

ной системы или возрастом пациентов.

Анализ корреляций содержания исследуемых клеток и биохимических маркеров в крови детей в 1–4-й и 5–7-й день после трансплантации фрагмента печени не позволил обнаружить статистически значимые корреляции. Возможно, отсутствие связи содержания CD34+ клеток и маркеров воспаления и функции печени после операции может косвенно указывать на обусловленность таких взаимосвязей заболеваниями гепатобилиарной системы.

Выводы. 1. Содержание CD34+ ГСК в периферической крови детей, страдающих циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, коррелирует с концентрацией СРБ, альбумина, гемоглобина и количеством эритроцитов в плазме крови.

2. Содержание CD34+ ГСК в периферической крови детей с циррозом печени не связано с уровнями биомаркеров активации иммунной системы: костимулирующего фактора активации Т-клеток sCD40L, маркера активации Th-2 клеток sCD30 и маркера активации макрофагов НР.

3. Количество CD34+ ГСК в периферической крови детей с заболеваниями печени выше, чем у здоровых взрослых доноров и не изменяется в 1–4-й и 5–7-й день после трансплантации печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Готье С. В., Константинов В. А., Цирульникова О. М. Трансплантация печени. – М., 2008.
2. Курабекова Р. М., Цирульникова О. М., Шевченко О. П. // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 86–92.
3. Луговская С. В., Почтарь М. Е., Долгов В. В. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. – М., 2008.
4. Alison M. R., Islam S., Lim S. // J. Pathol. – 2009. – Vol. 217, N 2. – P. 282–298.
5. Baccarani U., Donini A., Risaliti A. et al. // Lancet. – 2001. – Vol. 357, N 9274. – P. 2137.
6. De Silvestro G., Vicarioto M., Donadel C. et al. // Hepatogastroenterology. – 2004. – Vol. 51. – P. 805–810.
7. Eguchi S., Kanematsu T. // Surg. Today. – 2009. – Vol. 39, N 1. – P. 1–4.
8. Gaia S., Smedile A., Omede P. et al. // J. Hepatol. – 2006. – Vol. 45, N 1. – P. 13–19.
9. Lemoli R. M., Catani L., Talarico S. et al. // Stem Cells. – 2006. – 24, N 12. – P. 2817–2825.
10. Sutherland D. R., Keating A. // J. Hematother. – 1992. – Vol. 1, N 2. – P. 115–129.
11. Zhao Y., Glesne D., Huberman E. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 5. – P. 2426–2431.

Поступила 20.12.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.155.194.17-055.5/7-074

Ю. А. Прохорова¹, Е. Е. Зуева², Н. Е. Соколова³

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ В ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННОГО СФЕРОЦИТОЗА (ТЕСТ НА СВЯЗЫВАНИЕ ЭОЗИН-5 МАЛЕИМИДА)

¹Санкт-Петербургский государственный университет; ²лаборатория клинической иммунологии и молекулярной диагностики Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова; ³ДГБ № 1, Санкт-Петербург

Предложенный в 2000 г. метод связывания флуоресцентного красителя эозин-5 малеимида (э5м) с лизин-430 первой внеклеточной петли белка полосы 3 мембран эритроцитов позволяет выявлять дефекты цитоскелета эритроцитов как биологическую основу патогенеза наследственного сфероцитоза. Исследованы образцы периферической крови 125 взрослых и 18 детей с доказанным отсутствием гематологических нарушений, а также образцы периферической крови 19 пациентов с верифицированным наследственным сфероцитозом. Методом проточной цитометрии проведена регистрация средней интенсивности флуоресценции э5м (СИФ). Снижение СИФ э5м эритроцитов больных НС по сравнению с данными в группах сопоставления отмечено во всех случаях.

Ключевые слова: наследственный сфероцитоз, цитоскелет эритроцитов, проточная цитометрия, средняя интенсивность флуоресценции, эозин-5 малеимид

Yu. A. Prokhorova, Ye. Ye. Zuyeva, N. Ye. Sokolova

THE APPLICATION OF METHOD OF FLOW CYTOMETRY IN DIAGNOSTICS OF HEREDITARY SPHEROCYTOSIS (EOSIN-5 MALEIMID BINDING TEST)

The technique of binding eosin-5 maleimid fluorescent dye with lysine-430 of first extracellular protein bulge of band 3 of erythrocytes' membranes makes it possible to detect the defects of cytoskeleton of erythrocytes as a biological foundation of pathogenesis of hereditary spherocytosis. The samples of peripheral blood from 125 adult persons and 18 children with established absence of hematologic disorders were analyzed. The samples of peripheral blood from 19 patients with verified hereditary spherocytosis were analyzed too. The method of flow cytometry was applied to register the average intensity of fluorescence of eosin-5 maleimid. The decrease of average intensity of fluorescence of eosin-5 maleimid of erythrocytes of patients with hereditary spherocytosis as compared with data from comparison groups was established in all cases.

