

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «АСТРАХАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

КОЗАК ДАРЬЯ МИХАЙЛОВНА

**БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ИНФЕКЦИОННОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ С
ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

1.5.4 – «Биохимия»

ДИССЕРТАЦИЯ

**на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
д.м.н., доцент Бойко О.В.**

Астрахань 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1.1 Характеристика факторов, способствующих развитию инфекционных осложнений ХЛЛ.....	12
1.1.2. Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ бактериальной этиологии и их известные биохимические маркеры	22
1.1.3. Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ вирусной этиологии и их известные биохимические маркеры.....	26
1.1.4. Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ грибковой этиологии и их известные биохимические маркеры.....	33
1.2. Биохимические аспекты диагностики инфекционных осложнений ХЛЛ.	35
1.2.1. Роль неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина при лимфопролиферативных заболеваниях и других нозологических формах	35
1.2.2. Сведения о роли и особенностях метаболизма неоптерина, альфа-1-антитрипсина, лактоферрина при заболеваниях вирусной, бактериальной, грибковой этиологии.....	40
ГЛАВА 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	44
2.1. Характеристика больных хроническим лимфолейкозом с инфекционными осложнениями..	44
2.2. Лабораторные методы исследования. Характеристика биохимических диагностических маркеров.....	47
2.3. Методы статистической обработки результатов	50
ГЛАВА 3. ИНФЕКЦИОННЫЙ СИНДРОМ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ.....	52
3.1. Развитие инфекционных осложнений на различных этапах ведения пациентов с ХЛЛ.....	52
3.2 Характер и частота инфекционных осложнений хронического лимфолейкоза в зависимости от возрастных и гендерных особенностей пациентов с ХЛЛ.....	58
3.3. Этиологическая характеристика инфекционных осложнений хронического лимфолейкоза.....	61
ГЛАВА 4. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ НЕОПТЕРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА.....	64
4.1. Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от наличия инфекционных осложнений	65

4.2. Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений	68
4.3. Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от этиологии инфекционных осложнений	72
4.4. Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от нозологии инфекционных осложнений	78
4.5. Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений	86
ГЛАВА 5. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА.....	94
5.1. Закономерности изменения уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от присоединения инфекционных осложнений	94
5.2. Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений	97
5.3. Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от этиологии инфекционных осложнений	100
5.4. Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от нозологии инфекционных осложнений	106
5.5. Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений	114
ГЛАВА 6. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЛАКТОФЕРРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА ...	123
6.1. Закономерности изменения уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от присоединения инфекционных осложнений	123
6.2. Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений	125
6.3. Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от этиологии инфекционных осложнений	127
6.4. Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от нозологии инфекционных осложнений	131
6.5. Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений	139

ГЛАВА 7. УСТАНОВЛЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ СИНТЕЗА БАКТЕРИЯМИ БЕЛКА, ИММУНОХИМИЧЕКИ СХОДНОГО С ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА.....	146
7.1 Определение устойчивости микроорганизмов к лактоферрину человека.....	146
7.2 Определение продукции белка, иммунологически сходного с лактоферрином человека.....	147
7.3 Физико-химические свойства МдЛФ.....	147
ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ	151
ВЫВОДЫ.....	160
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	162
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	163

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Поиск и установление закономерностей функционирования в организме пациента новых биохимических маркеров для диагностики осложнений, возникающих при гемобластозах, представляют собой актуальную медицинскую задачу. Гемобласты – это опухолевые заболевания кроветворной и лимфоидной ткани, которые входят в число пяти самых распространенных опухолей человека, а хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) составляет треть всех видов и форм лейкозов. В настоящее время отмечаются значительные успехи в лечении ХЛЛ, что во многом обусловлено внедрением в клиническую практику новых программ химиотерапии, включающих аналоги пурина, моноклональные антитела; введением новых лекарственных средств, направленных на ингибирование внутриклеточных ферментов и регулирующих передачу информации по сигнальным путям В-клеточного рецептора (брун-тирозинкиназы и фосфатидилинозитол-3-киназы), а также аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток костного мозга. Одним из главных препятствий успешного лечения, позволяющего достичь длительной полной клинико-гематологической, а в ряде случаев и молекулярной ремиссии, являются инфекционные осложнения различной степени тяжести, которые часто становятся непосредственной причиной смерти пациентов. Основной причиной развития инфекционных осложнений у данной группы больных является вовлечение в опухолевый процесс клеток иммунной системы, сопровождающееся нарушением функциональных свойств иммунокомпетентных клеток и развитием синдрома вторичной иммунной недостаточности [56, 57, 59, 65, 66].

У пациентов с ХЛЛ к инфекционно-воспалительным процессам могут привести возбудители различной этиологии: бактериальной, вирусной и грибковой природы, а также простейшие [2, 6, 31, 50, 53, 77]. На фоне системных нарушений функций иммунологической реактивности и применением иммунодепрессивных методов лечения один и тот же вид возбудителя может вызывать разные нозологические формы заболеваний (заболевания центральной нервной системы, органов дыхания, мочевыводящих путей и другие). В то же время, каждая из форм заболевания может быть вызвана различными подвидами вирусов и микроорганизмов. Инфекционные осложнения являются неблагоприятным фактором при прогнозировании исхода ХЛЛ, так как зачастую они плохо поддаются антибактериальной, противовирусной и антимикотической терапии и имеют склонность к частым рецидивам.

Функционирование защитных систем пациентов, находящихся в группе риска и патологические процессы, протекающие при гемобластозах, в настоящее время активно изучаются как отечественными, так и зарубежными исследователями. Однако спектр имеющихся сообщений по данному направлению лишь ограниченно характеризует некоторые параметры биохимических процессов в организме больных и их связь с возникающими инфекционными осложнениями.

В последние годы интерес ученых и специалистов в ряде отраслей медицины направлен на исследование диагностических возможностей неоптерина. Определение уровня неоптерина в биологических жидкостях человека важно для прогнозирования, диагностики и мониторинга течения заболеваний бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. Содержание неоптерина в сыворотке крови изучалось при разнообразных воспалительных процессах: хронических, подострых и острых заболеваниях ЖКТ (при активной форме цирроза печени и остром гепатите в т.ч. вирусной этиологии), состояниях после хирургических операций, некротических процессах, в стадии ранней реконвалесценции термических ожогов, хроническом и остром панкреатите, а также, в офтальмологической практике (увеиты инфекционной этиологии) [9, 10, 72, 73].

Повышенное содержание неоптерина в биологических жидкостях (например, в сыворотке или моче) тесно ассоциировано с различными заболеваниями. Увеличение его концентрации происходит на начальных стадиях вирусной, бактериальной или протозойной инфекции и обычно предшествует повышению титра антител к индикаторному антигену.

Установлено, что гиперпродукция неоптерина напрямую сопряжена с влиянием цитокинов на метаболизм иммунных клеток. Основными источниками неоптерина являются моноциты, макрофаги, дендритные клетки и эндотелиальные клетки, активированные ИФН- γ . Количество синтезируемого неоптерина прямо пропорционально количеству ИФН- γ , а также косвенно свидетельствует о повышении ИФН- α . Есть данные, что увеличение уровня неоптерина в крови коррелирует с аутоиммунными, воспалительными, опухолевыми и инфекционными заболеваниями. Кроме того, являясь промежуточным продуктом в синтезе биоптерина, неоптерин участвует в активации лимфоцитов, а измерение его концентрации позволяет также оценить взаимодействия в популяции моноцитов/макрофагов [134, 158, 168].

Различия в уровне неоптерина крови коррелирует с особенностями определенного типа возбудителя инфекционного заболевания. При заболеваниях вирусной этиологии повышение уровня неоптерина в биологических жидкостях можно обнаружить даже в конце инкубационного периода до появления клинических симптомов болезни. Максимальный уровень неоптерина достигается перед появлением специфических антител к возбудителю. При инфекционных заболеваниях бактериальной природы повышение концентрации неоптерина

фиксируется при хроническом или затяжном течении, или септицемии. Имеются различные теории возможного механизма действия данного соединения. Предполагается, что неоптерин действует как эндогенный ингибитор синтеза фолатов бактериями, а его уровень в крови более 10 нмоль/л считают повышенным. Все вышеперечисленное делает неоптерин перспективным биохимическим маркером оценки клеточного звена иммунного ответа при инфекционных осложнениях ХЛЛ [20, 73, 146].

Альфа-1-антитрипсин – гликопротеин, который является основным компонентом альфа-1-фракции белков сыворотки крови. Большая часть альфа-1-антитрипсина сыворотки синтезируется печенью. Альфа-1-антитрипсин - маркер наличия воспалительных процессов. Этот белок обладает способностью блокировать активность протеолитических ферментов: систем кинина, комплемента, фибринолитической системы, протеаз, выделяемых нейтрофилами. При воспалительном процессе в легочной ткани альфа-1-антитрипсин эффективно подавляет функцию эластазы, выделяющейся из нейтрофилов, предотвращая деградацию белка соединительной ткани – эластина в стенках альвеол и развитие эмфиземы легких. Он модулирует локальный иммунный ответ, обладает антиоксидантным и антимикробным действием, ингибирует протеолитические ферменты апоптоза. Концентрация альфа-1-антитрипсина значительно повышается при остром воспалении, инфекционных заболеваниях, ревматических заболеваниях, повреждении или некрозе тканей, некоторых злокачественных процессах, воспалительном процессе в печени [9, 38, 48, 83, 96, 153].

Лактоферрин является многофункциональным белком семейства трансферринов. Он обладает противомикробной активностью и является частью врожденной защиты, в основном в слизистых оболочках. Основная роль лактоферрина заключается в том, чтобы изолировать свободное железо и при этом удалять субстрат, необходимый для роста бактерий. Антибактериальное действие лактоферрина также объясняется наличием специфических рецепторов на поверхности клеток микроорганизмов. Лактоферрин связывается с липополисахаридом бактериальной стенки и окисляет бактерии путем образования перекисей. Это влияет на проницаемость мембраны и приводит к распаду клеток [127, 128, 180, 183].

Ни один из вышеперечисленных маркеров не был изучен при инфекционных осложнениях гемобластозов, в том числе, и при инфекционном синдроме осложняющем ХЛЛ. Исследования, предпринимаемые в этом направлении, позволят лучше понимать процессы, происходящие в организме пациента и установить биохимический профиль больных ХЛЛ, склонных к формированию разного рода инфекций. С этих позиций, выбор неоптерина (НП), альфа-1-антитрипсина (А1АТ) и лактоферрина (ЛФ) в качестве маркеров развития инфекционного синдрома и их последующего мониторинга представляется нам наиболее оптимальным. Во-первых, инфекционный синдром, как правило, вызывает существенные

изменения этих показателей, так как любое инфекционное заболевание, независимо от характера возбудителя сопровождается активацией иммунной системы, что, очевидно, приводит к росту концентрации этих веществ в сыворотке крови. Во-вторых, изменения концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина могут быть предикторами ответа на терапию и критериями индивидуального выбора лекарственных средств на фоне коррекции препаратами различных фармакологических групп.

Цели и задачи исследования

Цель исследования: Обоснование использования новых биохимических маркеров развития инфекционного синдрома при ХЛЛ.

Задачи исследования:

1. Определить преобладающие виды инфекционных осложнений у больных с ХЛЛ в зависимости от локализации патологического процесса и этиологии возбудителя.
2. Изучить влияние специфической химиотерапии на выработку неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина у пациентов с ХЛЛ.
3. Провести сравнительный анализ показателей уровня неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина у пациентов с ХЛЛ при наличии и отсутствии инфекционных осложнений.
4. Провести сравнительный анализ концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина сыворотки крови больных ХЛЛ в зависимости этиологии инфекционных осложнений.
5. Определить интенсивность продукции микроорганизмами вещества, иммунологически сходного с лактоферрином человека (МдЛФ) в зависимости от внешних условий с целью установления его диагностического значения, провести его выделение, очистку и определение физико-химических свойств.
6. Выявить прогностическое значение неоптерина, альфа-1-антитрипсина, лактоферрина и вещества, иммунологически сходного с лактоферрином человека для диагностики инфекционного синдрома различной этиологии при ХЛЛ.

Научная новизна исследования

Впервые установлена взаимосвязь изменений концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина у больных ХЛЛ с инфекционным синдромом в зависимости от характера инфекционных осложнений, вида возбудителя и локализации инфекционного процесса, стадии основного заболевания, проводимых схем химиотерапии и определено их диагностическое значение.

Впервые установлены закономерности продукции микроорганизмами вещества, иммунологически сходного с лактоферрином человека в зависимости от концентрации лактоферрина в среде обитания бактерий, определено диагностическое значение системы ЛФ человека – МдЛФ микроорганизмов для прогнозирования формирования инфекционных осложнений у больных ХЛЛ.

Проведены выделение и очистка вещества, иммунологически сходного с лактоферрином человека, впервые определены его физико-химических свойства.

На основании результатов исследований получен Патент РФ № 2734670.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определены биохимические изменения при наиболее часто встречающихся инфекционных осложнениях у пациентов с ХЛЛ.

Выявленные закономерности продукции микроорганизмами вещества, иммунологически сходного с лактоферрином человека, с последующим его выделением и очисткой, способствуют установлению химического состава живых организмов, а также пониманию функционирования отдельных молекул в биологических объектах.

Рекомендовано определение концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в сыворотке крови больных ХЛЛ, а также продукции МдЛФ микроорганизмами, выделенными из организма больного и определения их устойчивости к лактоферрину человека, как высокоинформативных диагностических критериев для прогнозирования развития инфекционного синдрома, снижения числа рецидивов, а также своевременного назначения превентивного лечения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Определение концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в сыворотке крови больных ХЛЛ в динамике заболевания позволяет использовать их в качестве высокоинформативных диагностических критериев ранней стадии развития инфекционных осложнений и контроля ответа организма пациента на проводимую терапию.

2. Рекомендованный метод в сочетании с определением интенсивности продукции МдЛФ микроорганизмами и определением их устойчивости к лактоферрину человека, позволит своевременно снизить частоту рецидивов инфекционных осложнений и добиться своевременного ответа на проводимый объем противоинфекционных мероприятий.

3. Очищенный МдЛФ обладает молекулярной массой 85000 ± 5000 Да, изоэлектрической точкой 9,2. Интенсивность его продукции микроорганизмами зависит от концентрации лактоферрина в их местообитании: снижается при культивировании на питательной среде,

содержащей лактоферрин, а также у бактерий, выделенных от пациентов с инфекционным синдромом, уровень лактоферрина у которых повышен.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования:

- внедрены в учебный процесс кафедры факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования (акт внедрения от 02.10.2023 г.) и кафедры фундаментальной химии (акт внедрения от 23.09.2024 г.) ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России;
- лечебный процесс гематологического отделения ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» (акт внедрения от 20.06.2025 г.).

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Результаты диссертационного исследования были получены с использованием современных методов с применением высокоточного оборудования. Объем выборки и количество проведенных исследований позволили получить достоверные результаты при статической обработке данных. Были использованы строгие критерии включения и исключения при формировании групп сравнения. Результаты работы были доложены на следующих конференциях: на I Всероссийской конференции молодых терапевтов в рамках Терапевтического форума "Мультидисциплинарный больной" (г. Москва, май 2017); на научной конференции «Научные разработки: вчера, сегодня, завтра 2018 (Беларусь, май 2018); на VIII Съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (НМОАГЭ) (г. Воронеж, май 2019); на V международной научно-практической веб-конференции Прикаспийских государств (г. Астрахань, октябрь 2020). IX Международной научно-практической конференции Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины», в рамках II Каспийского научно-образовательного конгресса, организованного Правительством Астраханской области совместно с высшими учебными заведениями региона (г. Астрахань, май 2024).

Личный вклад автора

Автором были сформулированы цель и задачи исследования, выбраны методы исследования. Лично выполнены все экспериментальные исследования, включая сбор биологического материала пациентов и анализ полученных биохимических параметров, статистическая обработка полученных данных, анкетирование и изучение историй болезни

пациентов, анализ литературы по исследуемой теме, подготовка публикаций по теме диссертации.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, 6 из которых в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 3 публикации в журналах, входящих в международные базы научного цитирования Web of Science и Scopus. Получен патент на изобретение №2734670.

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1.1. Характеристика основных факторов, способствующих развитию инфекционных осложнений хронического лимфолейкоза

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) представляет собой злокачественное заболевание крови, состоящее из зрелых В-клеток, которые клонально размножаются и накапливаются в периферической крови, костном мозге, лимфатических узлах и селезенке. Прогрессирование заболевания и его исход определяются как генетическим компонентом, который включает относительно широкий спектр генетических поражений, так и значительным вкладом микроокружения, обеспечивающего сигналы, влияющие на поведение лейкемических клеток. Несмотря на то, что ХЛЛ является клинически и молекулярно гетерогенным заболеванием, обычно он характеризуется выраженными нарушениями иммунной системы, включающими как врожденные, так и адаптивные иммунные реакции и приводящими к подавлению иммунитета на ранних стадиях. Дисфункция иммунной системы, в свою очередь, увеличивает частоту вторичных злокачественных новообразований и инфекций, которые представляют собой основную причину заболеваемости и смертности пациентов с ХЛЛ. Иммуносупрессия и повышенный риск инфекций могут быть обусловлены факторами, связанными с пациентом, лечением и заболеванием. Пожилой возраст является известным фактором риска инфекций у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями в целом и, безусловно, играет роль при ХЛЛ, где большинство пациентов составляют пожилые люди. Наличие сопутствующих заболеваний и общее состояние здоровья пациентов также влияют на восприимчивость к инфекциям. Тип, продолжительность, количество и комбинации методов лечения в значительной степени способствуют подавлению иммунитета у большинства пациентов, и все факторы, связанные с лечением, находятся в тесной корреляции с индивидуальными особенностями. Например, в ряде исследований было обнаружено, что терапия рецидива заболевания связана с повышенным риском инфекций по сравнению с тем же лечением, используемым в качестве терапии первой линии, вероятно, из-за эволюции самого заболевания и общего ухудшения состояния пациентов. Наконец, несмотря на то, что иммуносупрессия наблюдается уже на ранних стадиях ХЛЛ, прогрессирование/рецидив заболевания или плохой ответ на терапию представляют собой факторы, связанные с прогрессирующей дисфункцией иммунной системы. Резюмируя вышесказанное можно

утверждать, что при ХЛЛ сочетание различных состояний приводит к динамическому и самоподдерживающемуся нарушению регуляции иммунной системы [4, 59, 74, 79, 81].

Количественные и качественные дефекты со стороны иммунной системы наблюдаются практически у всех больных ХЛЛ, начиная с момента постановки диагноза. Изменения врожденной иммунной системы включают нарушение функции нейтрофилов, естественных клеток-киллеров (NK) и снижение активности комплемента. Со стороны адаптивного иммунного ответа возможен дефицит клеточно-опосредованного иммунитета с гипогаммаглобулинемией, подавлением функции Т-клеток и дефектами антителозависимой клеточной цитотоксичности [176, 202].

Среди нарушений, наблюдаемых при ХЛЛ, стоит отметить клинические проблемы, связанные с аутоиммунитетом, возникающие у значительной части пациентов. Взаимосвязь между ХЛЛ и аутоиммунными цитопениями, особенно аутоиммунной гемолитической анемией и иммунной тромбоцитопенией, хорошо известна. Ответственный за этот процесс механизм приписывается тому, что глобальный сценарий иммуносупрессии, характеризующий ХЛЛ, благоприятствует распространению аутореактивных лейкозных клеток [12, 59, 66, 79].

В настоящее время все больше данных указывает на то, что клетки ХЛЛ модулируют фенотип и функции иммунных клеток врожденной и адаптивной иммунной системы посредством ряда поверхностных молекул, и растворимых факторов, что приводит, в конечном итоге, к развитию инфекционных осложнений различного генеза [13, 34, 68, 77, 198].

1. Дисфункция врожденного иммунного ответа при хроническом лимфоцитарном лейкозе.

У пациентов с ХЛЛ обнаруживаются изменения многих элементов и эффекторов врожденного иммунного ответа. Одной из наиболее характерных особенностей врожденного иммунного ответа при ХЛЛ является наличие популяции макрофагов с проопухолевым (M2-подобным) фенотипом, называемых nurse-like cells (NLC). Первоначально эти клетки были описаны как спонтанно дифференцирующиеся *in vitro* из циркулирующих моноцитов. Теперь ясно, что сдвиг популяций макрофагов в сторону толерантности в первую очередь обусловлен самими клетками ХЛЛ посредством секреции растворимых факторов (например, IL-10), аденозина, никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), поскольку отсутствует дифференцировка M2 в CD14⁺ моноцитов при культивировании *in vitro* с нормальными В-клетками. Фактически, у пациентов с ХЛЛ было описано общее увеличение количества циркулирующих моноцитов, но такие клетки демонстрировали профиль экспрессии генов, связанный с иммуносупрессивными свойствами. Таким образом, ряд исследований *in vitro* показал, что NLC функционально эквивалентны опухоль-ассоциированным макрофагам (TAM), описанным в солидных опухолях, и экспрессируют CD163, CD206, CD14 и CD68 на

поверхности клеток. Также имеются сведения о дефиците β -глюкуронидазы, лизоцима и миелопероксидазы, что приводило к относительно рефрактерному состоянию и нарушению ответа на классические патогены. Помимо отсутствия провоспалительных реакций, NLC активно поддерживают выживаемость клеток ХЛЛ *in vitro* и защищают их от спонтанного и лекарственно-индуцированного апоптоза посредством множества мембраносвязанных и растворимых факторов. Среди прочего, ось CXCL12/CXCR4 является одним из наиболее изученных путей, посредством которых NLC влияют на поведение и выживаемость клеток ХЛЛ. Кроме того, NLC также экспрессируют такие молекулы, как BAFF (фактор активации В-клеток), APRIL (лиганд, индуцирующий пролиферацию), CD31 и Plexin B1, которые способствуют пролиферации и выживанию лейкозных клеток. NLC привлекаются клетками ХЛЛ, которые секретируют CX3CL1/Фрактакин, и после контакта адгезия NLC и клеток ХЛЛ может усиливаться за счет гомотипических (ХЛЛ с ХЛЛ или NLC с NLC) или гетеротипических (ХЛЛ с NLC) взаимодействий, обусловленных поверхностными взаимодействиями CX3CL1 и CX3CR1 [43, 67, 81, 83, 121, 181].

Дендритные клетки (ДК) также дисфункциональны при ХЛЛ, с изменением профиля цитокинов, отсутствием антигена созревания CD83 и костимулирующей молекулы CD80, а также неспособностью активировать правильные ответы Т-клеток 1 типа. Считается, что механизм, лежащий в основе этого фенотипа, включает, среди прочего, активацию негативного регулятора SOCS5, который предотвращает активацию STAT6 в ответ на передачу сигналов IL-4R, тем самым нарушая дифференцировку функционально зрелых ДК и приводя к снижению секреции провоспалительных цитокинов [68, 99, 202].

Среди миелоидных клеток миелоидные супрессорные клетки (MDSC) представляют собой гетерогенную популяцию предшественников гранулоцитов, макрофагов и дендритных клеток. Эти клетки были идентифицированы как основной компонент микроокружения при различных злокачественных новообразованиях, включая ХЛЛ, и могут ингибировать ответы Т-клеток, ограничивая подходы к иммунотерапии. Эти клетки определяются как популяция CD14⁺HLA-DR^{lo}, и было замечено, что повышенная частота обнаружения этой подгруппы клеток связана с плохим прогнозом, более высокой лейкомической нагрузкой и сокращением времени до прогрессирования у пациентов с ХЛЛ [44, 81, 84, 92, 126].

Так же имеет место увеличение количества циркулирующих НК-клеток у пациентов с ХЛЛ. Однако в этих клетках наблюдается повышенная экспрессия CD27, которая обычно связана со снижением количества зрелых клеток и дефектной экспрессией корецептора NKG2D. Функционально НК-клетки пациентов с ХЛЛ демонстрируют сниженную реакцию дегрануляции по отношению к трансформированным В-клеткам и, по-видимому, более чувствительны к гибели клеток, вызванной активацией. В частности, частота и

жизнеспособность NK-клеток, экспрессирующих ингибирующие Ig-рецепторы клеток-киллеров KIR2DL1 и/или KIR3DL1, с прогрессирующей потерей функции в течение заболевания. Эти наблюдения позволяют предположить, что зрелые KIR-экспрессирующие NK-клетки могут реагировать на циркулирующие злокачественные В-клетки, но подвергаются индуцированному активацией апоптозу, благоприятствующему размножению нефункциональных NK-клеток [18, 95, 120].

Аналогичным образом, процент нейтрофилов выше у больных ХЛЛ по сравнению со здоровыми людьми, несмотря на тяжелые функциональные дефекты, обусловленные дефицитом миелопероксидазы и нарушением миграционной и фагоцитарной способности. Фенотипически нейтрофилы пациентов с ХЛЛ активируют CD54, независимо от инфекции, вероятно, в результате хронической стимуляции иммунной системы. Напротив, уменьшение поверхностного TLR-2 указывает на приобретение состояния толерантности, что соответствует общей иммуносупрессии. Кроме того, нейтрофилы ХЛЛ производят повышенное количество активных форм кислорода (АФК), что, влияя на цитотоксическую активность Т-клеток и NK-клеток и способствует созданию генотоксичной среды, способствуя генетической нестабильности и прогрессированию заболевания [18, 23, 122].

Наконец, сниженные уровни белков комплемента, включая некоторые компоненты C1-C4, были описаны у значительной части пациентов с ХЛЛ, что, так же способствует повышенному риску развития инфекции [18, 86, 88].

2. Дисфункция адаптивного иммунного ответа при ХЛЛ.

ХЛЛ представляет собой заболевание В-лимфоцитов и поэтому по своей сути характеризуется дисфункцией адаптивного иммунного ответа. Циркулирующие клетки ХЛЛ имеют общие фенотипические особенности регуляторных В-клеток, такие как поверхностная экспрессия CD5, CD24 и CD27. Такие В-клетки отрицательно регулируют реакцию других иммунных клеток, главным образом, путем секреции IL-10. Производство IL-10 усиливается рядом стимулов *in vitro*, включая ко-стимуляцию Т-клеток через CD40L, IL-4 или BAFF семейства TNF из моноцитов/макрофагов, и значительно увеличивается *in vivo* в лимфатических узлах при ХЛЛ. Это, в свою очередь, влияет на различные особенности адаптивного иммунного ответа с нарушением активности Т-клеток и увеличением количества регуляторных Т-клеток, а также на врожденный иммунный ответ с ингибированием NK-клеток, снижением уровня воспалительных цитокинов, вырабатываемых моноцитами и ДК, и подавление функций макрофагов. Подавление иммунитета при ХЛЛ также является следствием общей гипогаммаглобулинемии, возникающей в результате снижения выживаемости и функций плазматических клеток, тяжесть которой может варьировать и увеличиваться по мере прогрессирования заболевания. На ранней стадии ХЛЛ гипогаммаглобулинемия обычно

затрагивает только один класс сывороточных иммуноглобулинов, тогда как на поздней стадии ХЛЛ она становится состоянием, затрагивающим все классы иммуноглобулинов [66, 79, 86].

Изменения в Т-клетках наблюдаются уже на ранних стадиях ХЛЛ и усугубляются по мере прогрессирования заболевания. Интересно, что на ранних стадиях ХЛЛ абсолютное количество $CD8^+$ Т-лимфоцитов увеличивается, нарушая соотношение $CD4^+/CD8^+$, что, вероятно, является результатом ориентированного на ХЛЛ адаптивного иммунного ответа. Несмотря на увеличение количества, циркулирующие Т-клетки при ХЛЛ демонстрируют аномальный фенотип с повышенной экспрессией маркеров истощения, таких как CTLA-4, LAG-3, CD244, CD160 и PD-1. Эти фенотипические изменения также коррелируют с выраженными функциональными дефектами и значительно сниженной цитотоксической способностью и пролиферативной способностью. Истощение Т-клеток при ХЛЛ отличается от вызванного вирусом истощения тем, что они сохраняют способность выделять цитокины, такие как TNF- α , которые защищают клетки ХЛЛ от апоптоза и индуцируют их пролиферацию, что позволяет предположить, что Т-клетки ХЛЛ могут быть использованы для формирования пролейкемического микроокружения. Клетки ХЛЛ фактически манипулируют Т-лимфоцитами, чтобы получить преимущество в выживании за счет отключения цитотоксической функции Т-клеток, что, вероятно, является следствием дефекта LAT Т-клеток [68, 155, 185, 188].

3. Молекулярные механизмы, определяющие дисфункцию иммунного ответа при ХЛЛ.

Поверхностные молекулы и внеклеточные медиаторы клеток ХЛЛ способствуют снижению регуляции функций иммунных клеток. Лейкемические клетки взаимодействуют с неопухолевыми клетками и формируют свой фенотип и функции в направлении толерантности. Регуляция CTLA-4, TIGIT и PD-1 на клеточной поверхности Т-лимфоцитов снижает опосредованную TCR сигнализацию и ограничивает активацию Т-клеток. Этому эффекту также способствует повышение уровня соответствующих белков-партнеров на макрофагах, дендритных клетках и самих лейкемических клетках. Кроме того, клетки ХЛЛ выделяют протолерантные цитокины, такие как IL-10 и IL-6, и высвобождают во внеклеточное пространство никотинамидфосфорибозилтрансферазу (NAMPT), которые способствуют перекосу макрофагов в сторону M2-подобного фенотипа. Регуляция молекул, генерирующих и воспринимающих аденозин, еще больше усиливает иммуномодуляцию при ХЛЛ. Основная иммунорегуляторная активность CTLA-4 основана на снижении активации $CD4^+$ Т-клеток, преимущественно $CD4^+$ хелперных Т-клеток, хотя сообщалось и о прямом ингибирующем эффекте на $CD8^+$ Т-клетки. Экспрессия CTLA-4 на Т-клетках при ХЛЛ коррелирует с неблагоприятной цитогенетикой, не мутированным статусом IGHV и экспрессией Zap-70 в лейкемических клетках. Также наблюдалась прямая связь между поверхностным CTLA-4 и

низким уровнем IgG и IgA в сыворотке крови, что подтверждает сценарий иммунной дисфункции [8, 98].

Почти полностью утрачиваются при ХЛЛ и функции рецептора В-клеток (BCR), что имеет серьезные последствия для иммунного ответа, наблюдаемого при этом заболевании [19, 105, 188].

4. Гипоксия и метаболическая адаптация.

Опухолевое микроокружение, как правило, представляет собой среду с низким содержанием кислорода, что является следствием неконтролируемой пролиферации раковых клеток и аномальной васкуляризации. Гипоксия прогрессирует вследствие повышенного потребления кислорода гиперпролиферирующими злокачественными клетками и, в свою очередь, усиливает опосредованное гликолизом энергоснабжение, необходимое для пролиферации через активацию транскрипционного перепрограммирования под влиянием HIF1- α . Эта обратная связь приводит к закислению внеклеточного пространства из-за накопления внеклеточного лактата, который влияет на опухоль-ассоциированные иммунные клетки и стромальные элементы, что приводит к созданию более толерантной среды. Повышенная концентрация лактата так же ослабляет активацию дендритных клеток и Т-клеток, препятствует миграции моноцитов и способствует поляризации макрофагов в сторону M2-фенотипа [145, 165].

Лейкемические клетки, культивируемые в условиях низкого напряжения кислорода, повышают выработку IL-10, усиливая свой В-регуляторный фенотип. Аналогичным образом, переключение метаболизма в сторону гликолиза изменяет функции Т-клеток в сторону регуляторного фенотипа, повышая экспрессию FOXP3, а также PD-1, IL-10 и VEGFA, при этом снижая уровень IFN- γ [32, 43, 44].

Более того, метаболическая адаптация сопровождается повышенной генерацией и высвобождением во внеклеточное пространство промежуточных продуктов и кофакторов, таких как NAD⁺ и АТФ. Восстановление кофермента обеспечивается различными путями биосинтеза, среди которых катализируемый NAMPT считается основным путем, обеспечивающим гомеостаз NAD⁺. Помимо роли фермента NAD-биосинтеза, NAMPT может высвобождаться во внеклеточное пространство (eNAMPT), где он действует как цитокин, обладающий свойствами модуляции иммунных клеток. eNAMPT, также известный как PBEF. Попадая во внеклеточное пространство, eNAMPT способствует дифференцировке покоящихся моноцитов, поляризуя их в сторону поддерживающих опухоль макрофагов M2, которые экспрессируют высокий уровень CD163, CD206 и индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и секретируют иммуносупрессивные цитокины. eNAMPT оказывает свое действие через связывание с TLR-4 и индуцирование STAT3 и NF- κ B сигнализации. В результате

фенотипического и функционального перекоса макрофаги, стимулированные eNAMPT, в значительной степени поддерживают выживание клеток ХЛЛ, снижая при этом Т-клеточный ответ [59, 60, 95, 99, 184].

Повышение уровня АТФ и NAD⁺ во внеклеточном пространстве может наблюдаться при воспалительных, гипоксических или неопластических состояниях, где они, как полагают, действуют как сигналы опасности, предупреждая иммунную систему о возможном повреждении тканей. Внеклеточный гомеостаз восстанавливается с помощью системы нуклеотид-катаболизирующих ферментов, благодаря действию которых аденозин (ADO) и инозин, могут снова попасть в клетку, восстанавливая пул нуклеотидов. Убедительные данные свидетельствуют в пользу того, что аденозин, по крайней мере, частично опосредует иммуносупрессию в микроокружении клеток ХЛЛ, обусловленную гипоксией, и приводит к формированию благоприятной для опухолевых клеток среды. В частности, ADO-сигнализация значительно ухудшает пролиферацию Т-клеток в ответ на активирующие стимулы, такие как анти-CD3/CD28. Доказательством того, что аденозин является одним из основных эффекторов цепей, управляемых гипоксией, служит наблюдение, что ингибитор A2A SCH58261 восстанавливает иммуносупрессивный фенотип и функции В-клеток, макрофагов и Т-клеток, культивируемых в условиях низкого напряжения кислорода. Например, SCH58261 приводит к значительному снижению продукции IL-10 и IL-6 и уменьшению модуляции маркеров истощения M2 и Т-клеток [67, 145, 184].

