

А.С. Фёдорова, С.О. Шарапова, Т.М. Михалевская, С.Н. Алешкевич,
М.В. Стеганцева, О.В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии
Минздрава РБ, Минск, Республика Беларусь

Неходжкинские лимфомы у детей с первичными иммунодефицитами: клинические проявления, диагностика и лечение

Актуальность. Неходжкинские лимфомы (НХЛ) являются самыми частыми злокачественными новообразованиями, ассоциированными с первичными иммунодефицитами (ПИД). В настоящее время нет единого подхода к терапии НХЛ у детей с ПИД, и определение тактики лечения таких пациентов — по-прежнему актуальная и важная задача. **Цель.** Анализ клинико-лабораторных данных и результатов лечения детей с ПИД, у которых развились НХЛ. **Пациенты и методы.** За период 1996–2014 гг. проведен ретроспективный анализ диагностики и лечения 16 пациентов с ПИД-ассоциированными НХЛ с последующим сравнением с 277 случаями НХЛ у иммунокомпетентных детей. У 8 пациентов был комбинированный ПИД, у 5 — синдром Ниймеген, у 1 — синдром Блума, у 1 — X-сцепленный лимфопролиферативный синдром. **Результаты.** В 75% случаев диагноз ПИД был установлен после развития НХЛ. ПИД-ассоциированные НХЛ составили 5,7% всех НХЛ. Медиана возраста при диагностике НХЛ была меньше у детей с ПИД (6,3 против 10,0 лет; $p < 0,05$); при распределении по гистологическим вариантам преобладали крупноклеточные формы (68,8 против 24,5%; $p < 0,001$). У детей с комбинированными ПИД в раннем возрасте (медиана 1,3 года) развивалась ВЭБ-ассоциированная диффузная В-крупноклеточная лимфома с поражением легких. У 5 из 6 пациентов с синдромом хромосомной нестабильности развилась Т-НХЛ. Шестеро пациентов умерли от инфекционных осложнений, 2 — от опухолевой прогрессии, у 1 пациента был ранний рецидив, 2 умерли после развития второй НХЛ, 1 — после развития вторичного гемофагоцитарного синдрома. Всего живы 4 детей без признаков опухоли, время наблюдения — от 1,5 до 5,9 лет. **Заключение.** ПИД необходимо диагностировать рано. Индивидуализированная химиотерапия, аккуратное сопроводительное лечение могут улучшить выживаемость детей с ПИД-ассоциированными НХЛ.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, неходжкинская лимфома у детей, диагностика и лечение.

A.S. Fedorova, S.O. Sharapova, T.M. Mikhalevskaya, S.N. Aleshkevich,
M.V. Stegantseva, O.V. Aleinikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Non-Hodgkin Lymphoma in Children with Primary Immunodeficiencies: Clinical Manifestations, Diagnosis and Management

Introduction. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) is the most frequent malignancy associated with primary immune deficiency disease (PID). There is no standard treatment approach for children with PID and NHL. Limited therapy tolerance, infectious status and immunodeficiency makes the choice of treatment challenging. **Aim.** We aimed to present the clinical characteristics and outcomes of Belarusian children with PID who developed NHL. **Patients and Methods.** We retrospectively reviewed 16 patients with PID and NHL and compared to 277 immunocompetent children with NHL, who were newly diagnosed from 1996 to 2014. Eight patients had combined PID, 5 — Nijmegen breakage syndrome, 1 — Bloom syndrome, 1 — Wiskott-Aldrich syndrome, 1 — X-linked lymphoproliferative syndrome. **Results.** In 75% cases PID was diagnosed simultaneously or after the NHL was confirmed. PID-associated NHL accounted for 5,7% of all NHL. Median age at NHL diagnosis was younger in children with PID (6,3 vs 10,0 years; $p < 0,05$) and distribution of histologic types was different with the prevalence of large-cell types (68,8 vs 24,5%; $p < 0,001$). Children with combined PID were the youngest with median age of 1,3 years, 5 of them developed EBV-associated diffuse large B-cell lymphoma with lung involvement. T-NHL progressed in 5 of 6 patients with chromosomal breakage syndrome. Six patients died of infections; two died after tumor progression; one child had early relapse; two died of second NHL and one of secondary hemophagocytic syndrome. Overall, 4 children are alive and disease free after a follow-up from 1 to 5 years. **Conclusions.** PID needs to be diagnosed early. Individualized chemotherapy, comprehensive supportive treatment can reduce morbidity of children with PID and NHL.

Key words: primary immunodeficiency, childhood non-Hodgkin lymphoma, diagnosis and management.

ВВЕДЕНИЕ

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) — самые частые неоплазии, ассоциированные с иммунодефицитным состоянием, как врожденным, так и приобретенным [1–3]. Ранняя диагностика первичных иммунодефицитов (ПИД) и адекватное лечение инфекционных осложнений привели не только к увеличению продолжительности жизни детей с ПИД, но и более частому развитию у них НХЛ по мере взросления [1]. В настоящее время нет единого подхода к терапии НХЛ у детей с ПИД. Использование стандартных программ лечения не всегда приемлемо и эффективно у таких пациентов из-за снижения толерантности к цитостатической терапии, инфекционного статуса, иммунодефицита и нетипичного морфологического варианта, в связи с чем определение тактики лечения НХЛ у детей с ПИД является актуальной задачей.

Целью исследования стал анализ клинических и лабораторных данных, а также характеристика лечения и исхода у 16 детей с различными вариантами ПИД, у которых была диагностирована НХЛ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

С января 1996 по январь 2014 г. диагноз НХЛ был установлен 295 пациентам в возрасте до 18 лет, которые находились на лечении в белорусском Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии. У 16 из них был диагностирован ПИД (анализируемая группа); у 2 — ВИЧ-ассоциированная НХЛ. Остальные 277 пациентов с НХЛ без подтвержденного ПИД составили группу сравнения в отношении инициальных клинических данных и исхода.

