

УДК: 616.155.194.7:[616.411:612.42]-07

Н. С. Федоровская<sup>1</sup>, Д. А. Дьяконов<sup>1</sup>, В. Б. Зайцев<sup>2</sup>, Н. Л. Кочетов<sup>1</sup>,  
В. А. Росин<sup>1</sup>, Е. А. Перфилова<sup>1</sup>

## АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ В СЕЛЕЗЕНКЕ У БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

<sup>1</sup> Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства, г. Киров, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Кировская государственная медицинская академия, г. Киров, Российская Федерация

N. S. Fedorovskaya<sup>1</sup>, D. A. Diakonov<sup>1</sup>, V. B. Zaitsev<sup>2</sup>,  
N. L. Kochetov<sup>1</sup>, V. A. Rosin<sup>1</sup>, E. A. Perfilova<sup>1</sup>

## ANALIS OF DISTRIBUTION ARE B-LYMPHOCYTES SPLEEN IN APLASTIC ANEMIA PATIENTS

<sup>1</sup> Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency, Kirov, Russian Federation;

<sup>2</sup> Kirov State Medical Academy, Kirov, Russian Federation

**Резюме.** Целью настоящей работы явилось изучение распределения В-лимфоцитов в селезенке у больных апластической анемией в зависимости от тяжести заболевания и продолжительности патологического процесса до спленэктомии. Анализ В-клеток был проведен у 33 пациентов. В результате исследования было установлено увеличение количества экспрессирующих CD20+ и CD79α+ лимфоидных элементов в гистологических срезах селезенки у лиц с аплазией кроветворения не зависимо от тяжести болезни. Причем, повышение содержания В-лимфоидной популяции было более выражено в красной пульпе органа. Кроме того, выявлено, что показатели уровня CD20+ положительных клеток зависели от сроков выполнения спленэктомии. **Результаты** исследования дополняют представление о гистологических изменениях селезенки при АА.

**Ключевые слова:** апластическая анемия, иммуногистохимия, В-лимфоциты, селезенка

**Abstract.** *The aim of this work* is research of B-lymphocytes distribution in spleen apalastic anemia patients depending on the severe and pathological process during before splenectomy. Analysis B-cells performed to 33 patients. In results of researching was found increase quantity of CD20+ и CD79α+ expressing lymphoid elements in histological section of spleen in bone marrow aplasia patients independent from disease severe. The increasing of content B-lymphocytes population was more expressed in red pulp organ. Besides found, what CD20+ positive cells level are depended from deadline of splenectomy. **Results** from this study are supplement performance about histological spleen changes in aplastic anemia.

**Keywords:** aplastic anemia, immunohistochemistry, B-lymphocytes, spleen

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:  
Федоровская Надежда Станиславовна  
fednadst@mail.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:  
Nadejda S. Fedorovskaya  
fednadst@mail.ru

Дата поступления 12.01.2017

Received 12.01.2017

Образец цитирования:  
Федоровская Н.С., Дьяконов Д.А., Зайцев В.Б., Кочетов Н.Л., Росин В.А., Перфилова Е.А. Анализ распределения В-лимфоцитов в селезенке у больных апластической анемией. Вестник уральской медицинской академической науки. 2017, Том 14, №1, с. 62–66, DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-1-62-66

For citation:  
Fedorovskaya N.S., Diakonov D.A., Zaitsev V.B., Kochetov N.L., Rosin V.A., Perfilova E.A. Analis of distribution are B-lymphocytes spleen in aplastic anemia patients. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. Journal of Ural Medical Academic Science. 2017, Vol. 14, no. 1, pp. 62–66. DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-1-62-66 [In Russ.]

Апластическая анемия (АА) является тяжелым заболеванием системы крови и характеризуется синдромом костномозговой недостаточности. Глубокая трехростковая панцитопения развивается в результате угнетения кроветворения вследствие иммунной агрессии, направленной на клетки-предшественники гемопоэза [1, 2, 3].