Дальнейшее рассмотрение роли различных звеньев патогенеза в развитии инфекционных осложнений при ХЛЛ невозможно без учета воспалительного процесса, вызванного условно-патогенными микроорганизмами, диссеминирующими внутреннюю среду организма человека. Миллиарды бактерий устанавливают симбиотические отношения с организмом хозяина, но зачастую развиваются и дисбиотические отношения, некоторые из которых провоцируют развитие воспалительных и онкологических заболеваний. В недавних исследованиях показано, что соотношение бактерий к клеткам человека составляет примерно 1:1. Функции, кодируемые в микробиоме, играют важную роль в различных аспектах биохимии человека. Микробиота играет центральную роль в регуляции метаболизма хозяина, а также участвует в правильном развитии и функционировании иммунной системы [27, 119, 161, 166].

Известно, что влияние антибиотиков на микробиоту даже при краткосрочном применении может иметь длительный эффект, который со временем способствует более активному проявлению действия канцерогенных факторов. Применение антибиотиков разных классов (бета-лактамов и фторхинолонов) статистически значимо ($p < 0,001$) увеличивает риск онкологических заболеваний как кроветворной системы (множественной миеломы и лимфомы), так и других органов. Это связано с тем, что антибиотики изменяют состав и уменьшают общее

разнообразие микробиоты человека, вызывая тем самым индукцию хронического воспаления, подавление дыхательной активности иммунных клеток и, следовательно, снижение их фагоцитарной активности, а также изменение тканеспецифического метаболизма [33, 144].

Микробиота влияет на иммунологические и метаболические процессы в организме человека различными путями, основными из которых являются:

1) стимуляция или, напротив, подавление выделения цитокинов: фактора некроза опухоли (TNF), интерферона - γ , интерлейкинов (IL) — провоспалительных (IL-1, -2, -6, -8) или противовоспалительных (IL-4, -10);

2) индукция воспалительных реакций посредством образования токсинов и генотоксичных метаболитов (колибактин, цитолетальный растягивающий токсин);

3) продукция короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые необходимы для осуществления клеточного гомеостаза, что связано с их возможностью модуляции гистоновых деацетилаз, что приводит к миграции иммунных клеток, выработке цитокинов, хемотаксису и апоптозу;

4) канцерогенное действие липополисахаридов (ЛПС) клеточной стенки (для грамотрицательных бактерий);

5) изменение местного и системного иммунитета посредством нескольких механизмов:

- изменённой экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие в воспалительной реакции;

- пролиферацию и апоптоз;

- через ряд иммунно-опосредованных изменений (аномальная экспрессия субпопуляций лейкоцитов, изменение секреции антител, цитокинов и иммуноглобулинов);

6) влияние на уровень циркулирующих эстрогенов и баланс в энергетическом обмене [124, 173].

5. Контактные-зависимые механизмы влияния микробиоты на канцерогенез.

Некоторые виды бактерий способны повреждать ДНК клеток хозяина с помощью продукции генотоксинов. Наиболее изученными генотоксинами являются колибактин, продуцируемый представителями *Escherichia coli*, и содержащей группу генов *pks* («островков патогенности»), а именно геномный остров поликетидсинтазы — *polyketide synthase*) и цитолетальный растягивающий токсин (*cytolethal distending toxin* — CDT), производимый рядом грамотрицательных бактерий, состоящий из 3 субчастиц: CdtA, CdtB и CdtC, которые кодируются тремя генами в составе оперона. Связывание цитолетального растягивающего токсина происходит на участках цитоплазматической мембраны, доставка осуществляется через комплекс Гольджи и эндоплазматическую сеть. После этого CDT проникает в ядро, где оказывает генотоксическое действие, вызывая разрывы двухцепочечной ДНК и индуцируя

остановку клеточного цикла G2/M, что в целом напоминаящие ответ на повреждение ионизирующим излучением. В результате происходит остановка клеточного цикла или гибель клеток [111].

Колибактин связывается с азотистыми основаниями в составе ДНК. Эту реакцию называют алкилированием, в ходе неё двойная спираль теряет свою форму, могут возникать сшивки между цепями и двойные разрывы. Для проникновения колибактина внутрь требуется непосредственный контакт бактерий с клетками эпителия, чему способствует развитие воспаления [76, 199].

Помимо генотоксинов геномную нестабильность могут вызывать и другие вещества, образующиеся в результате жизнедеятельности микроорганизмов, а именно H_2S и супероксидные радикалы. Например, в результате воспалительного процесса, вызванного *B.fragilis*, повышается уровень катаболического фермента полиаминов оксигеноксидоредуктазы, генерирующего активные формы кислорода, которые, в свою очередь, повреждают ДНК клеток хозяина, усиливая воспаление и способствуя онкогенезу. *E.faecalis* также может генерировать большое количество внеклеточного супероксида и производные свободных форм кислорода — H_2O_2 и гидроксильный радикал, которые вызывают разрывы двухцепочечной ДНК и приводят к геномной нестабильности [116].

F. nucleatum модулирует сигнальный путь E-кадгерин– β -катенин. *F.nucleatum* посредством адгезии FadA связывается с эпителиальным E-кадгерином — белком, проникающим через мембрану клеток и удерживающим клетки вместе [88]. За счёт этого процесса активируется сигнальный путь Wnt– β -катенин, что приводит к активации онкогенов, таких как c-Мус и циклин D1, индукции онкогенных и воспалительных реакций. Комплекс E-кадгерин– β -катенин регулирует клеточную адгезию, любое вмешательство в этот комплекс может привести к потере клеточной адгезии, усилению движения опухолевых клеток, инвазии и метастазированию [89].

6. Иммунологические механизмы влияния микробиоты на канцерогенез через активацию TLRs и NLRs. Индуцируемая микробиотой активация TLRs при канцерогенезе.

Для распознавания микробных «образов» MAMPs (микробо-ассоциированные молекулярные паттерны, *microbe-associated molecular patterns*) в организме экспрессируются паттерн-распознающие рецепторы — Toll-подобные рецепторы (TLRs), представляющие собой интегральные трансмембранные белки I типа. TLRs являются основополагающими в воспалительной передаче сигналов, опосредованной адаптерной молекулой MyD88 (*myeloid differentiation protein 88*). TLRs обладают опухоль-активирующим эффектом. MAMP-индуцированная активация TLRs способствует запуску окислительного стресса со стимуляцией выработки оксида азота и провоспалительных цитокинов — IL-1 β , TNF и IL-6, которые

стимулируют канцерогенез через NF-κB-зависимые пути. Считается, что опухоль-стимулирующая провоспалительная активация TLRs, по-видимому, запускается бактериальными MAMPs. К примеру, TLR2 является рецептором для компонентов бактериальной клеточной стенки пептидогликана и липотейхоевой кислоты и способствует развитию онкопатологии. Опосредованная стимуляция TLR2, способствует активации путей передачи сигналов пролиферации и выживания, включая PI3K–Akt, ERK1/2 и NF-κB, в эпителиальном окружении опухоли. Секретция опухолевыми клетками версикана — компонента внеклеточного матрикса, приводит к версикан-опосредованной стимуляции TLR2 и продукции IL-6 и фактора некроза опухоли в макрофагах, что способствует метастазированию. TLR4 — рецептор для липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий также способствует канцерогенезу [70, 104, 117, 130].

7. Индуцируемая микробиотой активация NLRs в канцерогенезе.

К распознающим рецепторам врождённого иммунитета относят также NOD-подобные рецепторы (NOD-like receptors — NLRs), так называемые нуклеотид-связывающие олигомеризующие доменные (nucleotide-binding oligomerization domain — NOD) белки, которые функционируют в цитоплазме клеток хозяина. NOD2 чувствителен к мурамилпептидным структурам клеточной стенки бактерий, в то время как NOD1 участвует в распознавании диаминопимелиновой кислоты, присутствующей в пептидогликане клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Рецепторы NOD1 и NOD2 при связывании с пептидогликаном бактерий стимулируют выработку провоспалительных цитокинов, интерферонов, а также активируют процессы аутофагии. Подобно TLRs, функциональная важность NOD-сигналов была выявлена у пациентов с NOD-мутациями, которые являются более чувствительными к хроническим заболеваниям бактериальной этиологии [137, 207].

Вторым паттерн-распознающим рецептором NLR, участвующим во взаимодействии хозяин – микробиота и в онкогенезе, обусловленном бактериями, является цитозольный белок NLRP6, участвующий в регуляции апоптоза и воспаления. NLRP6 служит компонентом инфламмасом и способствует их активации. При отсутствии NLRP6^{-/-} наблюдаются пониженный уровень выработки провоспалительного цитокина IL-18. Подобно мышам с NOD2^{-/-}, у мышей NLRP6^{-/-} наблюдается дисбиоз. Вызванный дисбиозом канцерогенез у мышей NLRP6^{-/-} является результатом снижения активации инфламмасы и выработки IL-18, о чём свидетельствует повышенная восприимчивость мышей с отсутствием Asc^{-/-} (ассоциированный с апоптозом спеклоподобный белок, содержащий CARD) и IL-18^{-/-} к некоторым видам онкопатологии. NOD1 играет важную роль в защите кишечника от бактерий, а дефицит NOD1 негативно влияет на кишечный барьер и способствует развитию воспалительных заболеваний кишечника у людей и генетически индуцированного

колоректального рака, который может быть подавлен истощением кишечной микробиоты путём антибактериальной терапии [27, 69, 137].

8. Контактно-независимые механизмы канцерогенеза, опосредованные влиянием микробиоты на некоторые этапы метаболизма хозяина.

Бактериальный метабеном функционально гораздо более разнообразен, чем у человека, и обогащён генами, которые имеют отношение к метаболизму питательных веществ, желчных кислот и ксенобиотиков, биосинтезу витаминов и изопреноидов [33, 85].

Кишечные бактерии регулируют метаболизм желчных кислот посредством различных гидролазных ферментов, которые удаляют полярные группы — например, таурин — из конъюгированных желчных кислот, тем самым влияя на состав желчных кислот и энтерогепатическую циркуляцию и позволяя микроорганизмам использовать вторичные желчные кислоты в качестве источника энергии. Недавние исследования показывают, что диета с высоким содержанием жиров изменяет микробиоту кишечника и повышает уровень вторичной желчной дезоксихолевой кислоты (DCA), которая является метаболитом, вырабатываемым исключительно бактериальным 7α -дегидроксилированием. Кластеры *Clostridium* выступают как доминирующие регуляторы продукции вторичных желчных кислот. Известно, что DCA вызывает повреждение ДНК и стимулирует гепатоциты к высвобождению провоспалительных цитокинов [156, 191].

1.1.2. Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ бактериальной этиологии и их известные биохимические маркеры

В этиологии бактериальных осложнений ХЛЛ первостепенное значение принадлежит инкапсулированным бактериям, таким как пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), *Haemophilus influenzae*. После химиотерапии, в стадии периода нейтропении, течение данного заболевания осложняют представители грамотрицательной флоры: протеобактерии, представители семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* и другие, а так же *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, *Legionella*. Другая примечательная группа грамотрицательных бактерий, вызывающих инфекционные осложнения, включает в себя грамотрицательные кокки: *Neisseria meningitidis* и *Moraxella catarrhalis* [25].

Осложнения системы органов дыхания вызывают преимущественно гемофильная палочка или палочка Пфейфера (*Haemophilus influenzae*), клебсиеллы (*Klebsiella pneumoniae*),

легионеллы (*Legionella pneumophila*), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*). Органы системы мочевыделения поражают кишечные палочки (*Escherichia coli*), *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, серрации (*Serratia marcescens*), а органы желудочно-кишечного тракта – *Salmonella enteritidis* [1, 24].

Ряд грамотрицательных бактерий связан с внутрибольничными инфекциями, такими как ацинетобактерии (*Acinetobacter baumannii*), вызывающими бактериемию, вторичный менингит и вентилятор-ассоциированную пневмонию. Среди представителей грамположительных бактерий лидирующую позицию занимает *Staphylococcus aureus*, особенно у пациентов с гипогаммаглобулинемией [46, 47, 48].

Случаи микобактериальных инфекций (*Mycobacterium tuberculosis* или атипичные микобактерии) регистрировались реже, в основном у пациентов с предшествующей ранее инфекцией в анамнезе, у пациентов с эпизодами аутоиммунных осложнений (гемолитическая анемия и/или тромбоцитопения). Распространенность микобактериальной инфекции у пациентов с ХЛЛ составляет примерно 88 случаев на 10 000 пациентов [113].

Таким образом, грамотрицательные микроорганизмы встречаются с наибольшей частотой (51,9%), на втором месте стоят грамположительные бактерии (48,1%), а также дрожжеподобные грибы. Частота встречаемости отдельных видов бактерий, наиболее опасных для пациентов с ХЛЛ представлена в таблице 1.1.1

Таблица 1.1.1 - Встречаемость основных видов бактерий при инфекционных осложнениях у пациентов с ХЛЛ

№ п/п	Микроорганизмы, вызывающие инфекционные осложнения при ХЛЛ	Процентное соотношение (%)
Грамотрицательные (Г-) бактерии		
1	Синегнойная палочка (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	21,9
2	Клебсиеллы (<i>Klebsiella</i>)	13,6
3	Нейссерии (<i>Neisseria</i>)	12,7
4	Энтеробактер (<i>Enterobacter</i>)	9,6
5	Протеи (<i>Proteidae</i>). Кишечная палочка (<i>Escherichia coli</i>). Цитробактеры (<i>Citrobacter</i>). Серрации (<i>Serratia</i>)	14,8
Грамположительные (Г+) бактерии		
6	Стрептококки (<i>Streptococcus</i>)	57,7
7	Стафилококки (<i>Staphylococcaceae</i>)	22,8
Дрожжеподобные грибы		
8	Дрожжевые клетки	19,9

Инфекция дыхательных путей (бронхиты, пневмонии, плевриты) занимают лидирующую позицию среди всех инфекционных осложнений у пациентов с ХЛЛ, на них приходится больше 50% всех случаев.

Доминирующим осложнением считаются пневмонии (до 75%). При изучении пациентов с инфекционными осложнениями бронхолегочной системы, прослеживается связь с предшествующими эпизодами заболеваний легких и/или сопутствующей патологии (ХОБЛ, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь). При ХЛЛ нередко фиксируются случаи пневмонии с тяжелым, затяжным и атипичным течением: 60%, 51,1% и 35,5% соответственно. Данный вид осложнений играет немаловажную роль при прогнозировании исхода основного заболевания [84, 86].

Пневмонии при ХЛЛ обычно дебютируют в форме очагового поражения легких, на втором месте стоят долевые пневмонии. При этом первичный очаг, начавшись как односторонний процесс, зачастую мигрирует, захватывая второе легкое. Характерным является резкое ухудшение самочувствия больных, часто заболевание проявляется картиной эндотоксического шока. Однако, чаще всего, преобладают неспецифические симптомы – одышка, кашель, выделение мокроты слизисто-гнойного характера, возможно появление болевых ощущений при дыхании на стороне патологического процесса, а также внелегочные симптомы: лихорадка, миалгия, головная боль. Течение пневмонии при лимфопролиферативном заболевании сопровождается наличием экссудата, который имеет тенденцию к широкому распространению в связи с отсутствием воспалительного вала. Распространение экссудата происходит по межалвеолярным ходам и ограничивается лишь анатомическими структурами легких, такими как междолевая плевро. Отягощает процесс, усиливая экссудацию, сращивание альвеолоцитов в связи с дистрофией и некрозом эпителия. Однако сами лейкозные клетки, как правило, не проникают в просвет альвеол, а лишь инфильтрируют межалвеолярные перегородки. В связи с малым количеством нейтрофилов альвеолярные макрофаги остаются единственной преградой для патологического содержимого [6, 7].

Септицемия и септический шок лидируют как причины летального исхода данной группы пациентов с ХЛЛ. Патогенными агентами септицемии могут служить энтерококки, стрептококки, синегнойная палочка, которые характеризуются множественной резистентностью к антибиотикам. Смертность, вызванная такими патогенами как патогенами *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, составляет 50 - 70%. Встречаются также следующие осложнения пневмоний при ХЛЛ: экссудативный плеврит, деструкция и абсцесс легочной ткани, отек легких, внелегочные осложнения – перикардит и менингит. Основными этиологическими звеньями экссудативного плеврита выступают инфекционные агенты, в том

числе встречается туберкулезный плеврит, сопровождающийся инфильтрацией плевры лимфатическими клетками, прорывом грудного лимфатического протока вследствие сдавления. В литературе встречается также описание хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ), усугубляющей состояние больных ХЛЛ. Однако связь наличия данной патологии и ее влияния на исход основного заболевания широко не изучена [8,29].

Атипичное течение пневмонии при ХЛЛ обусловлено рядом особенностей основного заболевания: гипоглобулинемией и дефицитом нейтрофилов, выражающихся во вторичной иммунной недостаточности; ослаблением защитных сил организма в связи негативным влиянием на иммунитет применяемых режимов химиотерапии в сочетании с гормональной терапией; локальной лимфоидной инфильтрацией органов бронхо-легочной системы, гиперплазией лимфоидных фолликулов и бронхиального дерева; возрастом больных ХЛЛ - чаще всего это пациенты старше 55-60 лет; наличием отягощающих сопутствующих заболеваний (ХОБЛ, ИБС, сахарный диабет и других) [55,79, 113].

Проведение несвоевременной и неспецифической антибиотикотерапии может стать причиной неполной ремиссии осложнений бронхолегочной системы, а также привести к их повторному и затяжному течению. Другой причиной затяжного течения инфекционных заболеваний дыхательных путей считают снижение активности дренажной функции бронхов, процессов вентиляции и кровообращения в лёгких в связи с увеличением паратрахеальных и бронхо - пульмональных лимфатических узлов [125, 150, 192].

При злокачественной трансформации ХЛЛ в крупноклеточную лимфому возникает синдром Рихтера. По данным различных авторов, данный синдром встречается лишь у 3—10% больных ХЛЛ, однако данное состояние является плохим прогностическим признаком, указывающим на вероятное снижение продолжительности жизни пациентов в 2-3 раза. В то же время затяжное и тяжелое течение инфекционных осложнений системы органов дыхания влечет за собой появление легочно-сердечной недостаточности [77, 78].

Поражение кожных покровов при бактериальных осложнениях у пациентов с ХЛЛ могут быть вызваны представителями рода актиномицетов, семейства *Mycobacteriaceae*, в частности *Mycobacterium marinum* (*M. marinum*), которые вызывают периферическую гранулематозную инфекцию. *M. marinum* - является профессиональной опасностью для водоочистителей, рыбаков и обработчиков морепродуктов. Для роста *M. marinum* требуется низкая температура, поэтому инфекция обычно ограничивается кожей, причем руки являются наиболее распространенным местом заражения. Обычно осложнение проявляется в виде папул на локтях, коленях или руках, прогрессируя до мелких язв и рубцов. У многих пациентов развиваются восходящие поражения, которые напоминают споротрихоз [31, 58, 99, 139].

Наличие поврежденной иммунной системы провоцирует распространение микобактериальной инфекции. При исследовании пациентов с данным осложнением авторами отмечается наличие лимфоцитопения с уменьшением абсолютного количества CD4 и CD8 клеток менее 100 клеток/мл и 50 клеток/мл, соответственно. Лимфопения объясняется эффектами предшествующей химиотерапией аналогами пуринов (флударабин, циклофосфамид и ритуксимаб) [113].

Escherichia vulneris – бактерии, которые также могут вызывать инвазивные инфекции у пациентов иммунодефицитом при лимфопролиферативных заболеваниях. Клиническими симптомами могут быть лихорадка до 39 С°, глубокие язвы кожи конечностей, припухлости суставов, гоналгия. В зависимости от степени выраженности иммуносупрессии также может проявляться в виде уросепсиса, остеомиелита, менингита, септического шока. Другие распространенные участки инфекции при ХЛЛ включают мягкие ткани, бактериальные инфекции мочевых путей, менингиты. Возбудителями данных осложнений являются *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. (особенно *Streptococcus pneumoniae*) *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Hemophilus*, *Pseudomonas* spp. (особенно *Pseudomonas aeruginosa*), *Listeria monocytogenes*, *Nocardia*, *Vibrio vulnificus* [34, 71, 107].

Несмотря на разнообразие форм инфекционных осложнений ХЛЛ бактериальной природы и их широкое влияние на исход основного заболевания в литературе имеется незначительное количество работ посвященных изучению данной проблемы.

1.1.3. Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ вирусной этиологии и их известные биохимические маркеры

Хотя после проведения химиотерапии при ХЛЛ наиболее часто встречаются бактериальные инфекции, что обусловлено дисфункцией Т-клеток, особенно у соматически тяжелых пациентов в период глубокой нейтропении, в тоже время сохраняется риск присоединения широкого спектра вирусных инфекций. Наиболее часто вирусные осложнения обнаруживаются в виде распространенной герпетической инфекции (*Herpeszoster* – опоясывающий герпес, лишай), цитомегаловирусная инфекция (*Cytomegalovirus*, CMV). Цитомегаловирус (ЦМВ) - семейство герпесвирусов, вирус герпеса человека 5 типа (HHV-5). Единая статистическая база распространенности ЦМВ отсутствует, однако по данным различных авторов в детском возрасте (6-12 лет) инфицируется каждый 5-й житель планеты. В странах Европы 45% населения имеют в крови антитела к цитомегаловирусу (серопозитивны), в

Японии - 96%, в России зафиксировано увеличение медианы первичной заболеваемости за последние десятилетия (на 2019 год - 1,13 на 100 тыс. населения) [54, 84].

Латентное носительство цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) не имеет клинических проявлений, вирус в неактивном состоянии не размножается, не распространяется по организму, а пожизненно находится в моноцитах и лишь в крови определяются ЦМВ IgG. Реактивация ЦМВИ проявляется в виде его размножения, распространения, в связи с чем, ЦМВ начинает определяться не только в крови (повышенный уровень ЦМВ IgG, обнаружение ЦМВ IgM), но и в моче, слюне и других биологических жидкостях. Реактивация ЦМВИ служит индикатором серьезной иммуносупрессии (лимфопролиферативные заболевания, СПИД, трансплантация органов с последующей терапией иммуносупрессивными препаратами) и становится этиологическим фактором угрожающих жизни осложнений. В выявлении ЦМВ был достигнут значительный прогресс, однако у пациентов с ослабленным иммунитетом, установление диагноза ЦМВ-инфекции может быть проблематичным в связи с некорректной работой иммунных механизмов защиты, и клеточных иммунных реакций, которые важны против вирусных инфекций [100].

Больные ХЛЛ принадлежат к группе повышенного риска реактивации ЦМВИ. У пятой части пациентов фиксировались осложнения, вызванные ЦМВ, а также была установлена связь между частотой их возникновения (более 30% случаев) с применением синтетических противоопухолевых средств из группы моноклональных антител (Ритуксимаб). ЦМВИ значительно осложняет течение ХЛЛ и неоднократно становилась причиной смертности при установлении диагноза гемобластоза. Наиболее часто встречающимися клиническими проявления ЦМВИ являются интерстициальная пневмония (смертность доходит до 52%, по данным некоторых исследований и до 100%) и поражение желудочно-кишечного тракта, включая язвенные поражения органов (пищевода, желудка, кишечника с массивными кровотечениями), а также гепатиты. ЦМВИ поражает и другие органы и системы иммунокомпрометированных пациентов, вызывая энцефалиты (дементный синдром или симптомы поражения черепных нервов), повреждения органов зрения (ретинит - частая причина значительного снижения зрения и даже его потери), геморрагические циститы, тромботическую микроангиопатию [123, 129].

ЦМВИ - один из значимых этиологических факторов при возникновении осложнений после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеточных клеток костного мозга (алло-ТГСК). Статистически медиана реактивации ЦМВИ после данного вида лечения находится в пределах 60–70%. Несмотря на высокий процент распространения данной инфекции, вопросы ее влияния на течение и исход основного заболевания после алло -

ТГСК, а также проблемы предотвращения, быстрой диагностики и лечения ЦМВ-осложнений остаются не до конца изученными [138].

Однако вопрос влияния различных видов и режимов иммуносупрессивной терапии, представляющих собой угрозу в отношении развития ЦМВИ стоит остро не только у пациентов после алло-ТГСК, но и в других подклассах больных ХЛЛ. Первостепенными задачами являются изучение доз иммуносупрессивных препаратов и длительность их применения (дозировка кортикостероидов ($>1\text{ мг/кг/сутки}$)); цитостатических препаратов (Микофенолатамофетил); препаратов, направленных на эрадикацию Т-клеток (Алемтузумаб) и других. Данная группа препаратов кроме изменения иммунологического ответа, оказывает влияние на вирион ЦМВ, в несколько раз ускоряя и стимулируя процессы его репликации. ЦМВИ после проведения процедуры алло-ТГСК иногда является триггерным звеном развития конкурентной инфекции (бактериальной и грибковой этиологии) вследствие недостаточности трансплантата в виде гипоплазии или тяжелой панцитопении, причем летальность в этой группе составляет 100% [151, 187].

Пациенты после алло-ТГСК – подкласс больных с ХЛЛ с наличием высокого риска развития ЦМВИ. Однако пациенты, которым не показано проведение данного вида терапии, подвержены не меньшему риску реактивации ЦМВ, что должно привлечь внимание ученых при изучении таких осложнений, как на этапе диагностики, так и лечения. Для диагностики наиболее чувствительными являются молекулярные методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (метод ПЦР). ЦМВ инфекцию необходимо подозревать как причину пневмонии у пациентов с ослабленным иммунитетом, для постановки диагноза может потребоваться процедура бронхоальвеолярного лаважа и трансбронхиальной биопсии легкого [1].

Имеются исследования о положительных эффектах применения медикаментозной профилактики противовирусным средством - L-валиловый эфир ганцикловира у пациентов с ХЛЛ после режимов лечения включающих Алемтузумаб. Тактика лечения ЦМВ-инфекции зависит в основном от иммунного статуса пациента. В то время как у иммунокомпетентных пациентов рекомендуется проводить только симптоматическое лечение, у пациентов с ослабленным иммунитетом следует использовать противовирусную терапию. Наиболее распространенными противовирусными агентами являются: ганцикловир, фоскарнет, цидофовир, валганцикловир и валацикловир. В последнее время появились сообщения о ганцикловир-резистентной ЦМВ-инфекции, чему потенциально способствует длительное использование противовирусных препаратов у пациентов с высоким риском инфекционных осложнений вирусной этиологии. Лечение резистентных пациентов в таких случаях может

включать в себя применение фоскарнет, цидофовир, ЦМВ - гипериммунные глобулины или лефлуномид [2, 16, 19, 25].

Другим инфекционным агентом выступает вирус Эпштейна - Барра (ВЭБ). ВЭБ является ДНК - вирусом из подсемейства гаммагерпесвирусов, который поражает более 90% населения Земли, у большинства зараженных — это бессимптомное носительство. При адекватном иммунном ответе клинические проявления болезни могут отсутствовать, что может быть следствием ответа имеющегося у 60- 90% населения людей иммунитета против вируса простого герпеса (ВПГ 1 типа, HSV-1, Herpes simplex virus 1), который предположительно в виде перекрестной реакции отвечает и на внедрение ВЭБ. При проявлении же вируса в виде острой инфекции, в частности инфекционном мононуклеозе, происходит выработка иммуноглобулинов к ВЭБ. Эти антитела могут удерживать вирионы в В-лимфоцитах на протяжении десятков лет, подавляя активность и размножение вируса. Однако при состояниях сопровождающихся иммуносупрессией, лимфопролиферативных заболеваниях организм не может сдерживать инфекцию, развивается хроническое течение вируса Эпштейна - Барр, могут развиваться генерализованные формы заболевания [14, 105].

Исследования показали, что вирус может инфицировать субпопуляцию опухолевых клеток у пациентов с ХЛЛ. Вирусы поражают В-лимфоциты, стимулируя их повышенную продукцию, следствием чего является ответная реакция Т-лимфоцитов, в виде эрадикации патологических иммунокомпетентных клеток. Данная цепь реакций иммунной системы, запущенная вирионами, приводит к клиническим проявлениям — быстрое увеличение большинства групп лимфатических узлов [40].

При лимфопролиферативных заболеваниях из-за нарушения иммунной защиты, часто развиваются заболевания, ассоциированные с ВЭБ. Инфекция, вызванная ВЭБ, в содружестве с другими вирусными и бактериальными агентами (в 54% отмечена связь с В-гемолитическим стрептококком) извращает реакции иммунной системы на внедренные чужеродные агенты. Следствием этого является повреждение собственных тканей организма, которые воспринимаются как инородные, гетерогенные. Агрессивнее всего при этом развиваются осложнения вирусной природы (ЦМВИ, гепатиты, простой герпес и другие), а также бактериальной (увеличивается вероятность формирования сепсиса). Клинические характеристики ВЭБ инфекции коррелируют с таковыми при бактериальном сепсисе, лишь диагностические маркеры ВЭБ позволяют провести дифференциальную диагностику. Основные клинические формы осложнений, вызванные ВЭБ, представлены в таблице 1.1.2

Таблица 1.1.2 -Осложнения, развивающиеся у пациентов при лимфопролиферативных заболеваниях на фоне внедрения ВЭБ

№ п/п	Осложнения, вызванные ВЭБ	Основные клинические синдромы и симптомы
1.	Агрессивные формы инфекционного мононуклеоза	• гепатит; • сепсис, менинго-энцефалит (при присоединении вторичной бактериальной инфекции); • рецидивирующие, затяжные формы пневмонии; • лабораторные показатели: значительное снижение уровня тромбоцитов, как следствие нарушение процессов свертываемости крови.
2.	Нарушения функциональной активности вегетативной нервной системы (ВНС)	синдром хронической усталости.
3.	Генерализованная ВЭБ-ассоциированная инфекция	• центральная нервная система: отек головного мозга; • сердечно сосудистая система: миокардит и эндокардит; • система органов дыхания: пневмония, дыхательная недостаточность; • гепатобилиарная система: гепатит, печеночная недостаточность, разрыв селезенки; • система органов мочевого выделения: нефрит, почечная недостаточность; система органов кроветворения: диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром).
4.	Сопутствующие онкологические заболевания (рак носоглотки, рак миндалин; рак пищевода, желудка и тонкого кишечника)	ВЭБ определяется в биопсионном материале. По данным немногочисленных исследований в сочетании с другими факторами канцерогенеза усиливает рост раковых клеток.
5.	Аллергические и аутоиммунные заболевания.	ВЭБ выступает триггером обострения злокачественных анемий, тромбоцитопенической пурпуры, эритемы, болезни Лайелла, синдрома Стивенса-Джонсона и других.

В качестве диагностических тестов используют серологические реакции, которые основаны на выявлении антител к ВЭБ. Антитела класса М к капсидному антигену - вырабатываются во время острой фазы (с первых дней после инфицирования до 6 месяцев от начала заболевания) или обострения хронической ВЭБ-инфекции. Антитела класса G к капсидному антигену по завершении острой фазы (примерно через месяц после внедрения ВЭБ в организм человека), рост IgG фиксируется в течении всего этапа реконвалесценции, в дальнейшем на протяжении всей жизни лабораторно можно определить данный вид

иммуноглобулинов как маркер ранее перенесенной инфекции. Антитела класса М вырабатываются на протяжении всего острого периода инфекционного процесса ВЭБ-инфекции (с 1-й недели до 6 месяцев), а также при реактивации вирусной активности в виду снижения иммунитета носителя. О формировании стойкого иммунитета к ВЭБ-ассоциированной инфекции можно говорить только после выявления IgG к ядерному антигену не ранее чем через полгода от начала заболевания и исчезновения клинических симптомов [105, 115, 123].

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностика) направлена на выявление ДНК самого вируса. Точность метода достигает 99,9%, методом ПЦР можно обследовать любые биологические материалы: кровь, мочу, мокроту, смывы из носоглотки, биопсионный материал органов при наличии опухолевидных образований. Быстрое, чувствительное обнаружение и идентификация ВЭБ человека являются клинически важными. ПЦР является в настоящее время единственным быстрым лабораторным тестом, отвечающим этим требованиям. Однако при наличии очевидных преимуществ данного метода, присутствует ряд весомых препятствий при его использовании. ПЦР-диагностика назначается в качестве скринингового определения ВЭБ из-за его существенной стоимости. Метод ПЦР обоснован при подозрении на ВЭБ ассоциированную инфекцию при иммунодефицитных состояниях, вызванных лимфопролиферативными заболеваниями, в качестве дифференциальной диагностики с другими осложнениями и сложных клинических случаях [138].

Спектр препаратов, активных против ВЭБ, остается очень ограниченным. Чаще всего в медицинской практике используются препараты ганцикловир и ацикловир, ведётся поиск новых активных соединения в борьбе с ВЭБ [25].

