

УДК:616.155.392-0.36.11

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТОВ ПРОНИЦАЕМОСТИ АЛЬБУМИНА ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА И КОНЦЕНТРАЦИИ N-АЦЕТИЛНЕЙРАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ, А-АМИНОАЗОТА СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ОСТРОЙ ЛИМФОБЛАСТНОЙ ЛЕЙКЕМИИ И НЕЙРОЛЕЙКЕМИИ У ДЕТЕЙ

**И.А. ДЖАНЫБЕКОВА**

Лаборатория молекулярной генетики Научный центр здоровья детей РАМН (Россия), г. Москва

e-mail: indirad8@mail.ru

Исследование коэффициентов проницаемости гематоэнцефалического барьера и концентрации N-ацетилнейраминаовой кислоты, α-аминоазота при острой лимфобластной лейкемии и нейролейкемии у детей показал их прогностическую значимость. Так, при нейролейкемии с исходом в ремиссию показатели коэффициентов проницаемости постепенно снижаются, с затяжным течением коэффициенты проницаемости не возвращаются к исходным величинам на фоне лечения, с летальным исходом коэффициенты проницаемости нарастают в динамике наблюдения.

Ключевые слова: гематоэнцефалический барьер, спинномозговая жидкость, острая лимфобластная лейкемия, нейролейкемия, дети.

**Введение.** Поиск ранних диагностических маркеров поражения ЦНС или нейролейкемии (НЛ) при острой лимфобластной лейкемии (ОЛЛ) у детей представляется наиболее целесообразным и перспективным в современных условиях фармакотерапии для оптимального фармакопрогнозирования, так как в современном лечении применяется высокодозовая мультимодальная терапия, согласно немецким и другим западным международным протоколам.

**Целью** данной работы явилось изучение и оценка коэффициентов проницаемости альбумина гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), концентрации N-ацетилнейраминаовой кислоты и α-аминоазота при ОЛЛ и НЛ у детей в динамике наблюдения и определение их прогностической значимости.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 103 ребёнка с ОЛЛ и НЛ (в возрасте от 1 года до 18 лет), которым проведена германская протокольная терапия ВФМ-90 и стандартная полихимиотерапия (ПХТ). Согласие родителей (опекунов) пациента на лечение в клинике и на настоящее исследование получено.

В качестве групп сравнения были выбраны пациенты с ремиссией ОЛЛ и НЛ. В процессе наблюдения дети переходили из одной группы в другую по мере течения болезни. НЛ наблюдалась нами с разделением по вариантам: инициальная НЛ (ИНЛ), доклиническая НЛ (ДНЛ), клиническая НЛ (КНЛ). НЛ в свою очередь были распределены в соответствии со статусом ЦНС согласно критериям современных международных протоколов ВФМ-90 и др. (цитоз, количество бластов, наличие неврологической клиники и др.): статус ЦНС-1 (острый период, ремиссия, костномозговой (КМ) рецидив ОЛЛ), статус ЦНС-3 (доклинический вариант – ДНЛ, клинический вариант – КНЛ), статус ЦНС-6 (ИНЛ – инициальная нейролейкемия в дебюте заболевания).

Пациенты на протокольном ВФМ-лечении распределялись на три группы риска – 1. стандартного риска (SRG), 2. промежуточного риска (ImRG) и 3. высокого риска (HRG) согласно критериям немецкого оригинального протокола.

Биохимические (БХ) методы исследования. Были изучены концентрации общего белка (ОБ), альбумина (Альб), глобулинов (Гб), α-аминоазота (α-Ам), глутаминовой кислоты (ГлуК) и глутамина (Глу) в спинномозговой жидкости и сыворотке крови, N-ацетилнейраминаовой кислоты (НАНК) в спинномозговой жидкости (СМЖ). Проницаемость ГЭБ оценивалась нами на основании вычисления концентрационных градиентов СМЖ/ сыворотка крови для Альб, α-Ам, ГлуК и Глу. Реактивы использовались фирмы Berhinger (ФРГ), Sigma (США). Определения проведены на спектрофотометре “Atom” (Швеция), СФ-15а (Россия).

