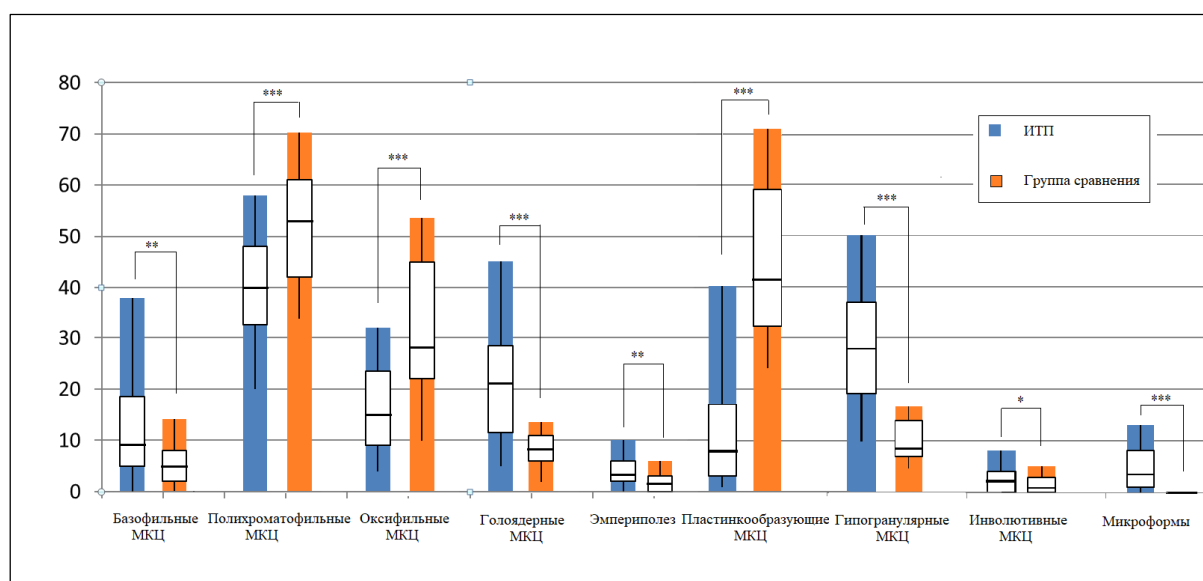


Рисунок 2 – Изменения показателей мегакариоцитогаммы при ИТП

Далее была изучена вариабельность показателей костного мозга и периферической крови у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой в отдельных возрастных группах. Клеточность пунктатов сохраняется на достаточном уровне, гранулоцитарный росток сохранен, созревание нейтрофилов не изменено, отмечается небольшая тенденция к увеличению созревающих форм нейтрофилов, что также прослеживается в эозинофильном ростке и находит отражение в более высоком значении индекса созревания нейтрофилов, моноцитарный росток имеет направленность к расширению. Однако эти изменения находятся в пределах референсных величин (Соколов В. В., Грибова И. А., 1972), определенных для данной возрастной группы, и вероятность достоверности различий этих показателей слишком мала.

Значимым оказывается изменение уровня лимфоцитов. Так, их количество у взрослых с первичной ИТП оставляет $13,35 \pm 0,47$, что выше, чем в группе сравнения ($p<0,05$) и, вероятно, связано с самим механизмом развития этого заболевания. При ИТП часто происходит выработка аутоантител к разным рецепторам мембраны тромбоцитов и мегакариоцитов.

Формирование иммунной реакции на собственные тромбоциты – процесс многоступенчатый, в котором принимают участие многие субпопуляции лимфоцитов. В результате развивается дисбаланс между ними, что, видимо, нашло отражение в увеличении количества лимфоцитов в костном мозге у пациентов с ИТП (Panitsas F.P., Mouzaki A., 2004; Wang T. et al., 2005; Hu Y. et al., 2012). У детей с первичной ИТП обнаружено увеличение количества лимфоцитов – $23,65 \pm 0,82$ ($p < 0,01$) и выявляются изменения в нейтрофильном ростке. Количество метамиелоцитов ($p < 0,01$) и палочкоядерных нейтрофилов ($p < 0,001$) выше, а уровни миелоцитов ($p < 0,05$) и сегментоядерных нейтрофилов ($p < 0,001$) – ниже. Суммарно количество нейтрофилов ниже ($p < 0,05$), чем в группе сравнения, но созревание нейтрофильного ростка остается без изменений. Безусловно, подобные сдвиги количества популяций нейтрофилов и лимфоцитов объясняются «перекрестом», который происходит к 5-6 годам (Nandakumar S.K. et al., 2016).

Характеристика мегакариоцитарного ростка взрослых и детей с первичной ИТП дана в таблице 1. Медианные уровни абсолютного количества мегакариоцитов увеличены относительно группы сравнения в 1,9 раза у взрослых ($Me\ 37,0$, $p < 0,05$) и в 3,6 раза – у детей ($Me\ 71,0$, $p < 0,001$).

Субпопуляции мегакариоцитов у детей и взрослых с первичной ИТП распределились следующим образом: у детей преобладающей субпопуляцией стали базофильные мегакариоциты (медиана составила 41,0% у детей и 9,0% у взрослых соответственно, $p < 0,01$), у взрослых преобладают более зрелые формы мегакариоцитов – полихроматофильные, хотя относительно группы сравнения полихроматофильные и оксифильные формы снижены ($p < 0,001$). Таким образом, задержка созревания мегакариоцитов при первичной ИТП наблюдается в группах детей и взрослых, но у детей она имеет более выраженный характер, что отражено и в индексе созревания мегакариоцитов (ИСМ). ИСМ имеет более высокое значение у детей – 0,88, тогда как у взрослых – 0,22 ($p < 0,001$).