Герпетическая инфекция также является частым осложнением течения ХЛЛ. Наибольшей патогенностью для человека обладают вирусы простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ-1, ВПГ-2, Herpes Simplex virus types 1, 2, HSV-1 и HSV-2). Это ДНК- вирусы, которые являются альфа-герпес-вирусами. Эти вирусы повсеместно распространены во всем мире с разным процентным соотношением. Чаще всего клетками мишенями становятся нейроны, а также эпителиальные клетки кожных покровов и слизистых оболочек. После инфицирования вирус не элиминируется из организма, заболевание переходит в латентное течение. Реактивация вируса, его репликация чаще всего происходит на фоне иммуносупрессии вследствие основных заболеваний (гемобластозы, аутоиммунные заболевания, цитостатическая терапия). Среди взрослого населения с установленным диагнозом гемобластозасeropозитивными по ВПГ являются 80% пациентов, а среди детского населения в среднем 69%, с увеличением этого соотношения с возрастом от 5 до 10 лет с 54% до 77% соответственно. Частота обострений ВПГ - инфекции с последующими осложнениями на фоне проведения цитостатической терапии без

применения противовирусных препаратов составляет по данным различных авторов около 65%, при отсутствии профилактической противовирусной терапии у пациентов после применения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) приводит к смертельным осложнениям в 80% случаев. Одним из клинических проявлений осложнения ХЛЛ на фоне ВПГ-инфекции является мукозит (эритематозное и эрозивно-язвенное поражение слизистой рта, глотки, пищевода и в целом желудочно-кишечного тракта), при котором вирион определяется в клетках эпителия ротовой полости и слюне. После реактивации ВПГ инфекции на фоне ТГСК мукозит может прогрессировать в виде язвенно-некротических поражений слизистой оболочки, степень тяжести данных осложнений прямо пропорциональна высокому уровню провоспалительных цитокинов [15].

На фоне длительной цитостатической, химиотерапии, иммуносупрессивной терапии могут развиваться ВПГ-ассоциированный эзофагит, гепатит, пневмония, энцефалит [94]. Наиболее специфичным методом диагностики данных осложнений является ПЦР: определение ДНК ВПГ в спинномозговой жидкости при энцефалитах, биопсионного материала печени при гепатитах. Диагноз ВПГ-ассоциированной пневмонии выставляется в 2% случаев, в связи отсутствием специфических проявлений при рентгеновских исследованиях, единственным специфическим методом диагностики является ПЦР промывных вод бронхов. Поражение легочной ткани обычно происходит при распространении трахеобронхиолита на паренхиму легких или гематогенным путем с развитием двусторонней интерстициальной пневмонии [64].

Изучение проблем реактивации ВПГ при различных онкогематологических заболеваниях до сих пор актуально (первые данные опубликованы в конце 70-х годов). В доступной литературе отсутствуют данные по динамике реактивации, возрастным особенностям пациентов, альтернативным методам диагностики и эффективности различных методов противовирусной терапии ВПГ - ассоциированных осложнений. Недавние исследования подчеркивают риск возобновления активности вируса гепатита В (HBV) у пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями, в том числе ХЛЛ, независимо от режимов проводимой химио и иммуносупрессивной терапии [185]. Реактивация HBV у пациентов с положительным HBsAg - на фоне терапии основного заболевания может быстро приводит к развитию таких осложнений как: отек головного мозга; печеночная энцефалопатия; печеночная недостаточность; дыхательная недостаточность; цирроз печени; рак печени. В связи с этим необходима разработка новых методов диагностики реактивации вирусной инфекции у HBV компрометированных пациентов с целью предотвращения угрожающих жизни осложнений [15, 59, 77].

1.1.4 Характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ грибковой этиологии и их известные биохимические маркеры

Увеличение числа больных с иммуносупрессией, использование интенсивных режимов цитостатической терапии, применение антибиотиков широкого спектра действия и кортикостероидов создают условия для увеличения числа инвазивных микозов. Грибковая инфекция, возникающая у пациентов с гемобластомами, является распространенным инфекционным осложнением. Грибковые осложнения, приводят к значительному ухудшению состояния и высокой смертности среди пациентов [31, 125].

Эпидемиологические данные о грибковых инфекциях при лимфопролиферативных заболеваниях недостаточны. Проведённые исследования свидетельствуют о том, что бактериальные осложнения у больных ХЛЛ составляют примерно 67%, вирусные 25% и грибковые 7%, 4% из которых с летальным исходом. В 2006 году в исследованиях итальянской группы SEIFEM в ретроспективном многоцентровом исследовании пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ, госпитализированных в больницу, распространенность микозов, составила лишь 0,5%; однако относительная смертность от данных грибковых инфекций среди этих пациентов оказалась высокой (80%) [22, 33].

Микозы, в частности криптококковый менингит (2,4%), отмечались у пациентов с ХЛЛ. Грибы рода *Candida* и *Aspergillus* - наиболее распространенная этиологическая причина инвазивных микозов при ХЛЛ. Случаи заражения *Candida* и *Aspergillus*, могут быть связаны с более длительной нейтропенией у пациентов с прогрессирующим заболеванием и/или $CD4^+ < 200/\text{мл}$. Чаще всего пациенты с ХЛЛ страдают от грибковых инфекций, вызванных *Aspergillus*, *Candida* или *Cryptococcus*. Реже встречаются осложнения с участием *O. gallopavum*. Однако у больных с ХЛЛ *O. gallopavum* встречается чаще, чем у пациентов с другими лимфопролиферативными заболеваниями, предположительно основным предрасполагающим фактором для этого становится затяжное течение основного заболевания. За последнее десятилетие специалисты чаще стали диагностировать нехарактерные грибковые осложнения у пациентов с ХЛЛ. Основанием для данной закономерности может стать повышенная настороженность к данному виду осложнений, а также не всегда рациональное применение различных противогрибковых препаратов, что влечет за собой возникновение штаммов грибковых агентов, устойчивых к большинству лекарственных средств [7, 25].

Одним из наиболее опасных подклассов возбудителей грибковых осложнений при ХЛЛ являются инвазивные грибковые инфекции (ИГИ). К ним относятся: род плесневых (нитчатых) грибов (Аспергиллы (*Aspergillus*), Фрузарий (*Fusarium*), Сцедоспориозы (*Scedosporium*

apiospermum и *Scedosporium prolificans*), Зигомицеты (*Zygomycetes*), а также род дрожжей *Candida* (часто выделяются лабораторно в крови при бактериемиях и статистически чаще других видов грибковой инфекции приводят к летальному исходу)/ Единственными доступными методами диагностики грибковых осложнений считаются микробиологическое и гистологическое исследования биопсийного материала, при этом в крови ИГИ рода *Candida* определяется лишь у половины пациентов с ХЛЛ, а род плесневых грибов (в частности *Aspergillus* и *Fusarium*) в среднем у 10 % больных. Внедрение альтернативных методов диагностики ИГИ (в том числе определение наличия антител и антигенов в кровотоке) помогут на ранних стадиях осложнений принять своевременное решение о назначении адекватного лечения [11].

Аспергилез. Инвазивный аспергилез – серьёзное осложнение, встречающееся у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями как следствие длительного применения полихимиотерапии (ПХТ), пациенты, получающие системные глюкокортикостероиды, цитостатические препараты и другие виды иммуносупрессивной терапии, а также после алло-ТГСК. Авторы указывают на высокий риск развития инвазивного аспергилеза у больных, страдающих ХОБЛ, в сочетании с длительным периодом агранулоцитоза и лимфоцитопении. Установлено, что часто встречающимися представителями данного рода грибов, являются *A. fumigatus* (56-79%), *A. flavus* (4-29%) и *A. niger* (4-14,5%), значительно реже в культуре выделяют *A. versicolor*, *A. nidulans* и *A. terreus*. Имеются случаи выделения более двух и более видов *Aspergillus spp.* в 12 % случаев у пациентов с гемобластозами.

Патологический процесс может затрагивать различные системы организма: бронхолегочная система – 86% случаев, верхние дыхательные пути – 8%, центральная нервная система (ЦНС) – 5%. Клиническая симптоматика неспецифическая – лихорадка свыше 38,5-39°C, катаральные симптомы, одышка, боли в грудной клетке (14%), бронхообструктивный синдром (10%), реже кровохарканье [192].

Диагностические критерии при применении инструментальных методов диагностики (компьютерной томографии (КТ) также не имеют специфических проявлений: КТ-признаки очаговых (38%) или инфильтративных (27%) изменений легких, чаще имеет место односторонне поражения, однако при тяжелых стадиях основного заболевания инфекционный процесс может охватывать оба легких. На сегодняшний день летальность от данного вида осложнений при ХЛЛ остается очень высокой – от 48 до 92% в зависимости от тяжести течения основного заболевания и также клинического варианта инвазивного аспергилеза [193, 195].

Улучшить показатели выживаемости возможно лишь при разработке новых методов ранней диагностики и лечения, а также способов вторичной антимикотической профилактики инвазивного аспергилеза.

1.2 Биохимические аспекты диагностики инфекционного синдрома хронического лимфолейкоза

1.2.1 Роль неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина при лимфопролиферативных заболеваниях и других нозологических формах

У пациентов с иммунодефицитными состояниями, в том числе с гемобластозами, такими как ХЛЛ в более чем половине случаев тяжесть течения присоединяющихся к основному заболеванию инфекционных осложнений, их затяжное течение, рецидивы и даже летальный исход, обусловленный этими осложнениями, являются следствием поздней диагностики и лечения. В связи с этим ученые исследуют новые маркеры активации клеточного иммунитета и их диагностический потенциал. Такими маркерами являются неоптерин и альфа-1-антитрипсин.

В научной литературе есть сведения о роли неоптерина в патогенезе заболеваний, в которых задействованы механизмы активации клеточного иммунитета. Основным звеном этого механизма считают увеличение уровня неоптерина при возрастающей активности ИФН- γ и ФНО- α во время системных воспалительных ответов на внедрение инфекционных антигенов. Основными источниками синтеза неоптерина считают моноциты, макрофаги, дендритные клетки и эндотелиальные клетки. При их активации ИФН- γ происходит прямо пропорциональное концентрации ИФН- γ и в меньшей степени ИФН- α увеличение уровня неоптерина. Неоптерин образуется путем преобразования гуанозинтрифосфата под действием активированного ИФН- γ фермента гуанозинтрифосфатциклогидролазы I. Накопление неоптерина зафиксировано в различных биологических жидкостях организма человека: плазма крови, моча, слюна и других. Кроме того, на его образование способны оказывать влияние и другие цитокины (ИЛ-2, ФНО - β , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-6, ФНО- α) [20, 26].

Проводились исследования, посвященные изучению неоптерина при патологических состояниях в офтальмопатологии, кардиопатологии, аутоиммунных заболеваниях. При сравнительном анализе уровня неоптерина в сыворотке крови больных с эндогенными увеитами была выявлена связь между повышением уровня неоптерина и этиологическим фактором воспалительного процесса. У пациентов с увеитами вирусной (в частности герпетической) этиологии было обнаружено повышение неоптерина в слезной жидкости больного глаза более чем в 2 раза в сравнении с увеитами, вызванными другими этиологическими факторами (различные системные и синдромные заболевания: ревматизм, болезнь Бехтерева, синдром Рейтера, болезнь Бехчета, синдром Шегрена, псориаз, саркоидоз).

Показатели содержания неоптерина в слезной жидкости при герпетической инфекции и системных заболеваниях колеблется в пределах 17,87 нмоль/л и 8,71 нмоль/л соответственно. В связи с повышенными концентрациями неоптерина авторы предполагают, что данный маркер как низкомолекулярный белок обладает способностью проникать в слезную жидкость через гематоофтальмический барьер, а также может синтезироваться в самой слезной жидкости. В связи с полученными данными исследователи пришли к заключению, что динамически определяемые концентрации неоптерина при воспалительных процессах увеального тракта могут стать значимым критерием в комплексе с другими диагностическими критериями при определении этиологии увеита [37].

Проводились исследования уровня неоптерина при различных аутоиммунных процессах: ревматоидном артрите, системной красной волчанке, псориазе. Повышение его концентрации зависело от стадии активности процесса, прогрессирования аутоиммунных заболеваний, было связано с уровнем активности провоспалительных цитокинов: ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-10, ИЛ-18. Обследование больных на ранней стадии ревматоидного артрита при длительности процесса около полугода показало в большинстве случаев (59,7%) повышение концентрации неоптерина в сыворотке крови. По мере увеличения давности ревматоидного артрита до 12 месяцев происходит снижение его концентрации и значимо большее содержание неоптерина при минимальной давности болезни, что может иметь большое прогностическое значение для более быстрого подавления воспалительного процесса. Согласно литературным данным, одной из причин гиперпродукции неоптерина при ревматоидном артрите является ФНО- α , который и обеспечивает активацию сигнала для синтеза молекулы неоптерина. Увеличение концентрации неоптерина отражает активацию клеточного иммунитета, а также усиливает клеточную цитотоксичность и как следствие этого процесса развитие повреждения эндотелиальных клеток из-за индукции апоптоза [42, 30, 100, 159].

При заболеваниях сердечно-сосудистой системы концентрация неоптерина связана с патогенезом самого заболевания. Было выявлено повышение уровня неоптерина у больных ишемической болезнью сердца, острым инфарктом миокарда, атеросклерозом аорты, сонных, коронарных и периферических артерий, а также наличие осложнений (рецидивирующая стенокардия, левожелудочковая недостаточность, пароксизмальные нарушения сердечного ритма), которые способствует еще большему синтезу неоптерина. Появляются данные об изменении концентрации неоптерина при инфаркте миокарда, причем повышение его в сыворотке происходит вплоть до 72 часов от начала процесса. Предполагается, что триггерным фактором гиперпродукции неоптерина становится гипоксия, усиливающая синтез провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. Имеются сведения о повышении уровня неоптерина у пациентов после трансплантации органов (почки, печень). Авторы

предполагают, что при процессе клеточного отторжения пересаженных органов и сопутствующей реакции воспаления происходит активация моноцитов/макрофагов как следствие мобилизации неспецифических защитных систем организма, что сопровождается значительным повышением уровня неоптерина [20, 87, 134].

Альфа-1-антитрипсин – гликопротеид – ингибитор ферментов, катализирующих процессы протеолиза белков (сериновые эндопептидазы). За синтез альфа-1-антитрипсина отвечает ген, относящийся к хромосоме 14q32.1 (serpinpeptidaseinhibitor, clade A или SERPINA1). Снижение продукции альфа-1-антитрипсина возникает при мутациях гена SERPINA1. Наиболее часто встречаются так называемые дефицитные аллели гена - варианты S и Z. Вариант Z - мутации характеризуется образованием молекул альфа-1-антитрипсина большой молекулярной массы, что является причиной нарушения его способности к диффузии через цитоплазматическую мембрану и как следствие чрезмерное накопление в гепатоцитах. альфа-1-антитрипсина вызывают повреждение паренхимы печени (холестаз, гепатит, цирроз), легких (эмфизема легких) [62, 101].

Описаны мутации, при которых продуцируется нормальное количество альфа-1-антитрипсина, однако функциональные свойства данного соединения нарушаются. Примером могут служить мутации, обеспечивающие синтез соединения схожего с альфа-1-антитрипсином, но функционально близкого к белковому фактору плазмы – антитромбину, вследствие чего происходит нарушение процессов свертывания крови. Известны мутации аллелей гена Pi (Kalsheker-Poller), при которых концентрация альфа-1-антитрипсина остается в пределах нормальных значений, но при воспалительных процессах уровень альфа-1-антитрипсина остается неизменным. Данный вид мутации часто обнаруживается у пациентов с рецидивирующими заболеваниями органов дыхания. В структуре альфа-1-антитрипсина различают 394 аминокислотных остатка и 3 гидрокарбонатные цепи. Альфа-1-антитрипсин синтезируется в гепатоцитах, а главным субстратом действия альфа-1-антитрипсина является эластаза нейтрофилов, выделяющаяся при защитных воспалительных реакциях организма. В литературе также встречаются данные о продукции альфа-1-антитрипсина в макрофагах, фагоцитами, нейтрофилами, клетками эпителия бронхов, кишечника, почек, альвеолоцитами. Альфа-1-антитрипсин секретируется в плазму и с общим кровотоком попадает в органы воздействия, проникают через эндотелиальные и эпителиальные клетки и обнаруживается на их поверхности. При нормальном физиологическом состоянии организма концентрация альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови находится в пределах 2,0-4,0 мг/л, печень же синтезирует около 30-34 мг/кг/сутки. Во время воспалительных процессов различного генеза синтез альфа-1-антитрипсина увеличивается до 5 раз [136].

Основной функциональной ответственностью альфа-1-антитрипсина является ингибирование фермента эластазы, отвечающего за диссоциацию таких белков как эластин, коллаген, белков внеклеточного матрикса - фибронектина, протеогликанов, то есть за защиту тканей от ее протеолитического воздействия. Во время внедрения инфекционных агентов бактериальной этиологии или воздействия поллютантов в ткани происходит выделение значительного количества биологически активных веществ, в том числе нейтрофильной эластазы, с целью обезвреживания проникнувших чужеродных агентов. После их нейтрализации избыток эластазы инактивируется синтезирующимся альфа-1-антитрипсином, однако при его дефиците происходит увеличение времени воздействия протеаз на легочную ткань, например, что становится причиной деструкции эластических волокон легочной ткани и как следствие развитие эмфиземы [149, 177, 197].

Другим свойством альфа-1-антитрипсина исследователи называют контроль секреции ФНО- α . При дефиците альфа-1-антитрипсина под влиянием лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов увеличивается синтез ФНО- α , при этом стимулируется системный воспалительный ответ. Противовоспалительные свойства альфа-1-антитрипсина проявляются вследствие уменьшения миграции лейкоцитов, пролиферации Т-лимфоцитов, путем увеличения количества циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в клетках. Патологические состояния в организме могут развиваться как при дефиците, так и избыточной секреции альфа-1-антитрипсина. Дефицит данного соединения наиболее часто проявляется в виде патологических состояний, затрагивающих бронхолегочную систему и печень (хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), бронхиальная астма (БА), фиброз, бронхоэктатическая болезнь, эмфизема, нарушение синтетической функции печени) [164, 169].

Лактоферрин — мультифункциональный железосвязывающий белок семейства трансферринов. Лактоферрин входит в состав различных секреторных жидкостей человека и обладает множественными направлениями биологических активностей. Лактоферрин — важный элемент врождённого иммунитета человека. Он содержится в грудном молоке, слюне, желчи, плазме крови, слезах, нейтрофилах, соке поджелудочной железы, слизи, покрывающей внутреннюю поверхность оболочку пищевода, желудка и кишечника, бронхиальной слизи, выделений носовых пазух, влагалищном секрете. Лактоферрин обладает выраженной антибактериальной, противовирусной и противогрибковой активностью (в частности, в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans*) [35, 36, 38, 71].

Преимущественная локализация лактоферрина в выделениях секреторных клеток определенно указывает на то, что основная функция этой молекулы заключается в защите входных ворот для инфекции, проникающей извне. В дальнейшем было установлено, что лактоферрин нейтрофилов, эффективно участвует в защите организма от кишечных инфекций.

Антимикробные свойства лактоферрина изучались в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Показано, что спектр антимикробной активности лактоферрина определяется несколькими молекулярными механизмами. Одна из первых антибактериальных активностей, которая была экспериментально продемонстрирована для молекулы лактоферрина – это его бактериостатическая активность. Высокая аффинность лактоферрина к железу, а также то, что он синтезируется и секретируется преимущественно в свободной от металла форме, приводят к активному связыванию этим белком свободных ионов железа из окружающей среды, что замедляет рост микроорганизмов. В дальнейшем было установлено, что лактоферрина обладает и прямой бактерицидной активностью, независимо от его способности связывать железо. При этом данное свойство лактоферрина проявляется и в отношении устойчивых к антибиотикам патогенов. В модельных экспериментах *in vitro* показано, что бактерицидная активность лактоферрина определяется его способностью связываться непосредственно с внешней мембраной грамотрицательных бактерий, что ведет к быстрому освобождению бактериального липополисахарида и последующему разрушению мембраны, приводящему к гибели микроорганизма. Было высказано предположение, что именно положительно заряженный концевой домен молекулы лактоферрина отвечает за бактерицидную активность этого белка. Этот домен, названный в дальнейшем лактоферрицин, был выделен из нативного белка и, при сравнительном анализе с интактным лактоферрином, продемонстрировал более высокую активность против целого ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также вирусов, патогенных грибов и простейших. Однако пока остается не выясненным, как ЛФ-цин может проявлять свои свойства в составе нативного полипептида лактоферрина, и как он отщепляется от белка в месте локализации инфекции [75, 114, 127].

Исследования пептидов лактоферрина дают основания говорить о возможности того, что переваривание лактоферрина материнского молока в желудке ребенка вносит определенный вклад в стимуляцию роста бифидобактерий, подавляет рост других микроорганизмов и определяет состав эндогенной кишечной микрофлоры, характерной для грудного возраста. Более того, можно полагать, что эти эффекты будут проявляться не только при грудном вскармливании, но и при применении смесей, содержащих лактоферрина [209].

1.2.2. Сведения о роли и особенностях метаболизма неоптерина, альфа-1-антитрипсина, лактоферрина при заболеваниях вирусной, бактериальной, грибковой этиологии

В научной литературе имеются данные о повышении концентрации неоптерина в различных биологических жидкостях человека на ранних стадиях вирусной, бактериальной, грибковой или протозойной инфекции. Это подтверждается обнаружением его, в частности в сыворотке крови при помощи иммунологических методов диагностики. Содержание неоптерина в сыворотке крови при вирусных инфекциях определяется до начала клинических проявлений, в конце инкубационного периода. Исходя из характерных особенностей патогенеза каждого возбудителя, этот период может протекать до четырех шести недель. Повышение концентрации неоптерина при различных стадиях прогрессирования заболевания было зафиксировано у пациентов при острых гепатитах, краснухе, лихорадке Денге, гриппе, цитомегаловирусной инфекции, инфекции вызванной вирусом Эпштейн-Барр, парвовирусной-В-19 инфекции, вирусных кишечных инфекциях [42].

При определении концентрации неоптерина у пациентов с ВИЧ-инфекцией, авторы указывают на важность исследования колебаний уровня данного маркера как в сыворотке крови, так и в моче. При инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1), неоптерин может служить важным диагностическим маркером, так как в патогенезе данного возбудителя важную роль играет активация синтеза цитокинов (в том числе ИФН- γ) Т-хелперами 1-го типа (Th1). Так же, как и при других вирусных инфекциях, во время острой фазы ВИЧ-1 инфекции повышение содержания неоптерина фиксируется на очень ранних стадиях развития процесса, до сероконверсии антител к ВИЧ, что предшествует снижению количества CD4⁺-Т-клеток. Изучение содержания неоптерина у пациентов с вирусными гепатитами (HBV- и HCV-инфекциях) показывает изменение его уровня как при хроническом процессе с положительной реакцией на антиген вируса гепатита В (HBsAg) и вируса гепатита С (Anti-HCV), так и у пациентов-носителей этих вирусов. Уровень неоптерина при этом находится на более высоком уровне по сравнению с контрольными группами (неинфицированными здоровыми) [73].

При острых инфекциях вызванных цитомегаловирусом (Cytomegalovirus, CMV) и вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) повышенная концентрация неоптерина в сыворотке крови и моче сохраняется на протяжении всего периода клинических проявлений и значительно превосходит таковое значение по сравнению с группой пациентов без вiremii [40, 41]. Высокие концентрации выявляются также у пациентов с лихорадкой Денге (54,3 нмоль/л), при

Крым-Конго геморрагической лихорадке (73,22 нмоль/л), у больных корью (36,3 нмоль/л) и гриппом (18,8 нмоль/л) [9, 72].

У пациентов с нейроинфекциями повышенные концентрации неоптерина обнаруживаются в цереброспинальной жидкости. У больных с герпетическим и туберкулёзным менингоэнцефалитом концентрация неоптерина определяется на уровне более 1100 нмоль/л, с бактериальными менингитами – около 699,2 нмоль/л, с вирусным - 274,3 нмоль/л. Бактериальные инфекции в остром периоде умеренно повышают уровень неоптерина в связи с преобладающей ролью гуморального иммунитета, однако при хроническом, рецидивирующем и тяжелом течении, септицемии эти показатели возрастают значительно, особенно при синтезе и выделении бактериальных экзотоксинов. В случае корректной работы иммунной системы, после успешного излечения от вызванного инфекционным возбудителем заболевания, концентрация неоптерина снижается до нормальных значений (менее 10 нмоль/л). Однако остается неизученным вопрос механизма действия неоптерина при широком спектре иммунодефицитных состояний, сопровождающихся присоединением инфекционного процесса, осложнений [42].

Была изучена зависимость концентрации неоптерина при кишечных инфекциях бактериальной и вирусной этиологии у детей раннего возраста. Выявлено достоверное увеличение уровня неоптерина, а также провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИНФ- α) и противовоспалительного ИЛ-4, при кишечных инфекциях бактериальной этиологии заболевания. Однако, несмотря на повышение содержания ФНО- α , ИНФ- α и ИНФ- γ при вирусных кишечных инфекциях такой тенденции не прослеживается, и достоверного отличия концентрации неоптерина от нормы не было зафиксировано. Авторы делают вывод о прямом влиянии ИЛ-1, ИНФ- α , ИЛ-4 на стимуляцию продукции неоптерина при кишечных инфекциях бактериальной этиологии, так как эти же цитокины активируют макрофаги и нейтрофилы, запускающие неспецифический противобактериальный механизм иммунного ответа, чем и объясняется увеличение уровня сывороточного неоптерина [26].

Альфа-1-антитрипсин является «активатором острой фазы» и высокий уровень регистрируется при бактериальных инфекциях. Однако нет достаточных сведений или углубленных исследований о влиянии различных инфекций на изменение уровня альфа-1-антитрипсина [26, 205].

В последние годы были открыты несколько дополнительных биологических функций лактоферрина, которые подтверждают его физиологическую значимость как антимикробного агента. Оригинальные исследования, выполненные на модели *Pseudomonas aeruginosa*, продемонстрировали, что комплексообразование лактоферрина со свободным железом приводит к эффективному подавлению формирования бактериальной биопленки.

Экспериментально показано, что белок лактоферрина ингибирует формирование биопленки, стимулируя особый тип движения микроворсинок на поверхности клеток *P. aeruginosa*, который не позволяет бактериям прикрепиться к поверхности клеток хозяина и сформировать микроколонии. Надо отметить, что антибиопленочная активность лактоферрина проявляется при крайне низкой концентрации лактоферрина (0,02 мг/мл), то есть в пять раз меньше, чем это требуется для прямого ингибирования роста бактерий лактоферрином. Установлено, что у больных с фиброзно-кистозной дегенерацией наблюдается повышенный протеолитический гидролиз и инактивация белка лактоферрина, приводящие к хроническому заболеванию и формированию биопленки *P. aeruginosa* в дыхательных путях. В экспериментах *in vitro* получено подтверждение того, что именно протеолитическая деградация лактоферрина обеспечивала потерю им способности ингибировать образование биопленки микроорганизмами. Эти исследования указывают на то, что антибиопленочная активность лактоферрина участвует в защите организма от инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*. Лактоферрин ингибирует сорбцию бактерий путем непосредственного связывания клеток возбудителя или опосредованно – через контакт с мембранами эукариот, что блокирует возможность развития инфекционного процесса. Аналогично лактоферрин ингибирует начальные стадии развития вирусной инфекции, связываясь с вирусной частицей или с рецепторами клетки-хозяина, что экспериментально показано для ВИЧ, вируса гепатита С, вирусов герпеса 1 и 2, ЦМВ, ротавирусов и респираторного синцитиального вируса [52, 201].

Исследования последних лет позволили установить, что лактоферрин может проявлять антимикробные свойства через свою протеолитическую активность, которая была обнаружена у этого белка сравнительно недавно. Эксперименты показывают, что лактоферрин гидролизует и инактивирует микробные белки, которые играют ключевую роль при бактериальной колонизации энтеропатогенной *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* и *Haemophilus influenzae*. Биохимическими методами установлено, что протеиназная активность лактоферрина подавляется ингибиторами сериновых протеиназ, а каталитический центр, определяющий эту активность, располагается в N-концевом домене молекулы лактоферрина. Консервативная природа протеолитического активного центра у молекулы лактоферрина указывает на перспективность дальнейшего исследования этой функции белка. Многочисленные эксперименты подтверждают, что лактоферрин может влиять на патогенез инфекционной патологии не только при непосредственном взаимодействии с бактерией или клеткой-мишенью, но и через стимуляцию иммунной системы организма. Например, модуляция лактоферрином иммунного ответа через Т-хелперные клетки 1 типа приводит к защите организма от инфекции *Staphylococcus aureus* у трансгенных мышей, а его способность активировать нормальные

клетки-киллеры обеспечивает усиление прямого защитного эффекта этого белка против цитомегаловируса [71, 90].

Современные исследования позволяют утверждать, что железо является универсальным фактором роста микроорганизмов. В окружающей среде железо подвергается процессам окисления и гидролиза, приводящим к уменьшению концентрации свободных ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} до 10^{-9} – 10^{-18} М, что недостаточно для оптимальной жизнедеятельности большинства микроорганизмов. Аналогично в организме млекопитающих железо находится в связанном с железосвязывающими белками состоянии и недоступно для микроорганизмов. Поэтому эволюционно микроорганизмы выработали способы добывания железа в железодефицитных условиях, что важно для оптимального развития в окружающей среде и в определенных ситуациях может оказаться критичным для выживания популяции. В настоящее время определена связь способности синтезировать сидерофоры с вирулентностью микроорганизмов – их утрата вызывает потерю вирулентности, что актуально для микроорганизмов некоторых таксономических групп. При этом далеко не все прокариоты обладают способностью к синтезу сидерофоров. Такие бактерии, как менингококки, моракселлы и нейссерии не способны к их продукции, но вполне могут утилизировать ионы железа с помощью специализированных белковых рецепторов, локализованных на наружной мембране микробной клетки. Повышенная продукция этих протеинов имеет место в условиях недостатка железа в окружающей среде, особенно, при внесении соединений, формирующих хелатообразующие комплексы. Так, например, протеин Cop B *Moraxella catarrhalis* обладает способностью поглощать железо из цитрата железа, трансферрина, лактоферрина и гем - содержащих белков, а железорегулируемый протеин с массой 37 кД, типичный для патогенных нейссерий, участвует в транспорте железа из трансферрина через периплазму к цитоплазматической мембране. Подтверждено сходство между активным центром этого протеина нейссерий и активным центром трансферрина беспозвоночных [90, 93, 153, 170, 171].

В этом случае микробные стратегии получения железа, в том числе, синтез вещества, иммунохимически сходного с лактоферрином человека, можно рассматривать как один из факторов, определяющих формирование и устойчивость микробных ассоциаций, играющих важную роль в функционировании нормомикробиоценозов и патологических микробиоценозов организма хозяина.

ГЛАВА 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Характеристика больных хроническим лимфолейкозом с инфекционными осложнениями

Материалом для исследования служили: амбулаторные карты пациентов с ХЛЛ, истории болезней пациентов с ХЛЛ, стационарные журналы гематологического отделения ГБУЗ АО «Александро-Мариинской областной клинической больницы», данные ежегодных отчётов по заболеваемости и смертности пациентов с гемобластозами по России и Астраханской области.

Перед проведением исследования была получена выписка из протокола заседания Этического комитета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России №5 от 16.12.2016 г.

Для достижения целей исследования и решения поставленных задач были проанализированы исходные характеристики 273 пациентов с ХЛЛ на разных стадиях заболевания и клинико-гематологические характеристики течения данной патологии в динамике за период с 2013 по 2023 гг. Пациенты состояли на амбулаторном наблюдении в консультативной поликлинике и проходили стационарное лечение в гематологическом отделении ГБУЗ АО «Александро-Мариинской областной клинической больницы».

Среди обследованных пациентов количество женщин составило 154 человека (56,4%), мужчины - 119 человек (43,6%), а также 30 человек здоровых доноров (контрольная группа) сопоставимых по возрастным критериям с основной группой (15 женщин и 15 мужчин). Средний возраст контрольной группы – $64,13 \pm 0,88$ года, средний возраст больных ХЛЛ $65,07 \pm 0,95$ лет. Включенными в исследование были все больные с подтвержденным диагнозом ХЛЛ в возрасте от 28 до 93 лет. Из группы исследования были исключены больные и умершие от лимфопролиферативных заболеваний с морфологически не подтвержденным диагнозом ХЛЛ. У всех больных диагноз ХЛЛ был верифицирован на основании исследования клинических данных, лабораторных исследований клеток периферической крови и костного мозга, а также проводилось иммунофенотипическое подтверждение моноклональной пролиферации лимфоцитов. Формулировка диагноза проводилась в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), одобренной на сорок третьей сессии Всемирной Ассамблеи здравоохранения в мае 1990 года. Определение стадий процесса проводилось согласно системе клинических стадий хронического лимфолейкоза по J.

Binet (1989 г.), в которой выделяют три стадии: *A*, *B* и *C*. При регистрации пациентов с ХЛЛ не было зафиксировано значительных временных и сезонных колебаний.

Был проведен анализ течения ХЛЛ в различные периоды основного заболевания: в дебюте ХЛЛ (при впервые установленном диагнозе ХЛЛ), в период стационарного лечения ХЛЛ, в период амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ, в процессе специфической химиотерапии. Общая характеристика больных ХЛЛ представлена в таблице 2.1.1.

Таблица 2.1.1 - Общая характеристика больных ХЛЛ в зависимости от стадии течения заболевания (по J. Binet)

Характерный признак	Стадии течения ХЛЛ по J. Binet			Общее количество пациентов
	A	B	C	
Общее количество больных (абсолютное и процентное соотношение)	69 (25,3%)	100 (36,6%)	104(38,1%)	273
Возрастная характеристика:				
старше 70 лет	27	36	59	122
от 50 до 70 лет	34	58	45	137
моложе 50 лет	8	6	-	14
Гендерная принадлежность:				
мужчины	31	40	48	119
женщины	38	60	56	154
Период течения заболевания (на момент проведения лабораторных исследований):				
пациенты в период дебюта ХЛЛ	29	30	27	86
пациенты в период амбулаторного наблюдения ХЛЛ	16	22	55	93
пациенты в период стационарного лечения ХЛЛ	24	48	22	94
пациенты в период проведение химиотерапии	53	78	49	180

В соответствии с целью нашей работы, структура исследования предусматривала несколько этапов при изучении влияния инфекционных осложнений на течение, прогноз и исход ХЛЛ.