СМЖ брали у больных во время проведения контрольных люмбальных пункций (LP), одновременно интратекально вводили препараты (1 – метотрексат – МТХ или в сочетании 2 – МТХ и цитозин-арабинозид – ара-С или 3 – плюс преднизолон) с профилактической и лечебной целью. Забор венозной крови проводили натощак в день проведения люмбальной пункции из крупных магистральных сосудов или из катетера в подключичной вене перед введением препаратов.

Все определения проводились как минимум в трех параллельных пробах, а средние значения были использованы для статистической обработки результатов. Определение каждого биохимическо-



го показателя проведено в динамике заболевания: в разные периоды ОЛЛ от 1 до 5 раз, при осложнении ОЛЛ нейролейкоз – от 1 до 12 раз (1621 образец СМЖ, 834 образец сыворотки крови – всего 2455 образца).

Оценка всех полученных результатов проведена в сравнении с группой детей с ОЛЛ, находящихся в ремиссии, а также с нормативами, принятыми в литературе для здоровых детей. При проведении каждой серии исследований использованы контрольные сыворотки (Precinorm S, Precinorm G, Precinorm U – Berhinger, ФРГ). Все результаты обработаны статистически на компьютере пакетом программ «Statistica».

**Результаты.** По сравнению с данными для коэффициента альбумина (КА), характерными для периода ремиссии (Р) ( $3,9 \pm 0,2$ ), в остром периоде (ОП) заболевания ОЛЛ его величина была несколько выше ( $5,2 \pm 0,9$ ), но, тем не менее, оставалась в пределах нормы. Значения КА выше 9,0 отмечались в подростковом периоде (ПОП) ДНЛ и КНЛ. Так, если в ОП ДНЛ КА колебался от 3,9 до 7,5 ( $7,5 \pm 0,9$ ) и у одного ребенка был 14,5, то в ПОП его колебания составили 3,8–42,3 ( $13,1 \pm 4,1$ ). При развитии КНЛ средняя величина КА составляла в ОП 8,7 (4,5–38,7), в ПОП 17,3 (5,9–35,0). При достижении Р величины КА снижались и достигали следующих величин: при ДНЛ –  $4,4 \pm 1,0$  (3,5–6,2), при КНЛ –  $5,8 \pm 0,8$  (3,5–7,7). В отдельных случаях проницаемость ГЭБ не нормализовалась даже при выходе в ремиссию.

В период ремиссии ОЛЛ, соответствующей согласно современным классификациям статусу ЦНС-1, на фоне нормального цитоза 0–5 кл/мм<sup>3</sup> средняя величина НАНК была наименьшей  $31,6 \pm 2,5$  (8,5) с минимальной (min) величиной 12,7 и максимальной (max) 46,0 мг/л. В остром периоде ОЛЛ, также со статусом ЦНС-1, при нормальном цитозе 0–5 кл/мм<sup>3</sup> средняя величина НАНК была немного выше  $36,6 \pm 6,0$  (19,9) с min величиной 19,6 и max 66,0 мг/л.

При костномозговом рецидиве (КМР): статус ЦНС-1 при цитозе 0–7 кл/мм<sup>3</sup> (более высокие значения были в конце КМР в единичных случаях в динамике наблюдения, обычно терминальных состояниях, поэтому мы их включили в данную группу пациентов) средняя величина НАНК была  $54,8 \pm 10,2$  (25,2) с min величиной 29,6 и max 84,0 мг/л, т.е. выше, чем в ОП и Р. ДНЛ (статус ЦНС-3) с цитозом 6–318 кл/мм<sup>3</sup> НАНК имела следующие величины: в ОП  $66,2 \pm 5,2$  (11,7) с min величиной 22,0 и max 78,0 мг/л, в ПОП  $50,4 \pm 2,5$  (4,9) с min 44,0 и max 60,0 мг/л, в Р  $40,3 \pm 3,5$  (6,1) с min 8,0 и max 82,0 мг/л. КНЛ (статус подостром периоде ЦНС-3) с цитозом 1–672 кл/мм<sup>3</sup> НАНК имела следующие величины: в ОП  $111,5 \pm 13,1$  (22,7) с min величиной 31,2 и max 180,0 мг/л, в ПОП  $55,3 \pm 16,2$  (32,4) с min 22,8 и max 100,0 мг/л, в Р  $52,5 \pm 1,2$  (2,0) с min 41,9 и max 121,8 мг/л. ИНЛ (статус ЦНС-6) с цитозом 9–26 кл/мм<sup>3</sup> НАНК имела следующие величины: в ОП  $173,6 \pm 6,4$  (9,0) с min 167,2 и max 180,0 мг/л, в ПОП  $64,3 \pm 20,9$  (36,2) с min 43,4 и max 85,2 мг/л, в Р  $67,0 \pm 31,0$  (43,8) с min 36,0 и max 98,0 мг/л.