Одним из важных звеньев патогенеза заболевания является дисрегуляция Т- и В-клеточной системы иммунитета. Интерес к иммуно-опосредованным процессам при АА обусловлен, прежде всего, тем, что клетки иммунной системы продуцируют цитокины и гемопоэтические факторы, оказывающие как положительное, так и отрицательное влияние на гемопоэз [3, 4, 5].

Работы последних лет направлены на оценку состояния Т-клеточного звена иммунитета у пациентов с АА [1, 3, 6]. В результате исследований было установлено, что сверхвысокая продукция основных негативных регуляторов гемопоэза (интерферона  $\gamma$ , фактора некроза опухолей  $\alpha$ , ИЛ2 и др.), вызванная активированными Т-клетками, способствует цитокин-опосредованной иммуносупрессии и последующему развитию депрессии кроветворения [4, 5].

Вопрос о роли脾эктомии в лечении АА в литературе обсуждается давно и мнения авторов противоречивы. Эффективность хирургического вмешательства, возможно, предопределена удалением большой массы активированных клеток, ответственных за выработку негативных регуляторов гемопоэза [2]. Перераспределение Т-клеточного состава в функциональных зонах селезенки, увеличение содержания Т-лимфоцитов (CD3+), обусловленное повышением количества CD8+ цитотоксических лимфоцитов в красной пульпе, было выявлено у всех пациентов АА вне зависимости от тяжести заболевания [6, 7].

Вместе с тем, имеются сведения о механизмах участия цитокинов в процессах миграции В-лимфоцитов в селезенке при аутоиммунных заболеваниях [8, 9, 10, 11, 12]. Однако исследований состояния В-клеточного звена в этом иммунном органе при АА, в литературе недостаточно. Следовательно, для более полного понимания роли селезенки в патогенезе заболевания целесообразно изучение ее популяционного состава в гистологических срезах лимфоидного органа с применением современных методов, таких как иммуногистохимия [7].

Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение распределения В-лимфоцитов в селезенке у больных АА в зависимости от тяжести заболевания и продолжительности патологического процесса до脾эктомии.

Проведен анализ В-клеток у 33 больных АА, которые находились на лечении в гематологической клинике Кировского НИИ гематологии и переливания крови за период 1992–2015 гг. Медиана возраста пациентов на момент установления диагноза составила 31 год. Количество лиц мужского пола было в 2 раза больше, чем женского (22 против 11 соответственно). Диагноз и тяжесть АА устанавливали на основании

общепринятых критериев [1, 3]: нетяжелую степень АА (НАА) диагностировали при гранулоцитопении  $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , тяжелую (сверхтяжелую) АА (ТАА) определяли по наличию в периферической крови гранулоцитопении  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$  и тромбоцитопении  $< 20 \times 10^9/\text{л}$ .

Из 33 обследуемых у 13 больных (39,4%) была установлена НАА и у 20 (60,6%) – ТАА. В зависимости от длительности предоперационного периода все больные были разделены на две группы: с продолжительностью от начала заболевания до脾эктомии 2 месяца (1 группа,  $n=23$ ) и более 2 месяцев (2 группа,  $n=10$ ). Все больные до удаления селезенки получали глюкокортикоидные гормоны в дозе 1 мг/кг массы тела. Сравнительный анализ проводили с образцами селезенки (судебно-медицинские вскрытия), взятыми от 20 лиц, скончавшихся скоропостижно и не имевших в анамнезе заболеваний системы крови. Медиана возраста составила 45 лет. Мужчин было 12, женщин — 8.

Исследования материала проводились на парафиновых гистологических срезах толщиной 3–5 мкм по стандартной методике окраски: гематоксилином и эозином. Для идентификации В-лимфоцитов селезенки использовали иммуногистохимический метод окрашивания по стандартной методике с использованием первичных антител CD20 (клон L26) и CD79 $\alpha$  (клон JCB117) фирмы “Dako” (Дания), а также систему визуализации EnVISION, PEROXIDASE (DAB+) фирмы “Dako” (Дания).