Первый этап включал изучение влияния различных факторов течения ХЛЛ на частоту встречаемости и вид инфекционных осложнений различной этиологии и локализации процесса у больных ХЛЛ, а также зависимость частоты появления вторичных инфекций от возраста больного, стадии ХЛЛ, применяемой схемы химиотерапии.

На втором этапе изучалась чувствительность инфекционных агентов, вызывающих осложнения к основным группам антибактериальных и антимикотических препаратов. В

процессе выполнения этого раздела работы был проведен анализ гистологических, иммунологических исследований; микробиологического исследования крови, мазков из зева и носа, мокроты, мочи, очагов воспаления кожных покровов и видимых слизистых при установлении диагноза инфекционного осложнения

На третьем этапе исследований проведены серии лабораторных исследований, направленных на изучение закономерностей изменения уровня неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина у больных с ХЛЛ и определения связи полученных показателей с развитием инфекционных осложнений. При анализе полученных результатов принимались во внимание схемы лечения основного заболевания (химиотерапия).

Диагноз инфекционного осложнения выставлялся на основании объективного, клинического и инструментального обследования пациентов, а также лабораторного подтверждения этиологического инфекционного агента.

Подозрением на развитие инфекционных осложнений служило однократное и /или рецидивирующее повышение температуры тела более 37,5-38°C, не имеющее четкой связи с течением основного заболевания и применяемым режимом химиотерапии.

К другому критерию клинико-гематологической характеристики пациентов была отнесена степень нейтропении в соответствии с классификацией ВОЗ: I степень (количество нейтрофилов 2000 - 1500 в 1 мкл крови), II степень (количество нейтрофилов 1500 - 1000 в 1 мкл крови), III степень (количество нейтрофилов 1000 - 500 в 1 мкл крови) и IV степень (количество нейтрофилов менее 500 в 1 мкл крови).

Инфекционные осложнения подразделялись на локализованные и генерализованные формы, а также в зависимости от вида этиологического агента на вирусные, бактериальные и грибковые. Диагноз локализованной инфекции устанавливался при наличии характерных очагов поражения на кожных покровах, видимых слизистых, при отсутствии системной воспалительной реакции на инфекцию, отрицательных результатах исследования гемокультур. Диагноз генерализованной формы инфекционного осложнения подтверждался при наличии бактериемии в результатах культурального исследования периферической крови, а также объективных признаков системной воспалительной реакции на внедрение инфекционного агента (гипертермия выше 38°C, тахикардия выше 90 ударов в минуту, частота дыхательных движений более 20 в минуту). У ряда пациентов развивалось состояние септического шока, устанавливаемого при сочетании бактериемии в мазках периферической крови, лихорадки больше 38,3°C или гипотермии ниже 36°C, артериальной гипотензии, тахикардия выше 90 ударов в минуту, частота дыхательных движений более 20 в минуту, спутанное сознание, артериальная гипоксемия при индексе оксигенации (PaO_2/FiO_2) менее 300, олигурия, нарушения коагуляции ($MHO > 1,5$ или $ACTB > 60$ с), отсутствие шумов перистальтики.

По схемам назначенного лечения больные были разделены на четыре группы. В первой группе (группа I) пациенты получали только базовое лечение основного заболевания, во второй (группа II) – проводилась терапия антибактериальными препаратами в виду установления диагноза инфекционного осложнения бактериальной этиологии. В третьей группе (группа III) назначался курс противовирусной терапии в качестве лечения вирусзависимого осложнения основного заболевания. К четвертой группе (группа IV) относятся пациенты, получавшие антимикотические препараты в виду развития грибковых осложнений. Дополнительно назначалось симптоматическое лечение, устраняющее побочные действия препаратов первого ряда: антиэметики, антигистаминные препараты, нестероидные противовоспалительные препараты, глюкокортикостероиды, антисептические, гепатопротекторы, сорбенты и другие.

Для оценки эффективности лечения инфекционных осложнений были применены следующие критерии: 1) «положительный эффект» - эффект от лечения достигался при использовании одного вида противoinфекционных препаратов (первой линии); 2) «эффект с преобразованиями» - эффект от лечения достигался только при присоединении других препаратов к противoinфекционным препаратам первой линии; 3) «отсутствие эффекта» - эффект от лечения не был достигнут, данную группу образовали случаи сепсиса, септического шока, другие состояния требующие реанимации и интенсивной терапии, а также смерти пациентов от инфекционных осложнений. Во всех группах указывался день начала лечения, день замены противoinфекционных препаратов, день начала интенсивной терапии и летальных исходов.

2.2. Лабораторные методы исследования

Всем группам пациентов для подтверждения диагноза инфекционного осложнения проводилось комплексное обследование, которое включает сбор анамнеза, клинический осмотр, исследование объективного статуса, лабораторные исследования (общий анализ крови с формулой, общий анализ мочи, биохимическое исследование крови, исследование костномозгового пунктата и трепанобиоптата (миелограмма), биоптата лимфатических узлов), инструментальные методы обследования (рентгенологические, эндоскопические, ультразвуковые методы), методы компьютерной и магнитно-резонансной томографии.

Лабораторные исследования проводились в клиническо-диагностической лаборатории клиничко – диагностического центра ГБУЗ АО «Александро-Мариинской областной клинической больницы».

Применение методов исследования этиологических агентов инфекционных осложнений ХЛЛ проводилось согласно приказу № 535 от 22 апреля 1985 года «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Для подтверждения наличия инфекционных агентов у пациентов с клинически установленным диагнозом инфекционного осложнения применялись следующие лабораторные методы:

- выделение чистых культур возбудителей в бактериологических анализах мазков из носа и зева, бронхиального дерева (мокрота), мочи, воспалительных очагов и их посев на соответствующие питательные среды в зависимости от предполагаемого вида возбудителя. Забор материала производился с помощью стержня со стерильным тампоном, который помещался в стерильную пробирку, не касаясь его края (мазки из носоглотки) или помещался в стерильную посуду (мокрота, моча). Посев осуществлялся в ламинарном шкафу, гарантирующем стерильность рабочей зоны. Культивирование и выращивание колоний происходило на чашках Петри. Штаммы полученных культур помещались на предметное стекло для дальнейшего окрашивания мазков по одному из методов (Граму, Цилю-Нильсену) и микроскопического изучения морфологии микроорганизмов:

- Размер и форму бактериальной клетки.
- Наличие капсул, жгутиков, спор.
- Тинкториальные свойства (отношение микроорганизма к окрашиванию).

- микроскопическое изучении патологических клеток (цитологический метод). Забор материала производился из очагов методами соскоба (при кожных проявления инфекционного процесса) и пункции (при висцеральной локализации инфекционного агента);

- метод иммуноферментного анализа сыворотки крови - изучение наличия антител (IgM и IgG) к вирусам Varicellazoster, Cytomegalovirus (CMV);

- подтверждение развития осложнения грибковой этиологии осуществлялось путем посева биоматериала (соскобов с кожных покровов, мокроты, материала, полученного путем бронхоскопии) на среду Сабуро, а также серологического исследования крови для определения наличия антигена галактоманнана, так называемый «галактоманновый тест» (иммуноферментный анализ с целью выявления компонента клеточной стенки грибов *Aspergillus spp*, высвобождаемый в процессе его роста) и маннана (Mn-антиген – один из основных компонентов клеточной стенки *Candida*, циркулирующий в крови при инвазивном кандидозе, выявляемый с помощью метода иммуноферментного анализа);

- для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и другим препаратам использовались методы: диско-диффузионный и метод серийных разведений

антибиотиков в плотной среде (определение чувствительности к антибиотику отдельных вариантов штамма) или жидкой питательной среде (чувствительность штамма в целом).

Определение концентрации неоптерина в сыворотке крови осуществлялось методом ИФА с применением тестовых систем «Neopterin ELISA» фирмы «IBL INTERNATIONAL GMBH» – Humberg, Germany (единицы измерения - нмоль/л). Определение концентрации альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови осуществлялось методом ИФА с применением тестовых систем «IDK α 1-Antitrypsin Clearance ELISA» фирмы «Immundiagnostik AG» – Bensheim, Germany (единицы измерения - мг/л). Количественное содержание лактоферрина определялось методом иммуноферментного анализа (применялся набор реагентов «Lactoferrin, Human, ELISA kit» фирмы «Hycultbiotech» – Uden, The Netherlands) (единицы измерения - нг/мл).

Исследования осуществлялись по стандартной методике. Забор крови проводился через 6 часов после последнего приема пищи. За сутки до процедуры был рекомендован отказ от употребления алкоголя, за 2 часа до забора биологического материала (венозная кровь) отказ от курения. Забор крови производился до и после начала химиотерапии, а также у пациентов с последующим клиническим подтверждением диагноза инфекционного осложнения во время (через 4 дня после начала лечения) и после проведения антибактериальной, противовирусной или антимикотической терапии (через 5 дней после завершения лечения). В период проведения лечения инфекционных осложнений применение препаратов иммунохимиотерапии было приостановлено.

Определение устойчивости микроорганизмов к лактоферрину человека проводили по следующей схеме:

Количество КОЕ в 1 мл физиологического раствора довели до концентрации 10^{20} по стандарту мутности (ГИСК им. Тарасевича). После этого в две пробирки вносили по 0,3 мл микробной взвеси. На каждый штамм приходилось две пробирки.

Далее в опытную пробу добавляли 0,2 мл раствора лактоферрина в апоформе (так, чтобы его конечная концентрация составляла 400 нг/мл).

В контрольную пробу вместо лактоферрина добавляли 0,2 мл физ. р-ра.

После инкубации проб ($t=37^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин) останавливали реакцию добавлением во все пробы по 5 мл питательного бульона с последующим измерением оптической плотности – это ОП₁.

Для размножения устойчивых к действию лактоферрина микроорганизмов повторно инкубировали пробы при $t=37^{\circ}\text{C}$ в течение часа и затем измеряли оптическую плотность растворов – это ОП₂.

Бактерицидный эффект лактоферрина рассчитывали по формуле:

$\Delta O_{Пк} - \Delta O_{По} / \Delta O_{Пк}$, где

$\Delta O_{Пк}$ – изменения оптической плотности в контроле

$\Delta O_{По}$ – изменения оптической плотности в опыте.

Выделение и очистку белка, иммунохимически сходного с лактоферрином человека (МдЛФ) начинали с отделения балластных белков в 2М сульфате аммония (ч.д.а.). Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием, а надосадочную жидкость смешивали с ацетоном в соотношении 1:2 и центрифугировали при 1500об/мин в течении 10 мин. Эта манипуляция значительно сокращает время выделения и повышает выход белка, т.к. избавляет от этапа обессоливания. Полученный осадок растворяют в фосфатном буфере pH=7,0, содержащем 0,3 мМ $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, для насыщения лактоферрина железом.

Затем полученный раствор наносили на колонку (4,5x60 см) гепарин - сефарозы (Sigma, США) предварительно уравновешенную 20 мМ Трис-НСl, pH 7,5. Сорбент промывали 20 мМ Трис-НСl, pH 7,5, затем тем же буфером, содержащим 1% тритон X-100, и повторно - буфером уже без тритона до исчезновения оптического поглощения. Элюцию проводили с помощью линейного градиента концентраций NaCl от 0 до 1 М в 20 мМ Трис-НСl, pH 7,5. Полученные фракции диализовали против 10 мМ Трис-НСl, pH 7,5 в течение 16 ч при 4°C.

В отличие от обычного метода выделения МдЛФ, колонка с гепарин-сефарозой предварительно обрабатывалась 0,2 - 0,3% раствором формальдегида, с целью окисления минорных функциональных групп гепарина, что приводит к возрастанию его отрицательного заряда и, как результат, повышает аффинность по отношению к лактоферрину.

Молекулярную массу лактоферрина определяли DC-Na-ПААГ-электрофорезом по методу Шаггера и фон Джагова, используя гель с концентрацией акриламида 8%. Также молекулярную массу оценивали по результатам гель-фильтрации.

2.3. Методы статистической обработки результатов

Для анализа полученных результатов исследования применялись методы статистической обработки в соответствии с существующими рекомендациями [10]. Расчет эпидемиологических показателей проводили с учетом численности восприимчивого населения – лиц старше 18 лет.

Для каждой выборки вычислялись показатели описательной статистики: количество наблюдений в исходной выборке (n), среднее арифметическое полученных значений (M), среднее квадратическое отклонение (m), стандартную ошибку среднего арифметического (t), минимальное (min) и максимальное (max) значение изучаемого признака, а также показатели

относительных величин (%) и их ошибки. Вид распределения количественных данных анализировался с помощью критерия Шапиро-Уилка. После оценки соответствия нормальному закону распределения проводился выбор метода статистического анализа (параметрический или непараметрический). При нормальном распределении количественных переменных центральные тенденции и рассеяния признаков описаны с помощью среднего значения (M) и среднего квадратического отклонения (m). При распределении количественных признаков, отличном от нормального, описание проводилось с помощью медианы (Me) и 25% - 75% интерквартильного размаха ($LQ;UQ$). Доверительные интервалы (ДИ) рассчитывались для вероятности $p=95\%$. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для того чтобы подобрать адекватный критерий статистической обработки результатов, исходные данные проверялись на нормальность распределения и равенство дисперсий в сравниваемых выборках. В первом случае использовался критерий χ^2 , во втором – критерий Фишера. Если данные отвечали требованиям для использования критерия Стьюдента, то использовался этот критерий. В ситуации, когда сравниваемые выборки являются связанными между собой, применяли Т критерий для парных выборок, в двух несвязанных группах – критерий Стьюдента или непараметрический критерий Манна-Уитни.

Так же нами был использован критерий Краскел-Уоллеса, который не требует нормального распределения исходных данных, например, для сравнения уровня того или иного показателя в трех выборках (например, у пациентов на трех стадиях болезни).

Статистический анализ результатов проведен с использованием статистических программ Microsoft Excel и Statisticafor Windows.

ГЛАВА 3. ИНФЕКЦИОННЫЙ СИНДРОМ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

3.1. Развитие инфекционных осложнений на различных этапах ведения пациентов с ХЛЛ

Инфекционные осложнения у больных с диагнозом ХЛЛ по этиологическому признаку в зависимости от вида возбудителя подразделяют на вирусные, бактериальные и грибковые. Они могут иметь как локальный характер, так и обладать склонностью к генерализации процесса.

В течение периода исследований с 2013 по 2023 годы проанализировано 273 пациента с диагнозом ХЛЛ, инфекционные осложнения были выявлены у 171 (63,6%) пациента, у которых были диагностированы 410 эпизодов инфекционных осложнений различной этиологии. Эпизоды инфекционных осложнений фиксировались у каждого пациента не однократно, а при каждом периоде госпитализации или обращении пациентов в консультативную поликлинику, в связи с чем, количество изученных инфекционных осложнений превышает количество исследованных пациентов за весь период наблюдения (рисунок 3.1.1).



Рисунок 3.1.1 - Доля больных ХЛЛ с инфекционными осложнениями в Астраханской области с 2013 по 2023 гг.

Была проанализирована частота развития инфекционных осложнений у больных с ХЛЛ в различные периоды основного заболевания и выявлено, что значительная часть осложнений инфекционного генеза развивается уже в начале ХЛЛ (20,9 % - впервые выявленные пациенты с

ХЛЛ), что является следствием вовлечения в патологический процесс иммунологического звена (система фагоцитоза, клеточный и гуморальный иммунитет). Половина случаев инфекционных осложнений зафиксирована на этапе обострения основного заболевания и в том числе, у пациентов, получающих химиотерапию (48,1%), которая способствует усилению подавления иммунокомпетентных звеньев защиты организма. Сведения о частоте развития инфекционных осложнений на различных этапах ведения пациентов с ХЛЛ представлены в таблице 3.1.1.

Таблица 3.1.1 - Частота развития инфекционных осложнений на различных этапах ведения пациентов с ХЛЛ

Этапы ведения пациентов с ХЛЛ	Общее количество пациентов		Количество случаев с установленным диагнозом инфекционного осложнения		Количество случаев без наличия инфекционных осложнений	
	Абс. число	% соотношение	Абс. число	% соотношение	Абс. число	% соотношение
Дебют заболевания – впервые выявленные пациенты с ХЛЛ (до начала химиотерапии)	86	31,5	86	20,9	32	31,4
Период стационарного лечения основного заболевания	94	34,4	197	48,1	36	35,3
Период амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ	93	34,1	127	31,0	34	33,3
Всего	273	100,0	410	100,0	102	100,0

Локализованные формы инфекционных осложнений встречались в 347 случаях исследования инфекционных осложнений (84,6% всех осложнений), а генерализованные - в 63 случаях (15,4% всех осложнений). При ХЛЛ стадии *A* локализованная форма инфекционных осложнений встречалась в 21,46% от всех случаев и была в 1,5 раза ниже, чем при стадии *B* (27,1%) и стадии *C* (36,1%). Генерализованная форма инфекционных осложнений была зафиксирована при у пациентов на стадии *A* и стадии *B* течения ХЛЛ в 16 эпизодах инфекционных осложнений, при стадиях *C* генерализация инфекции встречалась в 2 раза чаще (таблица 3.1.2).

Таблица 3.1.2 - Структура инфекционных осложнений у пациентов с ХЛЛ с 2013 по 2023 гг.

Диагноз инфекционного осложнения	Общее количество эпизодов осложнений		Стадии ХЛЛ					
			А		В		С	
	п	%	п	z	п	z	п	z
Локализованные формы осложнений бактериальной этиологии (138 эпизодов)								
Другой острый синусит (Острые синуситы, вовлекающие более одного синуса, но не пансинуситы) <i>МКБ-10 J01.8</i>	22	15,9	10	2,44	5	1,22	7	1,71
Стрептококковый фарингит (Стрептококковая ангина) <i>МКБ-10 J02.0</i>	15	10,9	3	0,73	8	1,95	4	0,98
Пневмония, вызванная <i>Klebsiellapneumoniae</i> <i>МКБ-10 J15.0</i>	9	6,5	0	0,00	2	0,49	7	1,71
Пневмония, вызванная стрептококком группы В <i>МКБ-10 J15.3</i>	12	8,7	1	0,24	2	0,49	9	2,20
Другие бактериальные пневмонии <i>МКБ-10 J15.8</i>	15	10,9	3	0,73	1	0,24	11	2,68
Острый бронхит, вызванный стрептококком <i>МКБ-10 J20.2</i>	10	7,3	2	0,49	2	0,49	6	1,46
Острый бронхит, вызванный другими уточненными агентами <i>МКБ-10 J20.8</i>	11	7,9	2	0,49	8	1,95	1	0,24
Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) <i>МКБ-10 K12.0</i> (Стрептококковые и стафилококковые стоматиты.)	16	11,6	5	1,22	4	0,98	7	1,71
Другие хронические тубулоинтерстициальн ые нефриты <i>МКБ-10 N11.8</i>	16	11,6	3	0,73	3	0,73	10	2,44

Продолжение таблицы 3.1.2

Интерстициальный цистит (хронический) <i>МКБ-10 N30.1</i>	12	8,7	3	0,73	3	0,73	6	1,46
<i>Локализованные формы осложнений вирусной этиологии (97 эпизодов)</i>								
Герпетический везикулярный дерматит <i>МКБ-10 B00.1</i>	2	2,1	0	0,00	0	0,00	2	0,49
Герпетический гингивостоматит и фаринготонзиллит <i>МКБ-10 B00.2</i>	36	37,1	10	2,44	15	3,66	11	2,68
Герпетическая болезнь глаз <i>МКБ-10 B00.5</i>	3	3,1	0	0,00	2	0,49	1	0,24
Острый бронхит, вызванный вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J20.4</i>	15	15,5	6	1,46	7	1,71	2	0,49
Грипп с пневмонией, сезонный вирус гриппа идентифицирован (Гриппозная (бронхо)пневмония, сезонный вирус гриппа идентифицирован) <i>МКБ-10 J10.0</i>	17	17,5	4	0,98	6	1,46	7	1,71
Грипп с другими респираторными проявлениями, сезонный вирус гриппа идентифицирован <i>МКБ-10 J10.1</i>	14	14,4	5	1,22	4	0,98	5	1,22
Пневмония, вызванная вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J12.2</i>	10	10,3	2	0,49	3	0,73	5	1,22
<i>Локализованные формы осложнений грибковой этиологии (112 эпизодов)</i>								
Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) <i>МКБ-10 K12.0</i> (Кандидозные)	61	54,5	19	4,63	19	4,63	23	5,61
Тонзиллярный аспергиллез <i>МКБ-10 B44.2</i>	51	45,5	10	2,44	17	4,15	24	5,85

Продолжение таблицы 3.1.2

Генерализованные формы осложнений бактериальной этиологии (31 эпизод)								
Сепсис, вызванный <i>Staphylococcus aureus</i> <i>МКБ-10 A41.0</i>	10	32,3	2	0,49	3	0,73	5	1,22
Сепсис, вызванный другим уточненным стафилококком (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) <i>МКБ-10 A41.1</i>	11	35,4	1	0,24	4	0,98	6	1,46
Сепсис, вызванный другими грамотрицательными микроорганизмами (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i>) <i>МКБ-10 A41.5</i>	10	32,3	2	0,49	3	0,73	5	1,22
Генерализованные формы осложнений вирусной этиологии (32 эпизода)								
Диссеминированная герпетическая болезнь (Сепсис, вызванный вирусом простого герпеса) <i>МКБ-10 B00.7</i>	9	28,1	3	0,73	2	0,49	4	0,98
Мононуклеоз, вызванный гамма-герпетическим вирусом (вирусом Эпштейна-Барр) <i>МКБ-10 B27.0</i>	11	34,4	3	0,73	3	0,73	5	1,22
Цитомегаловирусный мононуклеоз <i>МКБ-10 B27.1</i>	12	37,5	5	1,22	1	0,24	6	1,46
Генерализованные формы осложнений грибковой этиологии								
Не диагностировались	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: п – абсолютное количество эпизодов инфекционных осложнений;
% - от общего количества локализованных и генерализованных форм осложнений каждого из видов возбудителей;
z - структура заболеваемости инфекционными осложнениями пациентов с ХЛЛ

Анализ локализованных форм инфекционных осложнений показал преобладание бактериального этиологического фактора в качестве патогенетического триггера над вирусными и грибковыми агентами. Инфекции органов дыхания занимают лидирующую позицию среди инфекционных осложнений других систем организма и составляют 68,3% от общего числа локализованных инфекционных осложнений (инфекции органов пищеварения –

22,3%, инфекции органов мочевого выделения – 8,1%, поражение мягких тканей и кожных покровов – 1,3%).

Изучение нозологических форм инфекционных осложнений ХЛЛ показало, что среди патологии органов дыхания имеются различия в частоте их возникновения в зависимости от стадии течения основного заболевания. Так синуситы встречались в виде фронтитов, этмоидитов, сфеноидитов и гайморитов и выявлялись в 6,3% случаев от общего числа локализованных инфекционных осложнений. Наиболее часто данное осложнение встречалось у пациентов на стадии *A* ХЛЛ, однако не выявлено достоверных различий при стадиях *B* и *C*: синуситы развивались в 22,7%, при ХЛЛ стадии *B* и в 31,8% при стадии *C* от общего количества синуситов при ХЛЛ. Фарингит у пациентов с ХЛЛ на стадии *B* встречался в 1,5 раза чаще чем при стадиях *A* и *C*. Обратная картина наблюдается при диагностике пневмоний бактериальной и вирусной этиологии (на стадии *A* – 15,9%, на стадии *B* – 22,2% и на стадии *C* – 61,9% от общего количества пневмоний). Результат суммарного подсчета всех случаев пневмонии у пациентов с ХЛЛ показал развитие данного осложнения в 18,2% от общего числа локализованных осложнений.

Не зафиксировано достоверных различий в частоте встречаемости инфекционных осложнений мочевыводящей системы (нефриты и циститы). Имеется незначительная тенденция к увеличению частоты встречаемости данной патологии при ХЛЛ стадии *C* (в 1,7 раза чаще, чем при стадиях *A* и *B*).

В структуре патологии пищеварительного тракта инфекционного генеза преобладают стоматиты. Стоматиты вирусной этиологии были диагностированы в 10,3% случаев, стоматиты грибковой этиологии - в 17,6% случаев, что в среднем 3,8 раз чаще, чем при бактериальной этиологии данного осложнения (4,6% случаев).

Отдельно изучались осложнения мягких тканей и кожных покровов, поражения глаз (наиболее часто встречался герпетический везикулярный дерматит и герпетическая болезнь глаз), доля которых составила 1,5% случаев.

Генерализованные формы инфекционных осложнений грибковой этиологии за исследованный период времени с 2013 по 2023 гг. диагностированы не были. Инфекционные осложнения ХЛЛ вирусной и бактериальной этиологии, принимавшие распространенный характер течения наиболее часто были представлены сепсисом (63,5% всех генерализованных форм осложнений), другой нозологической формой был инфекционный мононуклеоз, вызванный вирусом Эпштейна-Барр и цитомегаловирусом (в равной доле по 17,5%).

3.2. Характер и частота инфекционных осложнений ХЛЛ в зависимости от возрастных и гендерных особенностей пациентов

Среди локализованных и генерализованных инфекций у пациентов с ХЛЛ выявлено достоверное различие в частоте возникновения данных осложнений в зависимости от возрастной группы пациентов (таблица 3.2.1).

Таблица 3.2.1 - Соотношение форм ХЛЛ в зависимости от возрастных групп пациентов

Диагноз инфекционного осложнения		Возрастные группы пациентов с ХЛЛ					
		Моложе 50 лет		От 50 до 70 лет		Старше 70 лет	
		п	%	п	%	п	%
Локализованные формы осложнений	бактериальной этиологии	26	6,3	59	14,4	53	12,9
	вирусной этиологии	10	2,4	48	11,7	39	9,5
	грибковой этиологии	13	3,2	41	10,0	58	14,1
Генерализованные формы осложнений	бактериальной этиологии	–	–	4	1,0	27	6,6
	вирусной этиологии	5	1,2	11	2,7	16	3,9
	грибковой этиологии	–	–	–	–	–	–

Примечание: п - абсолютное число эпизодов инфекционных осложнений;
% - доля от общего количества случаев инфекционных осложнений

Инфекционные осложнения у пациентов с ХЛЛ в возрастной группе старше 70 лет встречаются в 47,1% всех диагностированных случаев, в группе от 50 до 70 лет в 39,8%, что в 3,5 и 3 раз чаще, чем в возрасте до 50 лет. Имеются достоверные различия в частоте встречаемости инфекционных осложнений локализованных и генерализованных форм в разных возрастных группах. Так, достоверно ($p < 0,001$) чаще фиксировались патологические процессы локализованного характера в возрастной группе от 50 до 70 лет (148 случаев) и в возрасте старше 70 лет (150 случаев), тогда как у пациентов моложе 50 лет выявлено только 49 случаев инфекционных осложнений.

Изучение группы бактериальных осложнений показало преобладание частоты встречаемости инфекции, поражающей органы системы дыхания, которые соответственно составили 74,12% случаев локализованных бактериальных инфекций. Инфекционные

осложнения органов дыхания в возрастной группе от 50 до 70 лет встречались в 71,08% случаев, реже в возрастной группе старше 70 лет (24,09%) и только 5 случаев в возрасте моложе 50 лет (4,8%). Синуситы и фарингиты встречались чаще в группе пациентов от 50 до 70 лет в 25% случаев от общего числа локализованных бактериальных инфекционных осложнений. При ХЛЛ у пациентов в возрасте до 50 и после 70 лет синуситы и фарингиты развивались только у 3 и 1 пациента соответственно, что достоверно меньше, чем в группе от 50 до 70 лет ($p < 0,001$). Соотношение частоты встречаемости пневмонии у пациентов от 50 до 70 и старше 70 лет определено как 1:1, при этом данный вид осложнения не был зафиксирован в возрастной группе до 50 лет. Бронхиты достоверно преобладали в группе пациентов от 50 до 70 лет и составили 20,48% бактериальных поражений органов дыхания, что в 5 раз выше ($p < 0,001$), чем в возрастной группе до 50 и старше 70 (3,6%). Закономерность поражения пищеварительного тракта и мочевыделительной системы показывает абсолютное преобладание инфекционного процесса бактериальной этиологии у пациентов в возрастной группе старше 70 лет (был выявлен лишь один эпизод в возрасте 49 лет с диагнозом тубулоинтерстициального нефрита). Генерализация инфекционных осложнений наблюдалась только в возрастной группе старше 70 лет.

Среди вирусозависимых осложнений генерализация процесса обнаружена в возрастных группах старше 50 и старше 70 лет в соотношении 1:1,8 соответственно (в группе моложе 50 лет генерализованных форм вирусных осложнений не обнаружено). Наиболее часто патологические процессы, вызванные вирусом герпеса, встречались в возрастной группе пациентов от 50 до 70 лет (29,27% локализованных осложнений вирусной этиологии), в то время как у пациентов до 50 лет и старше 70 лет течение ХЛЛ осложнялось данным видом патологии в 7,32% и 13,41% случаев. РНК-содержащие вирусы гриппа и парагриппа не были выявлены в качестве возбудителей локализованных инфекций в возрастной группе до 50 лет, в то время как в группе от 50 до 70 и старше 70 лет данный вид осложнений встречался в около равных долях 21,95% и 28,05% случаев локализованных вирусных осложнений.

Осложнения грибкового генеза в возрасте старше 70 лет встречались в 5 раз чаще, чем у больных в возрасте от 50 до 70 лет (в возрасте до 50 лет грибковые поражения органов не диагностировались), рисунок 3.2.1.

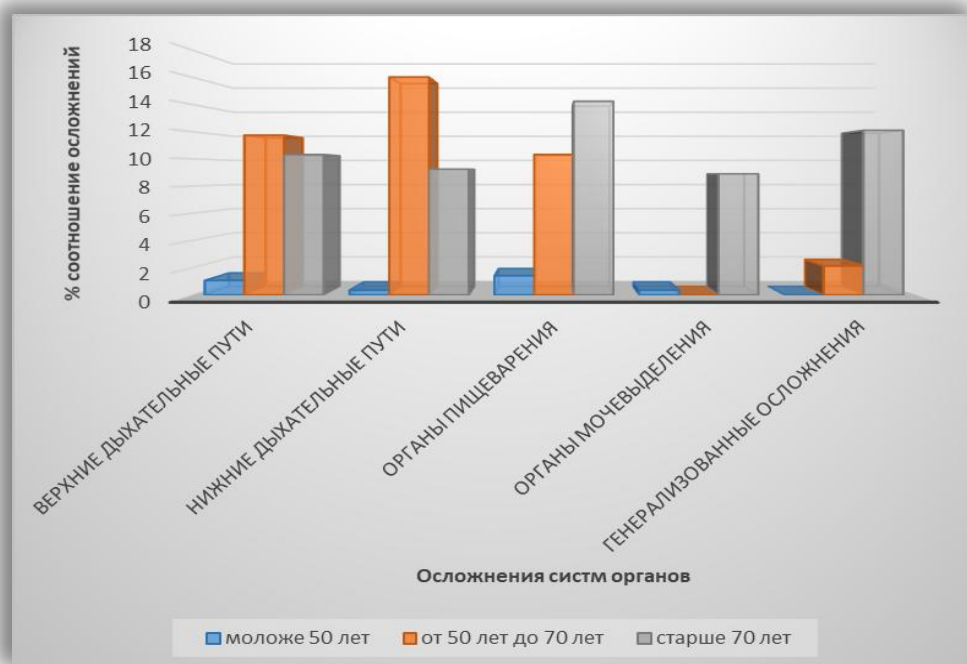


Рисунок 3.2.1 - Соотношение возрастных групп пациентов относительно инфекционных осложнений различных систем органов

Достоверных различий частоты возникновения инфекционных осложнений в зависимости от гендерного признака пациентов с ХЛЛ выявлено не было. Локализованные формы инфекционных осложнений достоверно несколько чаще наблюдались у мужчин (52,28%), так же, как и генерализованные, рисунок 3.2.2

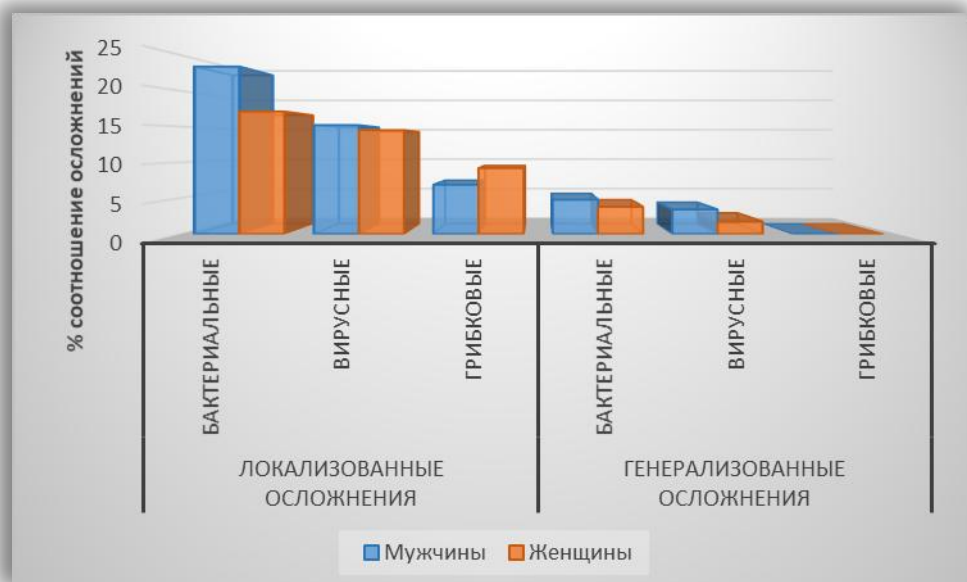


Рисунок 3.2.2 - Соотношение мужчин и женщин относительно частоты возникновения инфекционных осложнений ХЛЛ

3.3 Этиологическая характеристика инфекционных осложнений ХЛЛ

Для подтверждения этиологии возбудителей инфекционных осложнений применялись комплексные методы исследования биологического материала пациентов с ХЛЛ с 2013 по 2023 гг. Среди всех инфекционных осложнений у пациентов на различных стадиях ХЛЛ лидирующую позицию занимали процессы, вызванные бактериальными патогенами, на их долю приходится 43,0% случаев. Чаще лабораторными методами подтверждались инфекции, вызванные бактериями семейств: Streptococcus (45,59%), Staphylococcus (28,68%), Enterobacteriaceae (8,82%), Enterococcaceae (4,41%), Pseudomonaceae (4,41%), Moraxellaceae (8,09%) (таблица 3.3.1).