По-разному распределилось и наличие измененных форм мегакариоцитов при первичной ИТП. Так, у взрослых чаще появляются инволютивные формы мегакариоцитов: частота встречаемости составила 78% у взрослых и, соответственно, 56% у детей. При этом по общему их содержанию (от всех 100% мегакариоцитов) различия небольшие: медиана количества инволютивных форм у детей – 1,0%, что ниже относительно группы сравнения ($p < 0,001$), а у взрослых – 2,0%, что выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Инволютивные формы образуются как следствие вызревания мегакариоцитов, в дальнейшем происходит постепенная эксклюзия цитоплазмы и ядра в процессе образования тромбоцитов. Чаще у взрослых встречаются голаядерные формы мегакариоцитов, медианное значение увеличено в 2,6 раза ($Me\ 21,0$, $p < 0,001$), а у детей оно снижено в 2,3 раза ($Me\ 3,0$, $p < 0,01$). Таким образом, у

большинства взрослых пациентов с первичной ИТП процесс тромбоцитобразования сохранен, тогда как у большинства детей, по всей видимости, угнетен.

Таблица 1 – Показатели мегакариоцитогрaмм пациентов с ИТП у взрослых и детей (Ме [25%, 75%])

Показатель		Дети ИТП (n=126)	Дети группа сравнения (n=17)	Взрослые ИТП (n=110)	Взрослые группа сравнения (n=20)
Всего мегакариоцитов на 250 п/зр		71,00*** [45,5–120,0]	20,0 [8,0-29,5]	37,0* [17,0–61,0]	21,0 [10,0–33,0]
Незрелые мегакариоциты, %		1,0 [0,0–2,0]	0,0 [0,0-1,25]	2,0 [0,0–5,0]	1,0 [0,25–2,0]
Мегакариоциты базофильные, %		41,0*** [29,5–50,5]	13,0 [7,75-21,8]	9,0** [5,0–18,5]	6,0 [2,0–8,0]
Мегакариоциты полихроматофильные, %		37,0 [30,0–45,0]	39,0 [32,7-49,0]	40,0*** [32,5–48,0]	53,0 [42,0–61,0]
Мегакариоциты оксифильные, %		12,0*** [7,0–17,5]	32,0 [22,0-35,7]	15,0*** [9,0–23,5]	28,0 [22,0–45,0]
Инволютивные формы, %	Ме [25%, 75%]	1,0*** [0,0–2,0]	3,0 [2,0-5,0]	2,0* [1,0–4,0]	1,0 [0,0-3,0]
	Частота встречаемости	56,0%**	94,0%	78,0%*	53,0%
Голоядерные, %		3,0** [1,0–6,0]	7,0 [3,5-10,5]	21,0*** [11,5–28,5]	8,0 [6,0-11,0]
Дегенеративные, %	Ме [25%, 75%]	1,0 [0,0–2,0]	0,0 [0,0-1,5]	1,0 [0,0–3,0]	1,0 [0,0-1,0]
	Частота встречаемости	60,0%	70,0%	58,0%	58,0%
Эмпериполез, %	Ме [25%, 75%]	2,0 [1,0–4,0]	1,0 [0,0-3,5]	3,0** [2,0–6,0]	2,0 [0,0-3,0]
	Частота встречаемости	87,0%**	59,0%	90,0%*	68,0%
Микро- мегакариоциты,%	Ме [25%, 75%]	2,0*** [1,0–5,0]	0,0 [0,0-1,0]	4,00*** [1,00–8,00]	0,0 [0,0-0,0]
	Частота встречаемости	78,0%***	54,0%	83,0%***	5,0%
Гипогранулярные мегакариоциты, %		62,0*** [53,75-70,0]	6,0 [4,0-9,5]	27,0*** [19,0-37,0]	8,0 [7,0-13,75]
Мегакариоциты с множеством ядер, %	Ме [5%, 95%]	0,0** [0,0-1,0]	0,0 [0,0-5,9]	0,0 [0,0-4,0]	0,0 [0,0-1,1]
	Частота встречаемости	6,0%**	41,0%	15,0%	5,0%
Пластинкообразующие формы, %		4,0*** [2,0–8,0]	28,0 [21,2-37,2]	8,0*** [3,0–17,0]	41,0 [32,0-63,0]
Пластинкосодержащие формы, %		23,0*** [16,0–30,0]	42,0 [21,5-61,2]	30,0 [22,0–38,0]	34,0 [21,0-44,0]
Индекс созревания мегакариоцитов		0,88*** [0,5–1,2]	0,22 [0,09-0,26]	0,22*** [0,10–0,43]	0,09 [0,02-0,14]

Анализируя показатели мегакариоцитарной формулы в целом, мы выделили изменения мегакариоцитогрaмм в два типичных варианта. 1 тип мегакариоцитогрaммы отличается преобладанием незрелых и созревающих форм мегакариоцитов, 2 тип характеризуется увеличением «голяядерных» и полихроматофильных форм с малым количеством или полным отсутствием пластинкообразующих мегакариоцитов. Среди пациентов с ИТП 1 тип изменений мегакариоцитогрaммы встречался у 25,7%, 2 тип – у 54,1%, в то же время

мегакариоцитогаммы без значительных изменений составили приблизительно пятую часть всех обследуемых пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой ($p < 0,0001$). Мы провели изучение влияния нескольких факторов на распределение типов мегакариоцитогамм, таких как характер течения, выраженность клинических проявлений, пол и возраст, и значимые различия продемонстрировал возрастной фактор. У детей основным становится первый тип мегакариоцитогаммы (в 88% случаев), у взрослых самым распространенным становится 2 тип (48,6% случаев, $p < 0,0001$). Также среди взрослого контингента чаще встречаются мегакариоцитарные формулы без отклонений (21,1% случаев у взрослых, 9,6% - у детей). Таким образом, 1 тип мегакариоцитогаммы можно охарактеризовать как «детский тип», а 2 тип – как «взрослый тип».

