 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**«ІНСТИТУТ ПАТОЛОГІЇ КРОВІ ТА ТРАНСФУЗІЙНОЇ МЕДИЦИНИ»**

На правах рукопису

**ДУБЕЙ Леонід Ярославович**

УДК 616.155.395–036.11+[616-006.441.].085-036.838

**ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ВТОРИННОГО ІМУНОДЕФІЦИТУ**

**ТА ЙОГО ДІАГНОСТИКА ПРИ ГОСТРІЙ ЛІМФОБЛАСТНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ У ДІТЕЙ**

Автореферат Дисертація на здобуття

наукового ступеня доктора медичних наук

за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія

Наукові консультанти:

**Новак Василь Леонідович**

**д.мед.н., професор**

**Масляк Звенислава Володимирівна**

**д.мед.н., с.н.с.**

Львів – 2008

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Завдяки досягненням у вивченні генетичних та молекулярних механізмів розвитку злоякісного процесу з розробкою уніфікованих критеріїв діагностики та лікування гострої лімфобластної лейкемії (ГЛЛ) у дітей невпинно збільшується популяція вилікуваних осіб, що перебувають у довготривалій ремісії.

Сучасне програмне лікування хвороби характеризується високою інтенсивністю та агресивністю із застосуванням хіміотерапевтичних препаратів у високих дозах. Внаслідок тривалого лікування, яке відзначається значною токсичністю, виникають різні ускладнення, що суттєво впливає на стан здоров’я дітей ([Volc S.V.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17003944?ordinalpos=21&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum) et al., 2006; Cachaco A.M. et al., 2007).

Однією із систем, яка залучається у патологічний процес при ГЛЛ у дітей є імунна система. ЇЇ клітинна, гуморальна та цитокінова ланки включаються у всі етапи різних форм системної та локальної імунної відповіді, в тому числі і на пухлинні агенти. При розвитку злоякісного процесу, зокрема ГЛЛ у дітей, завжди є загроза порушення будь-яких із етапів цієї відповіді, що нажаль, нерідко призводить до того, що при взаємодії пухлина – імунна система, остання досить часто поступається (Ulvestad E.Y. et al., 2007; [Sayed Z.M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17979489?ordinalpos=45&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)., 2007).

У загальному переліку різних причин, які сприяють цьому (саме захворювання, цитостатична терапія, що застосовується, харчування, психологічні фактори та інше), одне із провідних місць належить розвитку дисбалансу в імунній системі з неоднозначною реалізацією її біологічної функції. З позиції загальної тенденції зміни в імунній системі можуть мати кількісний і якісний характер і проявлятися порушенням продукції як імунокомпетентних клітин та сироваткових імуноглобулінів, так і цитокінів (Kersey J.T. et al., 2006; Rothman N.H. et al., 2006).

З огляду на те, що механізми імунної відповіді при ГЛЛ у дітей залишаються невідомими, патогенетична значущість імунної системи при даній хворобі є незаперечною і визначається її основними гетерогенними біологічними ефектами. Діагностика імунних розладів на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей може виявити їх взаємозв’язок із розвитком даного гемобластозу та інфекційних ускладнень, кількість і важкість яких корелює з глибиною порушень імунітету.

У літературних джерелах присвячено мало уваги стосовно вивчення розвитку вторинного імунодефіциту при ГЛЛ у дітей, механізмам регенерації різних ланок опірності дитячого організму. Практично відсутні дані щодо впливу імунофенотипового підваріанту хвороби на основні показники клітинного та гуморального імунітету. На сьогоднішній день не достатньо вивчена цитокінова активність та її важлива роль у регуляції імунної відповіді на різних етапах перебігу ГЛЛ. Адже пошкоджений та спотворений синтез цитокінових субстанцій може бути критичним щодо відновлення імунної системи після завершення цитостатичного лікування.

Саме значущість цієї проблеми зумовила необхідність поглибленого комплексного вивчення механізмів імунної відповіді при ГЛЛ у дітей.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась згідно з планом НДР Державної установи «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України», а саме: «Вивчити особливості стану здоров’я дітей, вилікуваних від онкогематологічних захворювань з метою розробки заходів, скерованих на покращання якості їх життя», № держреєстрації 01.99U001400; «Характеристика віддалених наслідків імуносупресивної дії програмної терапії гострої лімфобластної лейкемії у вилікуваних дітей», № держреєстрації 01.03U000296; «Стан клітинного та гуморального імунітету у дітей з окремими імунофенотиповими підваріантами гострої лімфобластної лейкемії», № держреєстрації 01.06U002101; «Патогенетичне значення цитокінів у розвитку патологічного процесу у дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію» № держреєстрації 01.08U001582.

Здобувачем здійснено аналітичний огляд літератури щодо змін основних показників імунної системи при ГЛЛ у дітей, набір груп для спостереження, визначення особливостей клінічних проявів хвороби, аналіз динаміки показників периферичної крові, особливостей клітинного і гуморального імунітету, а також цитокінової мережі на різних етапах перебігу гемобластозу з урахуванням його імунофенотипового підваріанту.

**Мета дослідження:** уточнити механізми розвитку вторинного імунодефіциту і створити сучасну систему його діагностики при гострій лімфобластній лейкемії у дітей на підставі вивчення клініко-імунологічних особливостей перебігу хвороби.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні **завдання**:

1. Провести аналіз клініко-лабораторних та клініко-генеалогічних даних у дітей, хворих на ГЛЛ.
2. Оцінити результати лікування ГЛЛ у дітей, встановити частоту і характер ускладнень програмної терапії.
3. Уточнити зміни у клітинній ланці імунної системи та шляхи регенерації її показників у дітей, хворих на ГЛЛ.
4. Вивчити стан гуморального імунітету на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей.
5. Оцінити зв’язок порушень у клітинній і гуморальній ланках імунної системи залежно від імунофенотипового підваріанту ГЛЛ у дітей.
6. Дослідити цитокінову мережу на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей та оцінити її зв’язок з основними показниками клітинного і гуморального імунітету та клінічними проявами хвороби.
7. Виділити етапи формування імуносупресивних станів та розробити алгоритм їх діагностики при ГЛЛ у дітей.

*Об’єкт дослідження:* гостра лімфобластна лейкемія у дітей.

*Предмет дослідження:* функціональна дієздатність імунної системи при гострій лімфобластній лейкемії у дітей.

*Методи дослідження:* загальноклінічний, клініко-генеалогічний, гематологічний, цитологічний, цитохімічний, імунологічний (імунохімічний; імунохемілюмінісцентний, імунофенотиповий), статистичний методи дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше на достатньому клінічному матеріалі проведено комплексну оцінку імунної системи, що безпосередньо розширює нові уявлення про механізми виникнення вторинного імунодефіциту та сучасну систему його діагностики у дітей, хворих на ГЛЛ.

Виявлено, що регенерація Т-гелперів/індукторів у дітей молодшої вікової групи, хворих на ГЛЛ, відбувається тимус-залежним шляхом, тоді як у підлітків 11 – 14 років переважають тимус-незалежні механізми відновлення цих клітин. Т-супресорні/цитотоксичні лімфоцити регенерують швидше за рахунок їх CD8+CD28--субпопуляції. Вони не потребують резидуальної тимічної активності і повністю відновлюються менш ніж за три місяці після повного завершення програмного лікування.

З’ясовано, що абсолютна кількість NK-клітин у периферичній крові на різних етапах лікування ГЛЛ у дітей є низькою. Лише у ранні та пізні терміни довготривалої ремісії спостерігається їх зростання. Насторожує, що навіть у віддалених термінах довготривалої ремісії (понад п’ять років) рівень CD16+CD56+-лімфоцитів залишається низьким, що вказує на значне порушення регенерації цієї ланки імунітету.

Встановлено, що у розгорнутій клінічній фазі ГЛЛ у дітей рівень бластних клітини у периферичній крові асоціюються зі зниженням концентрації ІgМ, підвищенням вмісту IgG та дисбалансом рівнів IgG1 та IgG2 у сироватці крові, що свідчить про реакцію неспецифічного гуморального імунітету у відповідь на патологічний процес.

Виявлено, що під час цитостатичної терапії ГЛЛ спостерігається суттєве зниження вмісту СD19+-лімфоцитів у периферичній крові та сироваткових IgA, IgM, IgG, які після її завершення поступово відновлюються. Ступінь порушення окремих показників гуморального імунітету залежить від віку дитини. Триваліше та глибше пригнічуються В-лімфоцити та сироваткові імуноглобуліни у дітей віком від шести до десяти років. У дітей до п’яти років та підлітків 11 – 14 років окремі показники гуморальної ланки імунітету швидше наближаються до нормального рівня.

Доведено, що зміни основних показників клітинного імунітету залежать від імунофенотипового підваріанту ГЛЛ у дітей. Добра їх регенерація спостерігається при «чистій» В- і «чистій» Т-ГЛЛ. Присутність мієлоїдних маркерів як на В-, так і на Т-бластах у динаміці хвороби стимулюють процеси відновлення імунокомпетентних клітин. Зміни у гуморальній ланці імунітету не залежать від імунофенотипового підваріанту хвороби.

Встановлено, що у дебюті ГЛЛ у дітей спостерігається висока цитокінова активність, яка не залежить від імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу. При рецидивах хвороби, незалежно від терміну його виникнення, зростає концентрація IL-6 і TNF-α та знижується вміст IL-8 у сироватці крові, що супроводжується сильним взаємозв’язком досліджуваних цитокінів із бластними клітинами, незалежно від їх абсолютної кількості у периферичній крові. Це дозволяє виділити IL-6, IL-8 та TNF-α як додаткові імунологічні маркери перебігу ГЛЛ у дітей.

**Практичне значення отриманих результатів.** При підозрі природжених вад розвитку у дітей, хворих на ГЛЛ, доцільно звертати увагу на виявлення рідкісної патології – Nijmegen-Breakage-синдром – пов’язаної з вродженим дефектом в імунній системі, схильністю до онкологічних захворювань, зокрема ГЛЛ, та мутацією 657de15.

Запропонований комплекс імунологічних маркерів для моніторингу перебігу ГЛЛ у дітей, який сприяє своєчасному застосуванню у достатньому обсязі супровідної терапії захисту та стратегічному вирішенню подальшої лікувальної тактики при рецидиві хвороби.

При встановленні діагнозу ГЛЛ у дітей запропоновано використовувати широку панель МКАТ для надання максимальної характеристики антигенної структури мембрани бластних клітин, оскільки зміни основних показників імунної системи залежать від імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу. Такий підхід дасть змогу більш індивідуально застосовувати супровідну терапію, що зменшить небажані перерви під час проведення цитостатичного лікування та підвищить її ефективність.

Результати досліджень впроваджені у роботу консультативної поліклініки Державної установи «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України» (м. Львів), Львівських обласної дитячої клінічної лікарні «ОХМАТДИТ» та обласної дитячої спеціалізованої клінічної лікарні, комунальних міської дитячої клінічної лікарні та міської клінічної лікарні № 5 м. Львова, що підтверджено актами впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем розроблено концепцію дисертаційного дослідження, відбір та опрацювання методик дослідження, проведено клінічне обстеження дітей, хворих на ГЛЛ, з урахуванням питань етики та деонтології. Автор створив базу даних, здійснив статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів, сформулював висновки та практичні рекомендації.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень доповідались та обговорювались на науково-практичній конференції «Сучасні методи діагностики та лікування злоякісних новоутворень у дітей» (м. Київ, 2005), V Всеукраїнській науково-практичній конференції «Питання імунології в педіатрії» (м. Форос, 2005), науково-практичній конференції, присвяченій 5-річчю «Українського журналу гематології та трансфузіології» (м. Київ, 2005), науково-практичній конференції «Внесок молодих вчених в медичну науку» (м. Харків, 2005), VII Scientific and Education Conference of the Polish Society of Haematology and Blood Transfusion (Lublin, Poland, 2005), науково-практичній конференції «Актуальні питання гематології і служби крові України» (м. Львів, 2005), 5th Bi-annual Symposium on Childhood Leukemia (Noordwijkerhout, Netherlands, 2006), V міжнародному симпозіумі «Актуальні та невирішені питання гематології та трансфузіології» (м. Київ, 2006), VII міжнародній конференції молодих онкологів «Сучасні проблеми експериментальної і клінічної онкології» (м. Київ, 2006), XI конгресі світової федерації українських лікарських товариств (м. Полтава, 2006), науково-практичній конференції «Нове в гематології та трансфузіології» (м. Київ, 2006), VIII конференції молодих онкологів з міжнародною участю «Сучасні проблеми експериментальної і клінічної онкології» (м. Київ, 2007), IX з’їзді Всеукраїнського лікарського товариства (м. Вінниця, 2007), XXIX zjazd Polskiego Towarzystwa Pediatrychnego (Lodz, Poland, 2007), VII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Питання імунології в педіатрії» (м. Дніпропетровськ, 2007), науково-практичній конференції «Діагностичні центри – медико-біологічні аспекти діагностичного процесу» (м. Рівне, 2007), міжнародній науково-практичній конференції «Шляхи оптимізації терапії онкогематологічних захворювань» (м. Київ, 2008), міжнародній науково-практичній конференції «Терапія супроводу у дитячій гематології та онкології» (м. Львів, 2008), V зїзді гематологів та трансфузіологів України (м. Вінниця, 2008).