Key words: hereditary spherocytosis, cytoskeleton of erythrocytes, flow cytometry, average intensity of fluorescence, eosin-5 maleimid

Для корреспонденции:

Прохорова Юлия Александровна, аспирант каф. цитологии и гистологии

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8

Телефон: 8-921-866-63-73

E-mail: immunology.spbgmu@gmail.ru

Традиционные методы лабораторной диагностики мембранопатий эритроцитов – тест на осмотическую хрупкость и морфологический анализ – не всегда информативны, требуют много времени и по меньшей мере 2 мл периферической крови для исследования, что затрудняет диагностику у новорожденных.

Предложенный в 2000 г. метод связывания эозин-5 малеимида (э5м) с лизином-430 первой внеклеточной петли белка полосы 3 мембран эритроцитов интересен как способ выявления дефектов цитоскелета эритроцитов. Для внедрения теста на связывание э5м в клиническую практику проведено его апробирование. В ходе пилотного исследования образцы периферической крови 125 взрослых и 18 детей с доказанным отсутствием гематологических нарушений и 19 пациентов с верифицированным наследственным сфероцитозом (НС) инкубировали с эозин-5 малеимидом. Регистрация средней интенсивности флюоресценции (СИФ) проведена методом проточной цитометрии. Снижение СИФ э5м эритроцитов больных НС по сравнению с СИФ э5м в группах сопоставления отмечено во всех случаях. Описанная методика является высокочувствительным и специфичным диагностическим тестом для выявления НС, результаты которого доступны через 2 ч после получения биологического материала.

Наследственный сфероцитоз – одна из самых распространенных мембранопатий эритроцитов в странах Северной Европы и Америки, где частота заболевания составляет 1 случай на 2000 взрослого населения [5–12]. Зафиксированы случаи НС и в Японии, реже – среди афроамериканского и южноазиатского населения. Биологической основой патогенеза НС являются нарушения в структуре цитоскелета мембран эритроцитов.

В течение жизни в процессе циркуляции в кровяном русле эритроцит проходит через узкие капилляры в среднем 100 000 раз. В норме высокая прочность и эластичность красных кровяных телец обеспечена сетью ассоциированного с мембраной цитоскелета [3, 5].

Цитоскелет эритроцита представляет собой белковую сеть, образованную спектрином, анкирином и белком полосы 4.1, расположенную с внутриклеточной стороны мембраны и прочно закорененную в ней вертикальными связями (рис. 1). Принципиально важное звено в образовании вертикальных связей цитоскелета – интегральный белок полосы 3, молекула которого состоит из трех неравнозначных доменов. N-терминальный цитоплазматический домен связан с периферическими мембранными и цитоплазматическими белками, такими как анкирин, белок полосы 4.2, гемоглобин. Гидрофобный трансмембранный домен формирует комплекс с другими интегральными протеинами, такими как RH-ассоциированные белки. С-терминальный домен имеет участок для связывания карбоангидразы II. Другая точка закоренения цитоскелета в липидном бислое мембраны – гликофорин С, взаимодействующий с белком полосы 4.1. Глико-

форин А также частично ассоциирован с белком полосы 3.

НС – гемолитическая анемия, при которой красные кровяные тельца утрачивают характерную морфологию: в мазках крови наряду с нормальными двояковогнутыми эритроцитами у больных НС часто присутствуют видоизмененные сферические клетки – сфероциты, возрастает соотношение клеточной поверхности к объему эритроцита [8]. Причина морфологических изменений эритроцитов состоит в ослаблении вертикальных связей цитоскелета.