Гистологическая верификация диагноза проводилась в соответствии с классификацией лимфоидных неоплазий Всемирной организации здравоохранения (2008) [4]. Иммуногистохимическое исследование на парафиновых срезах и/или иммунофенотипирование методом проточной цитометрии было проведено в 15 случаях ПИД-ассоциированных НХЛ. Кроме панели антилимфоидных антител в 9 случаях было проведено исследование с моноклональным анти-ВЭБ (вирус Эпштейна–Барр) антителом (LMP CS.1-4, Dako, США). Стадирование проводилось в соответствии с классификацией S.B. Murphy [5]. Пациенты без ПИД в разные годы получали лечение по протоколам NHL-BFM90m/95, ALCL99, В-НХЛ 2004/2010 M (разработаны в ФГУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии», Москва, Россия) [6]. Иммунокомпрометированные дети получали лечение по вышеназванным программам с/без редукции доз химиопрепаратов или по схеме R-EPOCH [7]. Двое детей с ПИД (с лимфомой центральной нервной системы и периферической Т-клеточной лимфомой) получали индивидуальную полихимиотерапию (ПХТ), детализированную ниже. Одному пациенту с кожной анапластической крупноклеточной лимфомой проводилась только лучевая тера-

пия. Достижение полной ремиссии (ПР) констатировалось при отсутствии клинических и лабораторных признаков заболевания и полной регрессии опухолевых очагов по результатам компьютерной томографии и ультразвукового скрининга всех областей инициального поражения.

За аналогичный период у 230 детей был диагностирован ПИД, в том числе 17 случаев синдрома хромосомных поломок Ниймеген (Nijmegen breakage syndrome, NBS) и 26 случаев различных вариантов комбинированного ПИД. Диагноз ПИД был установлен в соответствии с диагностическими критериями последней классификации комитета экспертов по ПИД Международного союза иммунологических обществ (International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency) [8]. Для постановки диагноза ПИД выполнялись иммунологическое и/или молекулярно-генетическое исследование. Концентрация иммуноглобулинов (Ig) G, A, M в сыворотке крови определялась методом нефелометрии. Относительное и абсолютное количество Т-/В-лимфоцитов, NK-клеток (натуральных киллеров), тимических мигрантов (CD4+CD45RA+CD31+) определялось методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Becton Dickinson, Beckman Coulter, США). Для мутационного анализа проводилось секвенирование генов *NBS1*, *WAS*, *RAG1*, *RAG2*, *ADA*, *IL7Ra*, *IL2Ra*, *Jak3*, *SH2D1A*, *DNA ligase IV*. Количество Т-клеточных рецепторов иссечения (T-cell receptor excision circles, TRECs) и каппа-удаление рекомбинации (kappa-deleting recombination excision circles, KRECs) определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-qPCR); для дизайна праймеров и исследования генетических изменений использовали электронную базу Ensembl Genome Browser. Для выявления повышенного количества хромосомных разрывов в лимфоцитах крови проводили тест на нестабильность хромосом. Хромосомные соматические мутации выявлялись методом дифференциального окрашивания (GTG).

Данные по случаям заболевания НХЛ и ПИД предоставлены Детским канцер-субрегистром и Национальным детским регистром ПИД Республики Беларусь.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 6.0. Проверка гипотез о равенстве двух средних проводилась с помощью U-критерия Манна–Уитни или Фишера для количественных признаков. Показатель общей выживаемости (overall survival, OS) рассчитывали по методу Каплана–Мейера; для сравнительной оценки достоверности различий использовали логранговый критерий (log-rank test). Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$). Сведения о пациентах сверены на 1 декабря 2014 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ПИД-ассоциированные НХЛ составили 5,7% всех зарегистрированных случаев НХЛ у детей. Характеристика пациентов и клинические данные представлены в табл. 1, 2. Соотношение М/Ж составило 1,7/1. Медиана возраста при постановке диагноза НХЛ у детей с ПИД составила 6,3 года (от 0,7 до 15,9 лет), что статистически значимо ниже этого показателя у детей без иммунодефицита (медиана 10,0 лет: от 1,3 до 17,9 лет; $p < 0,05$). Морфологический спектр НХЛ у пациентов с ПИД значительно отличался от такового у иммунокомпетентных пациентов и характеризовался превалированием крупноклеточных форм (68,8 против 23,5%; $p < 0,001$), в том числе гистологических вариантов, типичных для взрослых. У всех иммунокомпрометированных пациентов, кроме одного, была распространенная стадия заболевания, что возникает значительно чаще, чем у пациентов без ПИД (93,8 против 72,2%; $p < 0,05$).

В 12 из 16 случаев диагноз ПИД был установлен одновременно или после постановки диагноза НХЛ. Основаниями для проведения иммунологического или молекулярно-генетического исследования были очень ранний возраст при постановке диагноза НХЛ, нетипичный для данной возрастной группы морфологический вариант, конституцио-

нальные особенности и пороки развития, тяжелые и рецидивирующие инфекции в анамнезе, случаи гибели детей в семье от инфекций и врожденных пороков развития, а также выявленная на аутопсии патология вилочковой железы.

У 6 из 16 пациентов был диагностирован синдром хромосомной нестабильности с дефектами репарации ДНК (табл. 2, 3). У 5 детей был установлен диагноз NBS (во всех случаях была обнаружена типичная для славянских народов мутация 657del5 в гене *NBN*), у 1 ребенка — синдром Блума. Медиана возраста на момент диагностики НХЛ у этих пациентов составила 12,5 лет, что существенно не отличалось от таковой у иммунокомпетентных пациентов. В структуре НХЛ превалировали Т-клеточные формы (у 5 из 6 пациентов), в большинстве случаев — с Т-зрелым иммунофенотипом. Несмотря на проводимую без редукции доз ПХТ, ПР была достигнута только у половины пациентов (у 3 из 6), у 1 пациента наступила прогрессия на фоне интенсивной ПХТ. Тяжелые инфекционные осложнения на этапе индукции ремиссии наблюдались у всех детей и стали фатальными в 2 случаях нерас-познанного при жизни NBS. У 1 девочки развилась вторая лимфома через 4,5 года после диагностики первой опухоли, у 1 мальчика — вторичный ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитарный синдром через 7 мес после окончания интенсивной ПХТ.

Из 17 пациентов с NBS, зарегистрированных за анализируемый период в Национальном детском регистре ПИД, лимфопрлиферативные заболевания развились у 9 (52,9%) пациентов в возрасте от 4 лет до 21 года. Кроме 5 пациентов с НХЛ, вошедших в анализируемую группу, мы наблюдали 4 пациентов с острым лимфобластным лейкозом (про-Т — у 2, Т-зрелый — у 1, не установлен — у 1). Возраст наблюдаемых пациентов с NBS без опухолей составлял от 10 мес до 20 лет. В настоящее время нет данных о проживающих в Беларуси людях с NBS более старшего возраста.