Таблица 3.3.1 - Структура бактериальных патогенов, вызывающих локализованные и генерализованные осложнения, у пациентов с ХЛЛ

Возбудители инфекционных осложнений бактериальной этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ					
	Локализованные		Генерализованные		Всего	
	п	%	п	%	п	%
Семейство: Streptococcaceae	73	43,2	–		73	43,2
Streptococcus agalactiae	12		–		12	
Streptococcus pyogenes	14		–		14	
Streptococcus viridans	30		–		30	
Streptococcus pneumoniae	17		–		17	
Семейство: Staphylococcaceae	24	14,2	21	12,4	45	26,6
Staphylococcus epidermidis	12		11		23	
Staphylococcus aureus	12		10		22	
Семейство Enterobacteriaceae	9	5,3	10	5,9	19	11,2
Klebsiella pneumoniae	9		–		9	
Escherichia coli	–		10		10	
Семейство: Enterococcaceae	8	4,7	–	–	8	4,7
Enterococcus faecalis	8		–		8	
Семейство: Pseudomonadaceae	9	5,3	–	–	9	5,3
Pseudomonas aeruginosa	9		–		9	
Семейство Moraxellaceae	15	8,9	–	–	15	8,9
Acinetobacter baumannii	15		–		15	

У пациентов с ХЛЛ стрептококковая инфекция являлась причиной осложнений более чем в 2 раза чаще (43,2% всех бактериальных патогенов), чем другие виды возбудителей. Имеются также различия патогенности среди представителей одного семейства бактерий. Так, на первом месте в данной группе семейства Streptococcaceae был S. viridans, который обнаруживался в 17,8% случаев и был причиной как осложнений верхних дыхательных путей

(бронхиты и фарингиты), так и пневмоний. На долю *S. agalactiae*, *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* приходится примерно равное количество случаев инфекционных осложнений (7,1%, 8,3% и 10,1% соответственно).

На втором месте по частоте встречаемости у пациентов с ХЛЛ находятся бактериальные представители семейства *Staphylococcaceae* (26,6%). Нужно отметить, что данный вид патогенов вызывал, приблизительно в равных долях, осложнения, как локализованных форм, так и процессы генерализованного характера (14,2% и 12,4% соответственно). Главными возбудителями инфекционных осложнений среди представителями данного семейства были *S. aureus* и *S. epidermidis*.

Грамотрицательные бактерии были представлены четырьмя основными агентами патогенной флоры: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. В общей сложности на их долю приходится 19,5 % от всех представителей бактериального происхождения, и именно они вызывали пневмонии затяжного характера, трудно поддающиеся терапии. В структуре грамотрицательной флоры доминировали *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, которые в 2 раза чаще ($p < 0,05$) обнаруживались у пациентов с ХЛЛ, чем другие представители грамотрицательной флоры. Однако стоит отметить, что только бактерии *E. coli* становились причиной септических состояний среди данной категории возбудителей.

Среди представителей вирусных патогенов, на долю которых приходится 31,0% всех осложнений ХЛЛ инфекционного генеза наиболее патогенными были представители семейства *Herpesviridae*, на долю которых приходилось 56,6 % осложнений вирусной этиологии как локализованной, так и генерализованной форм. Также при ИФА сыворотки крови пациентов с ХЛЛ обнаружены представители семейств *Paramyxoviridae* (вирусы парагриппа) и *Orthomyxoviridae* (вирусы гриппа) (таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 - Структура вирусных патогенов, вызывающих локализованные и генерализованные осложнения, у пациентов с ХЛЛ

Возбудители инфекционных осложнений вирусной этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ					
	Локализованные		Генерализованные		Всего	
	N	%	N	%	N	%
Семейство <i>Herpesviridae</i>:	41	31,8	32	24,8	73	56,6
Род <i>Simplexvirus</i> - Вирус герпеса 1 типа (HSV-1)	41		9		—	
Род <i>Lymphocryptovirus</i> - Вирус Эпштейна Барр (ВГЧ-4)	—		11		—	
Посемейство <i>Betaherpesvirinae</i> - Цитомегаловирус (CMV)	—		12		—	

Продолжение таблицы 3.3.2

Семейство Orthomyxoviridae:	31	24,0	–	–	31	24,0
Грипп (H5N1, H3N2, H1N1)	31		–		31	
Семейство Paramyxoviridae	25	19,4	–	–	25	19,4
Парагрипп (род Respirovirus тип 3)	25		–		25	

Каждый четвертый случай осложнений ХЛЛ в наших исследованиях приходился на грибковые инфекции (26,0% всех осложнений). Однако среди данной группы осложнений этиологическими факторами являлись представители лишь двух родов грибов - Candida и Aspergillus, причем ни один из представленных патогенов не был причиной генерализации патологического процесса (таблица 3.3.3).

Таблица 3.3.3 - Структура грибковых патогенов, вызывающих локализованные и генерализованные осложнения, у пациентов с ХЛЛ

Возбудители инфекционных осложнений грибковой этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ					
	Локализованные		Генерализованные		Всего	
	N	%	n	%	n	%
	112	100	–	–	112	100
Род Candida	61	54,5	–	–	61	54,5
Род Aspergillus	51	45,5	–	–	51	45,5

ГЛАВА 4 ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ НЕОПТЕРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Была исследована динамика изменения уровня неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в сыворотке крови 273 больных с ХЛЛ в зависимости от стадии течения основного заболевания, проводимого лечения, развития инфекционных осложнений. Распределение изученных случаев представлено в таблице 4.1.1

Таблица 4.1.1 - Распределение количества эпизодов инфекционных осложнений в зависимости от стадии течения ХЛЛ

Группы больных	Амбулаторное наблюдение			Стационарное лечение			Впервые выявленные пациенты			Итого
	Стадия ХЛЛ									
	А	В	С	А	В	С	А	В	С	
Без инфекционных осложнений	13	12	7	16	12	10	16	10	6	102
С инфекцией бактериальной этиологии	13	14	23	16	18	44	10	18	13	169
С инфекцией вирусной этиологии	14	11	15	12	20	30	8	10	9	129
С инфекцией грибковой этиологии	11	16	12	9	18	28	11	2	5	112
Всего	51	53	57	53	68	112	45	40	33	512

Биохимическое исследование в период нахождения пациентов на амбулаторном и стационарном лечении проводилось в три этапа: первый этап - до начала терапии; второй этап - во время лечения (при отсутствии инфекционных осложнений проводилось только лечение с применением схем химиотерапии; при диагностировании осложнений бактериальной, вирусной или грибковой этиологии-лишь специфическая противопатогенная терапия) и третий этап - через 4-5 дней после завершения лечения. Группу сравнения составили пациенты с диагнозом ХЛЛ, у которых за период наблюдения не было зафиксировано инфекционных осложнений. Контрольную группу составили условно-здоровые взрослые средний возраст $64,06 \pm 0,92$ (n=30).

4.1 Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от наличия инфекционных осложнений

При оценке степени увеличения уровня неоптерина сыворотки крови относительно показателей контрольной группы были сформированы 3 группы: группа 1 – умеренное повышение неоптерина до 10 раз, группа 2 – значительное повышение неоптерина от 10 до 20 раз, группа 3 – выраженное повышение неоптерина более 20 раз от стандартных показателей.

Уровень неоптерина сыворотки венозной крови условно-здоровых доноров (контрольная группа, n=30) находился в пределах от 0,3 нмоль/л до 7,1 нмоль/л, среднестатистическое значение составило $3,4 \pm 0,3$ нмоль/л.

Уровень неоптерина в сыворотке крови пациентов без клинического, инструментального и лабораторного подтверждения наличия инфекционного осложнения (n=36) в период амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ (на момент исследования пациенты состояли на амбулаторном наблюдении в консультативной поликлинике) находился на уровне от 0,2 до 4,1 нмоль/л, а среднестатистическое значение составило $2,1 \pm 0,2$ нмоль/л.

Средний уровень неоптерина сыворотки венозной крови при ХЛЛ в период стационарного лечения основного заболевания (n=34) (на момент исследования пациенты проходили стационарное лечение основного заболевания, проводилось лечение стандартными схемами химиотерапии) независимо от стадии течения процесса и без присоединившихся инфекционных осложнений, составил $3,9 \pm 0,4$ нмоль/л, значительно не превысив таковые значения при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ и остался в пределах нормальных значений контрольной группы (от 0,3 нмоль/л до 7,1 нмоль/л) (таблица 4.1.1).

Таблица 4.1.1 – Концентрация неоптерина у больных ХЛЛ без инфекционных осложнений и группы контроля

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Пациенты с ХЛЛ	
		Группа 1 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на амбулаторном наблюдении n=36)	Группа 2 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на стационарном лечении n=34)
Уровень НП, нмоль/л	$3,5 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,4$
Min-Max уровень НП, нмоль/л	0,3-7,1	0,2-4,1	0,4-8,6

Продолжение таблицы 4.1.1

Статистическая значимость (критерий χ^2)	0,654	0,854
Статистическая значимость (критерий Фишера)	0,173	0,165
Статистическая значимость p - value (критерий Стьюдента)	p = 0,09 [^]	p = 0,13 [^]

Примечание: [^] - различия статистически не значимы;
p - статистическая значимость по сравнению с контролем.

Также был изучен уровень неоптерина у пациентов при применении различных схем химиотерапии. Выявлено отсутствие достоверного влияния какой-либо из схем химиотерапии на выработку неоптерина и его выделение в сыворотку крови при ХЛЛ. Изучение проводилось в группе пациентов без инфекционных осложнений (таблица 4.1.2, рисунок 4.1.2).

Таблица 4.1.2 - Анализ влияния схем химиотерапии на выработку неоптерина у пациентов с ХЛЛ

Уровень НП, нмоль/л	Схемы химиотерапии							
	R-CHOP		FCR		BR		Хлорамбуцил (лейкеран)	
	Во время терапии	После терапии	Во время терапии	После терапии	Во время терапии	После терапии	Во время терапии	После терапии
M±m	1,3± 0,3	1,0± 0,3	5,8± 0,9	4,2± 0,7	4,0± 0,9	3,1± 0,6	4,8± 0,5	4,8± 0,5
Min-Max	0,4-3,2	0,2-2,4	2,1-8,0	1,4-6,0	0,6-8,5	0,5-6,0	1,6-6,6	1,5-6,7
Статистическая значимость (критерий χ^2)	0,743		0,654		0,797		0,809	
Статистическая значимость (критерий Фишера)	0,186		0,209		0,187		0,185	
Статистическая значимость (Т критерий для парных выборок)	0,222 [^]		0,087 [^]		0,210 [^]		0,467 [^]	

Примечание: [^] - различия статистически не значимы;
M – среднее, m – стандартная ошибка среднего;
Min- минимальный уровень НП; Max – максимальный уровень НП.

Результаты применения Т критерия для парных выборок указывают на отсутствие статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина до и после различных схем химиотерапии. Как видно из таблицы 4.1.2 ни одна из применяемых схем химиотерапии (R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) достоверно не влияла на

изменение уровня неоптерина в сравнении с исходными показателями. Также не было зафиксировано статистически значимого превышения концентрации предельно допустимых значений нормы (7,1 нмоль/л) (рисунок 4.1.2)

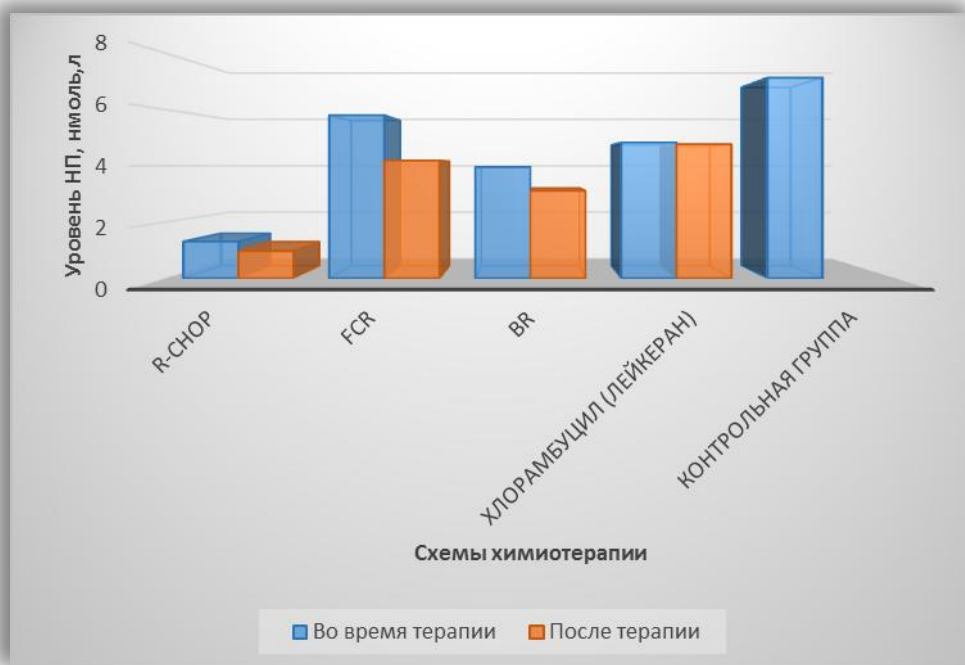


Рисунок 4.1.2 - Уровень неоптерина (нмоль/л) в зависимости от схем химиотерапии

Средний уровень неоптерина сыворотки больных ХЛЛ в период стационарного лечения основного заболевания вне зависимости от формы присоединившихся инфекционных осложнений составлял $60,8 \pm 2,8$ нмоль/л, выражено превысив значения группы сравнения без инфекционных осложнений ($3,9 \pm 0,4$ нмоль/л, $p < 0,001$); в период амбулаторного наблюдения имеется тенденция к снижению данного показателя в сравнении с периодом стационарного лечения ($32,8 \pm 2,2$, $p < 0,001$); но в то же время значительно превышали таковые показатели группы сравнения ($2,1 \pm 0,2$, $p < 0,001$). При впервые установленном диагнозе ХЛЛ значения неоптерина в среднем соответствовали $42,4 \pm 3,6$ нмоль/л, что также существенно превосходит показатели при заболевании, не осложненном инфекционными осложнениями инфекционного генеза ($p < 0,001$). Уровень неоптерина выше у впервые выявленных больных с ХЛЛ по сравнению с группой амбулаторных пациентов ввиду повышенной чувствительности к воздействию возбудителей иммунных механизмов защиты организма. У данной группы пациентов концентрация неоптерина ниже по сравнению со значениями пациентов в период стационарного лечения ХЛЛ, что может быть связано с максимальным угнетением данных механизмов у больных ХЛЛ, не подвергшихся специфическому химиотерапевтическому лечению.

4.2 Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от периодов течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений

В таблице 4.2.1 представлена динамика изменения концентрации неоптерина у пациентов с ХЛЛ на стадиях *A*, *B* и *C* заболевания при присоединении инфекционных осложнений различного генеза. В период стационарного лечения увеличение уровня неоптерина выше контрольных значений наблюдалось у всей группы обследованных (197 эпизодов).

При стадии *A* ХЛЛ в период стационарного лечения у подавляющего большинства (28 человек) повышение неоптерина было умеренным (до 36,6 нмоль/л). Значительное и выраженное его увеличение зафиксировано лишь у 6 и 5 человек соответственно (до 115,6 нмоль/л). Средний уровень неоптерина в данной подгруппе обследуемых составил $49,2 \pm 5,8$ нмоль/л, значительно превысив среднестатистическое значение контрольной группы (период стационарного лечения без инфекционных осложнений - $3,9 \pm 0,4$ нмоль/л, $p < 0,001$).

Пациенты проходящие лечение ХЛЛ стадии *B* в период стационарного лечения патологического процесса также как и при стадии *A* ХЛЛ в наибольшем количестве имели уровень неоптерина умеренно превышающий нормальные значения (максимальный показатель до 39,59 нмоль/л), однако количество пациентов с выраженным превышением нормы при стадии *B* было в 4 раза больше (20 человек), чем количество пациентов с выраженным превышением уровня неоптерина при стадии *A*, что свидетельствует о большей доле тяжелых случаев присоединяющихся инфекционных осложнений при стадии *B*, чем при стадии *A* ХЛЛ. Объем пациентов со значительным превышением концентрации неоптерина в сыворотке крови составил только 5 человек - от 82,1 до 99,2 нмоль/л. Среднестатистическое значение неоптерина при стадии *B* ХЛЛ в период стационарного лечения составило $61,1 \pm 5,6$ нмоль/л, что статистически значимо превышает уровень нормы ($p < 0,001$) и на 24,3% превышает уровень при стадии *A* ХЛЛ в период стационарного лечения.

Стадия *C* ХЛЛ в период стационарного лечения показала приблизительно равномерное распределение умеренного и выраженного повышения уровня неоптерина (39 и 43 человек соответственно) с минимальной концентрацией в 12,3 нмоль/л и максимальной 120,4 нмоль/л. Четвертая часть данной подгруппы принадлежит пациентам со значительным превышением концентрации неоптерина до максимального значения в 78,7 нмоль/л. В среднем значения неоптерина на стадии *C* ХЛЛ в период стационарного лечения зафиксированы на уровне $70,1 \pm 4,3$, что статистически значимо превышает контроль ($p < 0,001$) и на 42,6% и 14,7% превышает среднестатистические уровни на стадии *A* и *B* соответственно.

С использованием критерия критерий Краскел-Уоллеса установлено наличие статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контролем (период стационарного лечения без инфекционных осложнений - средний уровень неоптерина при котором равен $3,9 \pm 0,4$ нмоль/л) (таблица 4.2.1).

Таблица 4.2.1 - Концентрация неоптерина сыворотки крови больных ХЛЛ на разных стадиях ХЛЛ в период стационарного лечения заболевания

Уровень НП, нмоль/л	Стадия А (n=39)	Стадия В (n=56)	Стадия С (n=102)
Min величина	17,5	15,3	12,3
Max величина	115,6	119,3	120,5
Mid величина	$49,2 \pm 5,8$	$61,1 \pm 5,8$	$70,1 \pm 4,3$
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$

Примечание: * - различия статистически значимы;
p - value по сравнению с контролем.

Из таблицы 4.2.1 следует, что у абсолютного числа пациентов с ХЛЛ на различных стадиях течения процесса в период стационарного лечения независимо от формы присоединения осложнений инфекционного генеза фиксируется статистически значимое повышение уровня неоптерина сыворотки крови. Наибольший объем пациентов с максимальным повышением уровня неоптерина наблюдался на стадии С (51,8% случаев в период стационарного лечения процесса), что говорит о прямо пропорциональной зависимости тяжести и активности присоединяющихся инфекционных осложнений, от тяжести основного заболевания.

Среди пациентов с ХЛЛ 128 человек были обследованы в период амбулаторного наблюдения. В данной группе минимальная концентрация неоптерина сыворотки крови находилась в пределах 10 нмоль/л, однако среднестатистические показатели находились в диапазоне от 27,3 до 36,3 нмоль/л. В то же время значительно меньшее количество случаев выраженного превышения уровня неоптерина в сравнении с контрольной группой, чем во время периода стационарного лечения ХЛЛ: только у 14,9 % пациентов на стадиях А, В, и С в совокупности. Средние значения уровня неоптерина на каждой стадии ХЛЛ с инфекционными осложнениями в период амбулаторного наблюдения оказались значительно ниже, чем в период стационарного лечения.

Так же установлено наличие статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контрольной группой пациентов на амбулаторном наблюдении без инфекционных осложнений и группой пациентов на

стационарном лечении с инфекционными осложнениями в соответствующих стадиях ХЛЛ (таблица 4.2.2).

Таблица 4.2.2 - Концентрация неоптерина сыворотки крови больных ХЛЛ на разных стадиях ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения течения заболевания

Уровень НП, нмоль/л	Стадия А (n=36)	Стадия В (n=41)	Стадия С (n=50)
Min величина	10,1	10,1	10,1
Max величина	66,4	81,9	68,5
Mid величина	27,3±3,2	32,1±4,7	36,3±3,1
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	p< 0,001*	p<0,001*	p<0,001*
	p ¹ <0,001*	p ¹ <0,001*	p ¹ <0,001*

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value по сравнению с контролем;

p¹ - value по сравнению с периодом стационарного лечения.

Результаты, приведенные в таблице 4.2.2 показывают, что доля пациентов с умеренным и значительно превышенным уровнем неоптерина при стадиях *A* и *B* примерно одинаковые и только при стадии *C* преобладает процент больных со значительным его превышением. Уменьшился процент пациентов с выраженным превышением неоптерина и по сравнению с течением ХЛЛ в период стационарного лечения. Также статистически значимо уменьшились показатели среднего уровня неоптерина, что может говорить о преобладании менее патогенных видов возбудителей и меньшей тяжести инфекционных осложнений при амбулаторном наблюдении ХЛЛ.

В таблице 4.2.3 представлены изменения уровня неоптерина у впервые выявленных пациентов с диагнозом ХЛЛ при различных стадиях его течения. У всех пациентов данной категории были выявлены осложнения бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. Минимальные уровни неоптерина демонстрируют неоднородность при разных стадиях ХЛЛ от 10,1 нмоль/л (при стадии *B*) до 34,3 нмоль/л (при стадии *C*). Такая же разнородность прослеживается и в показателях максимального уровня неоптерина, однако с обратной зависимостью от 57,41 нмоль/л при стадии *C* и 105,82 нмоль/л при стадии *A*. Также присутствует следующая закономерность: у 15 пациентов на стадии *A*, у 8 – на стадии *B* и у 5 – на стадии *C* уровень неоптерина превышал нормальные показатели умеренно (до 38,0 нмоль/л). Однако наиболее часто прослеживалось его значительное увеличение в диапазоне от 40,6 до 69,5 нмоль/л – у 37 пациентов (46,1% все случаев впервые выявленных пациентов с ХЛЛ при наличии инфекционных осложнений). Так же как и при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ выявлены единичные случаи выраженного превышения уровня неоптерина при стадии *C*

ХЛЛ, однако при стадиях *A* и *B* зафиксировано превышение неоптерина более чем в 25 раз у 16 пациентов.

Проведен сравнительный анализ среднестатистических показателей при впервые выявленном заболевании ХЛЛ с периодами амбулаторного наблюдения и стационарного лечения данной патологии. Выявлено отсутствие статистически значимой разницы между уровнем неоптерина на стадиях *A* в сравнении с периодом стационарного лечения ХЛЛ ($p=0,44$). Однако при рассмотрении данных показателей относительно значений при амбулаторном наблюдении течения ХЛЛ статистически подтверждена разница при всех стадиях ХЛЛ.

В результате применения критерия Краскел-Уоллеса можно прийти к выводу о наличии статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контрольной группой пациентов (32 человека с впервые выявленным диагнозом ХЛЛ без инфекционных осложнений, средний уровень неоптерина $5,44 \pm 0,86$ нмоль/л), с пациентами на амбулаторном наблюдении и стационарном лечении с инфекционными осложнениями в соответствующих стадиях ХЛЛ (таблица 4.2.3). Такие результаты возможны ввиду отсутствия специфической терапии у этой категории пациентов и, как следствие, более скомпрометированной патологическим процессом иммунной системы.

Таблица 4.2.3 - Концентрация неоптерина сыворотки крови у впервые выявленных больных ХЛЛ на разных стадиях течения заболевания

Уровень НП, нмоль/л	Стадия А (n=29)	Стадия В (n=30)	Стадия С (n=27)
Min величина	11,9	10,1	34,3
Max величина	105,8	89,2	59,1
Mid величина	$52,64 \pm 8,0$	$37,12 \pm 3,0$	$44,45 \pm 5,1$
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$
	$p^1 > 0,05$	$p^1 < 0,001^*$	$p^1 < 0,001^*$
	$p^2 < 0,001^*$	$p^2 < 0,05^*$	$p^2 < 0,001^*$

Примечание: * - различия статистически значимы;
 p - value по сравнению с контролем;
 p^1 - value по сравнению с периодом стационарного лечения;
 p^2 - value по сравнению с периодом амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ.

4.3 Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений

Средний уровень неоптерина сыворотки венозной крови при присоединении инфекционных осложнений вирусной природы находился в пределах $22,1 \pm 0,9$ нмоль/л; при развитии инфекционных осложнений бактериальной этиологии, динамика изменений уровня неоптерина в среднем составила $76,5 \pm 2,8$ нмоль/л, что более чем в 3 раза выше, чем при вирусных осложнениях ХЛЛ. Грибковые осложнения ХЛЛ способствовали повышению уровня неоптерина сыворотки крови в среднем до $33,3 \pm 1,6$ нмоль/л. Группу сравнения данной категории пациентов составляли пациенты с ХЛЛ без инфекционных осложнений прошедшие амбулаторное (36 человек), стационарное лечение (34 человек) и впервые выявленные пациенты с ХЛЛ без инфекционных осложнений (32 человека). Динамика зависимости данных показателей представлены в таблице 4.3.1.

Таблица 4.3.1 - Анализ различия концентрации неоптерина у больных ХЛЛ при присоединении инфекционных осложнений различной этиологии

Показатель	Группа без инфекционных осложнений (n=102)	Этиология инфекционных осложнений		
		Бактериальная (n=169)	Вирусная (n=129)	Грибковая (n=112)
Уровень НП, нмоль/л	$2,6 \pm 0,2$	$76,5 \pm 2,2$	$22,1 \pm 0,9$	$33,3 \pm 1,6$
Min-Max уровень НП, нмоль/л	0,2-8,5	40,5-119,4	10,0-39,5	16,1-50,8
Статистическая значимость (критерий Стьюдента)		$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$

Примечание: * - различия статистически значимы;
p - value по сравнению с контролем (группа без инфекционных осложнений).

Распределение уровня неоптерина у пациентов с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями и группе без инфекционных осложнений было нормальным, что позволило применить оценку по критерию Стьюдента. Результаты его применения указывает на наличие статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина у пациентов трех групп с группой пациентов без инфекционных осложнений ($p < 0,001$).

Далее был проведен анализ результатов исследования уровня неоптерина в зависимости от этиологии инфекционных осложнений (бактериальной, вирусной и грибковой) и стадии течения ХЛЛ. При каждом из видов инфекционных осложнений ХЛЛ, средний уровень

неоптерина превышал его показатели у пациентов без осложнений ($p < 0,001$). Таким образом, уже на первом этапе лечения, концентрация неоптерина сыворотки крови больных может служить критерием настороженности присоединения и развития осложнений инфекционного генеза (таблица 4.3.2).

Таблица 4.3.2 - Концентрация неоптерина сыворотки крови у больных ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений на разных стадиях течения основного заболевания

Этиология осложнений	Стадия ХЛЛ	Уровень НП, нмоль/л			Статистическая значимость		
		Min	Max	Mid величина	критерий χ^2	критерий χ^2	критерий Стьюдента
Бактериальные осложнения	A(n=39)	42,4	116,7	73,8±5,2	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p=0,743}$	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p=0,209}$	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=50)	40,6	123,1	75,0±4,9	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,694}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,187}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p < 0,001^*}$
	C(n=80)	40,5	124,4	79,3±2,9	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,798}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,147}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p < 0,001^*}$
Вирусные осложнения	A(n=34)	10,1	33,8	21,6±2,0	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p=0,786}$	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p=0,176}$	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=41)	10,7	37,1	21,2±1,9	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,811}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,199}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p < 0,001^*}$
	C(n=54)	11,0	40,6	23,9±1,6	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,765}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,156}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p < 0,001^*}$
Грибковые осложнения	A(n=31)	17,5	50,6	37,0±3,2	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,687}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,198}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=36)	16,1	51,7	34,2±3,4	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,732}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,204}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p < 0,001^*}$
	C(n=45)	15,0	50,0	32,7±2,3	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,703}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,243}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p < 0,001^*}$

Примечание: * - различия статистически значимы;
 p - value сравнение между стадиями A, B и C при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, $A^{BO, BO \text{ или } GO}$).

Из таблицы 4.3.2 видно, что на всех стадиях ХЛЛ при присоединении осложнений бактериальной, вирусной или грибковой этиологии фиксировалось значительное повышение уровня неоптерина сыворотки крови, а именно, у 38,5 % всех пациентов с осложнениями.

Наивысшие концентрации неоптерина были зафиксированы на стадиях *A*, *B* и *C* только при присоединении осложнений бактериальной этиологии (выраженное превышение показателей у 36,2% всех пациентов с осложнениями). При вирусных и грибковых инфекциях уровень неоптерина не превышал границы значительных увеличений данного показателя (до 20 раз больше контроля).

Самый высокий уровень неоптерина зафиксирован на стадии *C* ХЛЛ при присоединении бактериальных осложнений (125,45 нмоль/л). При обследовании данной категории пациентов имели место клинические, лабораторные и инструментальные признаки бактериальных осложнений, таких как заболевания органов дыхания от верхних отделов (синуситы, фарингиты, бронхиты) до нижних отделов (бактериальные пневмонии), а также бактериальная патология мочевыделительной системы (циститы и нефриты). Именно в этой группе пациентов (80 человек) отмечается наибольший среднестатистический уровень неоптерина - $79,3 \pm 2,9$ нмоль/л. Данные показатели статистически значимо выше, чем у контрольной группы пациентов без инфекционных осложнений и группы пациентов с вирусными или грибковыми осложнениями.

Наименьшие средние показатели неоптерина ($21,2 \pm 1,9$ нмоль/л) были получены у пациентов из группы с осложнениями вирусной этиологии, у которых максимальный его уровень не превышал 37,1 нмоль/л. Это в 3 раза ниже, чем при бактериальных осложнениях и в 1,4 раза меньше, чем при грибковой инфекции. Однако при сравнении результатов пациентов с вирусными осложнениями и пациентов без какой-либо инфекционной патологии прослеживается прямо пропорциональная зависимость роста уровня неоптерина от умеренного до значительного превышения нормальных концентраций на всех стадиях ХЛЛ (от 10,1 до 40,6 нмоль/л). В дальнейшем у данных пациентов были обнаружены признаки вирус зависимых осложнений, таких как герпетические поражения кожи (везикулярный дерматит), ротовой полости (гингивостоматит и фаринготонзиллит), герпетическая болезнь глаз, грипп с пневмонией, мононуклеоз. Наибольшее повышение неоптерина (от 33,80 до 40,65 нмоль/л) в данной группе выявлено у 13 пациентов из 127, у которых диагностировались осложнения вирусной этиологии генерализованной формы.

При анализе результатов, полученных при обследовании больных ХЛЛ с наличием осложнений грибковой этиологии, выявлено увеличение концентрации неоптерина в диапазоне от 17,5 до 50,0 нмоль/л. У большинства пациентов данной категории помимо наличия грибковой патологии имелись хронические заболевания бактериальной или вирусной этиологии в стадии латентного течения (хронические бронхиты, хронические тонзиллиты, циркулирующие в крови IgG к вирусу герпеса), которые в комплексе с грибковыми осложнениями давали более высокие значения неоптерина, чем при вирусных инфекциях, но не

превышали таковые показатели при острых бактериальных патологиях. Таким образом, превышение уровня неоптерина при бактериальных осложнениях статистически значимо были выше по третьему порогу ($p < 0,001$), однако данный показатель превышал вирус зависимые увеличения неоптерина сыворотки крови в 3 раза ($p < 0,001$).

Динамика изменения концентрации неоптерина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии осложнений при разных стадиях основного заболевания представлена на рисунке 4.3.2.



Рисунок 4.3.2 - Уровень неоптерина (нмоль/л) на разных стадиях ХЛЛ в зависимости от этиологического фактора осложнений

Нами проведен анализ результатов уровня неоптерина сыворотки крови в зависимости от этиологического фактора инфекционного осложнения и формы течения процесса (локализованная и генерализованная). Стадия течения ХЛЛ в данном случае не учитывалась. Данные представлены в таблице 4.3.3.

Таблица 4.3.3 - Уровни неоптерина в зависимости этиологии инфекционных осложнений и формы течения процесса

№ п/п	Форма осложнений	Этиологические факторы осложнений	n	НП (нмоль/л, $M \pm m$)		Статистическая значимость		
						критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
1	Локализованные	Бактериальные осложнения	138	70,5 $\pm$ 3,4	45,05 $\pm$ 2,17	$\frac{L^{BO}/L^{BO}}{p=0,703}$	$\frac{L^{BO}/L^{BO}}{p=0,234}$	$\frac{L^{BO}/L^{BO}}{p < 0,001^*}$
2		Вирусные осложнения	97	22,8 $\pm$ 1,9		$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p=0,798}$	$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p=0,276}$	$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p < 0,001^*}$
3		Грибковые осложнения	112	35,9 $\pm$ 2,0		$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p=0,765}$	$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p=0,203}$	$\frac{L^{BO}/L^{GO}}{p < 0,001^*}$
4	Генерализованные	Бактериальные осложнения	31	115,2 $\pm$ 3,5	82,53 $\pm$ 5,67	$\frac{L^{BO} * L^{BO}}{p=0,698}$	$\frac{L^{BO} * L^{BO}}{p=0,199}$	$\frac{L^{BO} * L^{BO}}{p < 0,001}$
5		Вирусные осложнения	32	36,9 $\pm$ 2,8				
6		Грибковые осложнения	0	—				

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value сравнение между локализованными и генерализованными формами при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, L^{BO} , BO или GO).