Таким образом, выявлены существенные различия у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой в зависимости от возрастного фактора, что делает невозможным дальнейшее рассмотрение групп детского и взрослого населения вместе с целью выявления предикторов хронического течения ИТП. Далее мы разделили детскую группу на 6 подгрупп, взяв за основу возрастную периодизацию онтогенеза (Крылов А.А., 2005), а взрослое население – на 4 подгруппы.

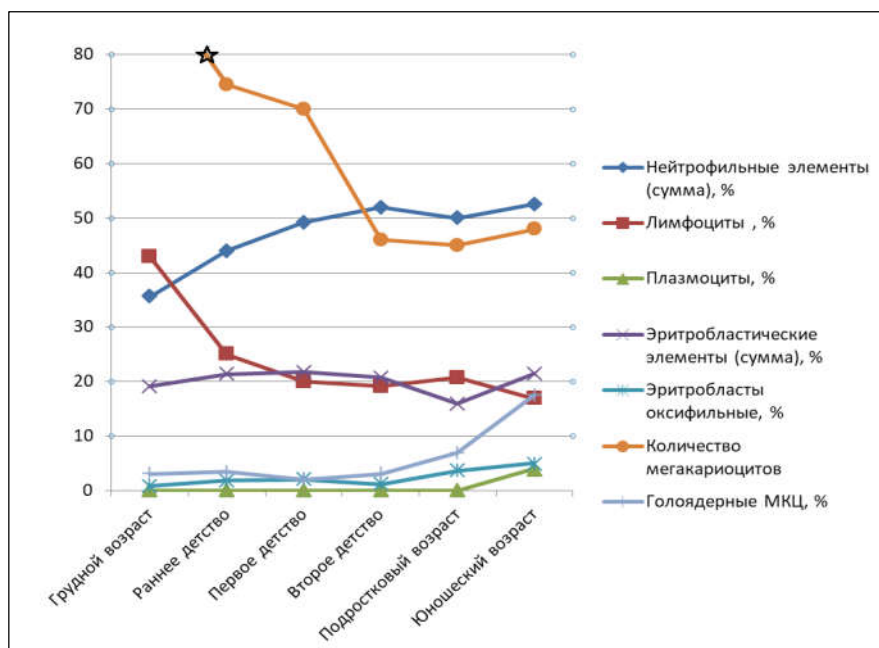


Рисунок 4 – Изменения показателей миелограммы и мегакариоцитарной формулы среди групп детского населения у пациентов с ИТП

Между группами детского населения были выявлены значимые отличия в нескольких ростках кроветворения (рисунок 4). Так, нейтрофильный росток постепенно нарастает к юношескому возрасту за счет созревающего пула, показывая минимальное значение в грудном возрасте (медиана – 35,6%) и максимальное – в юношеском (медиана – 52,6%, $p < 0,01$). Лимфоцитарный росток имеет обратную тенденцию: сначала максимальное значение в грудном

возрасте (медиана – 49,2%) и минимальное – в юношеском (медиана – 16,9%, $p=0,001$). Плазматические клетки у детей младших возрастов либо не обнаруживаются совсем, либо единичны. В юношеском периоде количество плазмочитов достигает постоянных значений, которые приближены к показателям взрослого населения. Суммарное количество эритробластических элементов показало стабильные результаты в разные периоды детского возраста, отличия выявлены в процессах созревания этого ростка. Осуществление энуклеации эритробластов у детей осуществляется преимущественно на полихроматофильной стадии (Nandakumar S.K. et al., 2016), что привело к низкому содержанию оксифильных форм в костном мозге. В период юношества их количество достигает максимального значения, приближая созревание эритроидного ростка в этом периоде к взрослому типу. Количество мегакариоцитов в костном мозге у детей с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой максимально увеличено в грудном возрасте (медиана – 225,5, $p<0,05$), их количество постепенно снижается к юношескому периоду (медиана – 57,0). Такая же тенденция сохранена и с базофильными формами мегакариоцитов. То есть с увеличением возраста ребенка наблюдается снижение степени задержки созревания мегакариоцитов. Также в юношеском периоде наблюдается самое высокое количество «голаядерных» форм мегакариоцитов, как мы наблюдали и во взрослой группе.

Таким образом, возрастной фактор в детских группах значим при описании миелограммы, мегакариоцитограммы и ОАК, и для вычисления предикторов хронического течения ИТП необходимо проводить расчеты для каждого периода детского возраста, что затруднительно ввиду малочисленности этих групп. В группах взрослого населения, наоборот, не было выявлено значимых различий, что позволяет эту группу не разбивать в дальнейших расчетах. Также мы установили, что юношеский период детской группы показывает сходные значения со взрослым населением и может быть отнесен к последнему.

На следующем этапе нашего исследования мы распределили данные миелограммы, мегакариоцитограммы и данные общего анализа крови в зависимости от характера течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. В мегакариоцитарной формуле обнаружено, что в группе «острые» выше количество промегакариоцитов (медиана в группе «острые» – 2,0%, в группе с хроническим течением – 0,0%, $p<0,05$). Данные общего анализа крови также мало отличались, выявленные значимые различия коснулись только показателя анизоцитоза эритроцитов по коэффициенту вариации RDW-CV. При хроническом течении эритроциты имеют более высокое значение RDW-CV (13,1-15,7%), чем в группе «острые» (12,9-13,6%, $p<0,01$).