Молекулярные дефекты, ведущие к изменениям в структуре цитоскелета при НС, гетерогенны:

- в ряде случаев имеет место частичный дефект α -спектрина (рецессивно-наследуемый НС: мутация локализуется в области α -спектрина);
- доминантно-наследуемый НС: мутация локализуется в конверсируемой области β -спектрина;
- комбинированный дефект спектрина и анкирина (потеря или снижение экспрессии генов анкирина или пропорциональное снижение содержания спектрина) – наиболее распространенный вариант, который обнаруживают в 40–65% случаев НС в североевропейской популяции;
- частичный дефект цепи протеина 3 (доминантно-наследуемое заболевание);
- дефицит протеина 4.2 и другие дефекты [4].

В 75% случаев НС наследуется по аутосомно-доминантному типу, в 25% причина возникновения болезни – спонтанные мутации [1].

При НС изменение морфологии эритроцитов происходит в процессе их прохождения через селезенку: макрофаги селезенки повреждают клетки с ослабленным цитоскелетом, что ведет к утрате части мембраны и преобразованию двояковогнутых эритроцитов в сферические клетки, которые быстро погибают. Жизнь сфероцитов длится всего 14–20 дней, тогда как нормальные эритроциты циркулируют в кровотоке до 120 дней. В результате постоянной повышенной нагрузки на селезенку у 99% пациентов с НС развивается спленомегалия. Спленэктомия у пациентов с НС существенно увеличивает срок жизни эритроцитов и нормализует уровень гемоглобина [13]. В то же время удаление селезенки влечет за собой целый комплекс негативных клинических проявлений (прежде всего иммунологических и тромбозоболочических), получивший название синдрома постспленэктомического гипоспленизма. Пациенты, перенесшие спленэктомию, подвержены повышенному риску развития сепсиса, связанному с уменьшением пула CD27⁺ IgM⁺, IgD⁺ В-клеток памяти. Риск сепсиса особенно высок в первые 2 года после операции, но вероятность развития

этого состояния сохраняется в течение всей жизни пациента [18]. Верификацию диагноза НС при наличии заболевания в семейном анамнезе и клинических проявлений у пациента проводят с помощью традиционных диагностических тестов – оценки осмотической хрупкости эритроцитов и определения в мазке крови морфологически различных типов эритроцитов с учетом показателей клинического анализа крови. Характерным признаком НС является снижение минимальной осмотической резистентности эритроцитов. В норме эритроциты сохраняют свою форму в гипоосмолярном растворе NaCl (0,44–0,48% NaCl), при НС гемолиз начинается при 0,6–0,7% NaCl. Для подтверждения диагноза важно значительное понижение минимальной осмотической резистентности. Диагностическая информативность теста на осмотическую стойкость не абсолютная, так как среди больных НС встречаются лица, у которых, несмотря на явный

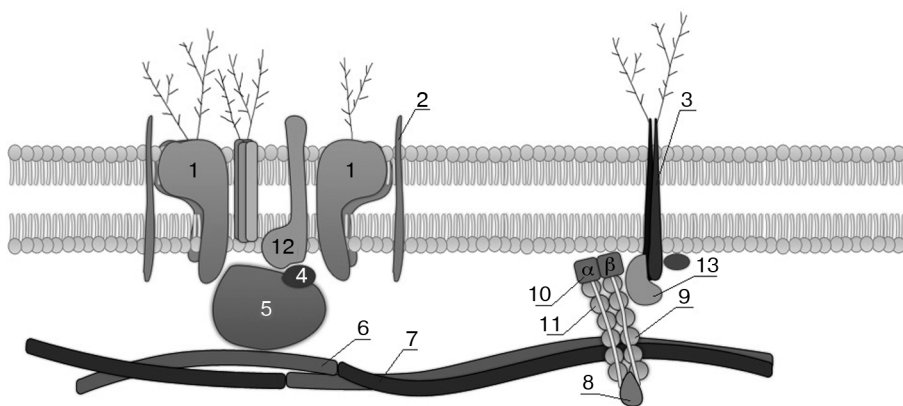


Рис. 1. Мембрана эритроцита. Вертикальные и горизонтальные связи между белками цитоскелета. Расположение белков относительно друг друга соответствует действительности, но белки и липиды изображены без соблюдения масштаба.

1 – белок полосы 3; 2 – гликофорин А, 3 – гликофорин С, 4 – белок полосы 4.2; 5 – анкирин; 6 – α -спектрин; 7 – β -спектрин; 8 – тропомодулин; 9 – актиновый протофиламент; 10 – аддуцин; 11 – тропомиозин; 12 – CD47; 13 – белок полосы 4.1.