В анализируемой группе у 8 детей были различные варианты комбинированного ПИД. В большинстве случаев НХЛ у них диагностирована в раннем возрасте (медиана 1,3 года). У 6 из 8 детей развилась крупноклеточная лимфома с поражением легких: диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) — у 5, периферическая Т-клеточная лимфома — у 1. В 5 случаях проводилось обследование на ВЭБ-инфекцию, и во всех случаях иммуногистохимически была подтверждена ВЭБ-ассоциированная лимфома. У 4 детей на момент диагностики НХЛ были симптомы генерализованной ВЭБ-инфекции. Курация детей с комбинированным ПИД являлась сложной задачей из-за очень раннего возраста и малого веса пациентов (от 4,5 до 9,3 кг в представленной когорте), наличия множественных инфекционных эпизодов в анамнезе, а также ВЭБ-инфекции, которую было чрезвычайно сложно контролировать после развития НХЛ. Этим пациентам проводилась ПХТ с редукцией доз цитостатиков. Полное клиническое выздоровление было достигнуто только в

Таблица 1. Характеристика пациентов с неходжкинскими лимфомами

Характеристика пациентов	Пациенты с ПИД, n = 16 (%)	Пациенты без ПИД, n = 277 (%)
Пол		
М	10 (62,5)	220 (79,2)
Ж	6 (37,5)	57 (20,8)
Возраст		
0–4	6 (37,5)	52 (18,8)
5–9	5 (31,25)	85 (30,7)
10–14	2 (12,5)	86 (31,0)
≥15	3 (18,75)	54 (19,5)
Стадия		
I + II	1 (6,25)	77 (27,8)
III + IV	15 (93,75)	200 (72,2)
Морфологический вариант		
Беркитта	2 (12,5)	135 (48,7)
Т-лимфобластная	3 (18,75)	52 (18,8)
В-лимфобластная	0	19 (6,9)
ДВККЛ	6 (37,5)	16 (5,8)
ПМ ВККЛ	0	14 (5,1)
АККЛ системная	2 (12,5)	33 (11,9)
АККЛ кожная	1 (6,25)	0
ПТКЛ	2 (12,5)	2 (0,7)
В-НХЛ, неуточненная	0	6 (2,2)
Линия дифференцировки		
В	8 (50,0)	190 (68,6)
Т	8 (50,0)	87 (31,4)

Примечание. НХЛ — неходжкинские лимфомы, ПИД — первичный иммунодефицит, ДВККЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома, ПМ ВККЛ — первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, АККЛ — анапластическая крупноклеточная лимфома, ПТКЛ — периферическая Т-клеточная лимфома.

Таблица 2. Характеристика пациентов с первичным иммунодефицитом и неходжкинскими лимфомами

Пациент	Возраст (годы) / Пол	Вариант ПИД	Вариант НХЛ	Стадия	Зоны поражения	ВЗБ в опухоли	ВЗБ в крови (ДНК)	Лечение	Исход
1	0,6/Ж	ТКИН, атипичный	ДВККЛ	III	Легкие, плевра, мягкие ткани грудной стенки*	Пол	Отр	A+R-R-EPONH № 5, 2/3 дозы	ПР1, время наблюдения — 4,9 года
2	2,2/Ж	ТКИН, атипичный	ДВККЛ, иммунобластная	IV	ЦНС (оба полушария головного мозга*), легкие*	Пол	Пол	Индивидуальное, 5 курсов с HD MTX или ARA-C + R	Прогрессирование после 5-го курса, умерла через 6 мес после постановки диагноза НХЛ
3	1,4/Ж	Комбинированный, н/у	ПТКЛ, CD8+, неспецифицированная* ¹	III	Периферические ЛУ*, миндалины, средостение, легкие, подвздошные ЛУ, селезенка, забрюшинные ЛУ	Н/Д	Н/Д	АА, 2/3 дозы	Частичный ответ, умерла от сепсиса после 1-го курса ПХТ
4	1,2/М	Комбинированный, н/у	ДВККЛ, центробластная	III	Периферические ЛУ*, средостение, легкие, внутрибрюшные ЛУ, забрюшинные ЛУ, печень*, тонкий и толстый кишечник	Пол	Пол	Только дексаметазон	Инициально сепсис и генерализованная ВЗБ-инфекция; умерла через 7 дней от начала лечения
5	0,7/Ж	Комбинированный, н/у	ДВККЛ, иммунобластная	III	Периферические ЛУ*, средостение, легкие, слюнные железы, селезенка, внутрибрюшные ЛУ	Пол	Пол	Только дексаметазон	Инициально сепсис и генерализованная ВЗБ-инфекция; умерла через 5 дней от начала лечения
6	1,1/М	Комбинированный, н/у	ДВККЛ, иммунобластная	III	Легкие*, печень, селезенка, шейные ЛУ*, внутрибрюшные ЛУ	Пол	Пол	R-EPONH, 3/4 дозы	Частичный ответ, сепсис инициально; умер от сепсиса после 1-го курса ПХТ
7	8,3/М	Комбинированный, н/у	Т-ЛЛ (pro-T)	IV	Периферические ЛУ*, внутрибрюшные ЛУ, забрюшинные ЛУ, печень, селезенка, КМ	Н/Д	Н/Д	NHL-BFM 95, TG1, в полной дозировке	Ранний рецидив (КМ) на поддерживающей терапии; умер от сепсиса в ПР2 через 2 года после постановки диагноза НХЛ
8	15,5/Ж	Комбинированный, н/у	АККЛ, кожная, ALK-негативная	I	Кожа* верхнего века	Н/Д	Н/Д	Только брахитерапия	ПР1, время наблюдения — 2,3 года
9	6,3/М	WAS	Беркитта	III	Тонкий кишечник*, внутрибрюшные ЛУ*	Н/Д	Н/Д	АА-BB-AA-BB-AA-BB, в полной дозировке	Вторая опухоль (В-зрелый лейкоз) через 15 лет; умер через 15,1 лет после постановки диагноза НХЛ
10	10,9/Ж	NBS	ДВККЛ, Т-клетка/rich	III	Периферические ЛУ*, средостение, легкие, селезенка, внутрибрюшные ЛУ, забрюшинные ЛУ	Н/Д	Н/Д	А-B, в полной дозировке, отказ от терапии	Вторая НХЛ через 4,5 года, лечение не получила; умерла от лимфомы через 4,6 года после постановки первого диагноза НХЛ