Морфометрическую оценку количества В-клеток выполняли с помощью светового микроскопа и программного обеспечения анализа изображений ImageScope Color, версии М с окуляром  $\times 10$ , при объективе  $\times 100$ . Исследования проводили в 20 полях зрения для каждого образца. Для статистической обработки результатов применялась программа SPSS for Windows Version 19.0. Достоверность различий между показателями в сравниваемых группах оценивали с использованием непараметрических двусторонних критериев Краскела-Уоллеса, Манна-Уитни и учетом поправки Бонферони при множественных сравнениях. Различия считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ . Результаты исследований представлены с указанием медианы, а также нижнего (25%) и верхнего (75%) квартилей для каждой группы.

При обзорном просмотре гистоархитектоники селезенки больных АА установлено, что площадь белой пульпы не отличалась от нормальных значений вне зависимости от степени тяжести заболевания и сроков выполнения脾эктомии. Сохранившиеся фолликулы состояли, в основном из лимфоцитов, герминативные центры чаще всего отсутствовали, бласттрансформированные клетки — единичные. Красная пульпа была полнокровна, отмечались скопления глобук гемосидерина. В клеточном составе определялись преимущественно лимфоциты, гистиоциты, небольшое количество эозинофилов, плазмочитов.

При иммуногистохимическом окрашивании гистологических срезов было отмечено, что В-лимфоидная популяция превалировала в белой пульпе селезенки как у больных АА, так и в группе сравнения. При-

чем, большее количество этих клеток было выявлено в лимфоидных узелках, меньшая их доля локализовалась в маргинальной зоне. В красной пульпе исследуемые клетки обнаруживались в большем количестве, по отношению к группе сравнения (рисунок 1).

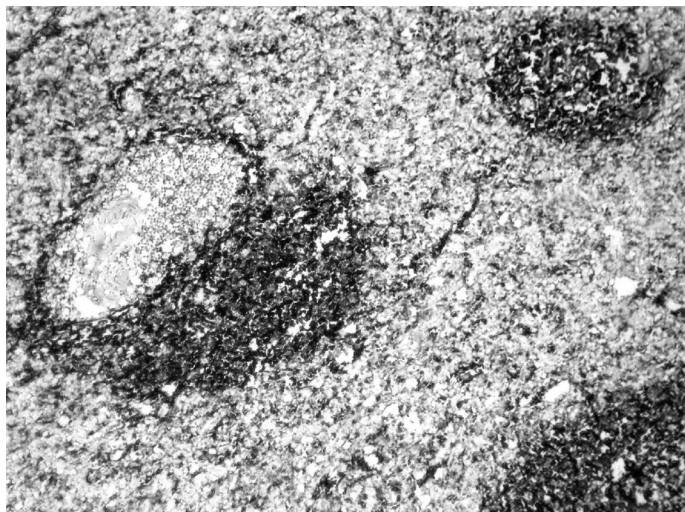


Рисунок 1. Селезенка (больная Т., 38 лет, диагноз: апластическая анемия). Распределение В-лимфоцитов (CD20+) в белой и красной пульпе. Окраска CD20. Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 10$

Figure 1. Spleen (patient T., 38 year, diagnose: aplastic anemia). Distribution of B-lymphocytes (CD20+) in white and red pulp. CD20 stained section. Low-power ( $\times 100$ ) field

Таблица 1

Содержание популяции В-лимфоцитов в селезенке  
Table 1

Content of B-cells population in spleen

Группы исследованных	CD20+, %	CD79 $\alpha$ +, %
Группа сравнения (n = 20)	8,7 (6,5; 14,8)	14,1 (10,2; 18,3)
Все пациенты с АА (n = 33)	20,1* (15,9; 25,1)	23,7* (19,1; 27,3)
НАА (n = 13)	18,7* (13,7; 24,4)	22,0* (17,7; 27,8)
ТАА (n = 20)	21,7* (15,9; 26,0)	22,8* (18,1; 28,9)
1 группа (n = 23)	22,4* (19,9; 26,1)	26,7* (20,9; 29,0)
2 группа (n = 10)	15,8** (13,1; 17,2)	17,0** (16,1; 18,5)

Примечание (здесь и далее): \* – статистическая значимость различий по отношению к данным группы сравнения; \*\* – статистическая значимость различий между данными 1 и 2 групп