сфероцитоз, осмотическая стойкость эритроцитов сохранена. У некоторых больных НС показатель минимальной осмотической резистентности может возрастать лишь после инкубации образца крови при 37°C в течение 24 ч [7]. Результаты пробы на осмотическую хрупкость могут быть ложноположительными у беременных женщин, при патологии почек и некоторых других состояниях [15]. В таких случаях необходимо повторить исследование после предварительной суточной инкубации эритроцитов. Таким образом, метод определения осмотической резистентности эритроцитов недостаточно чувствителен для верификации заболевания, труден для стандартизации и не обеспечен необходимым контрольным материалом.

В 20–30% случаев НС протекает бессимптомно со средней степенью спленомегалии, легким ретикулоцитозом, без выраженной анемии, продукция эритроцитов эквивалентна их убыли в результате гемолиза, что значительно затрудняет диагностику. У детей первого года жизни диагностика сфероцитоза затруднена в силу возрастных особенностей гемопоэза (возрастной макроцитоз). Изменения расчетных показателей клинического анализа крови – среднего содержания гемоглобина в эритроците (МНС), среднего объема эритроцитов (MCV), средней концентрации гемоглобина в эритроците (MHCN) – неспецифичны для НС. Ретикулоцитоз отмечают практически в 99% случаев.

Генетический анализ как способ верификации НС у пациентов без наследственной истории не применим, поскольку мутации, определяющие заболевание, уникальны. Метод проточной цитофлуориметрии относят к «золотым стандартам» клинической лабораторной диагностики, тем не менее проточную цитометрию не применяют рутинно в верификации мембранопатий эритроцитов. Метод связывания эозин-5 малеимида с белками цитоскелета эритроцитов позволяет выявлять дефекты цитоскелета мембраны эритроцита в разных возрастных группах, в том числе у новорожденных [14]. Белок полосы 3, с которым связывается основная масса молекул эозин-5 малеимида, Cl/HCO₃ транспортер и наиболее распространенный белок в составе мембран эритроцитов, тесно связан со спектральной сетью, которая формирует гибкий цитоскелет эритроцитов [8].

Материалы и методы. В исследование включены 19 пациентов с подтвержденным диагнозом НС: дети обоих полов в возрасте от 4 мес до 14 лет, в том числе 5 детей первого года жизни, и 3 взрослых мужчин, перенесших спленэктомию. Верификация диагноза была проведена на основе клинических проявлений, семейного анамнеза, исследования мазков крови, клинического анализа крови и теста на осмотическую хрупкость эритроцитов. Для сопоставления в исследование включены 2 группы пациентов с доказанным отсутствием гематологических заболеваний: 125 взрослых (мужчины и женщины в возрасте от 21 до 74 лет; медиана 46 лет) и 18 детей (возраст от 3 мес до 17 лет), в том числе 4 ребенка первого года жизни.

Периферическую венозную кровь забирали в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Клеточным маркером в исследовании были мембранные белки эритроцитов (белок полосы 3, спектрин, анкирин, белок полосы 4.2). Для выявления сохранности эритроцитарного цитоскелета применяли краситель эозин-5 малеимид (eosin-5 maleimide, "Sigma", США), который ковалентно связывается с лизином-430 белка полосы 3 в составе мембран эритроцитов. Подготовка образцов крови к исследованию включала отмывку эритроцитов в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) с рН 7,0 при 1000 об/мин, инкубирование с красителем э5м в темноте при комнатной температуре в течение 60 мин, отмывку от несвязавшегося красителя ФСБ с рН 7,0 при 1000 об/мин в течение 10 мин и удаление надосадка. В каждой аналитической серии СИФ э5м пациента с подозрением на НС сопоставляли с аналогичным показателем у 6 человек с доказанным отсутствием гематологических заболеваний. Сбор данных проведен на проточном цитометре FC500 (Beckman Coulter). Анализ СИФ э5м выполняли с использованием про-