Таблица 2. Продолжение

Пациент	Возраст (годы) / Пол	Вариант ПИД	Вариант НХЛ	Стадия	Зоны поражения	ВЗБ в опухоли	ВЗБ в крови (ДНК)	Лечение	Исход
11	5,6/М	NBS	T-ЛЛ (зрелый, CD8+)	III	Средостение, легкое, периферические ЛУ*	Отр	Н/д	NHL-BFM 95, TG1: I фаза I протокола, HR1-HR2-HR3-полной дозировке), немиелобластивное кондиционирование, неродственная ТГСК	ПР1, время наблюдения — 1,5 года
12	16,9/М	NBS	ПТКЛ, мелкоклеточный вариант, CD8+	III	Средостение (bulky disease), периферические ЛУ*	Отр	Н/д	СНОР – СНОР – ICE – ДНАР – ДНАР – ДеаВВАМ, full dosage	Прогрессирование после 5-го курса; умер через 5 мес после постановки диагноза НХЛ
13	14,2/М	NBS	T-ЛЛ (кортикальный)	III	Средостение* (bulky disease)	Н/д	Н/д	NHL-BFM 95, TG1, ImRG, protocol I, full dosage	Неполная ремиссия; умер от сепсиса после 7 нед лечения
14	9,1/Ж	NBS	АККЛ	III	Периферические ЛУ*, средостение, внутрибрюшные ЛУ, забрюшинные ЛУ, подвздошные ЛУ	Н/д	Отр	A (по МТХ)	Частичный ответ; умерла от инвазивного легочного аспергиллеза после 1-го курса ПХТ
15	15,9/М	Синдром Блума	АККЛ, ALK–негативная	III	Периферические ЛУ*, средостение, легкое, внутрибрюшные ЛУ, забрюшинные ЛУ, подвздошные ЛУ	Отр	Отр	ALCL99, HRG, в полной дозировке	Вторичный гематоцитарный синдром на поддерживающей терапии; умер от сепсиса через 1,3 года после постановки диагноза НХЛ
16	6,0/М	ХЛПС I типа	Беркитта	III	Брыжейка тонкого кишечника, подвздошная кишка*, мезентериальные и подвздошные ЛУ*, мочево-пузырь, передняя брюшная стенка	Отр	Н/д	NHL-BFM 95, TG2, R2, в полной дозировке, + R № 3	ПР1, жив, без признаков опухоли, время наблюдения — 5,9 года

Примечание.

НХЛ — неходжкинские лимфомы, ПИД — первичный иммунодефицит, ВЗБ — вирус Эпштейна–Барр, ТКИН — тяжелая комбинированная иммунологическая недостаточность, ДВККЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома, пол. — положительный, отр. — отрицательный, ПР — полная ремиссия, ЦНС — центральная нервная система, н/у — неуточненный, ПТКЛ — периферическая Т-клеточная лимфома, ЛУ — лимфатический узел, н/д — нет данных, ПХТ — полихимиотерапия, Т-ЛЛ — Т-клеточная лимфома, КМ — костный мозг, АККЛ — анапластическая крупноклеточная лимфома, ALK — киназа анапластической лимфомы (Anaplastic lymphoma kinase), WAS — синдром Вискотта–Олдрича (Wiskott–Aldrich syndrome), NBS — синдром Ниймеген (Nijmegen breakage syndrome), ХЛПС — X-сцепленный лимфопролиферативный синдром, ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток,* — место биопсии; pos — неспецифицированная (от pos — not other specified).

Таблица 3. Иммунологическая характеристика пациентов с первичным иммунодефицитом и неходжкинскими лимфомами

Пациент	ПИД	Мутации генов	TREC _s /KREC _s	Иммунологическое исследование				ПИД-ассоциированный анамнез
				RTE, %	CD3+, кл/мкл	CD4+, кл/мкл	CD19+, кл/мкл	
Комбинированные иммунодефициты								
1	Дефицит <i>IL7Ra</i>	I66T, V138I	2,17E-05/ 5,48E-02	3,6	2251	145	935	Снижен IgG Омфалит, гипотрофия 3-й степени, бронхолит в возрасте 1,5 мес, кандидозный стоматит, пневмония в возрасте 4 мес, синдром мальабсорбции
2	Дефицит <i>DNA ligase IV</i>	A3V, T9I, c.2736+3delC	Н/д	2,56	306	144	604	Снижены IgA, IgG Язвенный стоматит в возрасте 11 мес, некротический стоматит с перфорацией твердого неба в возрасте 1,2 лет, ВЭБ-менингоэнцефалит в возрасте 1,6 лет
3	Неуточненный	Н/д	1,39E-02/0	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Смерть 2 сиблингов на первом году жизни от инфекций, сепсис (<i>S. algeus</i>) в возрасте 1,3 лет, рецидивирующая пиодермия, кандидозный стоматит, синдром мальабсорбции, гипотрофия 3-й степени. На аутопсии: гипоплазия и жировая трансформация тимуса
4	Неуточненный	Н/д	1,21E-07/ 1,31E-05	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Рецидивирующая пневмония с 3-мес возраста (<i>P. aeruginosa</i>), кандидозный стоматит, дерматит, генерализованная ВЭБ-инфекция в возрасте 1 года, синдром мальабсорбции, гипотрофия 2-й степени. Неитропения тяжелой степени. На аутопсии: дисплазия и вторичная атрофия тимуса
5	Неуточненный	Не найдены	Н/д	Н/д	632	82	622	Нормальный Генерализованная ЦМВ+ВЭБ-инфекция с менингоэнцефалитом с возраста 7 мес, сепсис (бактериально-грибковый) с возраста 7 мес
6	Неуточненный	Не найдены	Н/д	8,6	3381	734	72	Нормальный Врожденная генерализованная ЦМВ-инфекция, кишечная инфекция в возрасте 9 мес, генерализованная ВЭБ-инфекция с 10 мес
7	Неуточненный	Н/д	0/3,49E-06	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д Микроцефалия, умственная отсталость. Инфекции — Н/д
8	Неуточненный	Н/д	1,52E-04/ 3,88E-03	Н/д	863	530	200	Нормальный Микроцефалия, низкорослость, умственная отсталость, рецидивирующий отит и частые респираторные инфекции
Точно определенные синдромы с иммунодефицитом								
9	WAS	Отсутствие WASP Не выявлена мутация в кодирующей ДНК	Н/д	5,4	1640	580	370	Снижен IgM Тромбоцитопения, дерматит, частые респираторные инфекции