В результате морфометрических исследований было установлено статистически значимое увеличение содержания CD20+ и CD79 $\alpha$ +экспрессирующих клеток в селезенке у всех больных АА (табл. 1). Причем повышение числа В-лимфоцитов было отмечено как при нетяжелой, так и при тяжелой формах заболевания по отношению к группе сравнения ( $p < 0,05$ ). При анализе В-клеточной популяции у больных в различные сроки проведения операции выявлено, что у об-

следуемых 1 группы количество лимфоидных элементов было выше по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). У больных 2 группы имелась лишь тенденция к увеличению содержания В-лимфоцитов ( $p > 0,05$ ). Кроме того, у лиц 2 группы определялось достоверно более низкое количество этих клеток по отношению к пациентам, предоперационный период которых был менее продолжительным.

При более подробном исследовании содержания CD20+ В-клеток в функциональных зонах селезенки было выявлено статистически значимое повышение их количества в красной пульпе у всех больных АА вне зависимости от тяжести заболевания по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Увеличение значений исследованных лимфоцитов было выявлено и у лиц с АА в различные сроки проведения спленэктомии ( $p < 0,05$ ). При этом более высокие показатели были характерны для пациентов, прооперированных в первые месяцы течения заболевания. У больных с продолжительностью АА более 2 месяцев до удаления селезенки было определено достоверное снижение числа CD20+ клеток по отношению к пациентам с менее коротким предоперационным периодом ( $p < 0,05$ ). В результате анализа CD20+экспрессирующих клеток в белой пульпе селезенки достоверных различий по их количественному составу между больными АА и группой сравнения получено не было.

Таблица 2

Количество В-лимфоцитов в белой и красной пульпе селезенки

Table 2

Quantity of B-cells in white and red pulp of spleen

Группы исследованных	CD20+ в белой пульпе, %	CD20+ в красной пульпе, %
Группа сравнения (n = 20)	47,1 (34,3; 55,9)	4,9 (2,9; 8,4)
Все пациенты с АА (n = 33)	36,1 (32,4; 43,9)	15,1* (10,0; 19,2)
НАА (n = 13)	37,8 (29,6; 46,2)	13,5* (9,9; 17,4)
ТАА (n = 20)	35,8 (32,4; 43,3)	16,3* (10,9; 20,1)
1 группа (n = 23)	36,1 (32,6; 43,9)	22,4* (19,9; 26,1)
2 группа (n = 10)	36,1 (24,4; 45,0)	15,8*/** (13,1; 17,2)