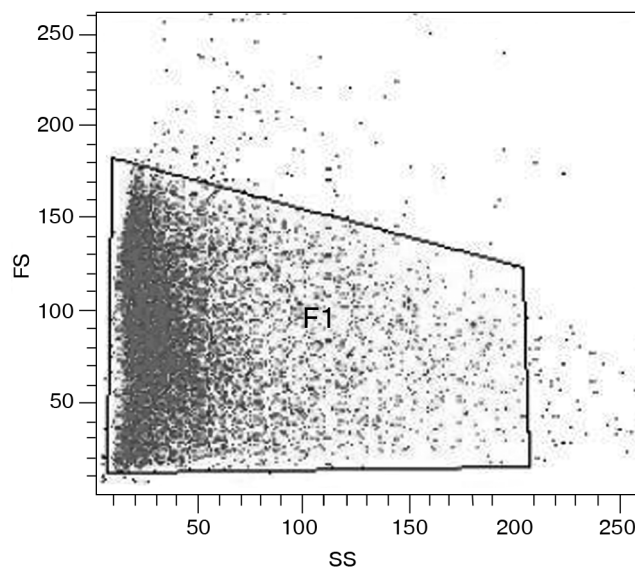


Рис. 2. Гейтирование эритроцитов для определения параметра СИФ э5м.

граммы CXAnalysis (Beckman Coulter) по данным 10 000 эритроцитов, гейтированных по параметрам светорассеяния (рис. 2). Для оценки нормальности выборок, непараметрического анализа, построения графиков описательной статистики использовали программу Statistica (версия 7.0 для Windows). ROC-анализ выполнен с помощью программы MedCalc (версия 7.4.4.1 для Windows).

Результаты и обсуждение. Получены данные по СИФ э5м эритроцитов пациентов с верифицированным диагнозом НС и групп сопоставления (рис. 3).

Интенсивность экспрессии э5м группы сопоставления обозначена серым цветом, больных НС – черным.

Интенсивность флуоресценции э5м образцов крови больных НС составила $20,2 \pm 1,2$ усл. ед. Исключением стал результат, полученный для образцов крови двух взрослых пациентов с НС, которым была проведена спленэктомия, – 25 и 25,9 усл. ед. флуоресценции. СИФ э5м обеих групп сопоставления (взрослые и дети) была практически одинаковой

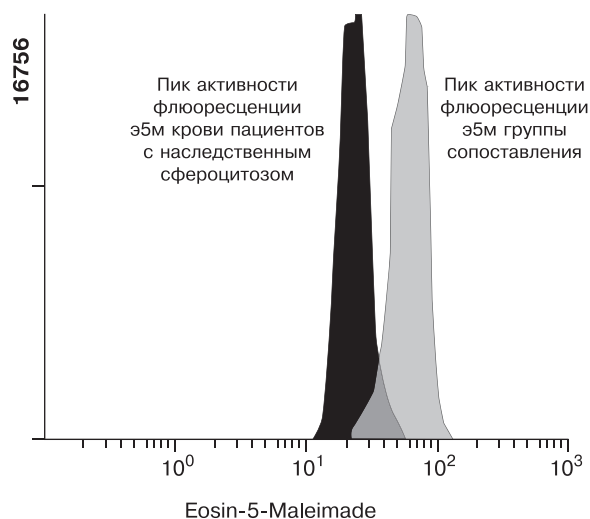


Рис. 3. Гистограмма интенсивности флуоресценции э5м эритроцитов больных НС и группы сопоставления.

Интенсивность экспрессии э5м группы сопоставления обозначена серым цветом, больных НС – черным.

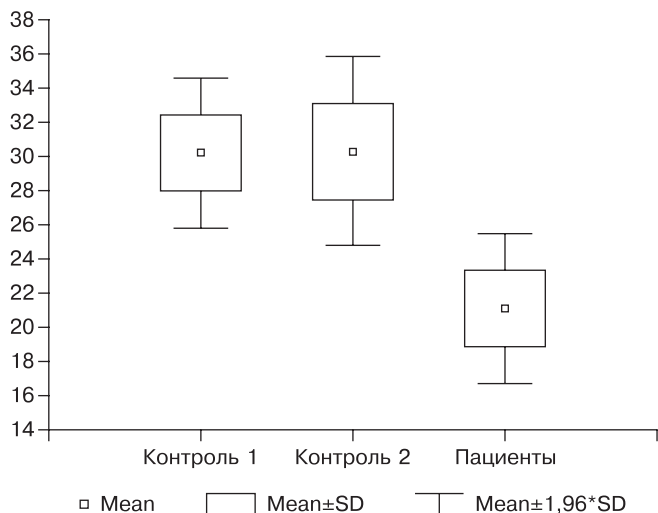


Рис. 4. СИФ э5м больных НС и групп сопоставления. Группа сопоставления взрослого возраста – контроль 1, группа сопоставления детского возраста – контроль 2.