Таблица 3. Продолжение

Пациент	ПИД	Мутации генов	TRECs/KRECs	Иммунологическое исследование					ПИД-ассоциированный анамнез
				RTE, %	CD3+, кл/мкл	CD4+, кл/мкл	CD19+, кл/мкл	Ig в сыворотке	
10	NBS	657-661delACAAA, нестабильность генома (12.9%), t(7;14), +der(7), inv(7), del(7)	2,10E-07/ 4,52E-03	0,2	691	515	309	Снижен IgG	Маловесность при рождении, микроцефалия, задержка физического и умственного развития, рецидивирующая герпетическая инфекция, аутоиммунная тромбоцитопения с возраста 4 лет, хронический отит и хроническое заболевание легких с возраста 6 лет, туберкулез кожи с возраста 8 лет, аутоиммунный васкулит с возраста 9 лет
11	NBS	657-661delACAAA	5,52E-07/0	2,6	1176	518	103	Норма	Маловесность при рождении, микроцефалия, задержка физического развития, частые респираторные инфекции с возраста 4 лет
12	NBS	657-661delACAAA	2,08E-08/ 5,62E-05	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Микроцефалия. Инфекции — н/д
13	NBS	657-661delACAAA	1,81E-07/ 1,64E-04	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Микроцефалия, умственная отсталость, частые респираторные инфекции
14	NBS	657-661delACAAA	0/0	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Снижены IgA, IgM и IgG	Микроцефалия, множественные аномалии скелета и урогенитального тракта, врожденная кистозная дисплазия легких, хронический синусит и легочная инфекция, хроническая дыхательная недостаточность 2-й степени. На аутопсии: дисплазия тимуса
15	Синдром Блума	Нестабильность генома (30%), t(7;14)	Н/д	Н/д	590	59	70	Снижен IgG	Маловесность при рождении, микроцефалия, задержка физического и умственного развития, ихтиозоформный дерматоз, пятна кофе с молоком, гипогонадизм, гипоплазия щитовидной железы, частые респираторные инфекции с возраста 6 мес, хронический синусит и легочная инфекция, рецидивирующий гнойный лимфаденит
Нарушение иммунной регуляции									
16	ХЛПС I типа; дефицит SH2D1A	412G>C, 17Glu>Asp	Н/д	49,2	4380	1230	864	Отсутствие IgA, IgG	Не было тяжелых инфекций до развития НХЛ

Примечание. НХЛ — неходжкинские лимфомы, ПИД — первичный иммунодефицит, ВЭБ — вирус Эпштейна-Барр, н/д — нет данных, ЦМВ — цитомегаловирус, WASP — синдром Вискотта-Олдрича (Wiskott-Aldrich syndrome), NBS — синдром Ниймеген (Nijmegen Breakage syndrome), ХЛПС — X-сцепленный лимфопролиферативный синдром.

одном случае у семимесячной девочки, у которой не было симптомов активной ВЭБ-инфекции на момент начала ПХТ (см. табл. 2, 3; пациент № 1). Все остальные дети с комбинированным ПИД и НХЛ погибли от инфекционных осложнений без достижения ПР.

НХЛ развились у 30,8% детей (у 8 из 26) с комбинированными ПИД, зарегистрированными в Национальном детском регистре ПИД. В настоящее время под наблюдением находятся лишь четверо детей в возрасте от 1,9 до 11,8 года, кому не была проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГПСК), и у кого не развилось злокачественное новообразование.

Мы наблюдали злокачественную трансформацию и развитие ДВККЛ у мальчика, который поступил в Центр в возрасте 10 мес с подозрением на ПИД. До поступления в течение 2 нед пациент находился на лечении в педиатрическом стационаре по поводу генерализованной ВЭБ-инфекции с менингоэнцефалитом (см. табл. 2, 3; пациент № 6). Диагноз комбинированного ПИД был подтвержден без уточнения генетического дефекта. Однако, несмотря на агрессивное противовирусное лечение, полная элиминация ВЭБ из крови не была достигнута. Персистирующая лимфаденопатия, сыпь и нарастающая гепатоспленомегалия послужили причиной для проведения эксцизионной биопсии лимфоузла дважды с 8-недельным интервалом. В обоих случаях гистологически установлен диагноз реактивного ВЭБ-ассоциированного лимфаденита, при иммунофенотипировании также не выявлено признаков моноклональной пролиферации (рис. 1А). В возрасте 12 мес у пациента при рентгенографии и компьютерной томографии были выявлены множественные очаги в обоих легких. После проведения торакотомии с биопсией легкого был подтвержден диагноз ДВККЛ (рис. 1Б). Временной интервал между первыми симптомами ВЭБ-инфекции и появлением очагов в легких составил 2,5 мес. На момент постановки

диагноза НХЛ ребенку было 13 мес. Клинически, кроме очагов в легких, у пациента наблюдали лихорадку, шейную лимфаденопатию, множественные очаги в печени, выраженную спленомегалию, а также увеличение лимфоузлов брюшной полости и забрюшинного пространства. Пациент получил один курс R-ЕРОСН с редукцией доз всех препаратов на 25%. Ребенок умер через 17 дней после окончания курса ПХТ от сепсиса, ВЭБ-инфекции и полиорганной недостаточности.