Дальнейший этап нашего исследования состоял в изучении состава интерстициальной жидкости костного мозга (миелоплазмы). Проведя исследование белковых фракций, мы

обнаружили значимо более низкий уровень общего белка и альбумина в миелоплазме пациентов с ИТП ($p<0,05$), в группе сравнения такая тенденция сохранилась, что может указывать на более низкое онкотическое давление в интерстициальной жидкости костного мозга. Количество α 1- и α 2-глобулинов в миелоплазме значимо выше в группе с ИТП ($p<0,05$), при этом обнаружено снижение α 1-глобулиновой фракции в плазме крови у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой ($p<0,01$). Выявлено более низкое количество β -глобулиновой фракции в плазме крови пациентов с ИТП ($p<0,001$) при сопоставлении с группой сравнения, а также в миелоплазме сравниваемой группы по отношению к периферической крови ($p<0,01$). Таким образом, большинство белковых фракций миелоплазмы существенно отличаются от периферической крови, поэтому мы включили в исследование определение некоторых отдельных белков в интерстициальной жидкости костного мозга.

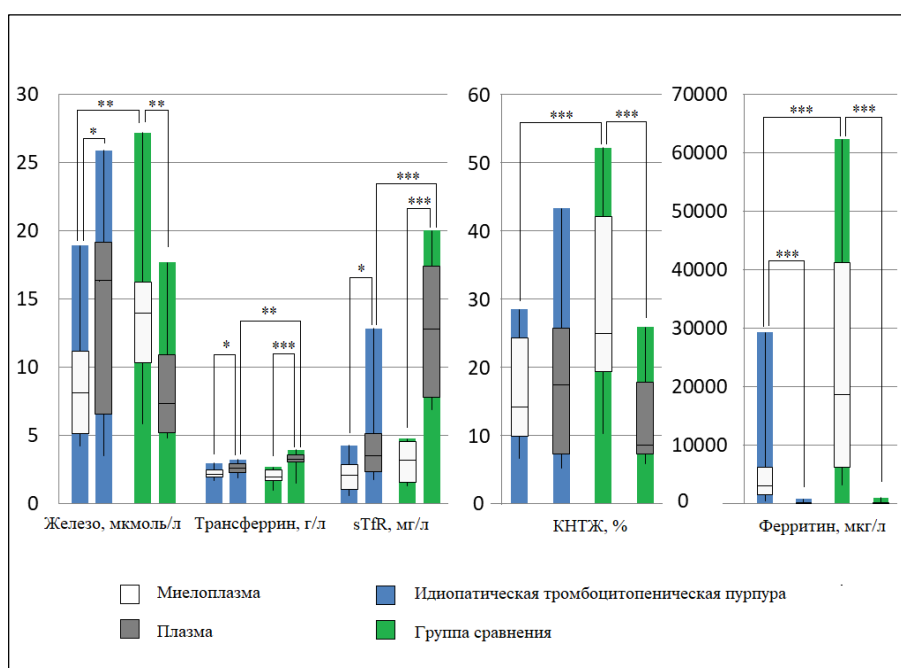


Рисунок 5 – Показатели обмена железа в миелоплазме и плазме крови пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой

Содержание железа в миелоплазме в сравниваемых группах имеет значимые различия (рисунок 5). У пациентов с ИТП значения составили 5,1-11,15 мкмоль/л, тогда как в группе сравнения уровни железа были более высокими (10,30-16,20 мкмоль/л, $p<0,01$). У пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой миелоплазменное значение содержания железа существенно ниже, чем в периферической крови ($p<0,05$), тогда как в группе сравнения ситуация обратная ($p<0,01$). Количество трансферрина в миелоплазме имеет стабильное содержание (1,71-2,44 г/л) и не зависит от плазменных значений, уровень sTfR в интерстициальной жидкости костного мозга достоверно ниже, чем в периферической крови, в то же время при ИТП снижение выявлено в 1,5 раза ($p<0,05$), а в группе сравнения – в 2,8 раза ($p<0,0001$). Выявлено снижение коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТЖ) как

в миелоплазме, так и в плазме крови у пациентов с ИТП. Содержание ферритина значительно выше в миелоплазме, у пациентов с ИТП превышает плазменные значения в 55 раз, а в группе сравнения – в 936 раз ($p < 0,001$). Таким образом, в миелоплазме создается своя особая микросреда, показатели обмена железа значительно отличаются от плазменных уровней. Так, у пациентов с ИТП уровень железа, трансферрина, sTfR и КНТЖ в интерстициальной жидкости костного мозга достоверно ниже, чем в периферической крови. Количество ферритина в десятки раз выше.

Для оценки взаимосвязи между показателями обмена железа в миелоплазме и мегакариопоэзом использовалась ранговая корреляция Спирмена. В группе ИТП выявлена корреляция между количеством железа и выраженностью явления эмпериполеза мегакариоцитов ($R=0,490$, $p < 0,05$), КНТЖ и голаядерными МКЦ ($R=0,538$, $p < 0,05$), количеством ферритина и пластинкосодержащими формами МКЦ ($R=0,458$, $p < 0,05$), а также отрицательная взаимосвязь уровня sTfR и количества пластинкообразующих форм МКЦ ($R=-0,541$, $p < 0,05$). Для диагностики идиопатической тромбоцитопенической пурпуры важным признаком является увеличение количества голаядерных форм, снижение пластинкообразующих и пластинкосодержащих форм мегакариоцитов. Выявленные корреляции между этими видами мегакариоцитов и белками обмена железа указывают на то, что железо играет непосредственную роль в тромбоцитобразовании, а также вероятны новые функции таких белков, как ферритин и трансферрин, в тромбоцитопоэзе.

Активность АлАТ в миелоплазме пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой выше, чем в периферической крови ($p < 0,001$). Корреляционный анализ показал среднюю взаимосвязь между количеством мегакариоцитов и активностью АлАТ в миелоплазме ($R=0,531$, $p=0,016$), а также слабую отрицательную взаимосвязь с инволютивными формами мегакариоцитов ($R=-0,484$, $p=0,035$). Таким образом, активность АлАТ в миелоплазме у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой может служить индикатором выраженности тромбоцитобразования (патент РФ № 2672471 «Способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга»).