Таким образом, у всех больных АА наблюдалось повышение содержания иммунокомпетентных В-клеток в селезенке, как в периферическом органе иммуногенеза. Причем, увеличение количества В-лимфоидной популяции было более выражено в красной пульпе органа. Показатели содержания CD20+ лимфоцитов зависели от сроков выполнения спленэктомии. Так, у пациентов 2 группы, установлены более низкие показатели В-клеток, что, возможно, свидетельствует об истощении данной популяции клеток в селезенке в процессе болезни вне зависимости от ее тяжести. Полученные результаты дополняют представление о гистологических изменениях селезенки, а также отражают степень ее вовлечения в патологический процесс при АА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К.М. Комплексная программа диагностики апластической анемии с определением прогностически значимых патогенетических особенностей заболевания. Методические рекомендации / К.М. Абдулкадыров, С.С. Бессмельцев, А.В. Четчин – СПб., Агентство «ВиТ-принт», 2015. – 32с.
2. Савченко, В.Г. Клинические рекомендации по лечению апластической анемии / В.Г. Савченко, Е.Н. Паровичникова, Е.А. Михайлова и др. // Клинические рекомендации. – 2014. – 24с.
3. Killick S.B. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia / S.B. Killick, N. Bown, J. Cavenagh [et al.] // Br.J.Haematol. – 2016. – Vol. 172. – P. 187 – 207. DOI: 10.1111/bjh.13853
4. Latour R.P. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia / R.P. Latour, V.Visconte, T. Takaku [et al.] // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 20. – P.4175 – 4184. DOI: 10.1182/blood-2010-01-266098.
5. Lin F. IFN- $\gamma$  causes aplastic anemia by altering hematopoietic stem/progenitor cell composition and disrupting lineage differentiation / F. Lin, M. Karwan, B. Saleh [et al.] // Blood. – 2014. – Vol. 124, № 25. – P.3699 – 3708. DOI: 10.1182/blood-2014-01-549527.
6. Федоровская Н.С., Особенности Т-клеточного состава в селезенке при апластической анемии / Н.С. Федоровская, Д.А. Дьяконов, Н.А. Федоровская // Астраханский медицинский журнал – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 90 – 93.
7. Зайцев В.Б. Иммуноморфология селезенки человека / В.Б. Зайцев, Н.С. Федоровская, Д.А. Дьяконов [и др.] // Морфология. – 2013. – Т. 143., №3. – С. 27 – 31.
8. Ellyard J.I. Antigen-selected, immunoglobulin-secreting cells persist in human spleen and bone marrow / J.I. Ellyard, D.T. Avery, T.G. Phan [et al.] // Blood. – 2004. – Vol. 103. – P. 3805 – 3812. DOI: 10.1182/blood-2003-09-3109.
9. Hoek K.L. Follicular B cell trafficking within the spleen actively restricts humoral immune responses / K.L. Hoek, L.E. Gordy, P.L. Collins [et al.] // Immunity. – 2010. – Vol. 33. – P. 254 – 265. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.07.016.
10. Minges Wols H.A. Migration of immature and mature B cells in the aged microenvironment / H.A. Minges Wols, K.M. Johnson, J.A. Ippolito [et al.] // Immunology. – 2009. – V.129. – P. 278 – 290. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03182.x.
11. Mountz J.D. Cytokine regulation of B-cell migratory behavior favors formation of germinal centers in autoimmune disease / J.D. Mountz, J.H. Wang, S.Xie [et al.] // Discov Med. – 2011. – Vol. 11, № 56. – P. 76 – 85. PMID: PMC3249418; NIHMSID: NIHMS 342135.
12. Olsson B. Increased number of B-cells in the red pulp of the spleen in ITP / B. Olsson, B. Ridell, M. Jernas [et al.] // Ann. Hematol. – 2012. – Vol. 91. – P. 271 – 277. DOI: 10.1007/s00277-011-1292-2.

## REFERENCES

1. Abdulkadyrov K.M. Complex program of aplastic anemia diagnosis with definition of prognostic significant pathogenetic features of disease. Guidelines. K.M. Abdulkadyrov S.S. Bessmeltsev A.V. Chechetkin – SPb., Agency «ViT-print», 2015. 32 p. [In Russ.].
2. Savchenko V.G. Clinical recommendations of aplastic anemia treatment. V.G. Savchenko E.N. Parovichnikova, E.A. Mikhailova [et al.] Clinical recommendations. – 2014. 24 p. [In Russ.].
3. Killick S.B. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. S.B. Killick N. Bown, J. Cavenagh [et al.] Br. J. Haematol. 2016. Vol. 172. pp. 187–207. DOI: 10.1111/bjh.13853.
4. Latour R.P. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia / R.P. Latour, V.Visconte, T. Takaku [et al.] Blood. 2010. Vol. 116, No. 20. pp. 4175–4184. DOI: 10.1182/blood-2010-01-266098.
5. Lin F. IFN- $\gamma$  causes aplastic anemia by altering hematopoietic stem/progenitor cell composition and disrupting lineage differentiation. F. Lin, M. Karwan, B. Saleh [et al.] Blood. 2014. Vol. 124, No. 25. pp. 3699–3708. DOI: 10.1182/blood-2014-01-549527.
6. Fedorovskaya, N.S. Features of T-cell in spleen in aplastic anemia. N.S. Fedorovskaya, D.A. Diakonov, N.A. Fedorovskaya. Astrakhan Medical Journal 2013. Vol. 8, No. 3. pp. 90–93. [In Russ.].
7. Zaitsev V.B. Immunomorphology of human spleen. V.B. Zaitsev, N.S. Fedorovskaya, D.A. Diakonov [et al.] Morphology. 2013. Vol. 143., No. 3. pp. 27–31. [In Russ.].
8. Ellyard J.I. Antigen-selected, immunoglobulin-secreting cells persist in human spleen and bone marrow. J.I. Ellyard, D.T. Avery, T.G. Phan [et al.] Blood. 2004. Vol. 103. pp. 3805–3812. DOI: 10.1182/blood-2003-09-3109.
9. Hoek K.L. Follicular B cell trafficking within the spleen actively restricts humoral immune responses. K.L. Hoek, L.E. Gordy, P.L. Collins [et al.] Immunity. 2010. Vol. 33. pp. 254–265. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.07.016.
10. Minges Wols, H.A. Migration of immature and mature B cells in the aged microenvironment. H.A. Minges Wols, K.M. Johnson, J.A. Ippolito [et al.] Immunology. 2009. Vol. 129. pp. 278–290. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03182.x.
11. Mountz J.D. Cytokine regulation of B-cell migratory behavior favors formation of germinal centers in autoimmune disease / J.D. Mountz, J.H. Wang, S.Xie [et al.] Discov Med. 2011. Vol. 11, No. 56. pp. 76–85. PMID: PMC3249418; NIHMSID: NIHMS 342135.
12. Olsson, B. Increased number of B-cells in the red pulp of the spleen in ITP / B. Olsson, B. Ridell, M. Jernas [et al.] Ann. Hematol. 2012. Vol. 91. pp. 271–277. DOI: 10.1007/s00277-011-1292-2.