**Публікації результатів досліджень.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 36 наукових робіт, з них 20 статей у виданнях, рекомендованих ВАК України, 1 патент на корисну модель, 15 тез у матеріалах з’їздів, науково-практичних конференцій та симпозіумів.

**Структура та об’єм дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 282 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який охоплює 333 назви (з них 39 праць вітчизняних, та 294 праці зарубіжних авторів), що містить 37 сторінок. Роботу ілюструють 54 таблиці та 66 рисунків, що становить 35 сторінок.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Під спостереженням перебувало 125 дітей, у яких діагностовано ГЛЛ і які отримали інтенсивну терапію за протоколами ГЛЛ-ДГЛЛУ-93’95 (модифікований протокол німецької групи Berlin-Frankfurt-Münster ALL-BFM-90’95). За програмою ГЛЛ-ДГЛЛУ-93 проліковано 33 дітей хворих на ГЛЛ, а за програмою ГЛЛ-ДГЛЛУ-95 – 92 дітей. Загалом хлопчиків було 71 (56,8 %), дівчаток – 54 (43,2 %). Медіана віку пацієнтів становила шість років і сім місяців (коливання від трьох місяців до 15 років і двох місяців), у тому числі медіана віку хлопчиків була чотири роки і дев’ять місяців (коливання від трьох місяців до 13 років і семи місяців) і дівчаток – п’ять років і п’ять місяців (коливання від семи місяців до 14 років і двох місяців).

Діагноз ГЛЛ підтверджувався результатами клінічного, гематологічного, цитологічного, цитохімічного та імунофенотипового досліджень клітин крові та кісткового мозку.

Основні принципи лікування за програмою ГЛЛ-ДГЛЛУ-93’95 полягали у проведенні інтенсивної поліхіміотерапії протягом шести-восьми місяців і підтримувальної терапії до двох років. Інтенсивні протоколи включали хіміотерапевтичні препарати з циклоспецифічним і циклонеспецифічним механізмом дії, великі дози метотрексату (1 г на 1 м2 площі тіла), профілактику нейролейкемії. Лікувальна концепція полягала у проведенні протоколів інтенсивної терапії Іа, І, М, ІІ після попередньої стратифікації дітей, хворих на ГЛЛ, на групи ризику. До групи низького ризику (ГНР) віднесено 25 дітей, хворих на ГЛЛ, до групи середнього ризику (ГСР) – 90 дітей та до групи високого ризику (ГВР) – 10.

Визначення основних показників імунної системи та цитокінового спектру у дітей, хворих на ГЛЛ, розпочиналося:

* під час встановлення діагнозу хвороби;
* перед консолідацією (відновлення показників периферичної крові: лейкоцити > 1,5 Г/л; тромбоцити > 50 Г/л; підтвердження факту ремісії – відсутність бластів у кістковому мозку);
* до початку реіндукції (відновлення показників периферичної крові: лейкоцити > 2,5 Г/л; тромбоцити > 100 Г/л);
* під час підтримувальної терапії (лейкоцити не менше 1 Г/л);
* на етапі завершення лікування;
* у різні терміни довготривалої ремісії (до 3 років, 3 – 5 років та понад 5 років).

Частина хворих обстежувалася повторно декілька разів на різних етапах лікування та термінах довготривалої ремісії. Усього проведено 518 досліджень. Хворих розподілено на групи за етапами перебігу ГЛЛ, під час яких виконувалось дослідження імунної системи (табл. 1.).

Таблиця 1

Розподіл обстежених дітей, хворих на ГЛЛ,

залежно від етапу перебігу хвороби та за статтю

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Етап перебігу ГЛЛ | Кількість хворих  (досліджень) | Стать  (хлопчики / дівчатка) |
| До початку лікування | 60 | 34/26 |
| Консолідація | 62 | 32/30 |
| Реіндукція | 73 | 38/35 |
| Підтримувальна терапія | 72 | 41/31 |
| Кінець терапії | 71 | 41/30 |
| Ремісія менше трьох років | 67 | 37/30 |
| Ремісія три-п’ять років | 69 | 38/31 |
| Ремісія понад п’ять років | 44 | 28/16 |
| Усього | 518 | 289/229 |

Оцінка основних показників імунної системи здійснювалася відповідно до вікової категорії дітей: 1 – 5 років (n=35), 6 – 10 років (n= 49) та 11 – 14 років (n=41). Окрему групу становили діти, в яких діагностовано рецидив ГЛЛ (n=32). Дітей з дуже раннім рецидивом було 12, з раннім – 13 та пізнім – 17.

До контрольної групи входили діти віком від одного до 14 років (n=83), які не хворіли на ГЛЛ та вважалися практично здоровими.

Дослідницькою програмою передбачалось:

1. Збір анамнезу та оцінка преморбідного фону.
2. Дослідження окремих показників периферичної крові.
3. Оцінка клітинного імунітету: визначення абсолютної кількості та відсоткового співвідношення загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+) та їх субпопуляцій (CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD4+CD45RA+, CD4+CD45RО+, CD8+CD45RA+, CD8+CD45RО+, CD8+CD28+, CD8+CD28-); визначення імунорегуляторного співвідношення (CD4:CD8); визначення абсолютної кількості та відсоткового співвідношення NK-клітин (CD16+CD56+); визначення абсолютної кількості та відсоткового співвідношення В-лімфоцитів (CD19+).
4. Оцінка гуморального імунітету: визначення сироваткових імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG), дослідження субкласів IgG (IgG1-4).
5. Дослідження окремих цитокінів у сироватці крові (IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α).

6. Клінічний огляд групою спеціалістів (гематолог, імунолог та інші спеціалісти у разі необхідності).

В усіх дітей з ГЛЛ проведено дослідження периферичної крові на гемоаналізаторі Coulter-GT (Франція) методом кондуктометрії. Морфологічна оцінка мазків периферичної крові, пофарбованих за методом Мей-Гімзе-Грюнвальда здійснювалася за допомогою мікроскопу CN-fl (Німеччина).

Кількісне визначення окремих популяцій лімфоцитів та їх субпопуляцій здійснювалося за допомогою протокового лазерного цитофлюориметра Faxcalibur виробництва фірми Bekton and Dickinson (США) з програмою SimulSET для аналізу даних з використанням МКАТ антитіл з подвійним маркуванням (набір антитіл фірми Bekton and Dickinson, США). У роботі використовували відсоткове співвідношення та абсолютні величини популяції лімфоцитів.

Вміст імуноглобулінів у сироватці крові визначали методом кінетичної нефелометрії на імунохімічній системі Beckman (США). Субкласи IgG у сироватці крові а також сироваткові цитокіни досліджувалися імунохемілюмінісцентним методом (Immulite 1000, США) з використанням стандартних тест-одиниць (DPC, США).

Для оцінки преморбідного фону, а також для встановлення факту спадкової схильності до розвитку злоякісних пухлин зібрано анамнез та вивчено родовід з проведенням клініко-генеалогічного аналізу.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено за програмою «Statistica 5,5» (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

**Результати власних досліджень.** Проведено клініко-генеалогічне обстеження дітей, хворих на ГЛЛ. Зокрема, вивчено частоту і характер злоякісних пухлин у родичів пробанда з даним гемобластозом. Отже, cеред 97 дітей основної групи виявлено чотири дитини, у сім’ях яких онкологічні захворювання мали батько або мати – родичі І ступеня спорідненості. Серед родичів дітей з ГЛЛ ІІ ступеня спорідненості (n=1957) виявлено 78 родичів зі злоякісними пухлинами. Серед дітей з даним гемобластозом частота хворих родичів становила 4 %. У пробандів, хворих на ГЛЛ, у 59 % (46 хворих) були родичі зі сторони батька, по материнській лінії зустрічалося лише 32 (41 %) родичів із онкологічними захворюваннями. Половину усіх родичів становили дідусі пробанда – 34 (43,5 %) випадки. Бабусь було у два рази менше – 17 (21,8 %) випадків. Найчастіше зустрічалися рак легень (15 хворих – 19,2 %), рак шлунку (шість хворих – 7,7 %). Лише у поодиноких випадках спостерігались рак губи, саркома щитоподібної залози, рак матки, рак кишківника та рак гортані. Серед тіток і дядьків – найбільша кількість по батьківській лінії – у чотирьох випадках з п’яти зустрічалися рак шлунку, рак легень, пухлина мозку та лейкемія. У напівсибсів пробанда з ГЛЛ злоякісні новоутворення не спостерігалися. При аналізі частоти злоякісних пухлин у родичів дітей з ГЛЛ ІІІ ступеня спорідненості виявлено, що хворі на онкологічну патологію по материнській лінії зустрічались у два рази частіше порівняно з такими по батьківській лінії, хоча достовірної різниці між контрольною та основною групами не виявлено.

Частоту природжених вад розвитку та їх характер проаналізовано у 97 дітей, хворих на ГЛЛ. За отриманими результатами природжені вади розвитку серед дітей основної групи зустрічалися у шести випадках, що становило 6,2 %. Діагнгстовано наступні вади розвитку: екстрофія сечового міхура, множинні перегини у ділянці шийки жовчевого міхура, природжена гемангіома спини. У трьох дітей, хворих на ГЛЛ виявлено Nijemegen-Brekige-синдром, характерними ознаками якого були природжені вади розвитку (мікроцефалія, скошене чоло, монголоїдний розріз очей, великий ніс, виступаюча середня частина обличчя, гіпоплазія нижньої щелепи, великі вуха та коротка шия), комбінований імунодефіцит та мутація 657de15.

Рак легень

Проведено також комплексне клініко-лабораторне дослідження у 125 дітей як у дебюті ГЛЛ, так і на етапі довготривалої ремісії. Так, у більшості хворих (n=94; 75,2 %) у період розпалу хвороби виявлено гіперлейкоцитоз. Зокрема, підвищення рівня лейкоцитів від 11 до 20 Г/л спостерігалось у 18 (14,4 %) дітей, від 21 до 50 Г/л – у 22 (17,6 %) дітей, від 51 до 100 Г/л – у 7 дітей та понад 100 Г/л – у 24 (19,2 %). У 22 (17,6 %) дітей, що увійшли до основної групи, виявлено помірне збільшення кількості лейкоцитів (від 4,6 Г/л до 10 Г/л). Зменшення кількості лейкоцитів у периферичній крові у межах від 1 Г/л до 4,4 Г/л виявлено у 29 дітей, що становило 23,2 %. У трьох дітей кількість лейкоцитів становила 0,62 Г/л, 0,77 Г/л та 0,84 Г/л відповідно.

Заслуговує на увагу анемічний синдром, який досить часто зустрічався у дітей (n=86; 68,8 %) на час встановлення діагнозу. Параклінічні показники (RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC) вказували на нормохромний її характер. Зменшення кількості тромбоцитів було у 22 (17,6 %) дітей у дебюті захворювання. У дев’яти (7,2 %) випадках показники тромбоцитів досягали критичного значення (28,93 ± 0,17 Г/л), а клінічно у дітей виявлено прояви геморагічного синдрому (петехіальні висипання, екхімози, носова кровотеча). У всіх дітей основної групи на час встановлення діагнозу ГЛЛ у периферичній крові виявлено бластні клітини. Майже у половини з них (n=60; 48 %) їх абсолютна кількість становила менше 1 Г/л, а у 65 (52 %) дітей – більше 1 Г/л. При дослідженні пунктату кісткового мозку на час встановлення діагнозу виявлено значний відсоток бластних клітин, що засвідчує важке його ураження та глибоке пригнічення нормального гемо- та лімфопоезу. Зокрема, у 104 (83,2 %) дітей відсоток бластів у кістковому мозку був більше 90 %, а у 21 (16,8 %) дитини – менше 90 %.