Уровень ИЛ-6 в миелоплазме (рисунок 6) более высокий в двух сравниваемых группах ($p < 0,05$), количество ИЛ-8 в плазме крови у пациентов с ИТП имеет более высокое значение, чем в сопоставляемой группе ($p < 0,01$). В группе сравнения количество ИЛ-8 в миелоплазме значительно выше, чем в плазме крови ($p < 0,001$). Распределение эритропоэтина у пациентов с ИТП имеет схожие данные как миелоплазме, так и в плазме крови, значимую разницу значений показали данные периферической крови по отношению к группе сравнения ($p < 0,01$), при этом миелоплазменные уровни ЭПО показывают стабильные значения, не зависящие от плазменных. Миелоплазменные уровни фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) не показали различий в

сравниваемых группах, значимые изменения были выявлены в группе сравнения между содержанием VEGF в интерстициальной жидкости костного мозга и периферической кровью ($p<0,01$). Проведенный корреляционный анализ в группе с ИТП показал наличие взаимосвязи между интерлейкином-8 и оксифильными мегакариоцитами ($R=-0,537$, $p<0,05$), гипогранулярными ($R=-0,656$, $p<0,01$) и голаядерными формами ($R=0,704$, $p<0,001$). Взаимосвязь в группе с ИТП также обнаружена между количеством эритропоэтина в миелоплазме и мегакариоцитами с множеством ядер ($R=0,538$, $p<0,05$), VEGF и незрелыми мегакариоцитами ($R=-0,590$, $p<0,05$).

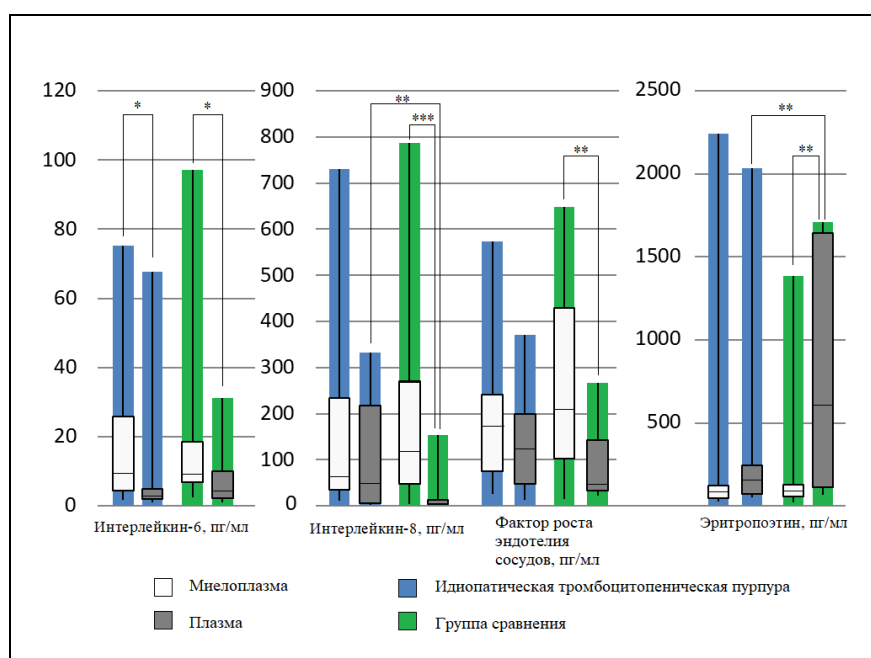


Рисунок 6 – Цитокиновый профиль миелоплазмы и плазмы крови пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой

В дальнейшем мы сравнивали миелоплазменные и плазменные показатели цитокинов и анализов у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой в зависимости от характера течения ИТП (рисунок 7). При хронической форме ИТП отношение количества железа миелоплазмы к плазме выше (хроническое течение – 0,64-2,55, группа «острые» - 0,26-0,71, $p<0,05$), более низкое содержание ферритина в плазме (хроническое течение – 27,15-85,80 мкг/л, группа «острые» - 62,0-262,0 мкг/л, $p<0,05$) и более высокое отношение ферритина миелоплазмы к плазме (хроническое течение – 31,59-373,03, группа «острые» - 7,1-38,29, $p=0,009$), количество интерлейкина-8 в плазме ниже (хроническое течение – 6,32-48,56 пг/мл, группа «острые» - 96,61-282,55 пг/мл, $p=0,0016$), как и уровень VEGF в интерстициальной жидкости костного мозга (хроническое течение – 148,97-259,95 пг/мл, группа «острые» - 25,48-70,4 пг/мл, $p=0,004$). Таким образом, мы обнаружили несколько предикторов хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры со значимым уровнем достоверности.