При сравнении уровня неоптерина у пациентов внутри групп локализованной и генерализованной форм осложнений, отличающихся в зависимости от этиологических факторов осложнений, был использован критерий Стьюдента, выявивший наличие статистически значимых отличий по уровню неоптерина между выборками пациентов с каждым этиологическим фактором осложнений в каждой из исследованных групп.

Из таблицы 4.3.3 видно, что каждый из этиологических факторов инфекционных осложнений с различной частотой вызывал заболевания локального характера с преобладающей долей бактериальных процессов (33,68% всех осложнений). Наименьшее количество зафиксированных осложнений принадлежало к группе микотических, которые вызывали только локализованные формы при полном отсутствии генерализации процесса. Осложнения вирусной этиологии занимают промежуточную позицию среди всех осложнений 23,7% локализованных форм и 7,8% генерализованных. Преобладание осложнений

бактериальной этиологии может свидетельствовать об исходном присутствии в организме больных ХЛЛ бактериальных патогенов в виде хронически протекающих процессов с периодами обострения в моменты наибольшего истощения функционального потенциала иммунной системы пациентов. Отсутствие генерализации процесса грибковой этиологии может свидетельствовать о совершенствовании лечения основного заболевания. Сравнительный анализ среднестатистических значений неоптерина исходя из критериев этиологического фактора и формы осложнений представлен на рисунке 4.3.3.

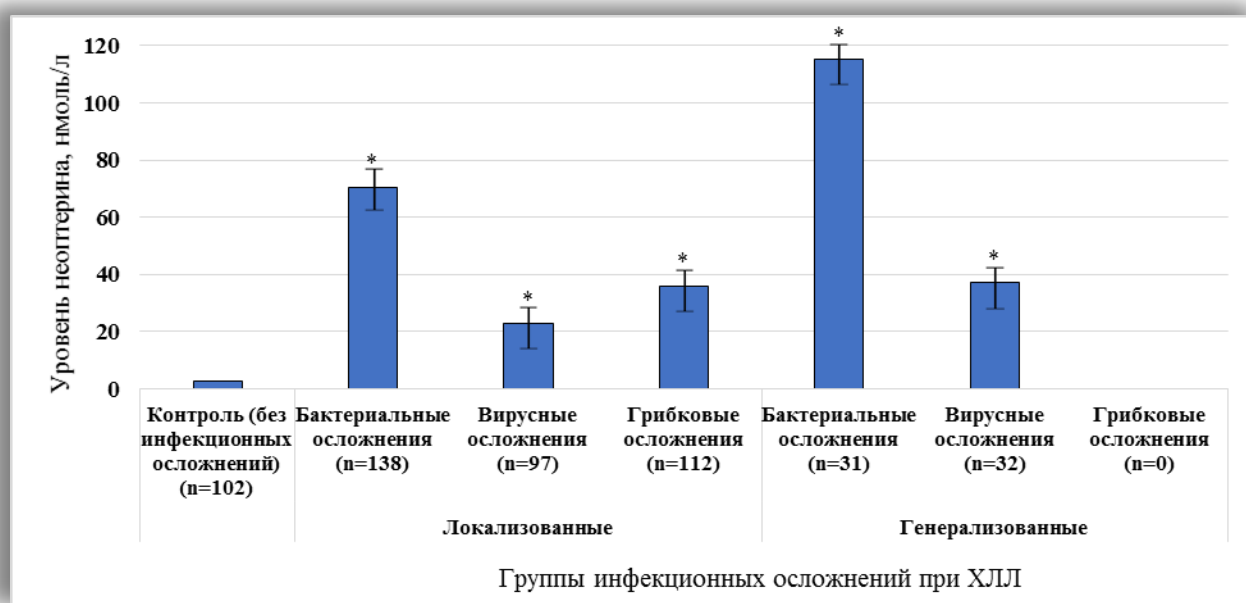


Рисунок 4.3.3 - Концентрация неоптерина сыворотки крови у больных ХЛЛ в зависимости от формы и этиологии инфекционных осложнений.

Примечание: * – значение достоверности $p < 0,05$ при сравнении с контролем

Таким образом, при анализе среднестатистических концентраций неоптерина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ при наличии инфекционных осложнений бактериальной, вирусной и грибковой этиологии было выявлено значимое увеличение среднего уровня неоптерина при всех видах патогенов, формах осложнений и стадиях ХЛЛ в сравнении с группой пациентов с ХЛЛ без инфекционных осложнений.

Влияние периода течения заболевания на уровень неоптерина наиболее выражено прослеживалось при стационарном лечении пациентов с ХЛЛ, а также при случаях впервые выявленной патологии (пациенты с впервые установленным диагнозом ХЛЛ). При амбулаторном наблюдении и лечении пациентов с ХЛЛ повышение уровня неоптерина было меньшим, однако концентрации значительно превышали показатели пациентов в различные периоды наблюдения и на различных стадиях ХЛЛ при отсутствии инфекционных осложнений.

4.4 Изменения уровня неоптерина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от нозологии инфекционных осложнений

Нами были исследованы динамические изменения средних уровней неоптерина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ при различных нозологических формах бактериальных, вирусных и грибковых осложнений. Установлено, что значительную роль в развитии определенных нозологических форм инфекционных осложнений ХЛЛ играет видовой состав возбудителей. В связи с тем, что изначально микробиологический профиль пациентов различается, нами был проведен анализ структуры микрофлоры организма каждого больного ХЛЛ с инфекционными осложнениями путем бактериологических исследований и ИФА. Из полученных образцов было идентифицировано 18 видов возбудителей.

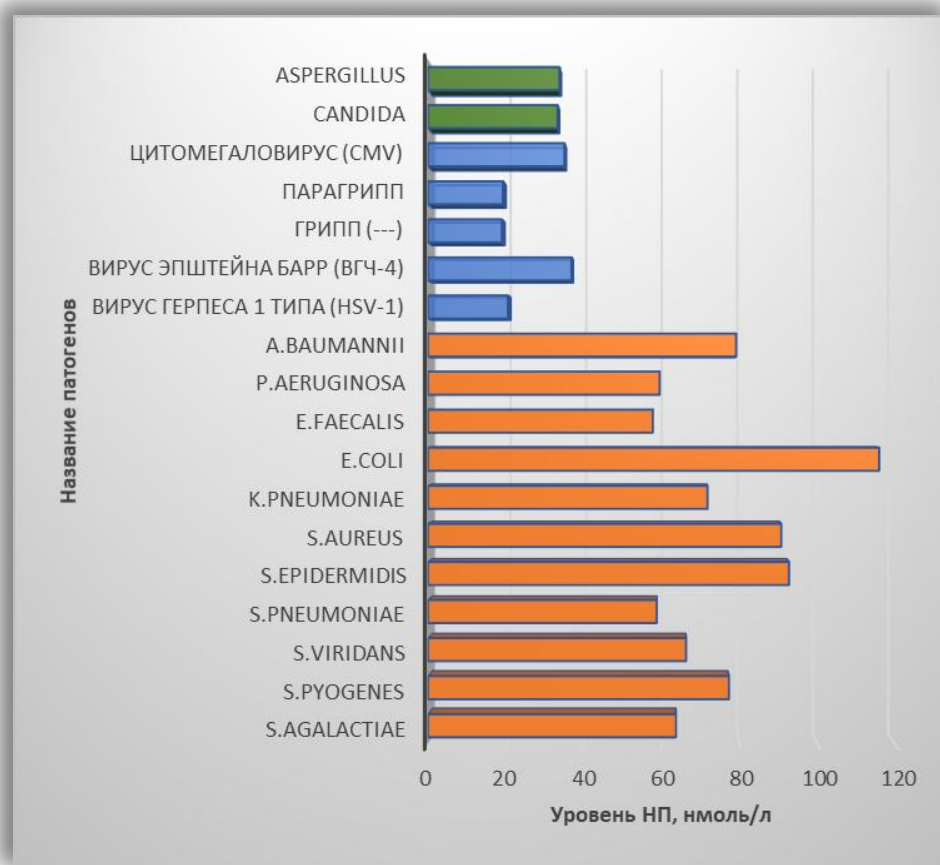


Рисунок 4.4.1 - Уровни неоптерина (нмоль/л) в зависимости от семейства и рода патогенов

Результаты анализа неоптерина сыворотки крови больных представлены в таблицах 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3 и на рисунке 4.4.2. Для сравнения уровня неоптерина у пациентов в группах локализованных и генерализованных инфекций (таблицы 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3) в зависимости от нозологии инфекционных осложнений, был использован критерий Стьюдента, не выявивший

статистически значимых внутригрупповых отличий по уровню неоптерина. Кроме этого, были проведены между сравнения между группами локализованных и генерализованных форм в целом (таблицы 4.4.1 и 4.4.2). Исходя из полученных данных, можно сказать, что существуют статистически значимые отличия по уровню неоптерина локализованных и генерализованных форм бактериальных и вирусных осложнений (генерализации процесса грибковой инфекции зафиксировано не было).

Таблица 4.4.1 - Уровни неоптерина в зависимости от нозологии бактериальных осложнений при их локализованных и генерализованных формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	п		НП (нмоль/л, M±m)	Статистическая значимость			
					критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента	
I.	Локализованные формы бактериальных осложнений							
1.	Другой острый синусит (Острые синуситы, вовлекающие более одного синуса, но не пансинуситы) МКБ-10 J01.8	22	37	67,3± 4,8	66,9±3,0	I:II p=0,703	I:II p=0,209	I:II p<0,001*
				1:2 p=0,802		1:2 p=0,265	1:2 p=0,44	
				1:3 p=0,674		1:3 p=0,201	1:3 p=0,29	
				1:4 p=0,693		1:4 p=0,176	1:4 p=0,31	
	Стрептококковый фарингит (Стрептококковая ангина) МКБ-10 J02.0	15		69,8± 5,1		1:5 p=0,704	1:5 p=0,164	1:5 p=0,38
2.	Пневмония, вызванная Klebsiellapneumoniae МКБ-10 J15.0	9	36	71,5± 6,9	68,8 ± 3,1	2:3 p=0,765	2:3 p=0,237	2:3 p=0,33
				2:4 p=0,812		2:4 p=0,287	2:4 p=0,29	
	Пневмония, вызванная стрептококком группы В МКБ-10 J15.3	12		65,2± 6,0		2:5 p=0,785	2:5 p=0,187	2:5 p=0,43
				3:4 p=0,695		3:4 p=0,250	3:4 p=0,25	
	Другие бактериальные пневмонии МКБ-10 J15.8	15		68,5± 5,7		3:5 p=0,702	3:5 p=0,231	3:5 p=0,39
3.	Острый бронхит, вызванный стрептококком МКБ-10 J20.2	10	21	73,0± 8,1	71,5±4,8	4:5 p=0,754	4:5 p=0,203	4:5 p=0,28
	Острый бронхит, вызванный другими уточненными агентами МКБ-10 J20.8	11		70,6± 6,1				

Продолжение таблицы 4.4.1

4.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) <i>МКБ-10 K12.0</i> (Стрептококковые и стафилококковые стоматиты.)	16	16	60,6± 5,5				
5.	Другие хронические тубулоинтерстициаль ные нефриты <i>МКБ-10 N11.8</i>	16	28	66,9± 4,7	68,0±4,6			
	Интерстициальный цистит (хронический) <i>МКБ-10 N30.1</i>	12		72,7± 7,0				
II.	Генерализованные формы бактериальных осложнений							
6.	Сепсис, вызванный <i>Staphylococcus aureus</i> <i>МКБ-10 A41.0</i>	10	115,3±4,2		6:7 p=0,801 6:8 p=0,743	6:7 p=0,187 6:8 p=0,198	6:7 p=0,47 6:8 p=0,28	
7.	Сепсис, вызванный другим уточненным стафилококком (<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>) <i>МКБ-10 A41.1</i>	11	114,6±4,4		7:8 p=0,698	7:8 p=0,190	7:8 p=0,33	
8.	Сепсис, вызванный другими грамотрицательным и микроорганизмами (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i>) <i>МКБ-10 A41.5</i>	10	116,7±4,5					

Таблица 4.4.2 - Уровни неоптерина в зависимости от нозологии вирусных осложнений при их локализованных и генерализованных формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	п		НП (нмоль/л, M±m)	Статистическая значимость			
					критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента	
I.	Локализованные формы вирусных осложнений							
1.	Герпетический везикулярный дерматит МКБ-10 B00.1	2	41	14,3± 1,9	19,4±1,2	I:II p=0,732	I:II p=0,215	I:II p <0,001*
	Герпетический гингивостоматит и фаринготонзиллит МКБ-10 B00.2	36		19,4± 1,2		1:2 p=0,786	1:2 p=0,198	1:2 p=0,39
						1:3 p=0,804	1:3 p=0,184	1:3 p=0,45
						2:3 p=0,732	2:3 p=0,204	2:3 p=0,45

Продолжение таблицы 4.4.2

	Герпетическая болезнь глаз <i>МКБ-10 B00.5</i>	3		23,8± 4,6				
2.	Гриппозная бронхопневмония, сезонный вирус гриппа идентифицирован <i>МКБ-10 J10.0</i>	17	31	21,9± 2,1	19,0±2,0			
	Грипп с другими респираторными проявлениями <i>МКБ- 10 J10.1</i>	14		16,1± 1,9				
3.	Пневмония, вызванная вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J12.2</i>	10	23	25,1± 2,1	20,4±2,6			
	Острый бронхит, вызванный вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J20.4</i>	15		16,4± 2,1				
II.	Генерализованные формы вирусных осложнений							
4.	Диссеминированная герпетическая болезнь (Сепсис, вызванный вирусом простого герпеса) <i>МКБ-10 B00.7</i>	9		35,1±1,8	4:5 p=0,782 4:6 p=0,801 5:6 p=0,754	4:5 p=0,183 4:6 p=0,142 5:6 p=0,198	4:5 p=0,13 4:6 p=0,43 5:6 p=0,05	
5.	Мононуклеоз, вызванный гамма- герпетическим вирусом (вирусом Эпштейна-Барр) <i>МКБ-10 B27.0</i>	11		37,9±1,5				
6.	Цитомегаловирусны й мононуклеоз <i>МКБ-10 B27.1</i>	12		36,0±1,7				

Таблица 4.4.3 - Уровни неоптерина в зависимости от нозологии грибковых осложнений при их локализованных и генерализованных формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	п	НП (нмоль/л, M±m)	Статистическая значимость		
				критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
I.	Локализованные формы грибковых осложнений					
1.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) МКБ-10 K12.0 (Кандидозные)	61	34,1±1,5	1:2 p=0,786	1:2 p=0,165	1:2 p=0,400
2	Тонзиллярный аспергиллез МКБ-10 B44.2	51	31,8±2,8			
II.	Генерализованные формы грибковых осложнений					
3.	—	—	—	—		

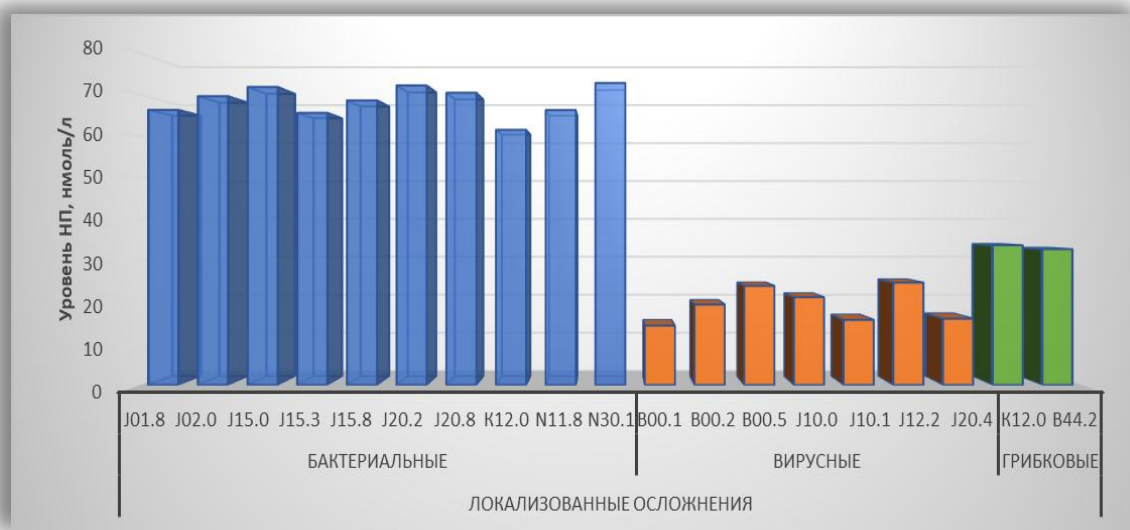


Рисунок 4.4.2 - Уровни неоптерина в зависимости от нозологической формы осложнений (группа локализованных осложнений)

Примечание: Нозологические формы указаны согласно МКБ-10.



Рисунок 4.4.3 - Уровни неоптерина в зависимости от нозологической формы осложнений (группа генерализованных осложнений)

Примечание: Нозологические формы указаны согласно МКБ-10.

При анализе полученных средних уровня неоптерина сыворотки крови, приведенных в таблицах 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3 и на рисунках 4.4.2 и 4.4.3 было зафиксировано статистически значимое повышение уровня неоптерина при всех нозологических формах осложнений бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. При этом в случае возникновения генерализации процесса, данный показатель увеличивался в 1,5-2 раза в сравнении с процессами локального характера. Внутригрупповое различие уровня неоптерина (группы локализованных и генерализованных форм осложнений) не было статистически значимо, что говорит об общем механизме влияния видов патогенов на выработку неоптерина и высвобождение его в сыворотку крови при атаке бактериальных, вирусных или грибковых агентов на иммунную систему пациентов с ХЛЛ. Данный факт подтверждается проведенным анализом уровня неоптерина при влиянии каждого семейства и рода патогенов (таблицы 4.4.4, 4.4.5, 4.4.6, рисунок 4.4.2, рисунок 4.4.3).

Таблица 4.4.4 - Уровни неоптерина в зависимости от семейства и рода патогенов бактериальной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений бактериальной этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень НП, нмоль/л М±m	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализов анные			критерий χ2	критерий Фишера	критери й Стьюден та
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10				
1	Семейство: Streptococcaceae	62		–		67,1±2,7	1:2 p= 0,832	1:2 p= 0,206	1:2 p=0,001
	Streptococcus agalactiae	11	J02.0, J15.3, N11.8, N30.1	–	–	63,6±5,7	1:3 p=0,806	1:3 p=0,216	1:3 p=0,01
	Streptococcus pyogenes	13	J02.0, J15.8, J20.2	–	–	77,2±5,7	1:4 p=0,765	1:4 p=0,197	1:4 p=0,15
	Streptococcus viridans	30	J01.8, J02.0, J15.8, J20.2, N11.8, N30.1	–	–	66,2±4,0	1:5 p=0,793	1:5 p=0,165	1:5 p=0,22
	Streptococcus pneumoniae	8	J01.8, J15.8, J20.2	–	–	58,7±7,32	1:6 p=0,803	1:6 p=0,194	1:6 p=0,039
2	Семейство: Staphylococcaceae	20		21		92,34±5,4	2:3 p=0,785	2:3 p=0,149	2:3 p=0,27
	Staphylococcus epidermidis	12	J20.8, K12.0, N11.8, N30.1	11	A41.1	93,9±6,6	2:4 p=0,783	2:4 p=0,207	2:4 p=0,01
	Staphylococcus aureus	8	J15.8, N11.8, N30.1	10	A41.0	90,6±7,2	2:5 p=0,743	2:5 p=0,199	2:5 p=0,01
3	Семейство Enterobacteriaceae	9		10		86,4±8,0	2:6 p=0,723	2:6 p=0,186	2:6 p=0,08
	Klebsiella pneumoniae	9	J15.0	–	–	71,7±7,6	3:4 p=0,785	3:4 p=0,195	3:4 p=0,038
	Escherichiacoli	–		10	A41.5	115,7±1,0	3:5 p=0,798	3:5 p=0,205	3:5 p=0,028
4	Семейство: Enterococcaceae	13		–			3:6 p=0,745	3:6 p=0,176	3:6 p=0,24
	Enterococcus faecalis	13	J15.8, N11.8	–	–	57,3±6,2	4:5 p=0,744	4:5 p=0,195	4:5 p=0,44
5	Семейство: Pseudomonadaceae	12		–			4:6 p=0,814	4:6 p=0,176	4:6 p=0,028
							5:6 p=0,754	5:6 p=0,204	5:6 p=0,06

Продолжение таблицы 4.4.4

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	<i>J15.8, N11.8, N30.1</i>	–	–	60,2±6,4			
6	Семейство Moraxellaceae	22		–					
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	22	<i>J01.8, J15.8, J20.8,</i>	–	–	79,6±5,8			

Таблица 4.4.5 - Уровни неоптерина в зависимости от семейства и рода патогенов вирусной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень НП, нмоль/л	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализов анные			критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдент а
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	M±m			
1	Вирус герпеса 1 типа (HSV-1)	43	<i>B00.1, B00.2, B00.5</i>	9	<i>B00.7</i>	20,5±1,2	1:2 p=0,823 1:3 p=0,802	1:2 p=0,176 1:3 p=0,194	1:2 p=0,001 1:3 p=0,22 1:4 p=0,29
2	Вирус Эпштейна Барр (ВГЧ-4)	–	–	11	<i>B27.0</i>	36,8±0,9	1:4 p=0,765 1:5 p=0,732	1:4 p=0,195 1:5 p=0,205	1:5 p=0,001 2:3 p=0,001
3	Грипп (птичий, гонконгский, H1N1)	29	<i>J10.0, J10.1</i>	–	–	18,9±1,5	2:3 p=0,816 2:4 p=0,801	2:3 p=0,176 2:4 p=0,173	2:4 p=0,001 2:5 p=0,053
4	Парагрипп	25	<i>J20.4, J12.2</i>	–	–	19,2±1,7	2:5 p=0,783 3:4 p=0,765	2:5 p=0,198 3:4 p=0,209	3:4 p=0,45 3:5 p=0,001
5	Цитомегаловирус (CMV)	–	–	12	<i>B27.1</i>	35,0±0,3	3:5 p=0,792 4:5 p=0,813	3:5 p=0,205 4:5 p=0,196	4:5 p=0,001

Таблица 4.4.6 - Уровни неоптерина в зависимости от семейства и рода патогенов грибковой этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень НП, нмоль/л	Статистическая значимость		
		Локализованные		Генерализован ные			критерий χ^2	критерий Фишера	критери й Стьуде нта
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	M±m			
1	Candida	61	K12.0	—	—	34,1±1,5	1:2	1:2	1:2
2	Aspergillus	51	B44.2	—	—	31,8±2,8	p=0,763	p=0,176	p=0,45

Между группами бактериальных патогенов имеются некоторые отличия в степени влияния на изменение уровня неоптерина единичных представителей бактериальной инфекции. Наибольший подъем зафиксирован при влиянии *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*. В группе грибковых патогенов статистически значимых отличий между выборками по уровню неоптерина в зависимости от рода патогенов не было выявлено.

4.5 Закономерности изменений уровня неоптерина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений

Было проведено исследование уровня неоптерина в динамике во время трех периодов лечения инфекционных осложнений антибактериальными, противовирусными и антимикотическими препаратами в зависимости от лидирующего вида возбудителя. Первый этап исследования уровня неоптерина до начала лечения осложнений, второй этап - через 4 дня после начала лечения и третий этап - через 5 дней после завершения лечения инфекционных осложнений. На данных этапах лечение основного заболевания стандартными схемами химиотерапии приостанавливалось до разрешения осложнений. По данной схеме были исследованы три категории пациентов с ХЛЛ: проходящие стационарное лечение, состоящие на амбулаторном наблюдении и при впервые выявленной патологии ХЛЛ. Результаты анализа полученных данных представлены в таблицах 4.5.1, 4.5.2 и 4.5.3.

Для сравнения уровня неоптерина до лечения, через 4 дня и через 5 дней после завершения лечения у пациентов с различными формами инфекционных осложнений внутри таких групп как бактериальные, вирусные и грибковые осложнения при стационарном и

амбулаторном лечении, а также у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ, был использован Т критерий для парных выборок, так как выборки связаны между собой (таблицы 4.5.1, 4.5.2 и 4.5.3).

Таблица 4.5.1 - Уровни неоптерина (нмоль/л) в сыворотке крови больных ХЛЛ в период стационарного лечения в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы пациентов	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=89)	Локализованная (n=58)	88,9±3,5	69,5±2,0	30,1±1,4	I/II p=0,821 I/III p=0,785 II/III p=0,795	I/II p=0,201 I/III p=0,167 II/III p=0,154	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=31)	115,1±2,4	89,3±1,7	39,5±1,1	I/II p=0,754 I/III p=0,798 II/III p=0,795	I/II p=0,218 I/III p=0,176 II/III p=0,187	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения вирусной этиологии (n=58)	Локализованная (n=40)	25,1±1,2	20,3±1,7	10,7±0,8	I/II p=0,807 I/III p=0,795 II/III p=0,763	I/II p=0,187 I/III p=0,154 II/III p=0,199	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=18)	36,6±1,7	28,3±1,0	14,5±0,6	I/II p=0,832 I/III p=0,715 II/III p=0,772	I/II p=0,203 I/III p=0,164 II/III p=0,194	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=50)	Локализованная (n=50)	35,3±1,3	27,5±1,6	16,8±0,8	I/II p=0,739 I/III p=0,795 II/III p=0,804	I/II p=0,192 I/III p=0,203 II/III p=0,151	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Таблица 4.5.2 - Уровни неоптерина (нмоль/л) в сыворотке крови больных ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы больных	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=46)	Локализованная (n=46)	54,1 ±2,0	39,1 ±1,9	18,2 ±0,9	I/II p=0,803 I/III p=0,762 II/III p=0,789	I/II p=0,188 I/III p=0,203 II/III p=0,194	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—
Осложнения вирусной этиологии (n=44)	Локализованная (n=34)	18,3 ±0,5	10,6 ±0,4	5,6 ±0,2	I/II p=0,799 I/III p=0,825 II/III p=0,741	I/II p=0,201 I/III p=0,194 II/III p=0,173	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=10)	34,6 ±3,3	22,6 ±0,1	12,0 ±0,9	I/II p=0,746 I/III p=0,793 II/III p=0,805	I/II p=0,209 I/III p=0,145 II/III p=0,192	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=37)	Локализованная (n=37)	20,5 ±1,2	14,9 ±0,5	8,7 ±0,3	I/II p=0,816 I/III p=0,752 II/III p=0,775	I/II p=0,166 I/III p=0,174 II/III p=0,216	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Таблица 4.5.3 - Уровни неоптерина (нмоль/л) в сыворотке крови у впервые выявленных больных ХЛЛ в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы больных	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=34)	Локализованная (n=34)	56,0 ±3,1	43,2±2,3	19,5±1,5	I/II p=0,802 I/III p=0,759 II/III p=0,752	I/II p=0,187 I/III p=0,202 II/III p=0,196	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—			
Осложнения вирусной этиологии (n=27)	Локализованная (n=23)	17,8 ±1,5	14,0±1,2	6,5±0,7	I/II p=0,800 I/III p=0,772 II/III p=0,795	I/II p=0,186 I/III p=0,217 II/III p=0,202	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=4)	36,4 ±2,8	27,4±1,4	14,3±1,4	I/II p=0,754 I/III p=0,796 p=0,803	I/II p=0,194 I/III p=0,167 p=0,209	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=25)	Локализованная (n=25)	27,2 ±4,9	20,1±3,3	12,5±3,3	I/II p=0,798 I/III p=0,765 II/III p=0,777	I/II p=0,162 I/III p=0,185 II/III p=0,193	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—		

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Выявлено достоверное различие уровня неоптерина сыворотки крови в процессе лечения выявленных осложнений с исходным показателем неоптерина до начала терапии (p <0,001).

Такое различие справедливо как для уровня неоптерина, зафиксированного после 4 дней после начала лечения осложнений, так и через 5 дней после завершения соответствующей терапии ($p < 0,001$). Среднестатистическое различие между показателями неоптерина через 4 дня после начала терапии находится в пределах 1,3-1,5 раза от исходных значений. При стабилизации процесса, нивелировании клинических проявлений инфекционных осложнений, уровень неоптерина все равно не достигал границ нормы, однако в сравнении с исходными концентрациями различия составляют в среднем 2- 3 раза.

Также был проведен корреляционный анализ полученных показателей уровня неоптерина. В анализ были включены значения концентраций до и после лечения, а именно через 5 дней после окончания терапии инфекционных осложнений. Выявлена сильная положительная корреляция влияния проводимого лечения на концентрацию неоптерина в период стационарного лечения ХЛЛ, при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ и у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ: при осложнениях бактериальной этиологии ($r=0,992$, $p<0,001$), вирусной этиологии ($r=0,988$, $p<0,001$) и грибковой этиологии ($r=0,995$, $p<0,001$) (рисунки 4.5.1, 4.5.2 и 4.5.3)

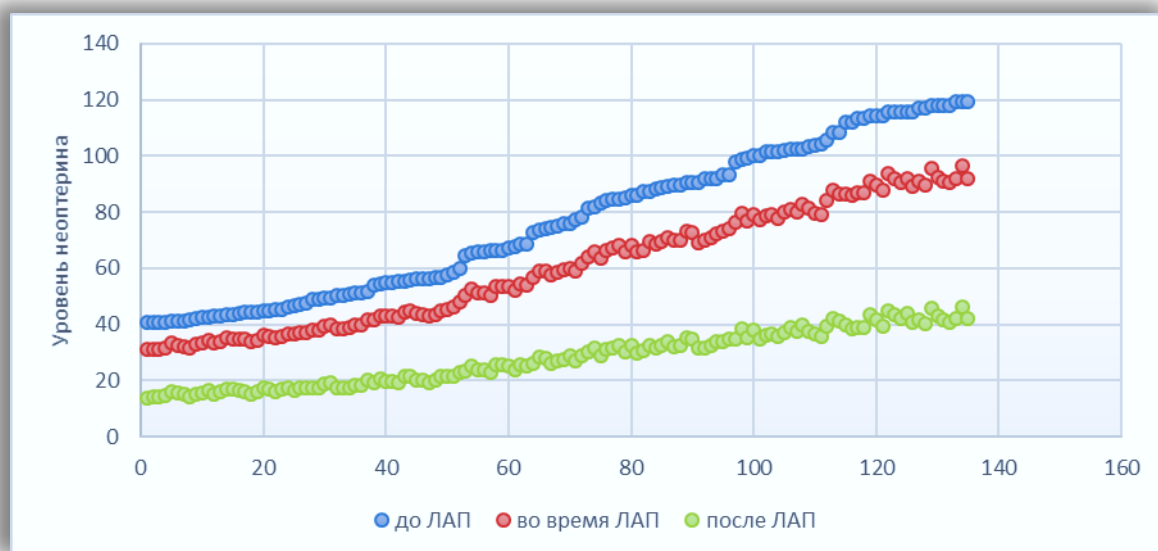


Рисунок 4.5.1 - Зависимость уровня неоптерина (нмоль/л) от схем лечения осложнений бактериальной этиологии

Примечание: ЛАП – лечение антибактериальными препаратами

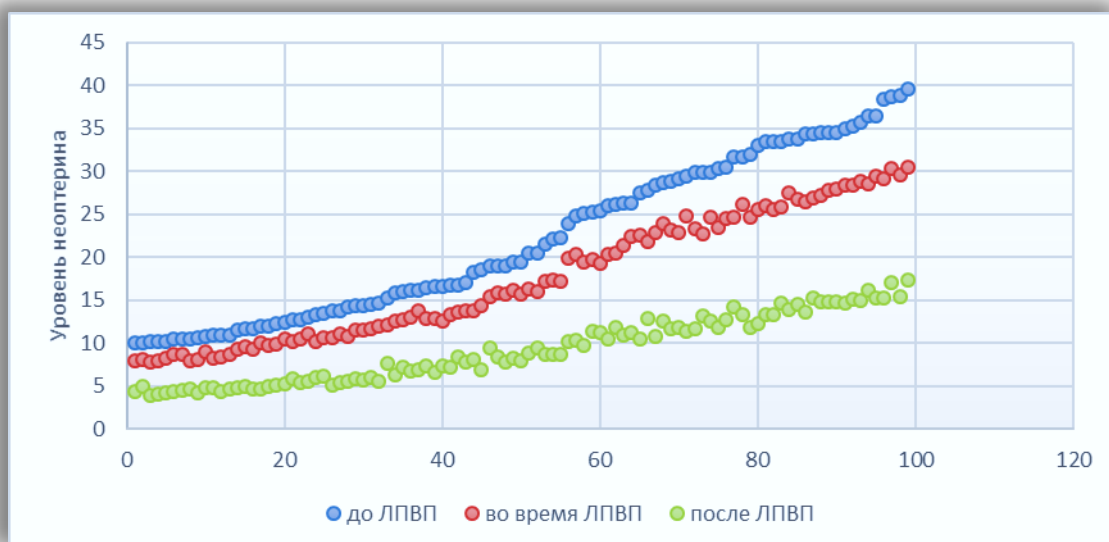


Рисунок 4.5.2 - Зависимость уровня неоптерина (нмоль/л) от схем лечения осложнений вирусной этиологии

Примечание: ЛПВП – лечение противовирусными препаратами

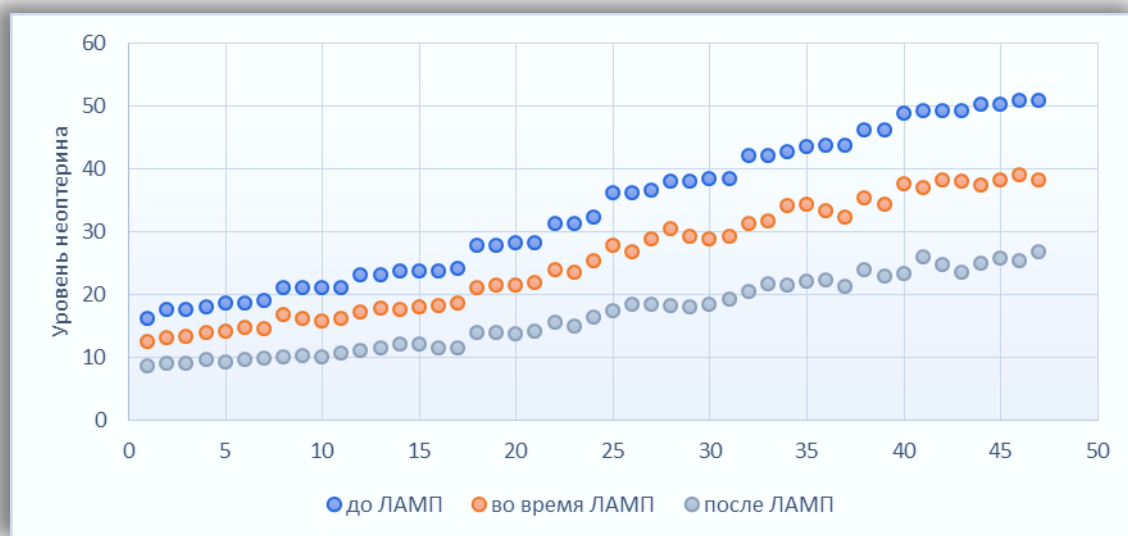


Рисунок 4.5.3 - Зависимость уровня неоптерина (нмоль/л) от схем лечения осложнений грибковой этиологии

Примечание: ЛАМП – лечение антимикотическими препаратами

Таким образом, анализ полученных значений уровня неоптерина сыворотки крови больных ХЛЛ в динамике на трех этапах применения схем лечения инфекционных осложнений, показывает прямую зависимость концентрации неоптерина от стадии течения осложнения и разрешения патологий любого генеза, что может применяться для контроля эффективности терапии данной группы осложнений у пациентов с ХЛЛ.