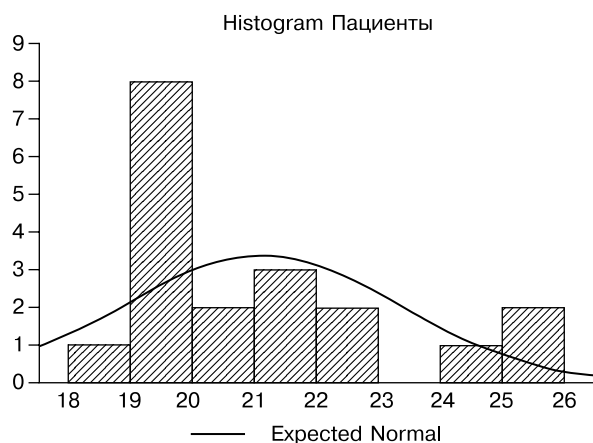


Рис. 5. Распределение выборки пациентов с наследственным сфероцитозом по СИФ э5м, гауссова кривая.

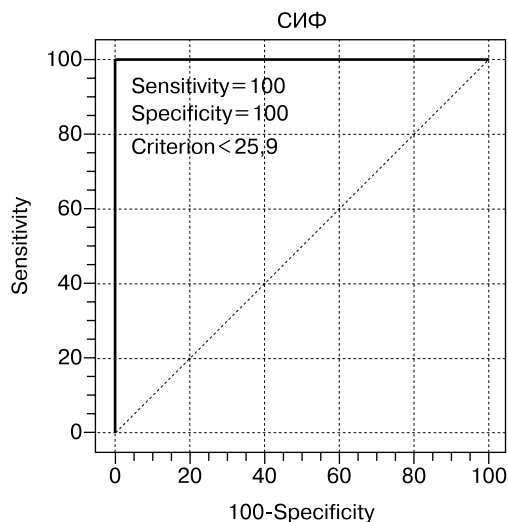


Рис. 6. ROC – кривая для определения специфичности и чувствительности теста на связывание э5м.

и составила 31 ± 4 усл. ед. (рис. 4). Достоверные различия между группами сопоставления по критерию Манна–Уитни не выявлены ($U = 476, z = 0,75, p = 0,45$). С практической точки зрения это означает, что для сопоставления допустимо использование крови доноров с доказанным отсутствием гематологических отклонений независимо от их возраста.

При статистическом анализе обнаружено, что распределение по Гауссу выборки пациентов с НС не соответствует нормальному (рис. 5). Для оценки достоверности различий СИФ э5м больных НС ($n = 19$) и группы сопоставления ($n = 125$) использовали непараметрический критерий Манна–Уитни: $U = 0, z = 7,00, p < 0,05$, различия достоверны. При построении ROC-кривой оптимальная точка отсечки показателя СИФ э5м составила 25,9 ед. флуоресценции, площадь под кривой = 1 (рис. 6). ROC-кривая показывает зависимость количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров.

По результатам исследования специфичность теста на связывание э5м составила 100%, чувствительность – 100%. Высокий уровень специфичности и чувствительности в нашем исследовании, вероятно, связан с однородностью группы больных НС. Не исключено, что расширение группы пациентов за счет пациентов с менее четкой клинической картиной приведет к изменению значений специфичности и чувствительности.

Наследственный сфероцитоз – заболевание, обусловленное дефектом белков мембраны эритроцитов, приобретающих сферическую форму с последующим их разрушением макрофагами селезенки. Болезнь широко распространена в Европе, в меньшей степени – на Африканском континенте, в Японии и других странах, нередко встречается в России. Поскольку НС обусловлен генетическими изменениями, клинические проявления болезни наблюдают у пациентов любого возраста, включая самый ранний. К морфологическим особенностям эритроцитов при НС относятся вид в форме шара (сфероциты), уменьшение диаметра (средний диаметр менее 6,4 мкм), увеличение толщины (2,5–3 мкм при норме 1,9–2,1 мкм) при обычно нормальном среднем объеме эритроцитов. Содержание гемоглобина в эритроцитах находится в пределах физиологической нормы или несколько выше. Диагностика НС с учетом клинических проявлений (спленомегалия, анемия и т. д.), семейного анамнеза и наличия характерных изменений морфологии эритроцитов в мазках крови пациентов не представляет сложностей. Тем не менее указанные методы обладают невысокой специфичностью и чувствительностью для данной формы гемолитической анемии. В результате нередки случаи, когда верификация этого диагноза затруднена (дети в возрасте до 1 года, пациенты без семейной истории болезни и др.).