Заслуговує на увагу морфологічна картина злоякісних клітин та їх імунофенотипова характеристика, що має прогностичне значення для перебігу захворювання та визначення терапевтичної схеми протоколу. У відповідності до FAB-класифікації морфологічні ознаки бластних клітин відповідали L1 типу у більшості випадків (n=80; 64 %). Значно менше виявлено бластні клітини з морфологічними ознаками, які відповідали L2 (n=26; 20,8 %) та L1-L2 (n=17; 13,6 %) типам. На основі аналізу антигенної структури мембрани лейкемічних клітин у дітей, хворих на ГЛЛ, та за критеріями класифікації цієї хвороби за GALGB і частково EGIL, В-лінійну лейкемію встановлено у 84 (67,2 %) пацієнтів, Т-клітинну – у 41 (32,8 %) хворого. На цій підставі виділено чотири варіанти В-лінійної і чотири – Т-лінійної ГЛЛ. У дослідження даної роботи не включено хворих на В-зрілоклітинну ГЛЛ (В ІV), оскільки вони не лікувались за програмами ГЛЛ-ДГЛЛУ-93’95, як в усіх представлених випадках. Т-лінійну ГЛЛ об’єднано в одну групу внаслідок малочисельності окремих підваріантів. У таблиці 2 показана лінійна частота ГЛЛ у дітей.

Таблиця 2.

Лінійна частота ГАЛЛ

|  |  |
| --- | --- |
| Лінійний розподіл | Кількість випадків |
| Тільки В антигени  В+Т антигени  В+Му антигени  В+Т+Му антигени | 22 (17,6 %)  26 (20,8 %)  32 (25,6 %)  19 (15,2 %) |
| Тільки Т антигени  Т+Му антигени | 18 (14,4 %)  8 (6,4 %) |
| Усього | 125 (100 %) |

На особливу увагу заслуговує наявність проліферативного синдрому та специфічного ураження органів і систем, що з різною частотою зустрічалися у дебюті захворювання. У більшості випадків виявлено збільшення печінки (n=113; 90,4 %), селезінки (n=88; 70,4 %) та периферичних лімфатичних вузлів (n=119; 95,2 %). У 14 (11,2 %) дітей на оглядовій рентгенограмі органів грудної клітки діагностовано медіастенальну пухлину. Специфічне ураження яєчка виявлено у двох (1,6 %) хлопчиків під час об’єктивного обстеження, сонографічного дослідження та діагностичної біопсії. Специфічне ураження ЦНС виявлено у трьох (2,4 %) дітей при діагностичній люмбальній пункції і цитологічному дослідженні ліквору. Інтоксикаційний синдром, який клінічно проявлявся загальною слабкістю, млявістю, підвищенням температури тіла до фебрильних цифр, зустрічався в 11 (8,8 %) випадках. У 11 (8,8 %) дітей на час встановлення діагнозу ГЛЛ виявлено біль у кістках.

На етапі довготривалої ремісії практично здоровими були 13 (10,4 %) дітей. У решти дітей – 112 (89,6 %) – виявлено різні відхилення у стані здоров’я. Найчастіше спостерігалися хвороби гепато-біліарної системи та шлунково-кишкового тракту. Зокрема, у 78 ( 62,4 %) дітей було виявлено носійство HbsAg у сироватці крові, при цьому тільки у 13 (10,4 %) з них спостерігалися клінічні прояви хронічного персистуючого гепатиту В або С з ознаками збільшення печінки (за даними УЗД) переважно за рахунок правої частки (права частка від 15,02 мм до 25,04 мм, ліва частка – від 45,01 мм до 55,07 мм)   
і без порушення структури гепато-біліарної системи, підвищення рівня трансаміназ (АлТ 124 ± 0,21 ммоль/л, АсТ 97,2 ± 0,11 ммоль/л) та ЛДГ (451,0 ± 0,32 ммоль/л) у сироватці крові. У двох дітей (n=2; 1,6 %) спостерігалася клініка рецидивуючої жовтяниці з підвищенням рівня білірубіну у 3-5 разів понад норму за рахунок прямої фракції. У 36 (28,8 %) дітей виявлено дискінезії жовчевивідних шляхів за гіпо- або гіперкінетичним типом, гастродуоденіти – у 10 (8 %) дітей. У 11 (8,8 %) дітей діагностовано хронічний панкреатит. Заслуговують на увагу зміни з боку серцево-судинної системи. Так, у 18 (14,4 %) дітей діагностовано вторинну кардіоміопатію. У незначної кількості дітей (n=17; 13,6 %) виявлено функціональні порушення нервової системи (вегето-судинну дисфункцію та астено-вегетативний синдром). Однією з поширених патологій у дітей на етапі довготривалої ремісії були захворювання носоротової порожнини. Зокрема, вазомоторний риніт діагностовано у чотирьох (3,2 %) дітей, хронічний риніт – у 18 (14,4 %), хронічний фарингіт – у трьох (2,4 %) дітей, хронічний синусит (верхньощелеповий, фронтальний) – у дев’яти (7,2 %) дітей. У 35 (28 %) дітей виявлено хронічний тонзиліт. Зокрема, компенсований хронічний тонзиліт діагностовано у 22 (62,9 %) дітей, субкомпенсований – у 10 (28,1 %) дітей та декомпенсований – у 3 дітей, що становило 8,6 %. Гіпертрофію аденоїдів виявлено у 17 (13,6 %) дітей. Карієс зубів виявлено у 37 дітей, що становило 29,6 %. Лімфаденопатії, які носили реактивнй характер, виявлено у 23 (18,4 %) дітей. Переважало збільшення підщелепових (n=16; 69,6 %) та передньошийних (n=7; 30,4 %) лімфатичних вузлів, що пов’язано із захворюваннями ротової порожнини та носоглотки, наявністю в них хронічних вогнищ інфекції, які потребували санації. Глистяну інвазію виявлено у двох дітей, що становило 1,6 %. Хвороби органів дихання на етапі довготривалої ремісії виявлено у 27 дітей з ГЛЛ, що становило 21,6 %. Переважали часті гострі респіраторні вірусні інфекції (n=12; 9,6 %) та респіраторний алергоз (n=10; 8 %), а саме астматичний бронхіт – у трьох (2,4 %) дітей та поліноз – у семи (5,6 %) дітей. Рецидивуючий бронхіт спостерігався у п’яти (4 %) дітей. У 15 (12 %) дітей, хворих на ГЛЛ, на етапі довготривалої ремісії спостерігалися зміни у щитоподібній залозі. Зокрема, вузлико- та кистоутворення (n=3; 2,4 %), аутоімунний тироїдит (n=1; 0,8 %), дифузний зоб І ступеня (n=11; 8,8 %). Збільшення щитоподібної залози ІІ–ІІІ ступеня серед обстежуваної групи дітей не виявлено. У двох (1,6 %) дітей підліткового віку виявлено ожиріння І ступеня з переважанням маси тіла на 10 % та на 29 % відповідно. Гіпоталамічний синдром встановлено у 3 (2,4 %) дітей. У 11 (8,8 %) осіб діагностовано анемію легкого та середнього ступеня. Основні показники червоної крові (RBC, MCV, MCH, MHCH), морфологічні ознаки (гіпохромія, анізопойкилоцитоз, мікроцитоз) та низький рівень сироваткового заліза свідчили про залізодефіцитний характер виявлених змін, які частіше спостерігалися у дівчаток та хлопчиків 10-14 років, тобто у період гормональної перебудови дитячого організму. Серед обстежених дітей на етапі довготривалої ремісії траплялися хвороби сечостатевої системи. Так, інфекції сечовивідних шляхів виявлено у 12 (9,6 %) дітей, а вульвіти та вульвовагініти – у 10 дівчаток, що становило 8 %. В однієї (0,8 %) дитини віком 12 років, яка перебувала у періоді довготривалої ремісії шість років виявлено гострий пієлонефрит.

Відповідно до критеріїв стратифікаціі дітей, хворих на ГЛЛ, до групи ризику, що мало вирішальне значення у виборі режиму хіміотерапії, розраховано коефіцієнт безподійного виживання (EFS) з урахуванням віку хворого, ініціальної кількості лейкемічних клітин у периферичній крові та кількості бластних клітин на 8-й день преднізолонової префази. За отриманими даними для дітей віком ≥ 3 – < 9 років EFS становив 0,80, а для дітей віком < 3 – ≥ 9 років – 0,59. Щодо ступеня лейкоцитозу перед початком програмної терапії (1-й день) ГЛЛ у дітей, зумовленого наявністю бластних клітин у периферичній крові, то при ініціальній кількості лейкоцитів до 1 Г/л EFS становив 0,70, а при ініціальній кількості лейкоцитів 1 Г/л і більше EFS становив 0,62. На особливу увагу заслуговує крива виживання дітей, хворих на ГЛЛ, враховуючи відповідь на преднізолон на 8-й день лікування. У дітей основної групи, в яких спостерігалася добра відповідь на преднізолон, EFS дорівнював 0,70. Однак у тих дітей, у яких відповідь на преднізолон на 8-й день лікування була не достатньою, чи взагалі відсутньою, EFS становив 0,50. Також виведено криві виживання дітей, хворі на ГЛЛ, залежно від приналежності їх до групи ризику. Так, для ГНР EFS становив 0,78, для ГСР – 0,70 та для ГВР – 0,42. Загальна крива виживання дітей, хворих на ГЛЛ показує, що EFS упродовж усього періоду спостереження становив 0,68.

За отриманими даними, середня тривалість Протоколу Іа (І) становила 74,62 ± 1,33 дні (р<0,05), Протоколу М – 67,24 ± 1,91 дні (р<0,05), а Протоколу ІІ – 63,32 ± 1,70 днів (р<0,05). Під час проведення програмної терапії ГЛЛ у дітей, враховуючи запропоновану стандартну тривалість протоколів (І – 64 дня, М –   
56 днів та ІІ – 49 днів), виникали зупинки у її проведенні. Частою причиною відтермінування терапії у протоколах І та ІІ була гранулоцитопенія. При проведенні цих протоколів зменшену кількість гранулоцитів (<0,5 Г/л) зареєстровано майже у половини хворих: у 59 (47,2 %) та у 48 (54,5 %) осіб відповідно. Лише у 19 (22,1 %) дітей гранулоцитопенію виявлено під час протоколу М. Не встановлено вірогідного розподілу цього ускладнення за статтю та віком у дітей, хворих на ГЛЛ (p<0,05). На фоні лейко- та гранулоцитопенії на етапах цитостатичного лікування згідно з протоколами І, М, ІІ у дітей, хворих на ГЛЛ, зареєстровано бактерійні ускладнення. У 54 % хворих інфікування викликані грам-негативними мікроорганізмами (*E. coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa)*, а у 42 % бактеріями грампозитивними (*S. epidermidis, S. aureus, Streptococcus haemolyticus)*. Основним місцем локалізації інфекції були шлунково-кишковий тракт і дихальні шляхи. Генералізований сепсис зареєстровано під час проведення протоколів І – у 8 (6,4 %) дітей та ІІ – у 2 (2 %) дітей. Інфікування дихальних шляхів діагностовано під час застосування протоколів І – у 11 (8,8 %) дітей, М – у 13 (15,1 %) дітей та ІІ – у 25 (28,4 %) дітей. У 7 (5,6 %) дітей тривалі перерви (понад 30 днів) були пов’язані з розвитком важкої інтерстиціальної пневмонії, викликаної *Pneumocystis carini*, прояви якої регресували під час проведення І протоколу. Одужання цих хворих відбулося на фоні застосування внутрішньовенного бісептолу. У протоколах І та ІІ у 12 дітей відзначали наявність запальних інфільтратів різної локалізації, з них – один випадок парапроктиту. У двох (1,6 %) дітей діагностовано гнійний менінгіт під час лікування за протоколом І та в однієї (1,1 %) дитини – остеомієліт малогомілкової кістки на етапі проведення ІІ протоколу. У дев’яти (7,2 %) та у двох (2,3 %) дітей з гранулоцитопенією під час поліхіміотерапії за протоколами І та ІІ єдиним проявом інфікування була гарячка без видимих вогнищ, так звана фебрильна нейтропенія. Бактерійні ускладнення частіше реєструвалися у дітей віком до трьох років (p<0,01). Під час інтенсивної цитостатичної терапії перебіг основного захворювання ускладнювався важкими грибковими ураженнями. Частіше це були мукозити, афтозний стоматит: під час І протоколу – у 36 (28,8 %) дітей, під час протоколу М – у 17 (19,8 %) дітей, та під час ІІ протоколу – у 37   
(42 %) дітей. У двох (1,6 %) дітей, хворих на ГЛЛ, на етапі протоколу І зареєстровано ураження печінки у вигляді абсцедування, в однієї (1,1 %) дитини під час протоколу ІІ перебіг основного захворювання ускладнився системним аспергільозом та кандидозним менінгоенцефалітом. У більшості дітей віком від п’яти до 13 років грибкові ускладнення реєструвалися під час проведення протоколу І (р<0,05), а у дітей віком до одного року та від шести до 12 років – під час проведення протоколу М (р<0,05). Інфікування грибком під час проведення протокольного лікування не залежало від статі дітей, хворих на ГЛЛ (р>0,05).