Мы также наблюдали случай абдоминальной лимфомы Беркитта без связи с ВЭБ-инфекцией у 6-летнего мальчика с X-сцепленным лимфопролиферативным синдромом (ХЛПС) I типа (см. табл. 2, 3; пациент № 16). Патогенетически при этой форме ПИД наблюдается дефект ВЭБ-специфического клеточного иммунитета и высокий риск развития фульминантного инфекционного мононуклеоза, который и является основной причиной смерти у пациентов, которым не была проведена аллогенная ТГПСК [9, 10]. В данном случае у пациента не было отягощенного семейного анамнеза или тяжелых предшествующих инфекций и, соответственно, не было причин для иммунологического обследования ни до, ни после развития НХЛ, так как лечение мальчик переносил хорошо. Диагноз ПИД был установлен у него только через 1 год после диагностики НХЛ. Хотя уровни CD19 и CD20-позитивных клеток в сыворотке крови после проведения ПХТ с ритуксимабом были восстановлены, уровень IgG остался на прежнем уровне, что послужило причиной для проведения молекулярно-генетического исследования, при котором и была обнаружена мутация в гене *SH2D1A* на Xq25. Нам не удалось доказать ВЭБ-ассоциированную опухоль у пациента, так как вирус не был выявлен. Родители ребенка отказались от проведения алло-ТГПСК. Пациент находится под наблюдением в течение 5 лет без признаков лимфомы или тяжелых вирусных инфекций, ежемесячно

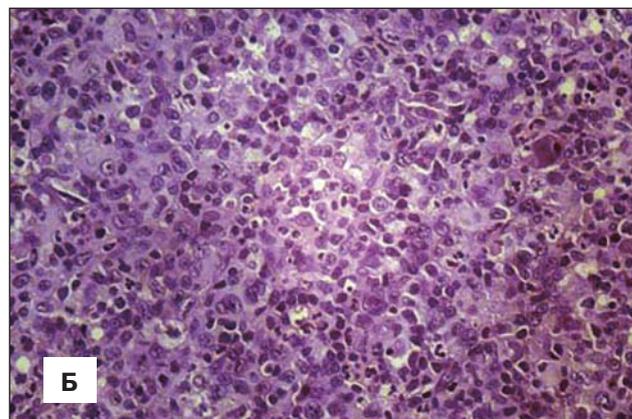
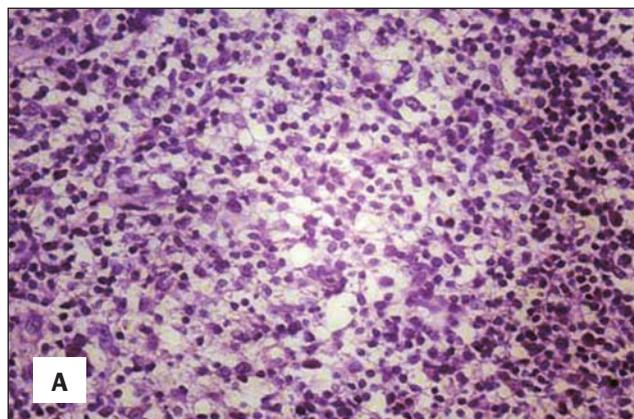


Рис. 1. Гистологическая картина лимфаденита (А) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (Б), ассоциированных с вирусом Эпштейна–Барр, у пациента с комбинированным первичным иммунодефицитом

Примечание.

А — паракортикальная зона лимфоузла расширена и замещена пластами гиперплазированных синусоидальных гистиоцитов, иммунобластов, плазматических клеток, лимфоцитов. Определяются крупные клетки типа Рид–Штернберга с наличием базофильных ядрышек в ядре. Ув. 400. Окраска гематоксилином-эозином.

Б — нормальная гистоархитектоника легкого стерта за счет пластов крупных атипичных лимфоидных клеток с относительно широкой цитоплазмой и крупными неправильной формы ядрами с крупными ядрышками; полиморфноядерные лейкоциты рассеяны среди клеток лимфомы. Ув. 400. Окраска гематоксилином-эозином.

получает заместительную терапию внутривенным иммуноглобулином. Детали лечения представлены в табл. 2.

Одна девочка с первичной кожной ALK-негативной (Anaplastic lymphoma kinase — киназа анапластической лимфомы) анапластической крупноклеточной лимфомой, локальным поражением кожи века получила только брахитерапию. Два ребенка с комбинированным ПИД получали только дексаметазон: у обоих изначально выявлена генерализованная вирусно-бактериальная инфекция и агранулоцитоз, оба умерли через несколько дней после поступления. Остальные 13 пациентов получили минимум 1 курс ПХТ. Девочке с массивным поражением головного мозга проводилась химиотерапия по индивидуальной схеме, которая включала высокие дозы метотрексата или цитарабина, а также дексаметазон и ритуксимаб внутривенно и эндolumбально. После 5-го курса ПХТ на фоне сохраняющейся персистенции ВЭБ в крови и ликворе у нее наступило быстрое прогрессирование опухоли (см. табл. 2, 3; пациент № 2).

Осложнения, преимущественно инфекционные, наблюдались у всех пациентов, получавших химиотерапию (табл. 4). Всего погибло от осложнений 6 детей: 5 — от сепсиса, 1 — от инвазивного аспергиллеза с массивным легочным кровотечением.

При проведении терапии ПИД-ассоциированных НХЛ ПР была достигнута только в 50% случаев. У двоих пациентов наблюдалась опухолевая прогрессия на лечении, у 1 ребенка наступил рецидив на поддерживающей терапии. Мы наблюдали развитие второго лимфопролиферативного заболевания (у 2 пациентов) и вторичного гемофагоцитарного синдрома (у 1). Всего 4 (25,0%) пациентов живы и находятся под наблюдением без признаков опухоли, время наблюдения — от 1,5 до 5,9 лет. Показатель вероятной 10-летней OS для детей с ПИД составил $0,27 \pm 0,12$, что значительно хуже аналогичного показателя для иммунокомпетентных пациентов с НХЛ (OS $0,81 \pm 0,02$; $p < 0,00001$) в нашей стране (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что ПИД является весомым фактором риска развития злокачественных новообразований в детском возрасте. НХЛ развиваются у 2–4% пациентов с ПИД до 18 лет и составляют более 60% всех неоплазий. Частота развития НХЛ и нозологические формы варьируют в зависимости от варианта ПИД. Наибольший, 250-кратный риск развития НХЛ — у пациентов с синдромами хромосомных поломок [1–4]. В нашем исследовании ПИД-ассоциированные НХЛ составили 5,7% всех НХЛ у детей, что выше, чем описано в литературе [1, 10, 11]. Более 90% педиатрических пациентов с НХЛ получали лечение в нашем Центре, что позволяет считать полученные данные репрезентативными в масштабах республики с численностью населения 10 млн человек. В представленной когорте пациентов диагноз НХЛ в