Концентрация  $\alpha$ -аминоазота в СМЖ при ОЛЛ и НЛ у детей оказалась достоверно повышенной при КМР, в ПОП ДНЛ, в ОП и ПОП КНЛ, в ПОП и Р ИНЛ, соответствуя колебаниям общего белка и НАНК.

**Обсуждение результатов.** Таким образом, анализ проницаемости ГЭБ по КА показал, что наименьшая проницаемость для белка характерна для периода ремиссии, по сравнению с которым во все остальные периоды заболевания ОЛЛ проницаемость для альбумина повышена, однако статистически достоверное существенное повышение КА отмечается лишь при развитии НЛ. Анализ динамики изменений КА при НЛ привел к необходимости выделить подострый период заболевания, в котором проницаемость для альбумина оказалась наибольшей. При достижении ремиссии в результате лечения далеко не во всех случаях происходит снижение и нормализация проницаемости ГЭБ для альбумина. Сопоставление полученных нами результатов исследования динамики КА в зависимости от исхода заболевания НЛ с результатами, полученными с использованием радиоактивных веществ, показали, что используемый нами показатель проницаемости ГЭБ (КА) не уступает по своей информативности им [1]. Коэффициенты проницаемости альбумина ГЭБ, НАНК,  $\alpha$ -аминоазот при ОЛЛ и НЛ оказались повышенными при развитии НЛ. Содержание НАНК оказалось увеличенным на протяжении всех периодов течения ОЛЛ. При развитии НЛ увеличение оказалось статистически достоверным ( $r=0,99$ ,  $p<0,001$ ). Наблюдение в динамике ОЛЛ и НЛ показало диагностическую и прогностическую значимость этих параметров [1–2].