Під час застосування інтенсивного цитостатичного лікування ГЛЛ у дітей спостерігався геморагічний синдром, який був перешкодою для проведення терапії у необхідні терміни. Найчастішими його причинами були тромбоцитопенія (кількість тромбоцитів < 20 Г/л) або ДВЗ-синдром. Під час терапії за протоколом І у 10 (8 %) дітей зареєстровано геморагічний синдром. У них були значно виражені петехії і екхімози на шкірі та кровоточивість слизових оболонок, що поєднувались у п’яти (4 %) випадках з кровотечею зі шлунково-кишкового тракту, у трьох   
(2,4 %) дітей – з нирковою кровотечею та в однієї (0,8 %) дитини – з геморагічним інсультом. На цьому етапі лікування вірогідно частіше геморагічні прояви виникали у хлопчиків – 13,5 %, ніж у дівчаток – 2,1 % (р=0,048). Значно менше дітей мали кровоточивість під час проведення протоколів М та ІІ – лише по дві (у 2,7 % та у 2,3 % випадків) дитини, хворі на ГЛЛ. У цих дітей були виражені шкірно-геморагічні прояви на фоні тромбоцитопенії < 20 Г/л, що поєднувалося у двох випадках у протоколі М з гематурією та у протоколі ІІ – зі шлунково-кишковою кровотечею. Не знайдено зв’язку виникнення кровотеч під час протокольної терапії ГЛЛ з віком хворої дитини (р>0,05). У 13 (10,4 %) випадках під час проведення І протоколу та впродовж лікування за протоколом М і ІІ у 13 (15,1 %) та у 15 (17 %) дітей відповідно виникала необхідність у зупинці програмної терапії через розвиток гепатиту В і/або С з вираженим синдромом цитолізу. У двох хворих не вдалося провести протокол М через розвиток синдрому цитолізу (показники АлАТ та АсАТ перевищували норму у 20 разів; вони не отримали жодної із чотирьох доз метотрексату). Одній дитині не введено четверту інфузію метотрексату та двом дітям не проведено третє та четверте внутрішньовенне введення метотрексату. Інфікування гепатитом В і/або С під час проведення протокольного лікування не залежало від статі дітей, хворих на ГЛЛ (р>0,05). Однак вірогідно частіше гепатит реєструвався на етапі лікування за протоколом І у дітей, старших восьми років (р<0,001).

При аналізі зупинок протокольної терапії необхідно відзначити вплив токсичної дії цитостатиків у дітей, хворих на ГЛЛ. Під час проведення програмної терапії спостерігалися різноманітні ускладнення, що були перешкодою для її проведення у зазначені терміни або у подальшому не давали змоги продовжувати лікування у повному обсязі. При проведенні протоколів І та ІІ найчастіше спостерігалися периферична нейропатія після введення вінкристину – у 5 (4 %) та у 6 (6,8 %) дітей відповідно; кардіопатія після застосування антрациклінів – у 9 (7,2 %) та у 7 (7,9 %) дітей, хворих на ГЛЛ, відповідно. Через значне зниження фракції викиду міокарду троє (3,4 %) дітей не отримали двох введень адріаміцину у протоколі ІІ. Необхідно відзначити реакції, що виникали при застосуванні L-аспарагінази, токсичність якої була пов’язана з розвитком панкреатиту у шести (4,8 %) дітей, хворих на ГЛЛ та панкреанекрозу – в однієї (0,8 %) особи під час проведення І протоколу програмної терапії. Під час проведення ІІ протоколу у трьох (3,4 %) дітей основної групи спостерігалися панкреатити та в однієї (1,1 %) особи – панкреанекроз. Слід відзначити алергічні реакції різної форми, які спостерігалися у дітей, хворих на ГЛЛ, при лікуванні L-аспарагіназою. Зокрема, під час проведення І протоколу в одного (0,8 %) пацієнта розвинувся набряк Квінке, у дев’ятьох (10,2 %) дітей у ІІ протоколі – бронхоспазм. Кропивниця спостерігалася як у І (n=2; 1,6 %), так і у ІІ (n=6; 6,8 %) протоколах програмного лікування ГЛЛ у дітей, зумовлена введенням L-аспарагінази. У чотирьох (3,2 %) дітей, хворих на ГЛЛ, під час проведення І протоколу та в одного (1,1 %) пацієнта на етапі проведення ІІ протоколу були порушення системи гемостазу у вигляді тромбозу вен. У п’яти осіб це були пристінкові тромби у ділянці катетера, що перебував у v. subclavia, у двох дітей – тромбоз *v. femoralis* та у двох інших дітей – тромбоз обох *vv. jugularis*. У чотирьох дітей, хворих на ГЛЛ, всі інфузії L-аспарагінази супроводжувалися підвищенням температури тіла понад 380 С. У трьох (2,4 %) хворих відзначено енцефалопатію після введення циклофосфану на етапі проведення І протоколу та в однієї (1,1 %) дитини – під час ІІ протоколу. При проведенні протоколу М прояви токсикодермії (n=8; 9,3 %) та енцефалопатії (n=3; 3,5 %) спостерігалися на введення метотрексату, які майже рівномірно розподілялися за віком. При реєстрації токсичних реакцій не знайдено достовірної різниці залежно від віку та статі, проте під час проведення протоколів І та ІІ не було жодного випадку токсичної дії цитостатиків у дітей, старших 13 років, а у протоколі ІІ – дітей до одного року. Слід відзначити й інші причини, що призводили до перерв у хіміотерапії ГЛЛ у дітей. Це було насамперед гостре респіраторне захворювання, яке зареєстровано під час протоколів І, М та ІІ у 7 (5,6 %), у 9 (9,3 %) та у 8 (9,1 %) випадках відповідно. Причиною перерви понад 20 днів у цитостатичному лікуванні були вітряна віспа, на яку захворіли двоє (1,6 %) дітей під час терапії за протоколом І та двоє (2,3 %) – за протоколом М, а також одна (1,2 %) дитина, яка захворіла на кір під час М протоколу.

При дослідженні основних показників клітинного і гуморального імунітету, а також цитокінової мережі на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей виявлено неоднозначність їх змін.

Так, після проведення індукційного курсу програмної терапії у дітей, хворих на ГЛЛ,спостерігалося зниження рівня CD3+-лімфоцитів у периферичній крові незалежно від імунофенотипового підваріанту гемобластозу. Перед початком реіндукційного протоколу спостерігалася помітна регенерація CD3+-лімфоцитів. У підлітків 11 – 14 років з В+Т-ГЛЛ та у дітей від шести до десяти років з Т+Му-ГЛЛ відновлення CD3+-клітин було найкращим. Насторожує, що після закінчення інтенсивної фази цитостатичного лікування виникло різке зниження абсолютної кількості CD3+-лімфоцитів у периферичній крові. Особливо це було помітно у дітей наймолодшої вікової групи з В+Му-ГЛЛ та у дітей від шести до десяти років з В+Т-ГЛЛ. Після повного завершення програмної терапії ГЛЛ та під час довготривалої ремісії спостерігалася тенденція до поступового зростання вмісту CD3+-лімфоцитів у периферичній крові дітей основної групи. Краще регенерували Т-лімфоцити, які експресували на своїй поверхні CD3 антиген, у дітей найстаршої вікової групи. У цієї ж вікової групи дітей з В+Т- та Т-ГЛЛ під час довготривалої ремісії (понад п’ять років) показники CD3+-лімфоцитів крові виявилися найвищими.

При дослідженні рівня CD3+CD4+-лімфоцитів на етапі консолідації у дітей всіх вікових груп при різних імунофенотипових підваріантах ГЛЛ виявлено суттєве його зниження порівняно з таким у дітей контрольної групи. Причому найнижчі показники CD3+CD4+-клітин спостерігалися при В+Т+Му-ГЛЛ. Дещо вищим середнє значення Т-клітин, які експресували на своїй поверхні CD4 антиген, було у дітей від шести до десяти років з Т-ГЛЛ та підлітків 11 – 14 років з common-В-ГЛЛ. Під час проведення реіндукційного курсу цитостатичного лікування регенерація CD3+CD4+-лімфоцитів при всіх імунофенотипових підваріантах ГЛЛ була достатньою, особливо у дітей наймолодшої вікової групи з В+Т+Му-ГЛЛ та підлітків 11 – 14 років з common-В-ГЛЛ. Хоча на даному етапі дослідження спостерігалися добрі регенеративні процеси, проте показники CD3+CD4+-лімфоцитів суттєво відрізнялися від таких у дітей контрольної групи. На етапі підтримувального лікування виявлено суттєве зниження абсолютної кількості CD3+CD4+-клітин у периферичній крові і, насамперед, у дітей, в яких було діагностовано В-ГЛЛ з коекспресією мієлоїдних маркерів. Після повного завершення програмної терапії виявлено швидке зростання рівня CD3+CD4+-лімфоцитів. Найбільш помітним воно було у дітей з pro-B- та В+Т-ГЛЛ. У ранніх термінах довготривалої ремісії відновлення CD3+CD4+-лімфоцитів було повільним, особливо у дітей наймолодшої вікової групи з В+Му-ГЛЛ. Однак під час довготривалої ремісії понад п’ять років процеси регенерації Т-лімфоцитів з експресією CD4 антигена суттєво покращились. Показово, що на даному етапі дослідження тільки у дітей з Т-, В+Т- та В+Му-ГЛЛ показники CD3+CD4+-лімфоцитів досягли рівня вікової норми.

На особливу увагу заслуговує вивчення динаміки змін співвідношення CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-лімфоцитів у периферичній крові дітей різного віку, хворих на ГЛЛ, що дало можливість встановити шляхи регенерації CD4+- субпопуляції Т-лімфоцитів. За отриманими даними у дітей молодшої вікової групи (від одного до десяти років) перед початком програмної терапії при підвищених рівнях CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-клітин співвідношення RA:RO в середньому становило 0,93 ± 0,04. Під час проведення інтенсивної фази лікування, а також підтримувальної терапії при суттєвому зниженні рівнів CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-лімфоцитів співвідношення RA:RO в середньому становило 0,030 ± 0,009, що свідчить про паралельне зниження ізоформ CD45 лімфоцитів з високою (RA) та низькою (RO) молекулярними масами. Після завершення програмної терапії ГЛЛ у дітей віком від одного до десяти років основної групи спостерігалися аналогічні зміни у співвідношенні RA:RO, яке в середньому становило 0,057 ± 0,011. На ранніх термінах довготривалої ремісії підвищення рівня СD3+CD4+-лімфоцитів сильно корелювало з підвищенням рівня CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-лімфоцитів (rxy=0,87), а їх співвідношення у середньому становило 1,45 ± 0,13.

У дітей старших вікових груп, хворих на ГЛЛ, виявлено деякі відмінності у шляхах регенерації CD4+-лімфоцитів. Так, перед початком програмної терапії при підвищених рівнях CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-клітин співвідношення RA:RO в середньому становило 0,87 ± 0,04 і суттєво не відрізнялося від такого у дітей молодшої вікової групи, хворих на ГЛЛ, (р>0,05). Слід відзначити, що під час проведення інтенсивної фази лікування, підтримувальної терапії та при її завершенні на тлі знижених показників CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-лімфоцитів у периферичній крові дітей основної групи співвідношення RA:RO в середньому становило 0,012 ± 0,007, 0,067 ± 0,010 та 0,054 ± 0,006 відповідно. На ранніх термінах довготривалої ремісії спостерігалася незначна регенерація CD4+-лімфоцитів за рахунок CD4+CD45RO+ ізоформи, оскільки співвідношення RA:RO в середньому становило 0,301 ± 0,011. У більш пізніх термінах довготривалої ремісії (понад п’ять років) показники CD4+CD45RA+- та CD4+CD45RO+-лімфоцитів у периферичній крові підлітків 11 – 14 років, хворих на ГЛЛ, значно зросли, а співвідношення RA:RO у середньому становило 1,02 ± 0,17. Саме на цьому етапі поряд зі зростанням абсолютної кількості CD4+-лімфоцитів зростала кількість CD4+CD45RO+-клітин (rxy=0,96).

Шляхи регенерації CD3+CD4+-лімфоцитіву дітей різних вікових груп, хворих на ГЛЛ, показані на рис.1. та рис.2.