Эозин-5 малеимид используют в качестве флуоресцентного красителя для мембранных белков, поскольку 75–95% его количества связывается с лизином-430 первой внеклеточной петли белка полосы 3 и лишь незначительная часть связывается с CD47, RH-ассоциированными белками. Снижение уровня экспрессии э5м на эритроцитах пациентов с НС отражает дефицит мембранных белков, включая белок полосы 3, спектрин и белок полосы 4.2 [15].

Проведенное в 2000 г. исследование связывания мембранных белков эритроцитов с эозин-5 малеимидом показало, что у 96 пациентов с НС СИФ э5м составила 28,6–50,4 ед. флуоресценции в сравнении со взрослой группой контроля ($n = 180$ человек), в которой этот параметр имел значения от 47,5 до 60,3 ед. флуоресценции [13]. Выявлено значительное снижение интенсивности флуоресценции э5м при наследственном пиропойкилоцитозе ($n = 5$, СИФ э5м ≤ 30 усл. ед.) [17].

В исследовании К. Tachavanich и соавт. [24] СИФ э5м пациентов с НС варьировала от 46 до 91 усл. ед. флуоресценции, тогда как в группе контроля она составляла 99,2–139,6 усл. ед., т. е. имело место снижение СИФ э5м у больных НС

при сопоставлении с СИФ э5м группы контроля в среднем на 42,5%. У пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией (5 пациентов), β-талассемией (66 пациентов), α-талассемией (33 пациента) результаты СИФ э5м не отличались от таковых в группе контроля.

Опыт применения метода связывания э5м в Индии на 114 образцах периферической крови, включая 20 образцов крови пациентов с верифицированным диагнозом НС, 20 – здоровых доноров, 20 – пациентов с подозрением на НС, 20 – пациентов с другими гемолитическими анемиями, 18 – с микроцитозом и 16 – с макроцитозом подтвердил различия между здоровыми людьми (негативный контроль, СИФ э5м = 11 861,5 усл. ед.) и больными НС (СИФ э5м = 7949,3) [9].

Выявленное снижение показателя СИФ э5м эритроцитов у пациентов с НС в Санкт-Петербурге (в среднем на 34,8% относительно СИФ э5м в группе сопоставления) не противоречит результатам предшествовавших исследований.

Во всех перечисленных исследованиях были использованы проточные цитометры от различных производителей, тем не менее процентное снижение СИФ э5м эритроцитов пациентов с НС относительно СИФ э5м в группе контроля прослеживается во всех исследованиях и составляет 32–37% [10, 14, 16, 17, 19–27].

Для стандартизации оценки результатов исследования СИФ э5м в нашей лаборатории введен коэффициент S:

$$S = \frac{\text{СИФ э5м пациента}}{\text{СИФ э5м 6 образцов группы контроля/6}}$$

Установлена точка отсечки по значению расчетного коэффициента S здоровых людей: $S \geq 0,8$.

При исследовании эритроцитов взрослых пациентов, которым ранее была проведена спленэктомия, у двоих отмечен более высокий показатель СИФ э5м (25 и 25,9 усл. ед., снижение на 19,5% относительно группы контроля) по сравнению с показателем других пациентов с НС [2]. Довольно высокий показатель СИФ э5м в данных случаях, вероятно, объясняется тем, что генетически обусловленный дефицит мембранных белков у пациентов не усугублялся повреждающим воздействием селезенки на эритроциты вследствие проведенной спленэктомии.

Высокотехнологичный метод проточной цитометрии позволяет выявлять сохранность структуры цитоскелета эритроцитов, открывает новое направление диагностических исследований.

Сложности обсуждаемого диагностического подхода носят в основном организационный характер:

- краситель э5м неустойчив в разведенном виде, раствор требует хранения при -70°C ;

- необходимо использовать 6 контрольных образцов для формирования группы сопоставления при оценке каждого образца крови, направленного на исследование в связи с подозрением на НС;

- отсутствуют контрольный материал и программы внешней оценки качества.

Несомненными достоинствами нового диагностического подхода являются:

- возможность выявления дефекта мембраны эритроцитов при диагностике НС у детей в возрасте до 1 года;

- возможность диагностики НС у пациентов без семейного анамнеза;

- высокая специфичность и чувствительность теста.