Была выявлена сила воздействия каждого фактора влияния на изменение уровня неоптерина в сыворотке крови больных ХЛЛ. Для этого был проведен однофакторный дисперсионный анализ уровня неоптерина сыворотки пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии возбудителя инфекционных осложнений. Дисперсионный комплекс для изучения силы влияния фактора воздействия (этиология патогена) включал данные уровня неоптерина пациентов с ХЛЛ в разные периоды течения основного заболевания (стационарное лечение и амбулаторное наблюдение, а также у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ). Анализ силы влияния проводился по отношению к контролю (30 условно-здоровых пациентов и 36 пациентов ХЛЛ на стационарном лечении и 34 пациента на амбулаторном наблюдении без инфекционных осложнений) (таблица 4.5.4).

Таблица 4.5.4 - Сила влияния инфекционных осложнений бактериального, вирусного и грибкового генеза на уровень неоптерина сыворотки крови больных ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Вариансы (средние квадраты, σ2)	F	F- критическое	Сила влияния (%)
Стадия А ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	72357,84	4	18089,46	158,29	2,45	84****
Случайное (внутригрупповое)	12424,89	109	114			
Общее	84782,73	113	750,28			
Стадия В ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	136898,00	4	34224,50	141,78	2,43	77****
Случайное (внутригрупповое)	37173,77	154	241,39			
Общее	174071,77	158	1101,72			
Стадия С ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	212695,88	4	53173,97	186,48	2,61	78****
Случайное (внутригрупповое)	57314,81	201	285,15			
Общее	270010,70	205	1317,12			

Примечание: ***- $F > 0,999$, где F-показатель достоверности по Фишеру.

Дисперсионный анализ показал высокую степень силы влияния инфекционных осложнений (возбудителей бактериальной, вирусной и грибковой этиологии) на уровень

неоптерина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ. Сила влияния патогенов при стадии *B* ХЛЛ составила 77%. Сохранилась высокая сила влияния и при стадии *C* ХЛЛ – 78%. Наибольшее же влияние на увеличение уровня неоптерина наблюдается при стадии *A* ХЛЛ – 84%, что можно объяснить большим сохранением функциональных возможностей иммунитета организма пациентов, отвечающих за выработку неоптерина. Таким образом, изменение концентрации неоптерина в сыворотке больных ХЛЛ зависело не только от наличия возбудителя инфекционных осложнений, но и от стадии течения основного заболевания.

При проведении анализа силы влияния проводимого лечения химиопрепаратами (схемы R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) на уровень неоптерина у пациентов без наличия осложнений инфекционной этиологии также использовался метод однофакторного дисперсионного анализа (таблица 4.5.5).

Таблица 4.5.5 - Сила влияния схем химиотерапии (R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран) на уровень неоптерина сыворотки крови больных ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Вариансы (средние квадраты, σ^2)	F	F- критическое	Сила влияния (%)
Факториальное (межгрупповое)	147,68	4	36,92	13,3	2,51	35***
Случайное (внутригрупповое)	185,93	67	2,77			
Общее	333,62	71	4,69			

Примечание: ***- $F > 0,999$, где F-показатель достоверности по Фишеру.

Результат анализа показывает статистически значимую силу влияния схем химиотерапевтического лечения на изменение уровня неоптерина (35%). Однако, в сравнении с результатами, полученными при изучении влияния этиологических факторов (бактериального, вирусного и грибкового генеза) на увеличение концентрации неоптерина в сыворотке крови выявлено преобладание силы влияния инфекционных патогенов (в среднем более 79%). Поэтому при трактовке показателей уровня неоптерина в сыворотке крови у пациентов с ХЛЛ можно условно пренебречь возможным влиянием препаратов химиотерапевтического ряда, так как основное влияние на его продукцию клетками, принадлежит именно инфекционным патогенам.

ГЛАВА 5. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

5.1 Закономерности изменения уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от присоединения инфекционных осложнений

При оценке степени увеличения уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки крови относительно показателей контрольной группы так же были сформированы 3 группы: группа 1 – умеренное повышение альфа-1-антитрипсина до 10 раз, группа 2 - значительное повышение альфа-1-антитрипсина от 10 до 20 раз, группа 3 – выраженное повышение альфа-1-антитрипсина более 20 раз от стандартных показателей.

Уровень альфа-1-антитрипсин сыворотки венозной крови условно-здоровых доноров (контрольная группа, n=30) находился в пределах от 0,7 мг/л до 3,4 мг/л, среднестатистическое значение составило $1,7 \pm 0,1$ мг/л.

Средний уровень альфа-1-антитрипсина сыворотки венозной крови при ХЛЛ в период период стационарного лечения основного заболевания (на момент исследования пациенты приходили стационарное лечение основного заболевания, проводилось лечение стандартными схемами химиотерапии) независимо от стадии течения процесса и без присоединившихся инфекционных осложнений (n=34), составил $52,9 \pm 1,1$ мг/л, значительно превысив таковые значения при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ и выражено превысив нормальные значения контрольной группы (0,7 мг/л до 3,4 мг/л), что говорит о влиянии на выработку альфа-1-антитрипсина специфической химиотерапии ХЛЛ (таблица 5.1.1).

Таблица 5.1.1 - Анализ различия концентрации альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ и группы контроля (мг/л)

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Пациенты с ХЛЛ без инфекционных осложнений	
		Группа 1 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на амбулаторном наблюдении n=36)	Группа 2 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на стационарном лечении n=34)
Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	$1,7 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$	$52,9 \pm 7,1$

Продолжение таблицы 5.1.1

Min-Max уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	0,7 -3,4	1,0 - 7,8	41,1 - 66,2
Статистическая значимость (критерий χ^2)		0,685	0,796
Статистическая значимость (критерий Фишера)		0,186	0,169
Статистическая значимость p - value (критерий Стьюдента)		p = 0,07 [^]	p < 0,001*

Примечание: [^] - различия статистически не значимы;

* - различия статистически значимы;

p - статистическая значимость по сравнению с контролем.

Установлено отсутствие статистически значимых отличий между выборками по уровню альфа-1-антитрипсина у пациентов при отсутствии воздействия химиотерапии (сравнение Контроля и Группы 1). Однако при сравнении Группы 2 с контрольной группой обнаружено существенное влияние на выработку альфа-1-антитрипсина специфической химиотерапии ХЛЛ.

Отдельно было исследовано влияние различных схем химиотерапии на изменение уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ. Результаты представлены в таблице 5.1.2.

Таблица 5.1.2 - Влияние различных схем химиотерапии на изменение уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ.

Уровень А1АТ, мг/л	Схемы химиотерапии							
	R-CHOP		FCR		BR		Хлорамбуцил (лейкеран)	
	M±m	Min-Max	M±m	Min-Max	M±m	Min-Max	M±m	Min-Max
До лечения	2,4±0,1	2,0-3,2	4,2±0,6	2,2-7,2	3,7±0,6	1,0-7,8	3,6±0,4	2,1-6,4
Во время терапии	47,6±1,6	41,1-57,3	52,9±2,6	45,2-61,2	56,3±1,5	49,2-62,3	54,0±2,1	44,2-66,2
После терапии	24,7±2,5	19,0-38,4	29,9±5,0	15,9-48,3	23,3±2,0	14,6-37,1	21,8±1,6	14,0-28,9
Статистическая значимость (критерий χ^2)	0,732		0,649		0,785		0,802	
Статистическая значимость (критерий Фишера)	0,186		0,205		0,187		0,185	
Статистическая значимость (Т критерий для парных выборок)	p < 0,001*		p < 0,001*		p < 0,001*		p < 0,001*	

Примечание: [^] - различия статистически не значимы; * - различия статистически значимы;

M – среднее, m – стандартная ошибка среднего;

Min- минимальный уровень А1АТ; Max – максимальный уровень А1АТ.

Выявлено статистически значимое влияние применяемых схем химиотерапии на выработку и высвобождение альфа-1-антитрипсина в кровь. Это возможно ввиду особенностей действия данной категории препаратов, включающих множественное разрушение иммунокомпетентных клеток, содержащих альфа-1-антитрипсина. После завершения химиотерапии (через 5-7 дней) зафиксирован спад концентрации альфа-1-антитрипсина, связанный с уменьшенным воздействием терапевтических механизмов химиопрепаратов (рисунок 5.1.1).

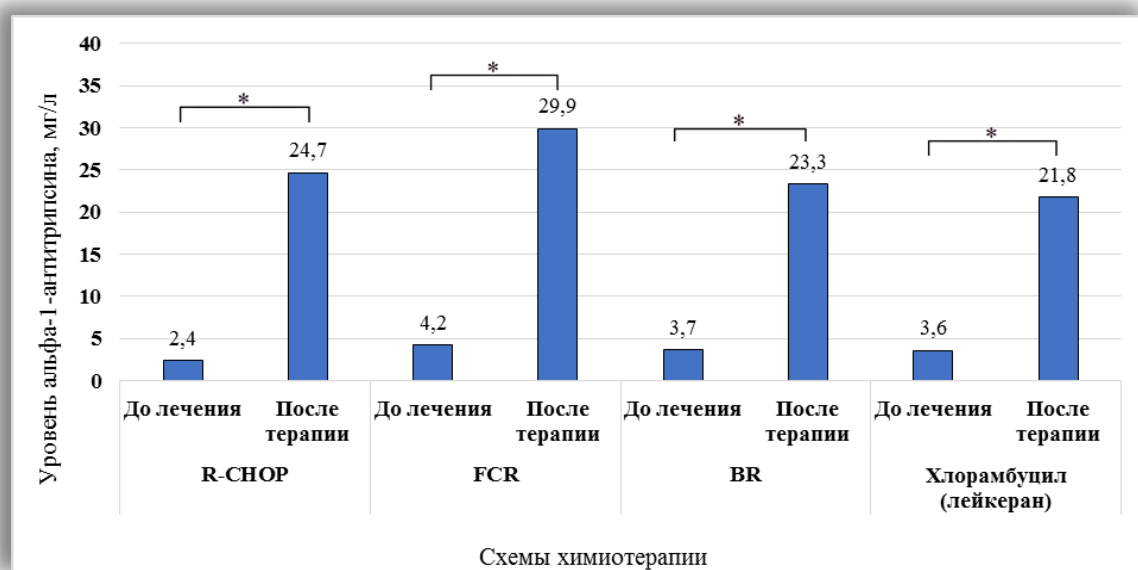


Рисунок 5.1.1 - Влияние различных схем химиотерапии на изменение уровня альфа-1-антитрипсина у больных ХЛЛ

Примечание: * – различия до и после лечения статистически значимы (значения p для Т критерия для парных выборок $<0,05$)

При изучении изменений концентрации альфа-1-антитрипсина выявлены следующие закономерности: средний уровень альфа-1-антитрипсина сыворотки пациентов с ХЛЛ вне зависимости от формы присоединившихся осложнений и периода течения основного заболевания составлял $27,4 \pm 0,4$ мг/л, умеренно превысив значения группы сравнения без инфекционных осложнений до начала химиотерапии (102 случая периодов амбулаторного наблюдения, стационарного лечения, впервые выявленные пациенты $5,6 \pm 0,4$ мг/л, $p < 0,001$). Между уровнем альфа-1-антитрипсина в период амбулаторного наблюдения, составившем $25,0 \pm 0,7$ мг/л, как и уровнем альфа-1-антитрипсина в период стационарного лечения ($30,9 \pm 0,6$ мг/л), а также значениями у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ до начала химиотерапии, составившем $24,8 \pm 1,1$ мг/л, статистически значимой разницы выявлено не было ($p > 0,001$). В то

же время, было зафиксировано умеренное превышение всех этих показателей с группой сравнения ($p < 0,001$). Динамика колебания уровней альфа-1-антитрипсина сыворотки крови в зависимости от периода течения основного заболевания представлена на рисунке 5.1.2.

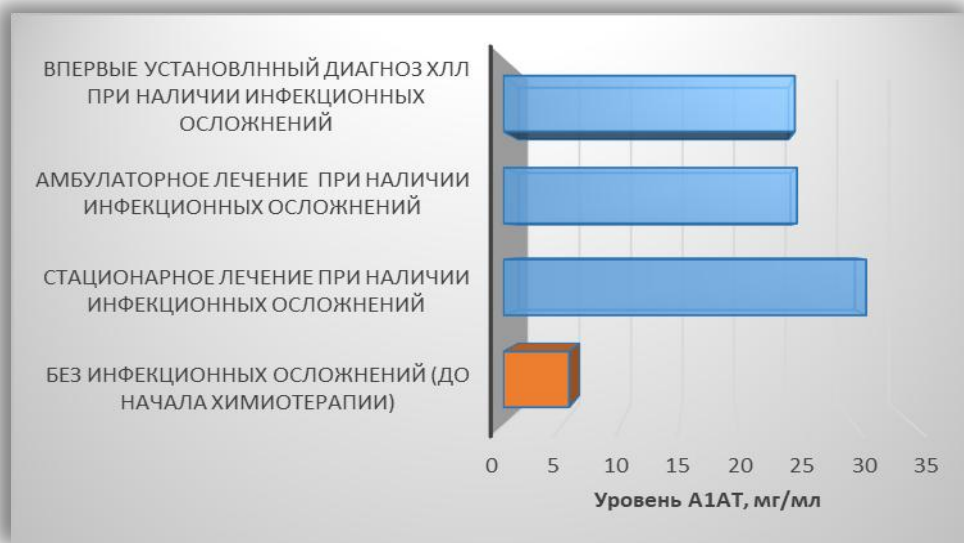


Рисунок 5.1.2 - Динамика колебания средних уровней альфа-1-антитрипсина пациентов с ХЛЛ при присоединении инфекционных осложнений в зависимости от периода течения основного заболевания

5.2 Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от периода течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений

В таблице 5.2.1 представлена динамика изменения концентрации альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ на стадиях *A*, *B* и *C* при присоединении инфекционных осложнений различного генеза. Во время периода стационарного лечения увеличение альфа-1-антитрипсина выше контрольных значений наблюдалось у всей группы обследованных (197 эпизодов). Однако выраженное превышение (более чем в 20 раз) уровня альфа-1-антитрипсина не было зафиксировано ни на одной из стадий ХЛЛ.

При стадии *A* ХЛЛ в период стационарного лечения у подавляющего большинства пациентов (31 эпизодов) повышение альфа-1-антитрипсина было умеренным (до 17,1 мг/л), значительное увеличение выше контрольных значений зафиксировано лишь у 8 человек (до 42,3 мг/л). Средний уровень альфа-1-антитрипсина в данной подгруппе обследуемых составил $32,6 \pm 2,4$ мг/л, существенно превысив среднестатистическое значение контрольной группы

здоровых доноров ($1,7 \pm 0,1$ мг/л, $p < 0,001$). Однако данный показатель статистически значимо ниже, чем уровень альфа-1-антитрипсина в период стационарного лечения ХЛЛ у пациентов без осложнений, проходящих лечение стандартными схемами химиотерапии ($52,9 \pm 7,1$ мг/л, $p < 0,001$)

Пациенты на стадии В в период стационарного лечения патологического процесса также как и при стадии А ХЛЛ в наибольшем количестве имели уровень альфа-1-антитрипсина умеренно превышающий нормальные значения (47 человек с максимальным показателем до 21,3 мг/л), а соотношение к количеству пациентов с значительным превышением нормы альфа-1-антитрипсина соответствует пропорции 1:5 (9 человек с максимальным уровнем альфа-1-антитрипсина до 44,3 мг/л), что говорит о равном влиянии инфекционных осложнений на выработку альфа-1-антитрипсина при стадиях А и В ХЛЛ.

Анализ стадии С ХЛЛ в период стационарного лечения также показал преобладание умеренного превышения уровня альфа-1-антитрипсина над значительным в соотношении 1:4,5 (86 эпизодов с умеренным превышением и 16 со значительным) с минимальной концентрацией в 17,2 мг/л и максимальной 48,3 мг/л. В среднем значения альфа-1-антитрипсина на стадии С ХЛЛ в период стационарного лечения зафиксированы на уровне $33,7 \pm 2,7$ мг/л, что статистически значимо превышает контроль здоровых доноров ($p < 0,001$) и значимо меньше средних показателей при стационарном лечении ХЛЛ без осложнений инфекционного генеза, что также говорит о большем влиянии специфической химиотерапии на увеличение уровня альфа-1-антитрипсина, чем инфекции различного генеза. Данный факт подтверждается также отсутствием статистически значимого различия между уровнями альфа-1-антитрипсина на стадиях А, В и С ХЛЛ. При сравнении уровня альфа-1-антитрипсина в трех выборках с использованием критерия Краскел-Уоллеса, можно сделать вывод о наличии статистически значимых отличий между выборками по уровню альфа-1-антитрипсина среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контролем (период стационарного лечения без инфекционных осложнений - $M \pm m = 52,9 \pm 7,1$ мг/мл) (таблица 5.2.1).

Таблица 5.2.1 - Концентрация альфа-1-антитрипсина на разных стадиях ХЛЛ в период стационарного лечения заболевания

Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	Стадия А (n=39)	Стадия В (n=56)	Стадия С (n=102)
Min величина	10,1	14,2	17,2
Max величина	42,3	44,3	48,3
Mid величина	$32,6 \pm 2,4$	$34,5 \pm 2,2$	$33,7 \pm 2,7$
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value по сравнению с контролем.

Из таблицы 5.2.1 следует, что у абсолютного числа пациентов с ХЛЛ на различных стадиях в период стационарного лечения процесса независимо от формы присоединения осложнений инфекционного генеза фиксируется статистически значимое повышение уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки относительно контрольной группы здоровых доноров. Однако нет статистически значимой разницы уровня данных показателей в зависимости от стадии течения основного заболевания. В тоже время, уровень альфа-1-антитрипсина в сравнении с его уровнем у пациентов без осложнений во время стационарного лечения ХЛЛ, был ниже. Данные наблюдения говорят в пользу равноправного влияния как стандартных схем химиотерапии ХЛЛ, так и механизмов противоинфекционной защиты у пациентов с ХЛЛ на уровень альфа-1-антитрипсина в сыворотке.

Уровень альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ без клинического, инструментального и лабораторного подтверждения наличия инфекционного осложнения ($n=36$) в период амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ находился на уровне от 1,0 до 7,8 мг/л, а среднестатистическое значение составило $3,4 \pm 0,2$ мг/л.

В этот период д амбулаторного наблюдения минимальная концентрация альфа-1-антитрипсина сыворотки крови составила 14,32 мг/л, среднестатистические показатели находились в диапазоне от 24,7 до 25,5 мг/л. Так же как и при стационарном лечении ХЛЛ не было зафиксировано выраженного превышения концентрации альфа-1-антитрипсина относительно контрольной группы здоровых доноров. Выявлено меньшее количество случаев значительного превышения уровня альфа-1-антитрипсина в сравнении с периодом стационарного лечения ХЛЛ - от 8,5% до 16,6 % пациентов на стадиях *A* и *C* соответственно, на стадии *B* этот показатель составил 9,5%. Средние значения альфа-1-антитрипсина на каждой стадии ХЛЛ были статистически значимо ниже уровня при ХЛЛ без инфекционных осложнений в период стационарного лечения и оказались незначительно ниже, чем при стационарном лечении основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений (таблица 5.2.2).

Сравнивая уровни альфа-1-антитрипсина в трех выборках (у пациентов на трех стадиях) мы пришли к выводу о наличии статистически значимых отличий между выборками по уровню альфа-1-антитрипсина среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контрольной группой пациентов на амбулаторном наблюдении без инфекционных осложнений и группой пациентов на стационарном лечении с инфекционными осложнениями в соответствующих стадиях ХЛЛ (таблица 5.2.2).

Таблица 5.2.2 - Концентрация альфа-1-антитрипсина на разных стадиях ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения

Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	Стадия А (n=36)	Стадия В (n=41)	Стадия С (n=50)
Min величина	17,2	17,2	14,3
Max величина	39,2	36,3	42,2
Mid величина	25,3±1,8	24,7±1,2	25,1±0,9
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	p< 0,001*	p<0,001*	p<0,001*
	p ¹ <0,05*	p ¹ <0,05*	p ¹ <0,05*

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value по сравнению с контролем;

p¹ - value по сравнению с периодом стационарного лечения

Полученные результаты могут свидетельствовать как о меньшей тяжести осложнений в этот период, так и об отсутствии повреждающего действия на клетки организма специфических химиопрепаратов для лечения ХЛЛ.

Так же были установлены статистически значимые отличия среди пациентов на трех стадиях в сравнении с контрольной группой пациентов (32 человека с впервые выявленным диагнозом ХЛЛ без инфекционных осложнений, M±m =11,4±0,8 мг/мл) (таблица 5.2.3).

Таблица 5.2.3 - Концентрация альфа-1-антитрипсина сыворотки крови у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ на разных стадиях течения заболевания

Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	Стадия А (n=29)	Стадия В (n=30)	Стадия С (n=27)
Min величина	16,2	14,2	19,3
Max величина	41,3	41,2	40,3
Mid величина	28,8±2,3	29,5±1,3	30,9±5,2
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	p< 0,001*	p<0,001*	p<0,001*

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value по сравнению с контролем.

5.3 Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений

При изучении среднего уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки венозной крови при присоединении инфекционных осложнений вирусной этиологии зафиксированы показатели в пределах 30,3± 0,7 мг/л; при развитии инфекционных осложнений бактериальной этиологии подъем уровня альфа-1-антитрипсина в среднем составил 22,2± 0,3 мг/л, что в 1,4 раза ниже чем

при вирусных осложнениях ХЛЛ; грибковые осложнения ХЛЛ стали причиной повышения уровня в среднем до $28,4 \pm 1,0$ мг/л, что имеет незначительную разницу с вирусными и бактериальными осложнениями у данной группы пациентов. Группу сравнения данной категории пациентов составляли пациенты с ХЛЛ без инфекционных осложнений, динамика данных показателей представлена в таблице 5.3.1.

Таблица 5.3.1 - Анализ различия концентрации альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ при присоединении инфекционных осложнений различной этиологии

Показатель	Группа без инфекционных осложнений		Этиология инфекционных осложнений		
	До химиотерапии	Во время химиотерапии	Бактериальная (n=169)	Вирусная (n=129)	Грибковая (n=112)
Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	$3,4 \pm 0,2$	$52,9 \pm 7,1$	$22,2 \pm 0,3$	$30,3 \pm 0,7$	$28,4 \pm 1,0$
Min-Max уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л	1,0 - 7,8	41,1- 66,2	14,2-29,3	19,2-48,3	16,3-37,3
Статистическая значимость (критерий Стьюдента)			$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$
			$p^1 < 0,001^*$	$p^1 < 0,001^*$	$p^1 < 0,001^*$

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - по сравнению с контролем (группа без инфекционных осложнений до химиотерапии);

p^1 - по сравнению с контролем (группа без инфекционных осложнений после химиотерапии)

При сравнении уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями с группой без инфекционных осложнений установлено наличие статистически значимых отличий между выборками по уровню альфа-1-антитрипсина у пациентов трех групп с группой пациентов без инфекционных осложнений как до, так и после применения химиотерапии ($p < 0,001$).

У каждого пациента из групп с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями уровень альфа-1-антитрипсина превышал нормальные значения более чем в 2 раза и составил от 14,2 мг/л до 48,3 мг/л. Одновременно обращает внимание факт различий уровня альфа-1-антитрипсина при инфекционных осложнениях ХЛЛ и при отсутствии таковых, но с условием применения химиотерапии. Данные показатели статистически значимо

отличались во всех трех группах в соотношении 1:2,4; 1:1,7 и 1:1,9 в группах с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями соответственно с преобладанием влияния схем химиотерапии на повышение уровня альфа-1-антитрипсина.

Из таблицы 5.3.2 видно, что на всех стадиях ХЛЛ при присоединении осложнений бактериальной, вирусной или грибковой этиологии фиксировалось умеренное повышение уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки крови. (85% всех пациентов с осложнениями). Наивысшие концентрации альфа-1-антитрипсина были зафиксированы на стадиях А, В и С только при присоединении осложнений вирусной и грибковой этиологии (значительное превышение показателей было зафиксировано у 15% всех пациентов с осложнениями).

Самый высокий уровень альфа-1-антитрипсина зафиксирован на стадиях В и С ХЛЛ при присоединении вирусных осложнений (44,3 и 48,3 мг/л соответственно). Однако средние показатели всех трех групп бактериальных, вирусных и грибковых осложнений статистически значимо не отличаются, что говорит в пользу схожего механизма воздействия возбудителей инфекционных осложнений на продукцию и высвобождение в кровяное русло альфа-1-антитрипсина. Наименьшие средние показатели альфа-1-антитрипсина ($20,6 \pm 0,8$ мг/л) были получены у пациентов из группы с осложнениями бактериальной этиологии на стадии А ХЛЛ, а максимальный уровень был в пределах 29,3 мг/л, что в 1,7 раза ниже, чем при вирусных и грибковых инфекциях.

Таблица 5.3.2 - Концентрация альфа-1-антитрипсина сыворотки крови у больных ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений на разных стадиях течения основного заболевания

Этиология осложнений	Стадия ХЛЛ	Уровень альфа-1-антитрипсина, мг/л			Статистическая значимость		
		Min	Max	Mid величина	критерий χ^2	критерий χ^2	критерий Стьюдента
Бактериальные осложнения	A(n=39)	16,2	29,2	$20,6 \pm 0,8$	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p=0,733}$	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p=0,204}$	$\frac{A^{BO}/A^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=50)	14,2	29,2	$21,8 \pm 0,5$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,692}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,186}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p < 0,001^*}$
	C(n=80)	14,2	29,3	$22,6 \pm 0,4$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,797}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p=0,157}$	$\frac{A^{BO}/A^{GO}}{p = 0,09^{\wedge}}$
Вирусные осложнения	A(n=34)	19,3	42,3	$27,6 \pm 1,7$	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p=0,776}$	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p=0,175}$	$\frac{B^{BO}/B^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=41)	19,2	44,3	$29,9 \pm 1,1$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,831}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,189}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p < 0,001^*}$
					$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,764}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p=0,146}$	$\frac{B^{BO}/B^{GO}}{p = 0,08^{\wedge}}$

Продолжение таблицы 5.3.2

	C(n=54)	19,3	48,3	32,0±1,2			
Грибковые осложнения	A(n=31)	20,9	37,3	31,18±1,9	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,667}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,178}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=36)	17,2	37,2	27,22±2,0	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p=0,752}$	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p=0,202}$	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p < 0,001^*}$
	C(n=45)	16,3	37,3	27,99±1,4	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p=0,763}$	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p=0,203}$	$\frac{C^{BO}/C^{ГО}}{p = 0,11^{\wedge}}$

Примечание: * - различия статистически значимы;

$\wedge$ - различия статистически не значимы;

p - value сравнение между стадиями A, B и C при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, A^{BO}, BO или ГО).

Сравнение уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов между стадиями A, B и C при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии с использованием критерия Стьюдента указывает на наличие статистически значимых отличий по уровню альфа-1-антитрипсина между выборками пациентов со всеми видами инфекционных осложнений в каждой из исследованных групп, кроме сравнения групп пациентов с вирусными и грибковыми инфекциями между собой.

При анализе результатов, полученных при обследовании больных ХЛЛ с наличием осложнений грибковой этиологии, выявлено увеличение концентрации альфа-1-антитрипсина в диапазоне от 16,3 до 37,3 мг/л. Превышение уровня альфа-1-антитрипсина при бактериальных осложнениях статистически значимо были ниже по третьему порогу ($p < 0,001$), однако данный показатель статистически значимо не превышал вирусозависимые увеличения альфа-1-антитрипсина сыворотки крови. У большинства пациентов данной категории помимо наличия грибковой патологии имелись хронические заболевания бактериальной или вирусной этиологии в стадии латентного течения (хронические бронхиты, хронические тонзиллиты, циркулирующие в крови IgG к вирусу герпеса), которые в комплексе с грибковыми осложнениями давали более высокие значения альфа-1-антитрипсина, чем при бактериальных патологиях. Динамика изменения концентрации альфа-1-антитрипсина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии осложнений при разных стадиях основного заболевания представлена на рисунке 5.3.2.

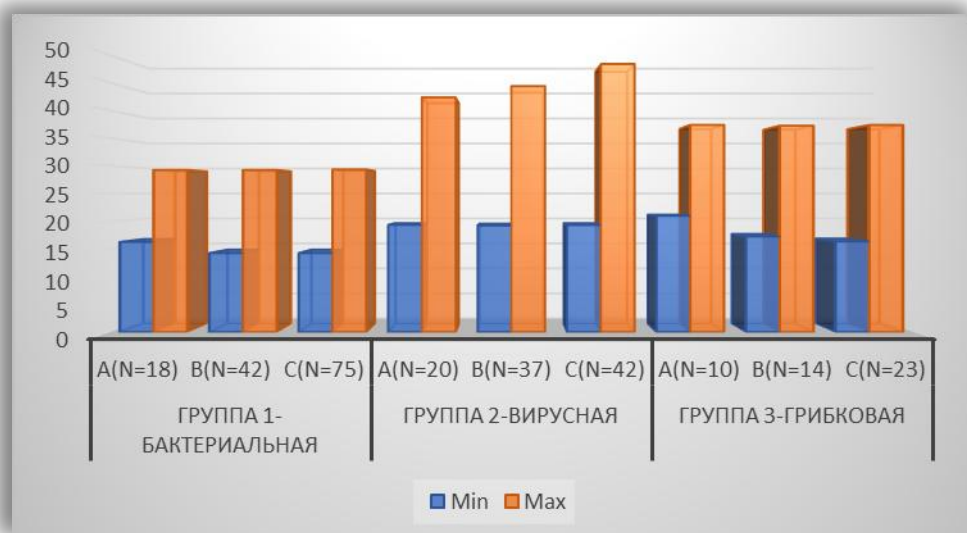


Рисунок 5.3.2 - Уровень альфа-1-антитрипсина (мг/л) на разных стадиях ХЛЛ в зависимости от этиологического фактора осложнений

Нами проведен анализ результатов уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки крови в зависимости от формы течения процесса (локализованная и генерализованная). Стадия течения ХЛЛ в данном случае не учитывалась. Данные представлены в таблице 5.3.3.

Таблица 5.3.3 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости этиологии осложнений и формы течения процесса

№ п/п	Форма осложнений	Этиологические факторы осложнений	n	A1AT (мг/л, $M \pm m$)		Статистическая значимость		
						критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
1	Локализованные	Бактериальные осложнения	138	21,3±0,3	24,99±0,42	$\frac{Л^{BO}/Л^{BO}}{p=0,713}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{BO}}{p=0,233}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{BO}}{p < 0,001^*}$
2		Вирусные осложнения	97	28,1±0,7		$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p=0,796}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p=0,274}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p < 0,001^*}$
3		Грибковые осложнения	112	28,4±1,0		$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p=0,745}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p=0,213}$	$\frac{Л^{BO}/Л^{ГО}}{p = 0,35^{\wedge}}$
4	Генерализованные	Бактериальные осложнения	31	25,7±0,5	31,56±1,15	$\frac{Г^{BO} * Г^{BO}}{p=0,648}$	$\frac{Г^{BO} * Г^{BO}}{p=0,189}$	$\frac{Г^{BO} * Г^{BO}}{p < 0,001}$
5		Вирусные осложнения	32	41,02±0,8				

Продолжение таблицы 5.3.3

6		Грибковые осложнения	0	—				
---	--	----------------------	---	---	--	--	--	--

Примечание: * - различия статистически значимы;

^ - различия статистически не значимы;

p - value сравнение между локализованными и генерализованными формами при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, Л^{БО}, ВО или Г^О).