**CD4+CD45RA+**

CD3+CD4+-клітини (Г/л)

**шлях**

**тимус-залежний**

Рис. 1. Шлях регенерації CD3+CD4+-лімфоцитів

у дітей до 10 років, хворих на ГЛЛ

**CD4+CD45RО+**

CD3+CD4+-клітини (Г/л)

**тимус-незалежний**

**шлях**

Рис. 2. Шлях регенерації CD3+CD4+-лімфоцитів

у дітей після 10 років, хворих на ГЛЛ

Після проведення індукційного протоколу програмної терапії у дітей всіх вікових груп показники СD3+СD8+-клітин були низькими і майже не відрізнялися (0,1 ± 0,08 Г/л; 0,16 ± 0,04 Г/л; 0,15 ± 0,07 Г/л). На етапі консолідаційного курсу поліхіміотерапії виявлено низькі їх рівні незалежно від імунофенотипового підваріанту ГЛЛ у дітей. Найнижчими вони були у підлітків 11 – 14 років з В+Т+Му-ГЛЛ. Під час реіндукційного курсу цитостатичного лікування спостерігалося зростання показників CD3+CD8+-лімфоцитів периферичної крові. Найкращою регенерація CD3+CD8+-клітин була у дітей від шести до десяти років з В+Т-ГЛЛ, у підлітків 11 – 14 років з common-В- та В+Т-ГЛЛ. Слід зазначити, що у дітей наймолодшої групи особливо з pro-В-, В+Му- та Т+Му-ГЛЛ CD3+CD8+-клітини слабо регенерували. Після закінчення інтенсивної фази програмної терапії виявлено значне зниження рівня CD3+CD8+-лімфоцитів у периферичній крові дітей, хворих на ГЛЛ, з різними її імунофенотиповими підваріантами. Особливо це було помітно у дітей від одного до п’яти років з В+Му-ГЛЛ, від шести до десяти років з В+Т-ГЛЛ та підлітків 11 – 14 років з Т+Му-ГЛЛ. Наприкінці повного завершення програмної терапії ГЛЛ у дітей різного віку спостерігалася тенденція до зростання CD3+CD8+-лімфоцитів у периферичній крові. Найвищим воно було при pro-В, common-В та В+Т+Му підваріантах гострої лейкемії. У дітей наймолодшої групи відновлення CD3+CD8+-клітини було незначним, особливо з pre-В-ГЛЛ. Під час довготривалої ремісії показники CD3+CD8+-лімфоцитів залишались майже на тому ж рівні, який спостерігався після повного завершення цитостатичного лікування. Однак, у дітей старшої вікової групи (6 – 14 років) з Т-, В+Т-, В+Му- та В+Т+Му-ГЛЛ процеси відновлення CD3+CD8+-клітини проходили більш динамічно. CD3+CD8+-клітини регенерують швидше, ніж CD3+CD4+-Т-лімфоцити, за рахунок CD8+CD45RO+-клітин.

Аналіз індивідуальних показників CD3+CD8+-лімфоцитів свідчить про значну гетерогенність у зміні їх абсолютної кількості на різних етапах перебігу ГЛЛ. За отриманими даними регенерація CD8+-клітин відбувалася за рахунок CD8+CD28--лімфоцитів, які швидше, порівняно з CD8+CD28+-субпопуляцією лімфоцитів, досягли рівня вікової норми. Вже на етапі підтримувальної терапії у дітей, хворих на ГЛЛ, середній рівень CD8+CD28--клітин становив 0,24 ± 0,05 Г/л (p<0,05). Абсолютна кількість CD8+CD28--субпопуляції лімфоцитів при завершенні програмного лікування порівняно з попереднім етапом дослідження продовжувала зростати до рівня 0,34 ± 0,09 Г/л і майже на такому ж рівні утримувалася на ранніх термінах довготривалої ремісії (0,32 ± 0,08 Г/л). У пізніші терміни довготривалої ремісії рівень CD8+CD28--клітин дещо знизився до середнього значення 0,23 ± 0,09 Г/л (p>0,05). Щодо CD8+CD28+-субпопуляції лімфоцитів, то вони почали регенерувати на етапі завершення програмної терапії ГЛЛ у дітей з середнім значенням їх рівня 0,25 ± 0,08 Г/л. Слід відзначити, що CD8+CD28+-клітини перебували майже на такому рівні впродовж усього періоду спостереження на етапі довготривалої ремісії. Нами не виявлено суттєвої різниці між цим показником у дітей різних вікових груп, хворих на ГЛЛ, та у дітей контрольної групи. Слід також зазначити, що абсолютна кількість CD8+CD45RО+-лімфоцитів у периферичній крові дітей основної групи на різних етапах перебігу ГЛЛ мало відрізнялася з огляду на вік. Це свідчить про незалежність регенерації CD8+-лімфоцитів від віку дітей, яка відбувалася тимус-незалежним шляхом (рис.3, рис.4).

**CD8+CD28-**

**CD8+CD45RО+**

CD8+-лімфоцити (Г/л)

**шлях**

**тимус-незалежний**

Рис. 3. Шлях регенерації CD3+CD8+-лімфоцитів

у дітей до 10 років, хворих на ГЛЛ

**CD8+CD28-**

**CD8+CD45RО+**

CD8+-лімфоцити (Г/л)

**шлях**

**тимус-незалежний**

Рис. 4. Шлях регенерації CD3+CD8+-лімфоцитів

у дітей після 10 років, хворих на ГЛЛ

Після проведення індукційного курсу програмної терапії ГЛЛ у   
дітей спостерігалося суттєве зниження рівняCD16+CD56+-лімфоцитів у периферичній крові незалежно від віку та імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу. Найменшим показник NK-клітин виявився у дітей від одного до п’яти років з В+Му-ГЛЛ. Заслуговує на увагу, що на даному етапі дослідження тільки у підлітків 11 – 14 років з common-В-ГЛЛ середній рівень CD16+CD56+-лімфоцитів у периферичній крові був найвищим. Упродовж двотижневої перерви між консолідаційним та реіндукційним курсами цитостатичного лікування спостерігалося незначне відновлення NK-клітин. Найкраще процеси регенерації проходили у дітей від шести до десяти років з common-В-ГЛЛ. Однак, у дітей наймолодшої вікової групи відновлення CD16+CD56+-лімфоцитів відбувалося повільно. На етапі підтримувального лікування, незалежно від віку дітей основної групи, а також імунофенотипового підваріанту гострої лейкемії спостерігалося подальше зниження абсолютної кількості NK-клітин у периферичній крові. Воно було більш вираженим, порівняно з тим, що спостерігалося після проведення індукційного протоколу. Насамперед, це стосувалося дітей з В+Т, В+Му та Т+Му імунофенотиповими підваріантами ГЛЛ. Після повного завершення цитостатичного лікування лімфоцити з експресією CD16+CD56+ антигенів слабо регенерували. Така закономірність спостерігалася й у ранніх та пізніх термінах довготривалої ремісії. І хоча зростання рівня CD16+CD56+-лімфоцитів у периферичній крові було ускладненим, все ж таки у пізніх термінах довготривалої ремісії (понад п’ять років) кращі регенеративні процеси спостерігалися у дітей від шести до десяти років та підлітків 11 – 14 років з Т- та Т+Му-ГЛЛ.

Щодо CD19+-лімфоцитів у периферичній крові дітей з різними імунофенотиповими підваріантами ГЛЛ виявлено суттєве зниження їх рівня як під час інтенсивної фази цитостатичного лікування, так і на етапі підтримувальної терапії. Особливо це було помітно у дітей від одного до десяти років з common-B-ГЛЛ та В+Му-ГЛЛ, а також у підлітків 11 – 14 років з pre-B-ГЛЛ. Після завершення усього курсу поліхіміотерапії рівень CD19+-лімфоцитів залишався низьким. Під час довготривалої ремісії від одного до трьох років зафіксовано початкову регенерацію CD19+-лімфоцитів у дітей основної групи. Цей показник досягнув рівня вікової норми у пізні терміни повного одужання. Зокрема, помітнішими були процеси відновлення CD19+-клітин у дітей наймолодшої вікової категорії з prо-B-ГЛЛ та Т+Му-ГЛЛ імунофенотиповими підваріантами ГЛЛ. У дітей шести-десяти років основної групи найкраща регенерація CD19+-лімфоцитів була при pro-B-ГЛЛ, В+Му-ГЛЛ та common-ГЛЛ. Щодо підлітків 11 – 14 років, то найкраще CD19+-клітини регенерували при pro-B-ГЛЛ та pre-B-ГЛЛ.

До початку програмної терапії під час розподілу рівнів концентрацій IgA, IgG та IgМ у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ, у розгорнутій клінічній стадії захворювання виявлено значні відхилення щодо вмісту сироваткового IgG (13,31 ± 0,29 г/л), що суттєво відрізнялося від такого у дітей контрольної групи (p<0,05). Слід зазначити, що у хворих від шести до десятироків основної групи підвищення концентрації сироваткового IgG було більш помітним. Однак порівняно з іншими віковими категоріями дітей, хворих на ГЛЛ, суттєвої різниці не виявлено (p>0,05). Спостерігалося суттєве зниження окремих показників фракцій сироваткового IgG, зокрема IgG1 у дітей всіх вікових груп до рівня 5,27 ± 0,49 г/л (р<0,05). Більш помітними такі зміни були у підлітків 11 – 14 років (4,57 ± 0,37 г/л), однак вони суттєво не відрізнялися від змін у дітей інших вікових категорій з даним гемобластозом (p>0,05). Привертає увагу підвищення концентрації IgG2 фракції у сироватці крові дітей основної групи, що суттєво відрізнялася від такої у дітей контрольної групи (p<0,05). Рівень IgG2 у дітей від одного до п’яти років становив 2,71 ± 0,29 г/л (р<0,05). У дітей від шести до десяти років та підлітків 11 – 14 років основної групи ці показники були дещо меншими, з середніми значеннями 2,67 ± 0,31 г/л та 2,68 ± 0,37 г/л відповідно. Не виявлено суттєвої різниці між показниками IgG2 фракції у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ, з огляду на вік (p>0,05). Перед початком програмної терапії середня концентрація IgG3 та IgG4 фракцій у сироватці крові дітей основної групи не залежала від віку і суттєво не відрізнялася від такої у дітей контрольної групи (p>0,05). Помітної різниці між середніми рівнями концентрації сироваткового IgM у дітей різних вікових груп з ГЛЛ порівняно з такими у дітей контрольної групи нами не виявлено. Середні рівні IgA у сироватці крові дітей різних вікових груп з ГЛЛ істотно не відрізнялися від таких у дітей контрольної групи. Більш помітними були зміни його концентрації у дітей віком від шести до десяти років основної групи.

Вивчено кореляційні взаємозв’язки між вмістом IgA, IgG, та IgM у сироватці крові дітей різних вікових груп на час встановлення діагнозу ГЛЛ. За отриманими даними у дітей усіх вікових груп, спостерігалася сильна пряма залежність концентрацій IgG та IgA, яка суттєво відрізнялася від такої у дітей контрольної групи (р<0,05). Найсильнішим був кореляційний зв’язок у дітей від шести до десяти років, що становив 0,82 з додатнім значенням. Під час проведення кореляційного аналізу у дітей наймолодшої вікової групи та у підлітків 11 – 14 років виявлено сильний кореляційний взаємозв’язок показників сироваткових IgG та IgA (rxy=0,71 та rxy=0,78 відповідно). Аналогічна закономірність спостерігалася при аналізі кореляційних взаємозв’язків вмісту IgG і IgМ та IgМ і IgA у сироватці крові дітей усіх вікових груп. Зокрема, у дітей від шести до десяти років спостерігалася тісна позитивна кореляційна залежність показників сироваткових IgG і IgМ та IgМ і IgA (rxy=0,62 та rxy=0,63 відповідно). І, хоча вона була сильнішою порівняно з такою у дітей наймолодшої та найстаршої вікових груп, однак суттєвої різниці між показниками кореляційного взаємозв’язку в останніх не виявлено. Враховуючи те, що одним із прогностичних критеріїв перебігу ГЛЛ у дітей є вміст бластних клітин у кістковому мозку та периферичній крові, ми вивчали можливий їх взаємозв’язок із концентраціями IgМ, IgA, IgG та субкласами IgG у сироватці крові. Отже, спостерігався сильний кореляційний взаємозв’язок із протилежним значенням абсолютної кількості бластних клітин у периферичній крові та концентрації IgМ у сироватці крові дітей основної групи. Найсильнішим він виявився у дітей від одного до п’яти років (rxy= - 0,59; p<0,05) та від шести до десяти років (rxy= - 0,62; p<0,05). Дещо слабшим цей зв’язок був у 11 – 14-річних підлітків (rxy= - 0,52; p<0,05). Майже відсутній кореляційний взаємозв’язок вмісту бластних клітин у периферичній крові та концентрацій IgG і IgА у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ. Слід наголосити, що взаємозв’язок з показниками сироваткового IgА та бластних кітин у периферичній крові був зворотним, а з IgG – прямим у дітей усіх вікових груп.

Щодо субкласів IgG у сироватці крові дітей основної групи нами виявлено сильний кореляційний взаємозв’язок зі зворотним напрямом між абсолютною кількістю бластних клітин у периферичній крові та сироватковим IgG1. Зокрема, у дітей наймолодшої вікової групи він становив - 0,53 (р<0,05), а у підлітків 11 – 14 років – - 0,55 (р<0,05). У дітей від шести до десяти років це співвідношення становило - 0,57. Також встановлено прямий кореляційний взаємозв’язок середньої сили концентрацій сироваткового IgG2 та вмісту бластних клітин у периферичній крові. Найсильнішим він виявився у дітей віком від одного до п’яти років (rxy= 0,48; p<0,05) та підлітків 11 – 14 років (rxy= 0,47; p<0,05). У дітей від шести до десяти років цей кореляційний взаємозв’язок був найслабшим і становив 0,39 (р<0,05). Показово, що під час проведення кореляційного аналізу у дітей, хворих на ГЛЛ, перед початком програмної терапії зв’язок концентрацій IgG3 і IgG4 у сироватці крові та абсолютної кількості бластних клітин у периферичній крові майже втрачався. Особливо це було помітно у дітей від шести до десяти років.