Результаты проточной цитометрии эритроцитов, окрашенных э5м, свидетельствуют о потенциально широких

возможностях применения метода связывания э5м мембранными белками эритроцитов для уточнения диагноза НС. Согласно нашим данным, в качестве образцов для группы сопоставления при выполнении каждого анализа можно рекомендовать использование периферической крови взрослых пациентов, направленной на рутинные гематологические исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусева С. А., Вознюк В. П., Дубкова А. Г. // Анемия: принципы диагностики и лечения / Под ред. С. А. Гусевой. – Киев, 1999. – С. 74–75.
2. Прохорова Ю. А., Зуева Е. Е., Соколова Н. Е. // Сборник материалов Межрегиональной науч.-практ. конф.: «Диагностика и лечение анемий в XXI веке». – Рязань, 2011. – С. 13.
3. Радченко В. Г. Основы клинической гематологии. – СПб., 2003.
4. Agre P., Orringer E. P., Bennett V. // N. Engl. J. Med. – 1982. – Vol. 306. – P. 1155–1161.
5. An X., Mohandas N. // Br. J. Haematol. – 2008. – Vol. 141. – P. 367–375.
6. Cobb C. E., Beth A. H. // Biochemistry. – 1990. – Vol. 29. – P. 8283–8290.
7. Discher D. E., Carl P. // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2001. – Vol. 6. – P. 593–606.
8. Doherty G. J., McMahon H. T. // Annu. Rev. Biophys. – 2008. – Vol. 37. – P. 73.
9. Gallagher P. I., Lux S. // Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood / Eds D. Nathan, S. Orkin. – Philadelphia, 2003. – P. 560–684.
10. Girodon F., Cagron L., Bergion E. // Br. J. Haematol. – 2008. – Vol. 140. – P. 468–470.
11. Kar R., Mishra P., Pati H. P. // Int. J. Lab. Hematol. – 2010. – Vol. 32. – P. 8–16.
12. Kedar P. S., Colah R. B., Kulkarni S. et al. // Clin. Lab. Haematol. – 2003. – Vol. 25. – P. 373–376.
13. Kern W. F. PDQ hematology, PMPH USA. Hereditary spherocytosis. – 2002. – P. 110.
14. King M. J., Behrens J., Rogers C. et al. // Br. J. Haematol. – 2000. – Vol. 111. – P. 924–933.
15. King M. J., Smythe J. S., Mushens R. // Br. J. Haematol. – 2004. – Vol. 124. – P. 106–113.
16. King M. J., Telfer P., MacKinnon H. et al. // Cytometry B. – 2008. – Vol. 74B. – P. 244–250.
17. King M. J., Jepsen M. A., Guest A., Mushens R. // Int. J. Lab. Hematol. – 2011. – Vol. 33. – P. 205–211.
18. Masini L., Dall'Asta A., Illariuci F. et al. // Haematologica. – 1999. – Vol. 84. – P. 278–279.
19. Pajor A., Lehoczy D., Szakacs Z. // Arch. Gynecol. Obstet. – 1993. – Vol. 253. – P. 37–42.
20. Pinto L., Iolascon A., Miraglia del Giudice E. et al. // Int. J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 1995. – Vol. 2. – P. 43–47.
21. Premetis E., Stamoulakatou A., Loukopoulos D. // Hematology. – 1999. – Vol. 4. – P. 361–366.
22. Sanchez-Lopez J. Y., Camacho A. L., Magano M. T. et al. // Blood Cell. Mol. Dis. – 2003. – Vol. 31. – P. 357–359.
23. Schofield A. E., Tanner M. J. A., Pinder J. C. et al. // J. Mol. Biol. – 1992. – Vol. 223. – P. 949–958.
24. Tachavanich K., Tanphaichitr V. S., Utto W., Vaprakassit V. // South. Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth. – 2009. – Vol. 40, N 3.
25. Ricard M. P., Gilsanz F., Millan I. // Haematologica. – 2000. – Vol. 85. – P. 994–995.
26. Stoya G., Gruhn B., Vogelsang H. et al. // Acta Haematol. – 2006. – Vol. 116. – P. 186–191.
27. Yawata Y., Kanzaki A., Yawata A. et al. // Int. J. Hematol. – 2000. – Vol. 71. – P. 118–135.

Поступила 20.12.11