## Авторы

Федоровская Надежда Станиславовна  
Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства  
К.м.н., заведующая лабораторией патоморфологии крови  
Российская Федерация, 610027 г. Киров, ул. Красноармейская, 72  
fednadst@mail.ru

Дьяконов Дмитрий Андреевич  
Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства  
К.м.н., старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии крови  
Российская Федерация, 610027 г. Киров, ул. Красноармейская, 72  
DiakonovDA@rambler.ru

Зайцев Валерий Борисович  
Кировская государственная медицинская академия  
Профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, д.м.н.  
Российская Федерация, 610027, г. Киров, ул. К.Маркса, 112  
zaitsev@kirovgma.ru

Кочетов Николай Львович  
Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства  
Врач-патологоанатом лаборатории патоморфологии крови  
Российская Федерация, 610027 г. Киров, ул. Красноармейская, 72  
skorpionx@yandex.ru

Росин Виталий Анатольевич  
Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства  
К.м.н., старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии крови  
Российская Федерация, 610027 г. Киров, ул. Красноармейская, 72  
vitalyrosin@yandex.ru

Перфилова Елена Александровна  
Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства  
К.вет.н., младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии крови  
Российская Федерация, 610027 г. Киров, ул. Красноармейская, 72  
perfl78@mail.ru

## Authors

Nadejda S. Fedorovskaya  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency  
Cand. Sci. (Med.), Head of Laboratory Pathomorphology of Blood  
Str. Krasnoarmejskaja 72, Kirov, Russian Federation, 610027  
fednadst@mail.ru

Dmitriy A. Diakonov  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency  
Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of Laboratory Pathomorphology of Blood  
Str. Krasnoarmejskaja 72, Kirov, Russian Federation, 610027  
DiakonovDA@rambler.ru

Valeri B. Zaitsev  
Kirov State Medical Academy  
Dr. Sci. (Med.), Professor, Chairman of Dept. of Histology, Embryology and Cytology  
Str. Karl Marx, 112, Kirov, Russian Federation, 610027  
zaitsev@kirovgma.ru

Nikolai L. Kochetov  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency  
Pathologist of Laboratory Pathomorphology of Blood  
Str. Krasnoarmejskaja 72, Kirov, Russian Federation, 610027  
skorpionx@yandex.ru

Vitaliy A. Rosin  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency  
Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of Laboratory Pathomorphology of Blood  
Str. Krasnoarmejskaja 72, Kirov, Russian Federation, 610027  
vitalyrosin@yandex.ru

Elena A. Perfilova  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency  
Cand. Sci. (Med.), Junior Researcher of Laboratory Pathomorphology of Blood  
Str. Krasnoarmejskaja 72, Kirov, Russian Federation, 610027  
perfl78@mail.ru