На етапі консолідаційного курсу цитостатичного лікування спостерігалося достовірне зниження рівнів IgА у сироватці крові дітей усіх вікових груп незалежно від імунофенотипового підваріанту ГЛЛ порівняно з такими у дітей контрольної групи. Після завершення реіндукційного протоколу програмної терапії у групі дітей від одного до десяти років зареєстровано поглиблення дефіциту сироваткового IgA. Особливо це було помітно у дітей з Т- та В+Т-імунофенотиповими підваріантами гострої лейкемії. Слід зазначити, що під час підтримувального лікування у дітей молодшої вікової групи показники IgA у сироватці крові залишалися на низькому рівні. Проте, у підлітків 11 – 14 років спостерігалася тенденція до зростання концентрації сироваткового IgA, яка майже не відрізнялася від такої у дітей контрольної групи. Після повного завершення програмної терапії, а також у ранніх термінах довготривалої ремісії виявлено зростання рівня IgA у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ. Найшвидші темпи відновлення даного імуноглобуліну зафіксовані у дітей від одного до п’яти років та підлітків 11 – 14 років з Т- , В+Му- та Т+Му-ГЛЛ. Однак, у дітей від шести до десяти років на даному етапі дослідження спостерігалася торпідність регенеративних процесів. У пізні терміни довготривалої ремісії виявлено суттєве зростання рівня сироваткового IgA у дітей старшої вікової групи. Особливо помітними регенеративні процеси були у підлітків 11 – 14 років з В+Т+Му- та Т+Му-ГЛЛ, що у 2,5 рази перевищило вікову норму. Показово, що у дітей наймолодшої вікової групи на даному етапі дослідження зростання концентрації IgA у сироватці крові було повільним. Переважно це спостерігалось у дітей з В+Т- та pre-В-ГЛЛ.

Перед початком консолідаційного курсу поліхіміотерапії у дітей, хворих на ГЛЛ, незалежно від їх віку та імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу середні показники сироваткового IgM були низькими та істотно відрізнялися від таких у дітей контрольної групи (p<0,05). Перед початком реіндукційного протоколу цитостатичного лікування зафіксовано поглиблення дефіциту IgM у сироватці крові. Однак на етапі підтримувальної терапії спостерігалося зростання вмісту даного імуноглобуліну. Особливо це помітно у дітей наймолодшої вікової групи. У них середня концентрація сироваткового IgM перевищила таку у дітей контрольної групи (1,40 ± 0,29 г/л та 1,24 ± 0,12 г/л відповідно). Найвищою вона була при common-, pro-B- та B+My-ГЛЛ (1,45 ± 0,23 г/л, 1,45 ± 0,22 г/л та 1,45 ± 0,21 г/л відповідно). Аналогічна закономірність спостерігалася після повного завершення програмної терапії. На різних етапах довготривалої ремісії концентрація IgM у сироватці крові дітей основної групи продовжувала зростати. Проте тільки у дітей наймолодшого віку, незалежно від імунофенотипового підваріанту хвороби, вміст сироваткового IgM досяг вікової норми. У дітей від шести до десяти років основної групи спостерігалася тенденція до зростання концентрації IgM у сироватці крові. Однак вона не досягла вікової межі і найменшою виявилася у дітей з common-, B+Т- та Т-ГЛЛ. Насторожує те, що у підлітків 11 – 14 років тільки на ранніх термінах довготривалої ремісії вміст IgM у сироватці крові був таким, як у дітей контрольної групи, але у більш пізні терміни повного їх одужання спостерігалося суттєве зниження концентрації досліджуваного імуноглобуліну до рівня 1,20 ± 0,22 г/л (p<0,05).

Перед початком консолідаційного курсу поліхіміотерапії у дітей, хворих на ГЛЛ, спостерігалися низькі рівні сироваткового IgG незалежно від імунофенотипового підваріанту хвороби. Показово, що на даному етапі дослідження рівень IgG у сироватці крові дітей шести-десяти років основної групи був високим та істотно відрізнявся від такого у дітей контрольної групи (9,54 ± 0,27 г/л та 8,39 ± 0,25 г/л відповідно, (p<0,05)). Найвищим цей показник зафіксовано у хворих з pre-B- та В+Т-ГЛЛ (9,65 ± 0,23 г/л та 9,69 ± 0,25 г/л відповідно). Під час реіндукційного протоколу концентрація IgG у сироватці крові продовжувала знижуватися, особливо у підлітків 11-14 років. Заслуговує на увагу те, що найбільший дефіцит досліджуваного імуноглобуліна виявлено у дітей основної групи з коекспресією мієлоїдних маркерів. А саме: В+Му- (3,97 ± 0,25 г/л), В+Т+Му- (3,93 ± 0,26 г/л) та Т+Му-ГЛЛ (3,85 ± 0,26 г/л). На етапі підтримувальної терапії спостерігалося помірне зростання вмісту IgG у сироватці крові. Більш динамічним воно було у 11-14-ти річних підлітків з «чистою» В- та «чистою» Т-ГЛЛ. Тривожним є те, що на даному етапі дослідження у дітей віком від одного до п’яти років з В+Му-ГЛЛ концентрація сироваткового IgG залишалась на низькому рівні (3,91 ± 0,37 г/л, p<0,05). У період повного завершення цитостатичного лікування, а також у ранні терміни довготривалої ремісії у дітей з різними імунофенотиповими підваріантами хвороби спостерігалось подальше зростання вмісту IgG у сироватці крові. Проте його рівень все ж не досяг вікової норми і суттєво відрізнявся від такого у дітей контрольної групи (p<0,05). У більш пізні терміни довготривалої ремісії показник сироваткового IgG максимально наблизився до такого, який спостерігався у дітей контрольної групи. Зазначимо, що у підлітіків 11-14 років з common-B- та В+Т+Му-ГЛЛ концентрація IgG у сироватці крові була найвищою порівняно з іншими віковими групами дітей, імунофенотиповими підваріантами хвороби та етапами дослідження.

Досліджено також вміст IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 та TNF-α у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ. Так, перед початком цитостатичного лікування у дітей, хворих на ГЛЛ, спостерігалася висока цитокінова активність. Під час проведення програмної терапії, а також на етапі повного її завершення рівні досліджуваних цитокінів у сироватці крові дітей основної групи були низькими. Під час довготривалої ремісії концентрація досліджуваних цитокінів у сироватці крові була різною. За отриманими даними тільки показники IL-6, IL-10 та TNF-α були на межі вікової норми. Щодо IL-2 та IL-8, то їх вміст у сироватці крові залишався субнормальним. Аналіз кореляційних взаємозв’язків між окремими цитокінами показав, що у дебюті хвороби вони були досить сильними, окрім IL-8, який слабо корелював з досліджуваними інтерлейкінами. Під час проведення цитостатичного лікування, а також на етапі його завершення кореляційні взаємозв’язки досліджуваних цитокінів залишались сильними. Навіть IL-8 посилив свій зв’язок з окремими інтерлейкінами. Аналогічна закономірність спостерігалася й у різні терміни довготривалої ремісії. Заслуговує на увагу, що тільки один з досліджуваних цитокінів – TNF-α – майже на всіх етапах перебігу ГЛЛ у дітей мав слабкі кореляції з інтерлейкінами, що вивчались. Слід зазначити, що цитокіни по-різному співвідносились з окремими показниками клітинного та гуморального імунітету. Насамперед це залежало від етапу перебігу хвороби. Однак у переважній більшості випадків вони слабо корелювали з окремими субпопуляціями Т-лімфоцитів. Особливо це було помітно під час проведення інтенсивної фази цитостатичного лікування, а також на етапі підтримувальної терапії, де сила кореляційних взаємозв’язків цитокінів та імунокомпетентнх клітин майже втрачалася. Після повного завершення програмного лікування спостерігались інверсійні зміни у кореляційних взаємозв’язках досліджуваних цитокінів та окремих показників клітинного і гуморального імунітету. Вони полягали у тому, що у ранні терміни довготривалої ремісії виявлено сильний зв’язок окремих цитокінів з сироватковими імуноглобулінами, тоді як у більш пізні терміни – з Т- і В-лімфоцитами.

Особливу увагу привертає висока цитокінова активність у сироватці крові дітей під час виникнення рецидиву ГЛЛ, яка не залежить від імунофенотипового підваріанту хвороби. Показовою є динаміка змін вмісту досліджуваних цитокінів у сироватці крові дітей з огляду на термін виникнення рецидиву хвороби. Отже, чим пізніше виникає рецидив ГЛЛ, тим концентрація у сироватці крові таких цитокінів як TNF-α та IL-6 зростає. Щодо інтерлейкіна 8, то він має особливу тенденцію до різкого зниження, особливо при пізньому рецидиві хвороби, набуваючи субнормального значення. Стосовно IL-10, то він є єдиним, концентрація якого у сироватці крові залишається незмінною на рівні вікової норми, незалежно від терміну виникнення рецидиву ГЛЛ.

Проаналізовано кореляційні взаємозв’язки між основними показниками імунної системи та частотою виникнення генералізованих інфекційних ускладненнях і локалізованих вогнищах інфекцій на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей. За отриманими даними, під час проведення програмного лікування, незалежно від фази цитостатичної терапії, спостерігалися прямі сильні кореляційні взаємозв’язки між частотою виникнення генералізованих інфекційних ускладнень і локалізованих вогнищ інфекції та Т-клітинною ланкою імунітету, а також досліджуваними цитокінами. Зазначимо, що активність CD19+-лімфоцитів на даному етапі дослідження під час виникнення інфекційних ускладнень була низькою, незалежно від ступеня їх поширення. Характерно, що при цьому гуморальна ланка опірності дитячого організму активно реагувала у відповідь на виникнення як септичних станів, так і локалізованих інфекційних вогнищ. Привертає особливу увагу під час ремісії до одного року спостерігалася імунна анергія – «імунний пролапс», – яка характеризувалася кількісними і якісними змінами у клітинній, гуморальній та цитокіновій ланках імунної системи, а саме – різко зниженою абсолютною кількістю окремих субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, сироваткових імуноглобулінів та цитокінів, торпідністю регенеративних процесів, а також порушенням їх взаємодії під час виникнення інфекційних ускладнень. При подальшому спостереженні (ремісія до п’яти років) у дітей основної групи виявлено суттєве посилення зв’язку між частотою виникнення генералізованих інфекційних ускладнень та локалізованих вогнищ інфекції з клітинною і гуморальною ланками імунної системи, а також цитокінами. Зазначимо, що покращення функціональної взаємодії окремих ланок опірності дитячого організму супроводжувалося зростанням основних показників імунної системи.

На підставі продемонстрованої динаміки кількісних і якісних змін імунологічних показників у поєднанні з закономірностями проявів інфекційних ускладнень (локалізованих та генералізованих) виділено наступні етапи формування імуносупресивних станів у дітей, хворих на ГЛЛ, які отримали

лікування за програмою ГЛЛ-ДГЛЛУ-93’95. А саме:

І етап – *0-8-й день* *І протоколу* (преднізолонова префаза) – початкові ознаки супресії гранулоцитів, NK-, CD3+, CD3+CD4+- і CD3+CD8+-клітин з незначно вираженими проявами інфекційних ускладнень.

ІІ етап – *9-22-й день І протоколу* (преднізолон, вінкристин, рубоміцин, L-аспарагіназа) – прогресуюча супресія як клітинного (всі субпопуляції Т-лімфоцитів, В-клітини, натуральні кілери), так і гуморального імунітету (IgG), а також гранулоцитів з розвитком клінічних компенсованих локальних форм інфекційних ускладнень.

ІІІ етап – *23-36-й день І протоколу* (преднізолон, вінкристин, рубоміцин, L-аспарагіназа) – критичний рівень супресії клітинного і гуморального імунітету, а також гранулоцитів з розвитком генералізованих (потенційно летальних) форм інфекційних ускладнень.

IV етап – *37-64-й день І протоколу* (циклофосфан, цитозар, 6-меркаптопурин) – початкові ознаки відновлення вмісту гранулоцитів та окремих субпопуляцій Т-лімфоцитів (CD3+CD8+) зі збереженням глибоко пригніченого гуморального імунітету. В цей період помірно виражені локалізовані (клінічно компенсовані) інфекційні процеси.