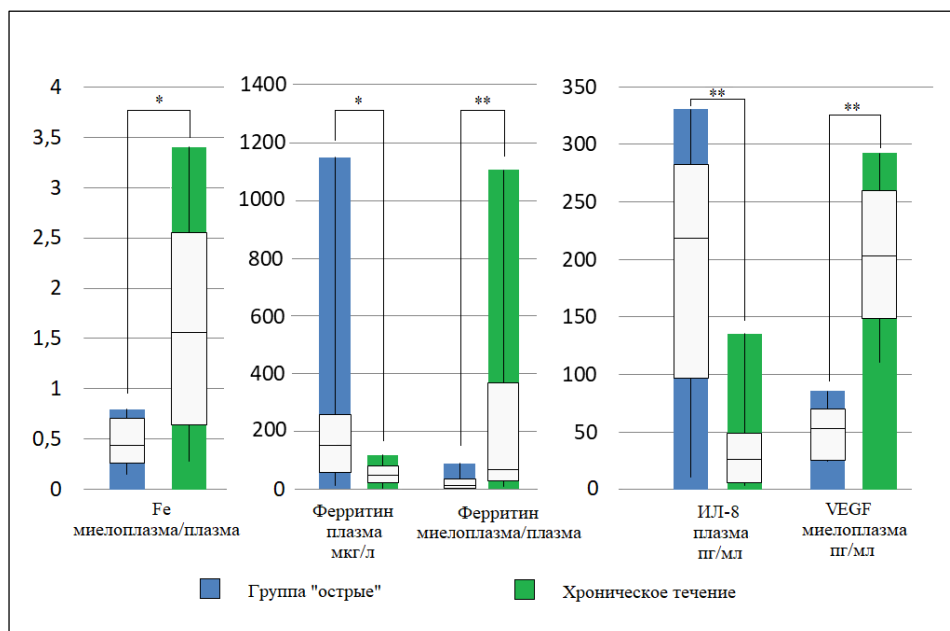


Рисунок 7 – Содержание анализов в миелоплазме и плазме крови пациентов с острым и хроническим течением ИТП

С помощью метода «дерево принятия решений» (рисунок 8) также были получены системы неравенств, четыре из которых классифицируют хроническую форму ИТП:

1. если количество мегакариоцитов на 250 полей зрения $\leq 22,5$; количество лимфоцитов $\leq 17,0\%$; содержание VEGF в миелоплазме $> 85,59$ пг/мл;

или 2. если количество мегакариоцитов на 250 полей зрения $\leq 22,5$; количество лимфоцитов $> 17,0\%$;

или 3. если количество мегакариоцитов на 250 полей зрения $> 22,5$; количество сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге $\leq 17,80\%$; содержание VEGF в миелоплазме $> 85,59$ пг/мл;

или 4. если количество мегакариоцитов на 250 полей зрения $> 22,5$; количество сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге $> 17,80\%$,

то прогнозируем хроническое течение идиопатической тромбоцитопенической пурпуры.

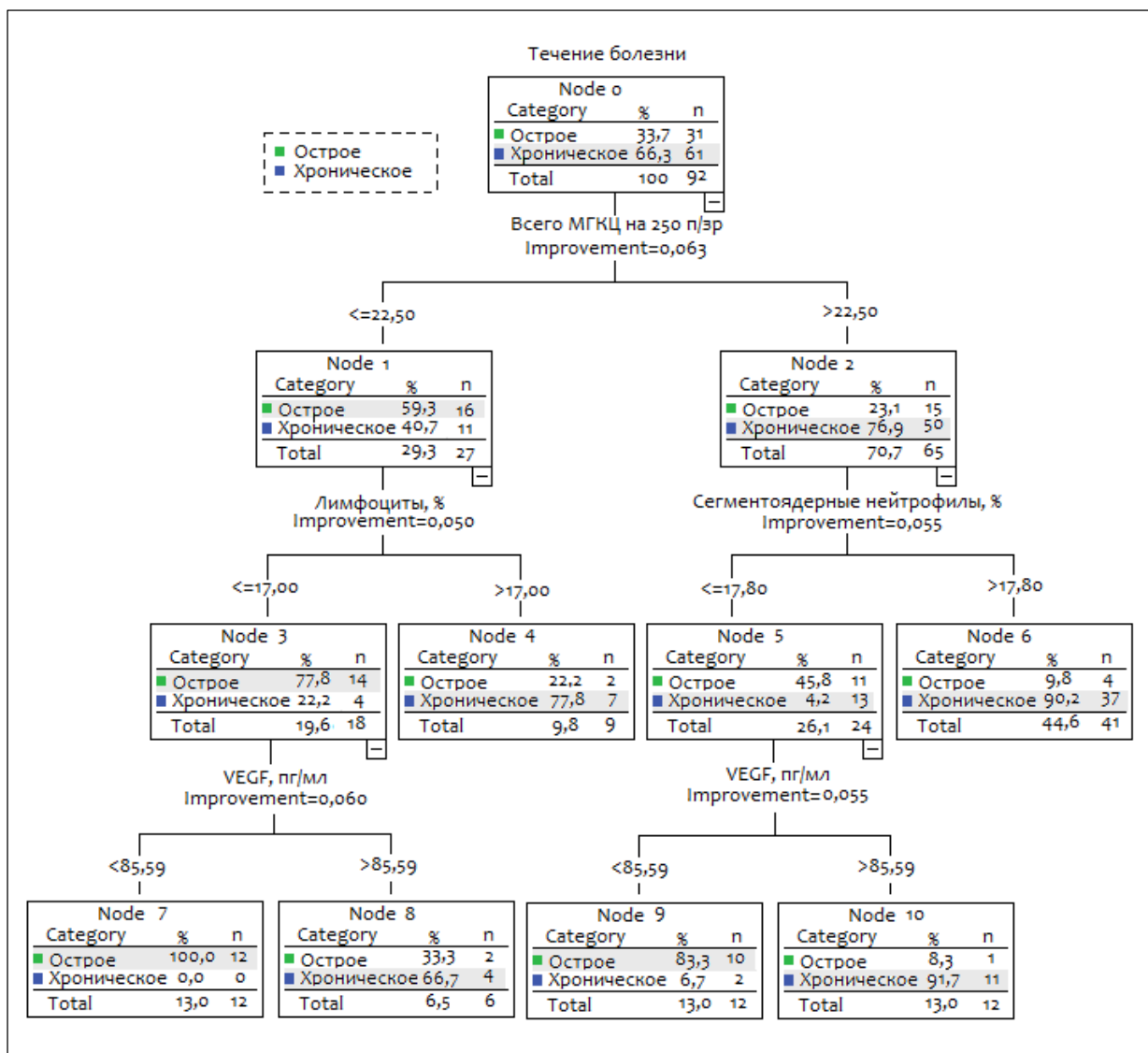


Рисунок 8 – Модель прогноза хронического течения ИТП по данным исследования костного мозга

Информационная значимость диагностического теста прогноза развития хронического течения ИТП: чувствительность – 85,25%, специфичность – 93,55%, диагностическая точность теста – 88,0%. Прогностичность положительного результата (PPV) – 96,7%, отрицательного результата (NPV) – 71,0%. Показатель AUC, отражающий площадь под кривой, равный 0,894, свидетельствует об очень хорошем качестве прогностической модели.