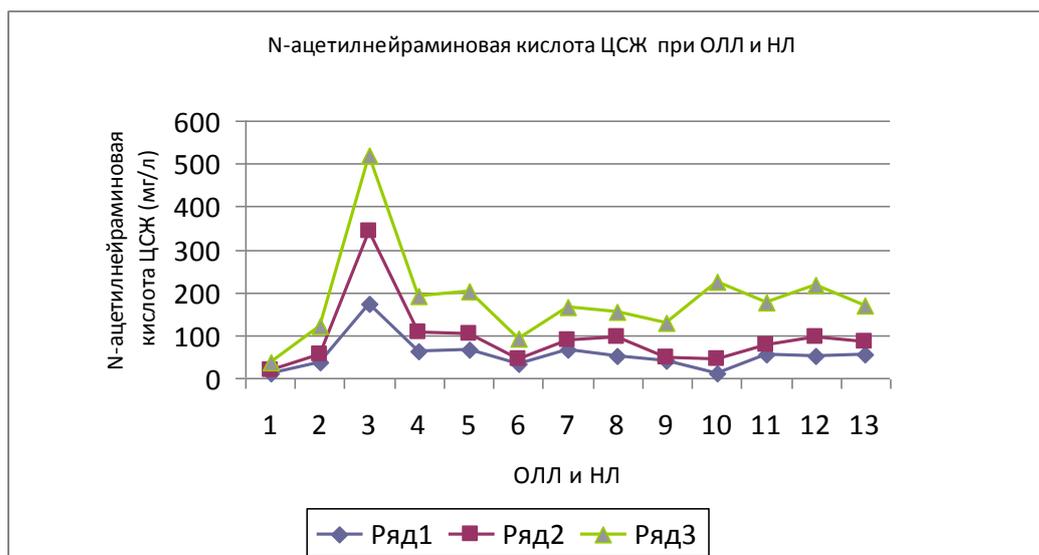


Рис. 1. Концентрация НАНК в СМЖ (ЦСЖ) в различные периоды ОЛЛ и нейролейкемии у детей:

1. норма, 2 острый период ОЛЛ, 3 .инициальная нейролейкемия(ИНЛ) – острый период, 4 .ИНЛ – подострый период, 5 .ИНЛ – ремиссия, 6. ремиссия ОЛЛ, 7. доклиническая нейролейкемия (ДНЛ) – острый период, 8 .ДНЛ – подострый период, 9. ДНЛ – ремиссия, 10. клиническая нейролейкемия (КНЛ) – острый период, 11. КНЛ – подострый период, 12. КНЛ – ремиссия, 13. костномозговой рецидив ОЛЛ, ряд 1 – min (минимальная величина), ряд 2 – M (средняя величина), ряд 3 – max ((максимальная величина).

**Выводы:**

1. Концентрационные градиенты СМЖ/сыворотка крови для Альб и α-Ам позволяют прогнозировать течение НЛ: с исходом в ремиссию, с затяжным течением и летальным исходом. Плавная нормализация этих показателей в динамике наблюдения позволяют прогнозировать полную ремиссию НЛ, колеблющееся состояние этих показателей говорит в пользу затяжного течения и резкое быстрое возрастание этих параметров заканчивается летальным исходом.
2. Не у всех больных во время контрольных точек LP происходит нормализация определявшихся СМЖ-показателей, что констатирует неполную НЛ-ремиссию, как при ИНЛ, так и ДНЛ, КНЛ, во всех группах риска, особенно средней и промежуточной [3-4].

**Литература**

1. Карачунский, А.И. Эволюция лечения острого лимфобластного лейкоза у детей: критическое использование мирового опыта в России / Ю.В. Румянцева, А.Г. Румянцев //Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии, 2011. – № 2. – С. 15-32.
2. Escherich, G. Cooperative Study Group for childhood acute lymphoblastic leukemia (COALL): Long-term results of trials 82? 85? 89? 92 and 97 Leukemia / G. Escherich, M.A. Horstmann, M. Zimmermann Janka-Schaub G.E. // Leukemia, 2010. – № 24(2). – P. 298-308.
3. Mitchell, C. Long-term follow-up of the United Kingdom medical research council protocols for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1088-2001/ C. Mitchell, S. Richards, C.J. Harrison, T. Eden // Leukemia, 2010. – № 24 (2). – P. 406-18.
4. Pui, C.H. Childhood acute lymphoblastic leukemia – current status and future perspectives / C.H. Pui, D. Campana, W.E. Evans // Lancet Oncol, 2001. – № 2. – P. 597-607.

**PROGNOSTIC VALUE OF INDEXIS OF PERMEABILITY OF BLOOD – BRAIN BARRIER OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA AND NEUROLEUKEMIA IN CHILDREN**

**I.A. DJANYBEKOVA**

*Laboratory of moleculargenetics  
Scientific center of children's health,  
Russian Academy of medical Sciences  
(Russia), Moscow*

*e-mail: indirad8@mail.ru*

Investigation of indexis of permeability of blood-brain barrier, N-acetylneuraminic acid, α-aminonitrogen in children with acute lymphoblastic leukemia and neuroleukemia show their prognostic value. Neuroleukemia with recovering has gradually decreasing indexis of permeability of blood-brain barrier, with undulating course not return to previous value during treatment, with death outcome has increasing of indexis during observing period

Key words: blood-brain barrier, cerebrospinal fluid, acute lymphoblastic leukemia, neuroleukemia, children.