V етап – *інтервали між протоколами* (І-М, М-ІІ), *а також М-протокол* (6-меркаптопурин, високодозовий метотрексат) – тимчасове, майже повне відновлення вмісту гранулоцитів та окремих субпопуляцій Т-лімфоцитів (особливо CD3+CD8+), а також В-клітин.

VІ етап – *протокол ІІ* (дексаметазон, вінкристин, адріаміцин, L-аспарагіназа, циклофосфан, цитозар, 6-тіогуанін) – другий період критичної супресії гранулоцитів, клітинного і гуморального імунітету з розвитком важких (в тому числі генералізованих) форм інфекційних ускладнень.

VII етап – *від закінчення програмної терапії до ремісії тривалістю один рік.* Спостерігається імунна анергія («пролапс»), коли досліджувані ланки імунної системи мають значні кількісні і якісні зміни. Діти у цей період перебувають у домашніх умовах за відсутності контролю лікаря.

З урахуванням вищезгаданого розроблено алгоритм діагностики і корекції імунологічних порушень у дітей, хворих на ГЛЛ (рис. 5).

Отже, у дітей, хворих на ГЛЛ, на тлі хвороби та цитостатичної терапії розвиваються різко виражені порушення у клітинній, гуморальній і цитокіновій системах, що визначають імунну відповідь на патологічні процеси. Дані, отримані нами в результаті моніторингу основних імунологічних показників на різних етапах перебігу ГЛЛ, свідчать про достатньо складний характер впливу самої хвороби і програмної терапії на вміст і функцію різних субпопуляцій імунокомпетентних клітин, сироваткових імуноглобулінів та інтерлейкінів, що характеризується різною чутливістю їх до хіміотерапевтичних середників і різною кінетикою відновлення.



Рис. 5 Алгоритм діагностики і корекції імунологічних порушень у дітей, хворих на ГЛЛ

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної проблеми педіатрії – уточнення механізмів розвитку вторинного імунодефіциту та створення сучасної системи його діагностики при ГЛЛ у дітей. Окреслену проблему автор спроектував на клітинну та гуморальну ланки опірності дитячого організму, а також цитокінову мережу на різних етапах перебігу даного гемобластозу. На підставі проведених досліджень запропоновано додаткові імунологічні маркери перебігу ГЛЛ у дітей.
2. Встановлено, що серед сибсів пробанда, хворого на ГЛЛ, злоякісні пухлини не діагностуються. Однак серед родичів пробанда з ГЛЛ ІІ ступеня спорідненості частіше зустрічаються онкологічні захворювання по батьківській лінії, а серед родичів ІІІ ступеня – по материнській лінії. У дітей, хворих на ГЛЛ, виявляється різний спектр природжених вад розвитку, однак їх частота не велика.
3. Під час інтенсивної фази цитостатичного лікування ГЛЛ у дітей збільшується частота вірусно-бактеріальних і мікотичних інфекцій у   
   І протоколі до 77,6 % випадків, під час М протоколу – до 63,9 % випадків та у   
   ІІ протоколі – до 96,8 % випадків, що здовжує зазначені терміни проведення протокольної терапії на 23,4 % та у подальшому не дозволяє продовжувати її у повному обсязі.
4. На етапі довготривалої ремісії у 89,1 % дитини, хворої на ГЛЛ, виявлено різні відхилення у стані здоров’я. Найчастіше спостерігаються хвороби ротової порожнини та носоглотки (46,4 % пацієнтів), шлунково-кишкового тракту та гепатобіліарної системи (25,6 % пацієнтів). Необхідно відзначити, що у 62,4 % дітей, хворих на ГЛЛ, діагностовано гепатит В/С.
5. Регенерація CD3+CD4+-лімфоцитів у дітей до 10 років відбувається тимус-залежним шляхом (за рахунок CD4+CD45RA+-лімфоцитів), тоді як у підлітків 11 – 14 років переважають тимус-незалежні (CD4+CD45RО+-лімфоцити) механізми відновлення цих клітин. CD3+CD8+-клітини регенерують швидше за рахунок їх CD8+CD28- субпопуляції. Вони не потребують резидуальної тимічної активності і повністю відновлюються менш ніж за три місяці після повного завершення програмного лікування (0,29 Г/л).
6. У розгорнутій клінічній фазі ГЛЛ у дітей спостерігається зниження концентрації ІgМ (1,43 г/л) та підвищення вмісту IgG (13,31 г/л), а також дисбаланс рівнів IgG1 (5,06 г/л) та IgG2 (2,69 г/л) у сироватці крові, що свідчить про реакцію неспецифічного гуморального імунітету у відповідь на патологічний процес. Під час цитостатичної терапії ГЛЛ у дітей спостерігається суттєве зниження показників сироваткових імуноглобулінів, які після її завершення поступово відновлюються.
7. Зміни окремих показників клітинного імунітету залежать від імунофенотипового підваріанту ГЛЛ у дітей. Добра їх регенерація спостерігається при «чистій» В- і Т-ГЛЛ. Присутність мієлоїдних маркерів як на В-, так і на Т-бластах у динаміці хвороби стимулюють процеси відновлення імунокомпетентних клітин. Зміни у гуморальній ланці імунітету не залежать від імунофенотипового підваріанту хвороби.
8. У дебюті ГЛЛ у дітей спостерігається висока цитокінова активність, яка не залежить від імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу. При рецидивах хвороби, незалежно від терміну його виникнення, зростає концентрація IL-6 (13,67 pg/ml) і TNF-α (66,93 pg/ml) та знижується вміст IL-8 (22,06 pg/ml) у сироватці крові, що супроводжується сильним взаємозв’язком досліджуваних цитокінів із бластними клітинами, незалежно від їх абсолютної кількості у периферичній крові. Це дозволяє виділити IL-6, IL-8 та TNF-α як додаткові імунологічні маркери перебігу ГЛЛ у дітей.
9. Вторинний імунодефіцит у дітей, хворих на ГЛЛ, враховуючи кількісні і якісні зміни імунологічних показників у поєднанні з закономірностями проявів інфекційних ускладнень (локальних, генералізованих) формується поетапно. Найбільш критичні рівні супресії клітинного і гуморального імунітету, а також гранулоцитів з розвитком потенційно летальних форм інфекційних ускладнень спостерігаються на 23-36-й дні І протоколу та у ІІ протоколі.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. При підозрі природжених вад розвитку у дітей, хворих на ГЛЛ, доцільно звернути увагу на виявлення рідкісної патології – Nijmegen-Breakage-синдром – пов’язаної з вродженим дефектом в імунній системі, схильністю до онкологічних захворювань, зокрема ГЛЛ, та мутацією 657de15.
2. Для виявлення вторинних імунодефіцитних станів та своєчасного застосування у достатньому обсязі супровідної терапії захисту при ГЛЛ у дітей рекомендовано здійснювати імунологічний моніторинг (CD3+CD4+-, CD3+CD8+-, CD16+CD56+- та CD19+-клітин, IgA, IgM, IgG, гранулоцитів) під час І та ІІ протоколів програмного лікування та у термін довготривалої ремісії до одного року.
3. При встановленні діагнозу ГЛЛ у дітей доцільно використовувати широку панель МКАТ для надання максимальної характеристики антигенної структури мембрани бластних клітин, оскільки зміни основних показників імунної системи залежать від імунофенотипового підваріанту даного гемобластозу. Такий підхід дасть змогу більш індивідуально застосовувати супровідну терапію, що зменшить небажані перерви під час проведення цитостатичного лікування та підвищить її ефективність.
4. Для моніторингу активності неопластичного процесу при ГЛЛ у дітей рекомендовано використовувати такі імунологічні маркери як IL-6, IL-8 та TNF-α, що сприятиме стратегічному вирішенню подальшої лікувально-діагностичної тактики.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Кіцера Н.І, Дубей Л.Я., Дорош О.І., Поліщук Р.С., Скоропад Л.Л., Логінський В.Є. Частота і характер злоякісних пухлин серед родичів дітей з гострою лімфобластною лейкемією // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип.1 (54). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2004. – С. 189-196. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено родоводи дітей, хворих на ГЛЛ, проведено статистичну обробку та аналіз даних.*
2. Дубей Л.Я., Логінський В.Є., Поліщук Р.С., Глинська О.В., Цимбалюк І.П., Трояновська О.О., Дорош О.І., Скоропад Л.Л., Степанюк О.І., Купчак О.І., Дубей Н.В., Кіцера Н.І. Особливості Т-клітинного імунітету у дітей з гострою лімфобластною лейкемією під час проведення хіміотерапії та в різні терміни довготривалої ремісії // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип. 9 (62). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2004. – С. 224-234. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено субпопуляції Т-лімфоцитів на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей,проведено обробку та аналіз даних.*
3. Дубей Л.Я., Дубей Н.В., Купчак О.І., Логінський В.Є. Характеристика факторів біологічного анамнезу у дітей до встановлення діагнозу гострої лімфобластної лейкемії у дітей // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип. 3 (66). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2005. – С. 27-34. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, виділено фактори біологічного анамнезу, проведено статистичну обробку отриманих результатів та їх аналіз.*
4. Дубей Л.Я., Дубей Н.В. Стан периферичної крові у дітей з гострою лімфобластною лейкемією на різних етапах лікування та термінах довготривалої ремісії // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип. 4 (67). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2005. – С. 283-295. *Здобувачем досліджено гемограму на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
5. Дорош О.І., Дубей Л.Я., Дубей Н.В. Дослідження поверхневих антигенів бластних клітин у дітей з гострою лімфобластною лейкемією перед початком програмної терапії // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип. 5 (68). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2005. – С. 99-107. *Здобувачем досліджено поверхневі маркери на бластних клітинах, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
6. Дорош О.І., Дубей Л.Я. Прогностичне значення ранньої відповіді на преднізолон у дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію, при застосуванні протокольного лікування // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр., вип. 6 (69). – К.: - Луганськ – Харків: б/в 2005. – С. 134-143. *Здобувачем оцінено загальноклінічні та цитологічні дані, досліджено імунофенотиповий профіль бластних клітин, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
7. Дорош О.І., Виговська Я.І., Поліщук Р.С., Цимбалюк І.П., Трояновська О.О., Скоропад Л.Л., Степанюк О.І., Дубей Л.Я., Козлова О.І., Миндюк О.В.// Прогнозування наслідків лікування гострої лімфобластної лейкемії у дітей на основі клініко-гематологічних характеристик // Практ. медицина. – 2005. – Т. 11, №.1. – С. 13-19. *Здобувачем досліджено загально-клінічні, цитологічні, цитохімічні та імунофенотипові показники*, *проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
8. Трояновська О.О., Няньковський С.Л., Дубей Л.Я. Дослідження показників Т-клітинного імунітету та периферчиної крові у дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію, у період І ремісії для оптимізації супровідної антимікотичної терапії // Практ. медицина. – 2005. – Т. 11, №.3. – С. 42-45. *Здобувачем досліджено Т-клітинні субпопуляції лімофцитів периферичної крові, а також виділено етапи формування локалізованих та генералізованих вогнищ інфекції.*
9. Дубей Л.Я., Купчак О.І., Поліщук Р.С., Трояновська О.О., Цимбалюк І.П., Скоропад Л.Л., Дубей Н.В., Мацик Г.В., Логінський В.Є. Деякі показники гуморального імунітету у дітей з гострою лімфобластною лейкемією під час проведення хіміотерапії та у період довготривалої ремісії // Онкологія. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 230-234. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено концентрацію імуноглобулінів у сироватці крові, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
10. Дубей Л.Я. Динаміка рівня NK-клітин у дітей з гострою лімфобластною лейкемією на різних етапах лікування та в період довготривалої ремісії // Онкологія. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 43-45. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено натуральні кілери у периферичній крові дітей, хворих на ГЛЛ, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
11. Дубей Л.Я., Поліщук Р.С., Купчак О.І., Цимбалюк І.П., Трояновська О.О., Скоропад Л.Л., Козлова О.І. Деякі показники клітинного імунітету у дітей з гострою лімфобластною лейкемією під час проведення хіміотерапії та у період довготривалої ремісії // Онкологія. – 2006. – Т.8., № 3. – С. 298-301. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено основні показники Т- і В-клітинного імунітету на різних етапах перебігу ГЛЛ у дітей, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
12. Дубей Л.Я., Дорош О.І. Клініко-гематологічна характеристика дітей на час встановлення діагнозу гострої лімфобластної лейкемії та у період довготривалої ремісії // Укр. мед. альманах. – 2006. – Т. 9, № 2. – С. 51-54. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, досліджено периферичну кров та кістковий мозок, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
13. Дубей Л.Я., Дубей Н.В., Новак В.Л. Шляхи відновлення CD4+- та CD8+-лімфоцитів у дітей з гострою лімфобластною лейкемією після закінчення програмної терапії // Укр. журн. гемат. і трансфуз. – 2007. – Т. 7, № 1. – С. 16-20. *Здобувачем здійснено набір матеріалу та досліджено наївні лімфоцити і клітини пам’яті, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
14. Дорош О.І., Поліщук Р.С., Дубей Л.Я., Цимбалюк І.П., Виговська Я.І. Аналіз ускладнень як причин перерв у протокольній терапії при лікуванні гострої лімфобластної лейкемії у дітей // Укр. журн. гемат. і трансфуз. – 2007. – Т. 7, № 4. – С. 32-35. *Здобувачем здійснено набір матеріалу, проведено аналіз показників периферичної крові, мієлограми, ліквору, біохімічних параметрів, частоти виникнення інфекційних та неінфекційних ускладнень програмної терапії, проведено статистичну обробку отриманих результатів.*
15. Дубей Л.Я., Дубей Н.В., Дорош О.І. Показники гуморального імунітету у дітей з гострою лімфобластною лейкемією перед початком програмного лікування // Онкологія. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 27-30. *Здобувачем здійснено набір хворих, досліджено концентрацію сироваткових імуноглобулінів, а також вміст бластних клітин у периферичній крові до початку лікування, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
16. Дубей Л.Я., Поліщук Р.С., Дубей Н.В., Дорош О.І., Цимбалюк І.П., Трояновська О.О., Скоропад Л.Л. Імунорегуляторне співвідношення CD4:СD8 на різних етапах перебігу гострої лімфобластної лейкемії у дітей // Гематологія і переливання крові: Зб. наук. пр., вип. 34 (1). – К., 2008. – С. 148-152.
17. Дубей Л.Я. Концентрація інтерлейкіну-6 (IL-6) у сироватці крові дітей на різних етапах перебігу гострої ліфмобластної лейкемії // Укр. журн. гемат. і трансфуз. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 12-16.
18. Спосіб імунологічного моніторингу перебігу гострої лімфобластної лейкемії у дітей: патент № 32527 від 26.05.08 / Дубей Л.Я., Дубей Н.В. // Офіційний бюлетень «Промислова власність». – 2008. – № 10. *Здобувачем визначено концентрацію IL-2 у сироватці крові, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
19. Дубей Н.В., Дубей Л.Я., МаслякЗ.В., Дорош О.І. Концентрація фактору некрозу пухлин (TNF-α) у сироватці крові дітей на різних етапах перебігу гострої лімфобластної лейкемії у дітей // Укр. журн. гемат. і трансфуз. – 2008. – Т. 8., № 2. – С. 18-22 .*Здобувачем визначено концентрацію TNF-α у сироватці крові,* *проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*
20. Дубей Л.Я. Дослідження ролі IL-2 при гострій ліфмобластній лейкемії у дітей // Онкологія. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 230-233.
21. Дубей Н.В., Дубей Л.Я., Поліщук Р.С., Дорош О.І., Цимбалюк І.П. Етапи формування імуносупресивних станів у дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію // Укр. журн. гемат. і трансфуз. – 2008. – Т. 8., № 3. – С. 34-39. *Здобувачем досліджено основні показники периферичної крові, клітинного і гуморального імунітету, а також окремі цитокіни; проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів; виділено критичні імуносупресивні періоди.*