Таблица 4. Осложнения в терапии первой линии (15 пациентов, 51 курс/элемент химиотерапии)

Осложнение	Количество эпизодов, абс (%)
Вызванная сепсисом полиорганная недостаточность	4 (3,1)
Миелосупрессия (3–4-й степени)	49 (37,7)
Фебрильная нейтропения	19 (14,6)
Сепсис	13 (10,0)/7*
Стоматит (3–4-й степени)	7 (5,4)
Язвенно-некротическое поражение кожи	2 (1,5)
Целлюлит	2 (1,5)
Системный васкулит	1 (0,8)
Гепатотоксичность (3–4-й степени)	2 (1,5)
Панкреатит	4 (3,1)
Стероидиндуцированный сахарный диабет	1 (0,8)
Желудочно-кишечное кровотечение	5 (3,8)
Энтероколит	2 (1,5)
Синусит	1 (0,8)
Пневмония	3 (2,3)
Легочный аспергиллез	2 (1,5)
Легочное кровотечение	2 (1,5)
Тромбоз	2 (1,5)
Нейротоксичность (2-й степени)	2 (1,5)
ЦМВ-инфекция	4 (3,1)
ВЭБ-инфекция	3 (2,3)
Всего осложнений	130 (100)

Примечание. ВЭБ — вирус Эпштейна–Барр, ЦМВ — цитомегаловирус; * — доказано бактериологически.

75% случаев предшествовал постановке диагноза ПИД, даже у детей с NBS, которые имели типичные черты дисморфогенеза. Кроме прогрессирующей микроцефалии, маловесности при рождении, отставания в росте и характерного «птичьего» лица, у 2 детей с NBS были также множественные врожденные аномалии скелета и/или мочеполовой системы, однако на генетическое и иммунологическое обследование до развития лимфомы они не направлялись. Аналогично у 4 из 8 детей с различными комбинированными ПИД не было распознано иммунодефицитное состояние до развития НХЛ, несмотря на тяжелые инфекционные эпизоды в анамнезе. Соответственно, не проводилась оценка их иммунного статуса, профилактика инфекций, и они не получали заместительную терапию внутривенным иммуноглобулином. В результате инфекционный статус пациентов на момент диагностики лимфомы был тяжелее, что осложнило их терапию. Во

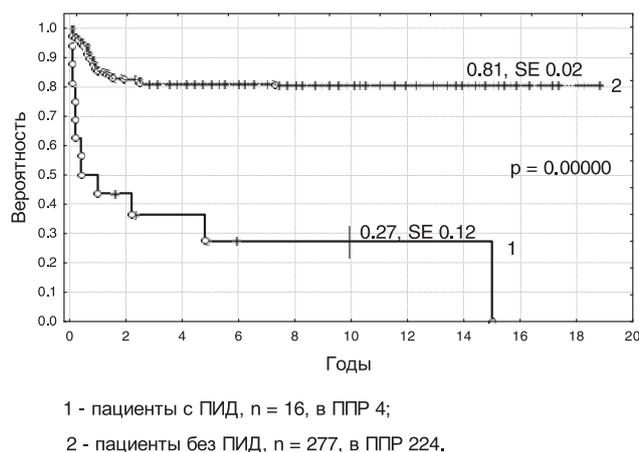


Рис. 2. Общая выживаемость пациентов с неходжкинскими лимфомами

Примечание. ПИД — первичный иммунодефицит, ППР — полная продолжающаяся ремиссия.

всех цитируемых источников выживаемость детей с ПИД-ассоциированными НХЛ значительно хуже, чем пациентов без ПИД, и составляет от 35 до 58% [10–15]. В анализируемой группе только 25,0% детей с ПИД и НХЛ находятся в первой продолжающейся ремиссии. По нашему мнению, позднее распознавание ПИД стало одной из причин плохого исхода. Внимание и настороженность педиатров могут способствовать более раннему иммунологическому и молекулярно-генетическому обследованию детей с подозрением на ПИД, что позволит своевременно выявить пациентов, кому показано проведение алло-ТГПСК, а также обеспечить соответствующее наблюдение и сопроводительное лечение детям с ПИД, имея в виду факт высокого риска развития злокачественных новообразований.

Спектр ПИД-ассоциированных НХЛ у детей отличается превалированием типичных для взрослых гистологических вариантов. Каждый ПИД имеет свои собственные факторы риска и ассоциирован с определенным типом НХЛ [3, 10–16]. ДВККЛ считается самым распространенным вариантом НХЛ у детей с ПИД, характеризующимся ассоциацией с ВЭБ-инфекцией и экстранодальной локализацией. В нашем исследовании ДВККЛ составили 37,5% от НХЛ. Все случаи ДВККЛ были ВЭБ-позитивными и характеризовались массивным поражением легочной ткани. ДВККЛ был превалирующим вариантом НХЛ у детей младшего возраста с комбинированным ПИД. Множественные очаги в легких также могут быть манифестным проявлением распространенной грибковой инфекции или туберкулеза. Мы рекомендуем выполнять биопсию в ранние сроки после выявления очагов в легких, чтобы не терять время на оценку эффективности превентивного антибактериального или противогрибкового лечения у пациентов с комбинированным ПИД и доказанной ВЭБ-инфекцией. Мы также наблюдали случаи злокачественной трансформации ВЭБ-ассоциированного лимфаденита, резистентного к противовирусному

лечению. ВЭБ-инфекция является потенциально преопухолевым состоянием у детей с ПИД. Мы убеждены, что профилактика ВЭБ-инфекции и раннее агрессивное противовирусное лечение с мониторингом вирусной нагрузки в случае клинической манифестации ВЭБ-инфекции повышает шанс таких пациентов на выживание.

В анализируемой группе у 4 из 5 пациентов с NBS развились Т-клеточные лимфомы. В литературе описаны случаи заболевания как Т-, так и В-клеточными лимфомами с некоторым преобладанием В-линейных форм [13–16]. Неизвестно, зависит ли больше развитие Т- или В-клеточной НХЛ от варианта и степени иммунологической недостаточности, чем от хромосомной нестабильности, у пациентов с NBS.