Таким образом, комбинация результатов миелограммы и определение цитокинов в миелоплазме позволяют сделать прогноз развития хронической формы идиопатической тромбоцитопенической пурпуры с высоким уровнем качества прогноза.

Полученные данные легли в основу прогностического алгоритма оценки риска развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, включающего показатели миелограммы, мегакариоцитогаммы и уровень VEGF в миелоплазме (рисунок 9).

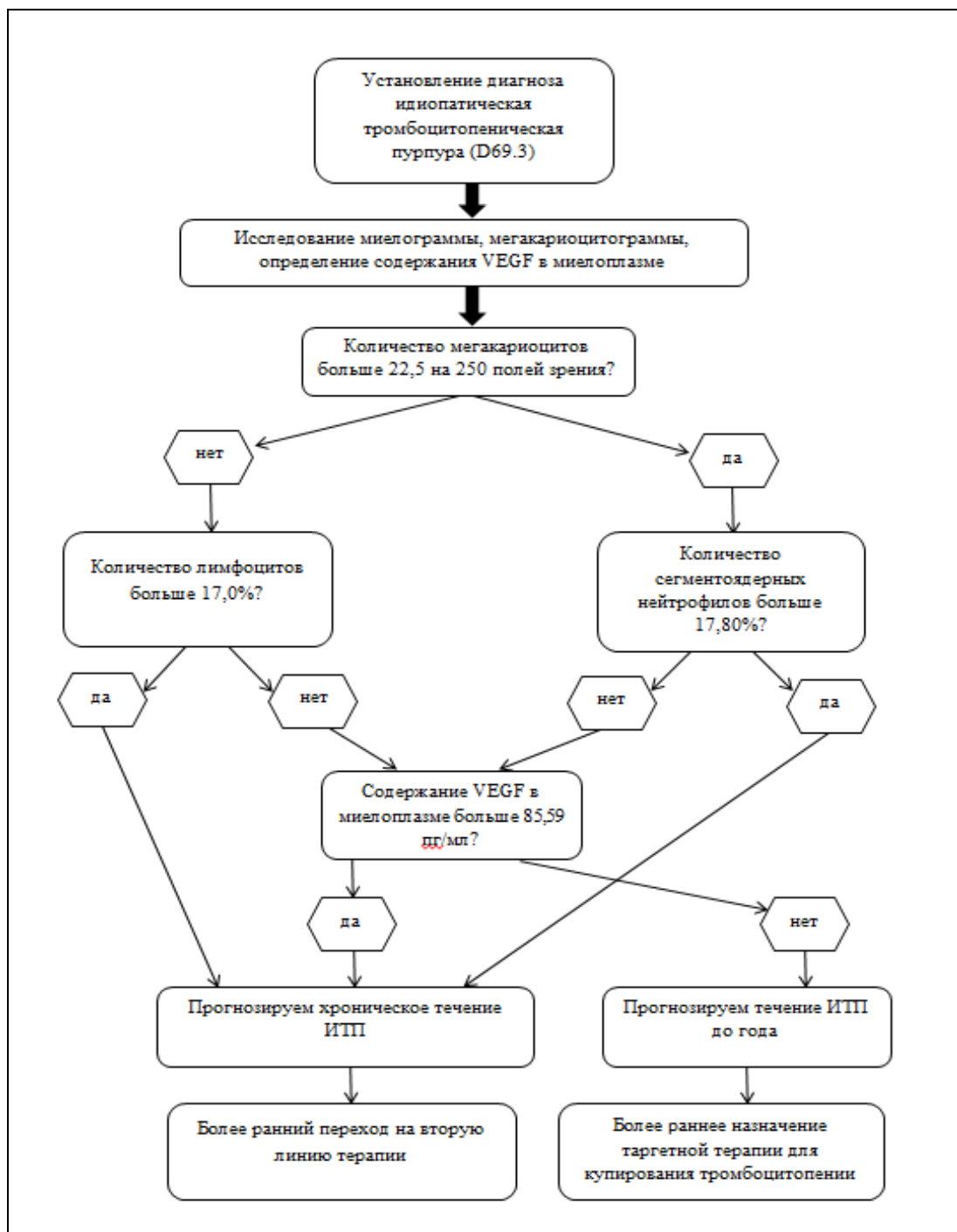


Рисунок 9 – Алгоритм оценки риска развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры

ВЫВОДЫ

1. Установлены особенности мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, характеризующиеся увеличением количества мегакариоцитов, неэффективным тромбоцитопозом, тромбоцитопенией с изменением тромбоцитарных индексов.

2. Возрастные особенности мегакариоцитограмм характеризуются преобладанием одного из морфотипов мегакариоцитарной формулы. Установлено, что у детей с ИТП мегакариоцитограмма характеризуется высоким уровнем мегакариоцитов, преобладанием созревающих базофильных форм и гипогранулярных мегакариоцитов, что формирует «детский» морфотип мегакариоцитарной формулы. Установлено, что у пациентов с ИТП с 17 лет мегакариоцитограмма характеризуется преобладанием полихроматофильных мегакариоцитов и «голаядерных» форм, что формирует «взрослый» морфотип мегакариоцитарной формулы.