**АНОТАЦІЯ**

**Дубей Л.Я. Особливості розвитку вторинного імунодефіциту та його діагностика при гострій лімфобластній лейкемії у дітей. – Рукопис.**

**Дисертація на здобуття наукового ступення доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія. – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2008.**

Дисертація присвячена уточненню механізмів розвитку вторинного імунодефіциту та його діагностиці при гострій лімфобластній лейкемії (ГЛЛ) у дітей.

Представлено результати дослідження преморбідного фону, основних показників клітинного та гуморального імунітету, а також окремих цитокінів на різних етапах програмної терапії і термінах довготривалої ремісії з урахуванням віку дітей та імунофенотипового підваріанту хвороби. Охарактеризовано тимус-залежний та тимус-незалежний шляхи регенерації Т-клітинної ланки імунної системи, яка найбільше уражається під час застосування цитостатичного лікування. Показано реакцію неспецифічного гуморального імунітету у відповідь на патологічний процес у дебюті хвороби.

Проаналізовано корелятивний взаємозв’язок між абсолютною кількістю імунокомпетентних клітин у периферичній крові, концентрацією цитокінів та імуноглобулінів у сироватці крові дітей, хворих на ГЛЛ, а також між досліджуваними показниками імунної системи та частотою виникнення локалізованих і генералізованих вогнищ інфекції.

Доведено, що вивчені ланки імунної системи ізольовано не можуть реалізовувати свою біологічну функцію. Тільки при безпосередній їх взаємодії вони спроможні регулювати механізми імунної відповіді у дітей, хворих на ГЛЛ. Зміна концентрації окремих цитокінів та імуноглобулінів у сироватці крові, основних субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів у периферичній крові у динаміці хвороби дає підстави вважати ці показники додатковими імунологічними маркерами перебігу даного гемобластозу.

***Ключові слова:*** гостра лімфобластна лейкемія, діти, програмна терапія, довготривала ремісія, імунна система.

**АННОТАЦИЯ**

**Дубей Л.Я. Особенности развития вторичного иммунодефицита и его диагностика при остром лимфобластном лейкозе у детей. – Рукопись.**

**Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 – педиатрия. – Харьковский национальный медицинский институт МЗ Украины, Харьков, 2008.**

Диссертация посвящена уточнению механизмов развития вторичного иммунодефицита и его диагностике при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей.

Обследовано 125 детей, больных ОЛЛ. Из них мальчиков – 71, девочек – 54. Дети основной группы распределялись по возрасту: 1 – 5 лет (n=35), 6 –11 лет (n=49) и 11– 14 лет (n=41). Контрольную группу составили 83 здоровых ребенка. Диагноз ОЛЛ основывался на результатах клинического обследования, гематологического, цитологического, цитохимического и иммунофенотипического исследований клеток крови и костного мозга. Исследования основных показателей периферической крови (Coulter-GT, Франция), клеточного (Becton Dickinson, США) и гуморального (Beckman, США) иммунитета, а также отдельных цитокинов (Immulite-1000, США) выполнялись до начала программной терапии, во время ее проведения, после полного завершения лечения, а также в разные сроки длительной ремиссии (до 3 лет, 3-5 лет, больше 5 лет). Изучение преморбидного фона проводилось с использованием клинико-генеалогического метода.

Показано, что программная терапия ОЛЛ у детей (ГЛЛ-ДГЛЛУ-93’95) является длительной, носит агрессивный характер и требует адекватного медикаментозного обеспечения. При ее применении увеличивается частота вирусно-бактериальной и грибковой инфекции, что препятствует проведению протокольной терапии.

Выявлено серезное повреждение Т-клеточного звена иммунитета у детей с ОЛЛ. Его показатели существенно снижаются во время протокольнго лечения, а на этапе длительной ремиссии постепенно нормализуются. Более глубоко и длительно угнетаются Т-лимфоциты у детей до 10 лет. Регенерация Т-хелперов/индукторов у детей младшего возраста осуществляется тимус-зависимым путем, тогда как у старших детей – тимус-независимым путем. Т-супрессорные/цитотоксические лимфоциты восстанавливаются только тимус-независимым путем, независимо от возраста. NK-клетки плохо регенирируют после завершения цитостатической терапии. Даже в отдаленные сроки длительной ремиссии их уровень продолжает оставаться очень низким, что свидетельствует о глубоком повреждении этого звена иммунитета.

Доказано, что в разгаре заболевания у детей прослеживается напряженность работы неспецифического гуморального иммунитета в ответ на патологический процесс. Это ассоциируется со снижением концентрации ІgМ, повышением содержания IgG и дисбалансом уровней IgG1 и IgG2 в сыворотке крови. Во время химиотерапии ОЛЛ наблюдается существенное снижение содержания СD19+-лимфоцитов в периферическрй крови и сывороточных иммуноглобулинов, которые после ее завершения постепенно восстанавливаются.

Отмечено, что изменения отдельных показателей клеточного иммунитета

зависят от иммунофенотипического подварианта ОЛЛ у детей. Нормальная их регенерация наблюдается при «чистом» В- и Т-ОЛЛ. Присутствие миелоидных маркеров как на В-, так и на Т-бластах в динамике заболевания стимулирует процессы восстановления иммунокомпетентных клеток. Изменения в гуморальном звене иммунитета не зависят от иммунофенотипического подварианта болезни.

Определено, что в острый период ОЛЛ (дебют болезни, рецидивы: очень ранний, ранний, поздний) наблюдается высокая цитокиновая активность, которая не зависит от иммунофенотипического подварианта гемобластоза. Взаимосвязь отдельных интерлейкинов с бластными клетками свидетельствует об их участии в развитии неопластического процесса.

Анализ кореляционных взаимосвязей как между отдельными цитокинами, так и иммунокомпетентными клетками и сывроточными иммуноглобулинами показал, что они разные и зависят от периода течения ОЛЛ у детей. Исследованные звенья иммуной системы изолированно не могут реализовать свою биологическую функцию. Только при непосредственном их взаимодействиии они могут регулировать механизмы иммунного ответа у детей, больных ОЛЛ.

***Ключевые слова:*** острый лимфобластный лейкоз, дети, программная терапия, длительная ремиссия, иммунная система.

**SUMMARY**

**Dubey L.Ya. Peculiarities of development of secondary immune deficient and it’s diagnostic in childhood acute lymphoblastic leukemia. – The manuscript.**

**The thesis is presented for a doctor’s degree in medicine, specialization 14.01.10 – pediatrics. – Kharkiv National Medical University, the Ministry of Health, Kharkiv, 2008.**

This work is devoted to the study of mechanism development of secondary immune deficient and it’s diagnostic in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL).

Results of the premorbid status investigations, main indexes of cellular and humoral immunity, and cytokine levels are demonstrated. All studies were performed on different stages of the program therapy and long-term remission, taking into account patient’s age and immuophenotypical subvariant of the disease.

The T-cell line of immunity is more injured then B-cell line and humoral immunity due to cytostatic therapy. Thymic-dependent and thymic-independent mechanisms of T-cell regeneration were studied. At the onset of ALL high intensity of nonspecific humoral immunity was noted, which is due to neoplastic process.

The correlation relationships were detected between absolute count of immunocompetent cells in peripheral blood, cytokines and immunoglobulines serum concentration in children with ALL. Also the correlation between the main indexes of the immune system and frequency of local and generalized infectious complications was calculated.

The main chains of immune system cannot perform their biological function separately. They must cooperate to regulate the immune answer. Changes of immune parameters are additional immunological markers of the ALL activity.

***Key words:*** acute lymphoblastic leukemia, children, program therapy, long-term remission, immune system.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ГВС | – | група високого ризику |
| ГЛЛ | – | гостра лімфобластна лейкемія |
| ГНР | – | група низького ризику |
| ГСР | – | група стандартного ризику |
| МКАТ | – | моноклональні антитіла |
| CD | – | кластер диференціювання |
| EFS | – | коефіцієнт безподійного виживання |
| Ig | – | імуноглобулін |
| IL | – | інтерлейкін |

**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Дубей Леонід Ярославович**

**УДК: 616.155.395-036.11+[616-006.441].085-036.838**

**ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ВТОРИННОГО ІМУНОДЕФІЦИТУ**

**ТА ЙОГО ДІАГНОСТИКА ПРИ ГОСТРІЙ ЛІМФОБЛАСТНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ У ДІТЕЙ**

**14.01.10 – педіатрія**

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступення**

**доктора медичних наук**

**Харків – 2009**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Державній установі «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України», м. Львів

**Наукові консультанти:**  - доктор медичних наук, професор

**Новак Василь Леонідович,**

Державна установа «Інститут патології

крові та трансфузійної медицини АМН

України», м. Львів, директор інституту;

- доктор медичних наук, старший  
 науковий співробітник

**Масляк Звенислава Володимирівна,**

Державна установа «Інститут патології

крові та трансфузійної медицини АМН

України», м. Львів, завідувач відділу гематолоії

**Офіційні опоненти:** - доктор медичних наук, професор

**Одинець Юрій Васильович,**

Харківський національний медичний

університет МОЗ України,

завідувач кафедри педіатрії№ 2;

- доктор медичних наук, професор  
 **Чернншова Людмила Іванівна,**

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України,

завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб

та імунології;

- доктор медичних наук, доцент  
 **Борисова Тамара Петрівна,**

Донецький національний медичний університет

ім. М. Горького МОЗ України,

професор кафедри педіатрії.

Захист дисертації відбудеться « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 р. 0 \_\_\_ год. \_\_\_ хв. на

засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.600.04 при Харківському національному медичному університеті (61022, м. Харків, пр. Леніна, 4).

3 дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Харківського національного медичного університету (61022, м. Харків, пр. Леніна, 4).

Автореферат розісланий « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

д.мед.н., професор Фролова Т.В.

1. Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>