Частота осложнений во время лечения НХЛ была высокой у пациентов с комбинированными ПИД и у некоторых пациентов с синдромами хромосомных поломок, что согласуется с данными других исследователей [11–15]. Переносимость химиотерапии была больше ограничена инфекционным статусом, чем токсическими эффектами цитостатиков. У пациентов с комбинированным ПИД и NBS была выявлена очень низкая экспрессия mRNA TREC и KREC, что объясняет их предрасположенность как к бактериальным, так и к вирусным инфекциям (см. табл. 3). Именно поэтому стандартные педиатрические протоколы для лечения НХЛ часто бывают очень токсичными для этих пациентов. Модифицированные, более мягкие схемы ПХТ, комбинированные с моноклональными антителами, должны быть разработаны для лечения ПИД-ассоциированных НХЛ.

Алло-ТГПСК успешно применяется в качестве консолидирующей терапии в лечении лимфом при ХЛПС, комбинированном ПИД, синдроме Вискотта–Олдрича, X-сцепленном гипер-IgM-синдроме и даже при NBS [10, 17]. Учитывая высокий риск развития вторых злокачественных лимфопролиферативных заболеваний, мы считаем, что алло-ТГПСК должна выполняться пациентам в первой ПР с любым вариантом ПИД при выраженной иммунологической недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о необходимости ранней диагностики ПИД и его коррекции путем алло-ТГПСК или соответствующего ведения детей с ПИД с целью предотвращения тяжелых и рецидивирующих инфекций, в первую очередь ВЭБ-инфекции. У этих пациентов слишком велик риск развития НХЛ в детском возрасте как В-, так и Т-линейной принадлежности, но тех вариантов, которые более типичны для взрослых. Нераспознанный ПИД до развития НХЛ и инфекционные осложнения во время проведения ПХТ являются основными причинами плохого исхода у пациентов с ПИД-ассоциированными НХЛ. Индивидуализированная химиотерапия, адекватное сопроводительное лечение и проведение алло-ТГПСК могут улучшить выживаемость этой категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chinen J., Anmuth D., Franklin A.R. et al. Long-term follow-up of patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 795–797.
2. De Miranda N.F., Björkman A., Pan-Hammarström Q. DNA repair: the link between primary immunodeficiency and cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 2011 Dec; 1246: 50–63.
3. Tran H., Nourse J., Hall S. et al. Immunodeficiency-associated lymphomas. *Blood Rev.* 2008; 22: 261–281.
4. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. *IARC Pres, Lyon, France.* 4th edition. 2008. P. 312–316.
5. Murphy S.B. Classification, staging and end results of treatment in childhood non-Hodgkin's lymphoma: dissimilarities from lymphomas in adults. *Semin Oncol.* 1980; 7: 332–339.
6. Самочатова Е.В., Шелихова Л.Н. Лечение неходжкинских лимфом и острых лейкозов из зрелых В-клеток у детей и подростков по данным региональных российских клиник. *Онкогематология.* 2011; 1: 30–34.
7. Sparano J.A., Lee J.Y., Kaplan L.D. et al. Rituximab plus concurrent infusional EPOCH chemotherapy is highly effective in HIV-associated B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2011; 115: 3008–3016.
8. Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.L. et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunology.* 2014; 5: article 162.
9. Morra M., Howie D., Grande M.S. et al. X-linked lymphoproliferative disease: a progressive immunodeficiency. *Ann Rev Immunol.* 2001; 19: 657–82.
10. Booth C., Gilmour K.C., Veys P. et al. X-linked lymphoproliferative disease due to SAP/SH2D1A deficiency: a multicenter study on the manifestations, management and outcome of the disease. *Blood.* 2011; 117: 53–62.
11. Seidemann K., Tiemann M., Henze G. et al. Therapy for Non-Hodgkin lymphoma in children with primary immunodeficiency: analysis of 19 patients from the BFM Trials. *Med Pediatr Oncol.* 1999; 33: 536–544.
12. Sandoval C., Swift M. Treatment of lymphoid malignancies in patients with ataxia teleangiectasia. *Med Pediatr Oncol.* 1998; 31: 491–497.
13. Dembowska-Baginska B., Perek D., Brozyna A. et al. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children with Nijmegen Breakage syndrome (NBS). *Pediatr Blood Cancer.* 2009; 52: 186–190.
14. Bienemann K., Burkhardt B., Modlich S. et al. Promising therapy results for lymphoid malignancies in children with chromosomal breakage syndromes (Ataxia teleangiectasia or Nijmegen-breakage syndrome): a retrospective survey. *Br J Haematol.* 2011; 155: 468–476.
15. Sandlung J.T., Hudson M.M., Kennedy W. et al. Pilot study of modified LMB-based therapy for children with ataxia-teleangiectasia and advanced stage high grade mature B-cell malignancies. *Pediatr Blood Cancer.* 2014; 61: 360–362.
16. Gladkowska-Dura M., Dzierzanowska-Fangrat K., Dura W.T. et al. Unique morphological spectrum of lymphomas in Nijmegen breakage syndrome (NBS) patients with high frequency of consecutive lymphoma formation. *J Pathol.* 2008; 216: 337–344.
17. Albert M.H., Gennery A.R., Greil J. et al. Successful SCT for Nijmegen breakage syndrome. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 622–626.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Фёдорова Алина Степановна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинических исследований научного отдела Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦДОГИ) МЗ РБ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **тел.:** +375 (17) 265-40-98,

e-mail: alina_fedorova@list.ru

Шарапова Светлана Олеговна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии научного отдела РНПЦДОГИ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **e-mail:** sharapovasv@gmail.com

Михалевская Таисия Михайловна, врач-патологоанатом патологоанатомической группы лаборатории вирусологии и бактериологии РНПЦДОГИ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **e-mail:** aisiat@tut.by

Алешкевич Светлана Николаевна, врач-гематолог консультативно-поликлинического отделения РНПЦДОГИ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **e-mail:** aleschkevich_s@mail.ru

Стёганцева Мария Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории генетических биотехнологий научного отдела РНПЦДОГИ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **e-mail:** stsegantsevam@gmail.com

Алейникова Ольга Витальевна, член-корр. НАН Беларуси, доктор медицинских наук, профессор, директор РНПЦДОГИ

Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, **e-mail:** aleinikova2004@mail.ru