3. Установлено, что биохимические методики, применяемые для исследования сыворотки крови, могут быть использованы для характеристики показателей миелоплазмы после проведения корректирующих мероприятий, основанных на результатах валидации.

4. Выявлено, что при хроническом течении ИТП соотношение железа и ферритина миелоплазмы к плазме крови выше в 1,3 и 6,7 раза соответственно, содержание VEGF миелоплазмы выше в 3,8 раза, уровень интерлейкина-8 в плазме крови ниже в 8,8 раза, что определяет использование данных показателей в качестве предикторов хронического течения ИТП.

5. Предложен прогностический алгоритм оценки риска хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, включающий показатели миелограммы, мегакариоцитограммы и уровень VEGF в миелоплазме.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Врачам клиничко-диагностических лабораторий и врачам-гематологам рекомендовано добавить подсчет мегакариоцитограммы к рутинному исследованию миелограммы всем пациентам с признаками тромбоцитопении для оценки степени созревания мегакариоцитарного ростка, признаков диспоэза и активности тромбоцитообразования.

2. Врачам клиничко-диагностических лабораторий и врачам-гематологам при исследовании костного мозга и периферической крови пациентов с первичной ИТП рекомендовано включить определение VEGF в миелоплазме, ИЛ-8 в плазме, соотношение содержания в интерстициальной жидкости костного мозга к плазме крови для ферритина и железа для оценки прогноза развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры.

3. Разработанный алгоритм оценки риска развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры рекомендуется к использованию врачам-гематологам в специализированных гематологических центрах.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективами для дальнейшей разработки темы являются определение референсных интервалов для биохимических и иммунологических методик исследования миелоплазмы, дальнейшая их индивидуализация для различных возрастных групп, а также изучение отклонений состава для разных гематологических заболеваний. Включение в разные исследования определения дополнительных биохимических параметров миелоплазмы позволит понять патохимические аспекты развития заболеваний, выделить предикторы рецидивов и хронизации гематологических заболеваний. Учитывая различия состава каждой белковой фракции миелоплазмы в сравнении с плазмой, перспективным будет изучение количества макробелков каждой фракции в миелоплазме и определение их функциональной роли в процессе кроветворения, например, липидный спектр миелоплазмы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, для опубликования основных научных результатов диссертации по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)

1. Халиулин, А.В. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы) / А.В. Халиулин, О.А. Гусякова, А.В. Козлов, А.И. Габрильчак // Клиническая лабораторная диагностика – 2019. – № 3. – С. 164-169.

2. Габрильчак, А.И. Диагностическое значение показателей тромбоцитов и мегакариоцитарной формулы костного мозга при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре / А.И. Габрильчак // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – № 12. – С. 739-746.

3. Габрильчак, А.И. Особенности мегакариоцитогаммы костного мозга при иммунной тромбоцитопении в зависимости от возраста / А.И. Габрильчак, О.А. Гусякова, А.В. Халиулин, О.Ю. Кузнецова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – № 6. – С. 341-347.

Авторские свидетельства, патенты

4. Патент на изобретение RU № 2672471 Способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга: № 2018109674: заявл. 19.03.2018: опубл. 15.11.2018 / А.И. Габрильчак, А.В. Халиулин, И.А. Селезнева, О.А. Гусякова, В.М. Радомская, Т.В. Васильева; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Статьи в научных журналах, тезисы докладов в материалах
конференций и симпозиумов**

5. Селезнева, И.А. Анализ мегакариоцитогрaмм у детей с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой / И.А. Селезнева, А.И. Габрильчак, А.В. Халиулин, О.И. Федорова, Т.М. Гадалина, О.В. Красота // Материалы XXI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Качество лабораторных исследований – условие безопасности пациентов» // Лаборатория. Журнал для врачей. – 2016. – № 1. – С.47-48.

6. Габрильчак, А.И. Изучение функциональной активности и особенностей изменения мегакариоцитарного ростка у детей с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой / А.И. Габрильчак, А.В. Халиулин, А.М. Чаулин, О.В. Арчибасова, А.А. Ерещенко, А.О. Никитина // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2016. – № 1. – С. 89-93.

7. Радомская, В.М. Диагностическое значение мегакариоцитогрaммы у больных с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой / В.М. Радомская, А.И. Габрильчак, А.В. Халиулин, Л.Н. Виноградова, Н.К. Игнатова, О.В. Арчибасова // Лабораторная служба. – 2018. – №1. – С. 146-147.

8. Габрильчак, А.И. Биохимический профиль миелоплазмы костного мозга у пациентов с иммунной тромбоцитопенией / А.И. Габрильчак, Ф.Н. Гильмиярова, О.И. Федорова, О.В. Арчибасова, Е.Н. Косиневская // Лабораторная служба. – 2019. – № 1. – С.19

9. Габрильчак, А.И. Биохимический и иммунологический состав миелоплазмы у пациентов с иммунной тромбоцитопенией / А.И. Габрильчак, О.И. Федорова, Л.В. Сосновская // Материалы XVII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 75-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета. – ЮУГМУ. Медицинская наука и клиническая практика, 2019. – С. 27-30.

10. Габрильчак, А.И. Цитологическая характеристика мегакариоцитарного ростка у пациентов с острым и хроническим течением иммунной тромбоцитопении / А.И. Габрильчак, Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, Н.В. Иванова, Т.М. Гадалина, О.В. Арчибасова // Лабораторная служба. – 2020. – № 1. – С. 20-21.

11. Габрильчак, А.И. Характеристика мегакариоцитарной формулы у пациентов с иммунной тромбоцитопенией / А.И. Габрильчак, Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, А.В. Халиулин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – № 4. – С. 23.