Из таблицы 5.3.3 видно, что каждый из этиологических факторов, вызывающих генерализованные инфекционные осложнения, провоцировал повышение уровня альфа-1-антитрипсина статистически значимо превосходящее значение при инфекциях локального характера. Вирусозависимые осложнения, как при локальных, так и при генерализованных формах способствовали увеличению альфа-1-антитрипсина статистически значимо больше, чем бактериальные у пациентов, не получающих химиотерапию.

Среднестатистические значения альфа-1-антитрипсина, исходя из критериев этиологического фактора и формы осложнений, представлены на рисунке 5.3.3. У каждого пациента из групп с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями уровень альфа-1-антитрипсина превышал контрольные значения более чем в 2 раза.

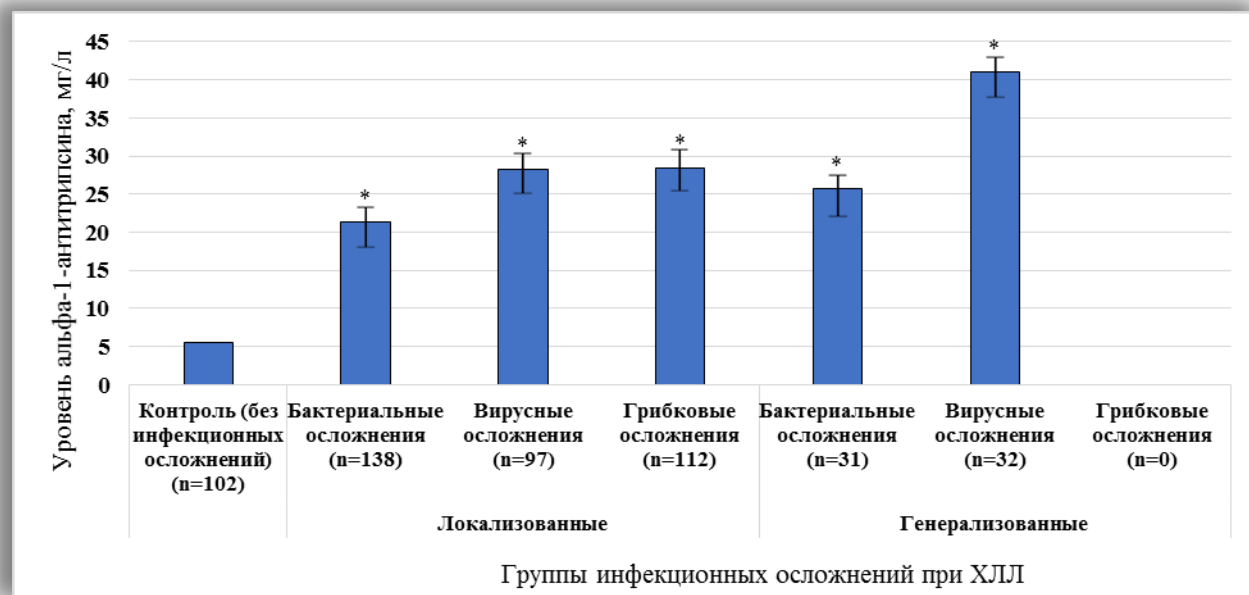


Рисунок 5.3.3 - Концентрация альфа-1-антитрипсина сыворотки крови у больных ХЛЛ в зависимости от формы и этиологии инфекционных осложнений

Примечание: * – значение достоверности $p < 0,05$ при сравнении с контролем

5.4 Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от нозологии инфекционных осложнений

Нами были исследованы динамические изменения средних уровней альфа-1-антитрипсина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ при различных нозологиях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. Результаты анализа альфа-1-антитрипсина сыворотки крови больных представлены в Таблицах (5.4.1, 5.4.2, 5.4.3) и на сравнительном рисунке 5.4.1.

Таблица 5.4.1 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от нозологии бактериальных осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/ п	Диагноз инфекционного осложнения	n		A1AT (мг/л, M±m)	Статистическая значимость			
					критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдента	
I.	Локализованные формы бактериальных осложнений							
1.	Другой острый синусит (Острые синуситы, вовлекающие более одного синуса, но не пансинуситы) МКБ-10 J01.8	22	37	21,0±0,6	21,7±30,9	I:II p=0,701 1:2 p=0,801 1:3 p=0,644	I:II p=0,204 1:2 p=0,261 1:3 p=0,211	I:II p<0,05* 1:2 p=0,54 1:3 p=0,35
	Стрептококковый фарингит (Стрептококковая ангина) МКБ-10 J02.0	15		22,7±1,0		1:4 p=0,663 1:5 p=0,703 2:3 p=0,765	1:4 p=0,178 1:5 p=0,166 2:3 p=0,227	1:4 p=0,42 1:5 p=0,54 2:3 p=0,38
2.	Пневмония, вызванная Klebsiellapneumoniae МКБ-10 J15.0	9	36	20,6±0,7	21,2±0,7	2:4 p=0,814 2:5 p=0,775	2:4 p=0,267 2:5 p=0,189	2:4 p=0,30 2:5 p=0,42
	Пневмония, вызванная стрептококком группы В МКБ-10 J15.3	12		21,3±1,1		3:4 p=0,697 3:5 p=0,712	3:4 p=0,251 3:5 p=0,221	3:4 p=0,34 3:5 p=0,36
	Другие бактериальные пневмонии МКБ-10 J15.8	15		21,4±1,3		4:5 p=0,754	4:5 p=0,201	4:5 p=0,31
3.	Острый бронхит, вызванный стрептококком МКБ-10 J20.2	10	21	22,2±1,0	21,6±0,7			
	Острый бронхит, вызванный другими уточненными агентами МКБ-10 J20.8	11		21,0±1,1				

Продолжение таблицы 5.4.1

4.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) <i>МКБ-10 K12.0</i> (Стрептококковые и стафилококковые стоматиты.)	16	16	17,6±2,4				
5.	Другие хронические тубулоинтерстициальн ые нефриты <i>МКБ-10 N11.8</i>	16	28	20,6±1 ,2	21,9±0,8			
	Интерстициальный цистит (хронический) <i>МКБ-10 N30.1</i>	12		23,5±1 ,1				
II.	Генерализованные формы бактериальных осложнений							
6.	Сепсис, вызванный <i>Staphylococcus aureus</i> <i>МКБ-10 A41.0</i>	10	24,9±1,1		6:7 p=0,802 6:8 p=0,743 7:8 p=0,694	6:7 p=0,197 6:8 p=0,196 7:8 p=0,193	6:7 p=0,37 6:8 p=0,48 7:8 p=0,43	
7.	Сепсис, вызванный другим уточненным стафилококком (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) <i>МКБ-10 A41.1</i>	11	25,7±0,7					
8.	Сепсис, вызванный другими грамотрицательными микроорганизмами (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i>) <i>МКБ-10 A41.5</i>	10	27,0±1,0					

Таблица 5.4.2 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от нозологии вирусных осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	n		A1AT (мг/л, M±m)	Статистическая значимость			
					критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента	
I.	Локализованные формы вирусных осложнений							
1.	Герпетический везикулярный дерматит МКБ-10 B00.1	2	41	20,7± 0,6	27,6±0,9	I:II p=0,722 1:2 p=0,756 1:3 p=0,803 2:3 p=0,742	I:II p=0,217 1:2 p=0,197 1:3 p=0,186 2:3 p=0,201	I:II p <0,001* 1:2 p=0,39 1:3 p=0,47 2:3 p=0,46
	Герпетический гингивостоматит и фаринготонзиллит МКБ-10 B00.2	36		27,6± 0,9				
	Герпетическая болезнь глаз МКБ-10 B00.5	3		32,3± 2,6				

Продолжение таблицы 5.4.2

2.	Гриппозная бронхопневмония, сезонный вирус гриппа идентифицирован <i>МКБ-10 J10.0</i>	17	31	30,9± 2,0	28,9±1,4			
	Грипп с другими респираторными проявлениями <i>МКБ-10 J10.1</i>	14		26,0± 1,3				
3.	Пневмония, вызванная вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J12.2</i>	10	23	31,4± 2,6	28,3±1,6			
	Острый бронхит, вызванный вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J20.4</i>	15		26,4± 1,8				
II.	Генерализованные формы вирусных осложнений							
4.	Диссеминированная герпетическая болезнь (Сепсис, вызванный вирусом простого герпеса) <i>МКБ-10 B00.7</i>	9		43,3±0,5	4:5 p=0,762 4:6 p=0,803 5:6 p=0,754	4:5 p=0,187 4:6 p=0,152 5:6 p=0,199	4:5 p=0,23 4:6 p=0,33 5:6 p=0,19	
5.	Мононуклеоз, вызванный гамма- герпетическим вирусом (вирусом Эпштейна-Барр) <i>МКБ-10 B27.0</i>	11		38,8±0,8				
6.	Цитомегаловирусны й мононуклеоз <i>МКБ-10 B27.1</i>	12		42,1±1,4				

Таблица 5.4.3 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от нозологии грибковых осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	п	А1АТ (мг/л, M±m)	Статистическая значимость		
				критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
I.	Локализованные формы грибковых осложнений					
1.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) МКБ-10 K12.0 (Кандидозные)	61	27,3±1,2	1:2 p=0,756	1:2 p=0,169	1:2 p=0,45
2	Тонзиллярный аспергиллез МКБ-10 B44.2	51	31,2±1,5			
II.	Генерализованные формы грибковых осложнений					
3.	—	—	—	—		

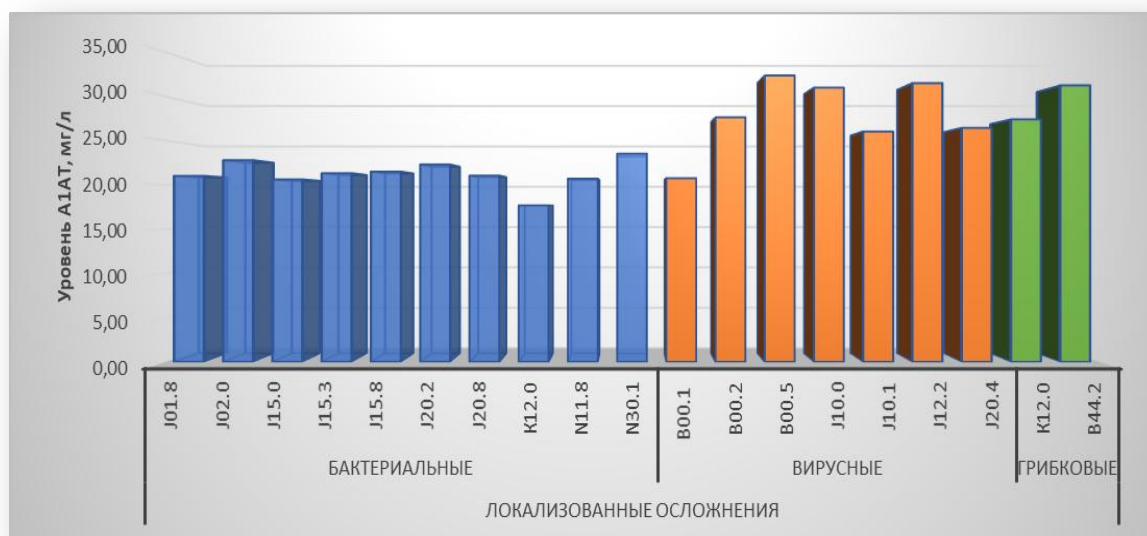


Рисунок 5.4.1 - Уровни альфа-1-антитрипсина (мг/л) в зависимости от нозологической формы осложнений (группа локализованных осложнений)

Примечание: Нозологические формы представлены согласно МКБ-10.

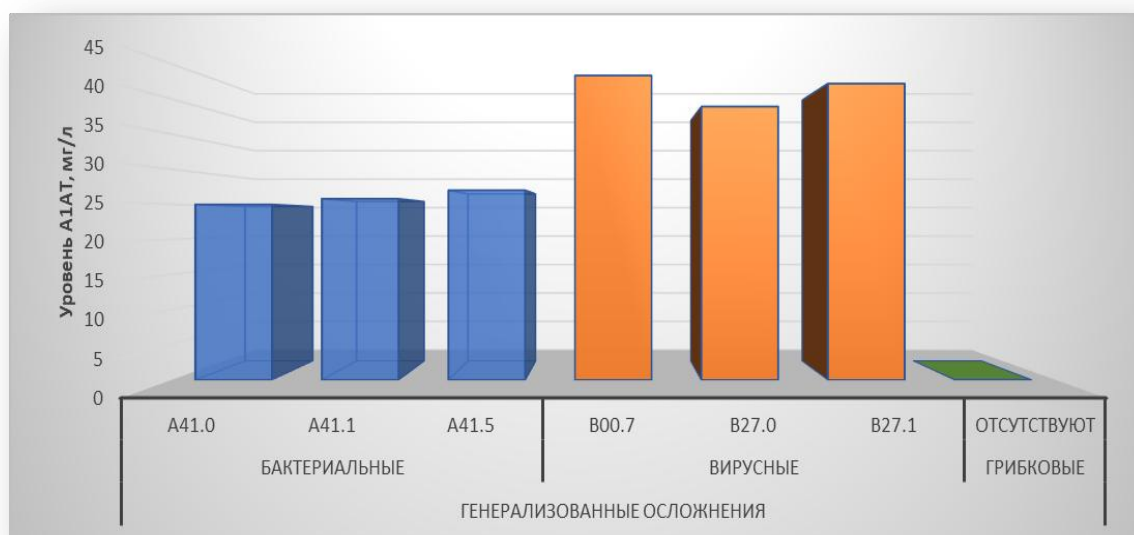


Рисунок 5.4.2. Уровни альфа-1-антитрипсина (мг/л) в зависимости от нозологической формы осложнений (группа генерализованных осложнений)

Примечание: Нозологические формы представлены согласно МКБ-10.

При анализе средних уровней альфа-1-антитрипсина сыворотки крови, приведенных в таблицах 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3 и на рисунках 5.4.1 и 5.4.2 было зафиксировано статистически значимое повышение его уровня при всех нозологических формах осложнений бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. При этом в случае возникновения генерализации процесса, данный показатель статистически значимо увеличивался ($p < 0,001$) в сравнении локальными процессами. При бактериальных осложнениях это различие было менее выражено (в 1,2 раза в сравнении с процессами локального характера), чем при вирусных (в 1,5 раза в сравнении с процессами локального характера). Внутригрупповое различие уровня альфа-1антитрипсина (группы локализованные и генерализованные осложнения каждого из видов патогенов) при всех нозологических формах заболеваний не было статистически значимо, что говорит об общем механизме влияния возбудителей на выработку альфа-1антитрипсина у пациентов с ХЛЛ. Данный факт подтверждается также анализом различий уровня альфа-1антитрипсина сыворотки крови при влиянии каждого семейства и рода патогенов (таблицы 5.4.4, 5.4.5, 5.4.6, рисунок 5.4.2, рисунок 5.4.2).

Таблица 5.4.4 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от семейства и рода патогенов бактериальной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п / п	Возбудители инфекционных осложнений бактериальной этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень А1АТ, мг/л М±m	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализов анные			критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдена
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10				
1	Семейство: Streptococcaceae	62		–		21,8±0,4	1:2 p= 0,822	1:2 p=0,201	1:2 p=0,12
	Streptococcus agalactiae	11	J02.0, J15.3, N11.8, N30.1	–	–	20,7±1,3	1:3 p=0,803	1:3 p=0,215	1:3 p=0,31
	Streptococcus pyogenes	13	J02.0, J15.8, J20.2	–	–	24,5±0,9	1:4 p=0,785	1:4 p=0,197	1:4 p=0,25
	Streptococcus viridans	30	J01.8, J02.0, J15.8, J20.2, N11.8, N30.1	–	–	21,4±0,6	1:5 p=0,763 1:6 p=0,801	1:5 p=0,145 1:6 p=0,196	1:5 p=0,24 1:6 p=0, 39
	Streptococcus pneumoniae	8	J01.8, J15.8, J20.2	–	–	20,4±1,0	2:3 p=0,735 2:4 p=0,753	2:3 p=0,145 2:4 p=0,202	2:3 p=0,27 2:4 p=0,21
	Семейство: Staphylococcaceae	20		21		23,1±0,6	2:5 p=0,745	2:5 p=0,169	2:5 p=0,31
2	Staphylococcus epidermidis	12	J20.8, K12.0, N11.8, N30.1	11	A41.1	23,4± 0,9	2:6 p=0,743	2:6 p=0,185	2:6 p=0,48
	Staphylococcus aureus	8	J15.8, N11.8, N30.1	10	A41.0	22,8± 1,0	3:4 p=0,765 3:5 p=0,797	3:4 p=0,175 3:5 p=0,206	3:4 p=0,38 3:5 p=0,28
3	Семейство Enterobacteriaceae	9		10		22,7± 1,0	3:6 p=0,775	3:6 p=0,186	3:6 p=0,24
	Klebsiella pneumoniae	9	J15.0	–	–	20,6± 0,7	4:5 p=0,754	4:5 p=0,195	4:5 p=0,24
4	Escherichiacoli	–		10	A41.5	27,0± 1,0	4:6 p=0,834	4:6 p=0,175	4:6 p=0,28
	Семейство: Enterococcaceae	13		–			5:6 p=0,757	5:6 p=0,201	5:6 p=0,16
5	Enterococcus faecalis	13	J15.8, N11.8	–	–	17,7± 0,8			
	Семейство: Pseudomonadaceae	12		–					
5	Pseudomonas aeruginosa	12	J15.8, N11.8, N30.1	–	–	22,0± 2,2			

Продолжение таблицы 5.4.4

6	Семейство Moraxellaceae	22		–					
	Acinetobacter baumannii	22	J01.8, J15.8, J20.8,	–	–	22,7 ±0,9			

Таблица 5.4.5 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от семейства и рода патогенов вирусной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень А1АТ, мг/л	Статистическая значимость		
		Локализован ные		Генерализован ные			критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдент а
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	M±m			
1	Вирус герпеса 1 типа (HSV-1)	43	<i>B00.1, B00.2, B00.5</i>	9	<i>B00.7</i>	28,6±1,0	1:2 p=0,813	1:2 p=0,176	1:2 p=0,01
2	Вирус Эпштейна Барр (ВГЧ-4)	–	–	11	<i>B27.0</i>	38,8±0,8	1:3 p=0,822	1:3 p=0,195	1:3 p=0,32
3	Грипп (птичий, гонконгский, H1N1)	29	<i>J10.0, J10.1</i>	–	–	28,8±1,4	1:4 p=0,745	1:4 p=0,197	1:4 p=0,27
4	Парагрипп	25	<i>J20.4, J12.2</i>	–	–	28,1±1,6	1:5 p=0,732	1:5 p=0,203	1:5 p=0,001
5	Цитомегаловирус (CMV)	–	–	12	<i>B27.1</i>	42,1±1,4	2:3 p=0,816	2:3 p=0,177	2:3 p=0,01
							2:4 p=0,811	2:4 p=0,174	2:4 p=0,01
							2:5 p=0,783	2:5 p=0,199	2:5 p=0,001
							3:4 p=0,755	3:4 p=0,202	3:4 p=0,55
							3:5 p=0,782	3:5 p=0,204	3:5 p=0,001
							4:5 p=0,811	4:5 p=0,197	4:5 p=0,001

Таблица 5.4.6 - Уровни альфа-1-антитрипсина в зависимости от семейства и рода патогенов грибковой этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п / п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень А1АТ, мг/л	Статистическая значимость		
		Локализован ные		Генерализова нные			критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	М±m			
1	Candida	61	K12.0	—	—	27,3±1,2	1:2	1:2	1:2
2	Aspergillus	51	B44.2	—	—	31,2±1,5	p=0,743	p=0,179	p=0,05

Из рисунка 5.4.3 видно, что наименьшее влияние на выработку альфа-1-антитрипсина из бактериальных возбудителей осложнений ХЛЛ оказывает *E. faecalis*, вызывающий у пациентов с ХЛЛ пневмонию (J15.8) и тубулоинтерстициальные нефриты (N11.8). Другие микроорганизмы, вызывающие инфекционные осложнения у пациентов с ХЛЛ стимулируют синтез альфа-1-антитрипсина в больших концентрациях, статистически значимо не отличающихся между собой.

Среди представителей вирусов наибольшее влияние на синтез альфа-1-антитрипсина в организме пациентов с ХЛЛ наиболее лидируют вирус Эпштейна Барр (ВГЧ-4) и цитомегаловирус (CMV). Они вызывают осложнения генерализованного характера (инфекционный мононуклеоз, вызванный вирусом Эпштейна Барр - В27.0 и цитомегаловирусный мононуклеоз В27.1 соответственно). Локализованные формы вирусных осложнений сопровождались статистически не значимыми изменениями концентраций альфа-1-антитрипсина.

Представители грибковой микрофлоры у пациентов с ХЛЛ также влияют на увеличение уровня альфа-1-антитрипсина при развитии инфекционных осложнений, однако статистическая значимость различий концентрации альфа-1-антитрипсина при выделении представителей семейств *Candida* и *Aspergillus* проходит только по первому порогу ($p < 0.05$)

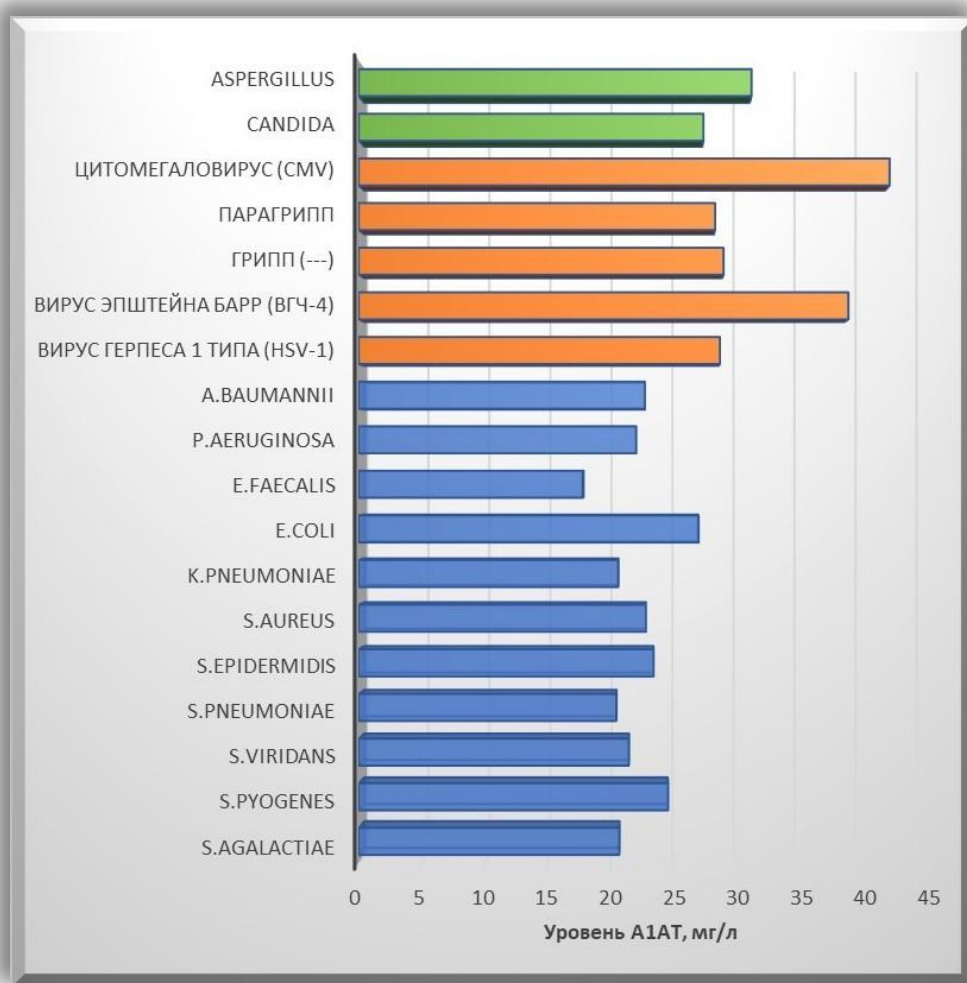


Рисунок 5.4.3 - Уровень альфа-1-антитрипсина (мг/л) в зависимости от семейства и рода патогенов

5.5 Закономерности изменений уровня альфа-1-антитрипсина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений

Было проведено исследование уровня альфа-1-антитрипсина в динамике во время трех периодов лечения инфекционных осложнений антибактериальными, противовирусными и антимикотическими препаратами в зависимости от лидирующего вида возбудителя. Первый этап исследования уровня альфа-1-антитрипсина до начала лечения осложнений, второй этап - через 4 дня после начала лечения и третий этап - через 5 дней после завершения лечения инфекционных осложнений. На данных этапах лечение основного заболевания стандартными схемами химиотерапии приостанавливалось до разрешения осложнений. По данной схеме были исследованы три категории пациентов с ХЛЛ: проходящие стационарное лечение, состоящие на

амбулаторном наблюдении и при впервые выявленной патологии ХЛЛ. Результаты анализа полученных данных представлены в таблицах 5.5.1, 5.5.2 и 5.5.3.

Таблица 5.5.1 - Уровни альфа-1-антитрипсина (мг/л) в сыворотке крови больных ХЛЛ в период стационарного лечения основного заболевания в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы пациентов	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=89)	Локализованная (n=58)	21,9±0,5	27,9±0,7	13,3±0,3	I/II p=0,831 I/III p=0,775 II/III p=0,785	I/II p=0,202 I/III p=0,168 II/III p=0,164	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=31)	25,7±0,5	31,3±0,6	15,7±0,4	I/II p=0,744 I/III p=0,794 II/III p=0,765	I/II p=0,217 I/III p=0,177 II/III p=0,197	I/II p<0,08* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения вирусной этиологии (n=58)	Локализованная (n=40)	27,8±0,8	30,1±1,0	15,4±0,8	I/II p=0,807 I/III p=0,791 II/III p=0,723	I/II p=0,189 I/III p=0,164 II/III p=0,191	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=18)	40,9±0,9	45,5±1,2	26,1±1,1	I/II p=0,833 I/III p=0,705 II/III p=0,776	I/II p=0,201 I/III p=0,161 II/III p=0,192	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=50)	Локализованная (n=50)	28,4±1,1	30,4±1,2	15,8±0,7	I/II p=0,729 I/III p=0,775 II/III p=0,803	I/II p=0,196 I/III p=0,205 II/III p=0,157	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Таблица 5.5.2 - Уровни альфа-1-антитрипсина (мг/л) в сыворотке крови больных ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы больных	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=46)	Локализованная (n=46)	21,5±0,6	26,4±0,8	13,8±0,4	I/II p=0,801 I/III p=0,752 II/III p=0,784	I/II p=0,183 I/III p=0,202 II/III p=0,194	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—
Осложнения вирусной этиологии (n=44)	Локализованная (n=34)	27,7±1,0	30,1±1,1	18,3±0,7	I/II p=0,793 I/III p=0,845 II/III p=0,743	I/II p=0,200 I/III p=0,194 II/III p=0,172	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=10)	36,8±0,4	40,3±1,6	26,2±1,0	I/II p=0,741 I/III p=0,753 II/III p=0,803	I/II p=0,202 I/III p=0,143 II/III p=0,194	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=37)	Локализованная (n=37)	28,1±2,7	30,2±2,8	19,3±1,9	I/II p=0,815 I/III p=0,753 II/III p=0,775	I/II p=0,196 I/III p=0,176 II/III p=0,213	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Таблица 5.5.6 - Уровни альфа-1-антитрипсина (мг/л) в сыворотке крови у впервые выявленных больных ХЛЛ в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы больных	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=34)	Локализованная (n=34)	20,87±0,73	26,0±0,9	11,9±0,4	I/II p=0,801 I/III p=0,729 II/III p=0,762	I/II p=0,197 I/III p=0,201 II/III p=0,196	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—			
Осложнения вирусной этиологии (n=27)	Локализованная (n=23)	30,37±2,40	32,3±2,5	17,8±1,5	I/II p=0,802 I/III p=0,776 II/III p=0,755	I/II p=0,196 I/III p=0,207 II/III p=0,212	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=4)	38,82±1,50	45,1±1,7	20,3±0,7	I/II p=0,756 I/III p=0,795 II/III p=0,803	I/II p=0,184 I/III p=0,167 II/III p=0,209	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения грибковой этиологии (n=25)	Локализованная (n=25)	29,98±4,66	32,2±4,4	19,2±2,9	I/II p=0,791 I/III p=0,765 II/III p=0,778	I/II p=0,166 I/III p=0,186 II/III p=0,163	I/II p<0,05* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—			

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Выявлено достоверное различие уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки крови в процессе лечения инфекционных осложнений с его показателями до лечения антибактериальными, противовирусными и антимикотическими препаратами ($p < 0,001$), причем такое различие справедливо как для уровня альфа-1-антитрипсина зафиксированного после 4 дней от начала лечения осложнений, так и через 5 дней после завершения соответствующей терапии. Через 4 дня после начала терапии наблюдается умеренное повышение концентрации альфа-1-антитрипсина в сыворотке пациентов с ХЛЛ, что в пределах 1,2 раз превышает исходные значения. При стабилизации процесса и нивелировании клинических проявлений инфекционных осложнений, уровень альфа-1-антитрипсина статистически значимо снижается, но не достигает границ нормы (в сравнении с исходными концентрациями различия составляют в среднем от 1,2 до 1,5 раз и в 1,5-2,1 раза ниже показателей исследованных, за период после 4 дней от начала лечения осложнений).

Также был проведен корреляционный анализ полученных показателей уровня альфа-1-антитрипсина. В анализ были включены значения концентраций до и после лечения (через 5 дней после окончания терапии) инфекционных осложнений. Выявлена сильная положительная корреляция влияния проводимого лечения на уровень альфа-1-антитрипсина в период стационарного лечения ХЛЛ, амбулаторного наблюдения ХЛЛ и у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ:

- при осложнениях бактериального генеза: увеличение уровня альфа-1-антитрипсина под влиянием проводимого лечения антибактериальными препаратами (ЛАП) $r_1 = 0,976$, $p < 0,001$; а также снижение показателя альфа-1-антитрипсина после завершения ЛАП в сравнении с исходным уровнем альфа-1-антитрипсина $r_2 = 0,895$, $p < 0,001$ и в сравнении с периодом проведения ЛАП $r_3 = 0,883$, $p < 0,001$.

- при осложнениях вирусного генеза: увеличение уровня альфа-1-антитрипсина под влиянием проводимого лечения противовирусными препаратами (ЛПВП) $r_1 = 0,993$, $p < 0,001$; а также снижение показателя альфа-1-антитрипсина после завершения ЛПВП в сравнении с исходным уровнем альфа-1-антитрипсина $r_2 = 0,807$, $p < 0,001$ и в сравнении с периодом проведения ЛПВП $r_3 = 0,796$, $p < 0,001$.

- при осложнениях грибковой этиологии: увеличение уровня альфа-1-антитрипсина под влиянием проводимого лечения антимикотическими препаратами (ЛАМП) $r_1 = 0,998$, $p < 0,001$; а также снижение показателя альфа-1-антитрипсина после завершения ЛАМП в сравнении с исходным уровнем альфа-1-антитрипсина $r_2 = 0,845$, $p < 0,001$ и в сравнении с периодом проведения ЛАМП $r_3 = 0,836$, $p < 0,001$ (рисунки 5.5.1, 5.5.2, 5.5.3).

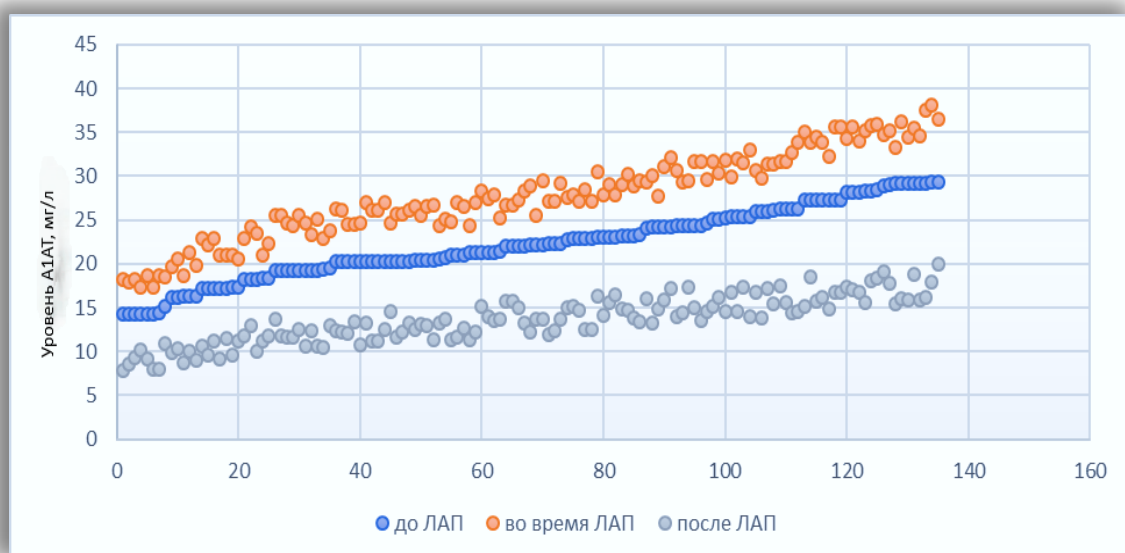


Рисунок 5.5.1 - Зависимость уровня альфа-1-антитрипсина (мг/л) от схем лечения осложнений бактериальной этиологии

Примечание: ЛАП- лечение антибактериальными препаратами

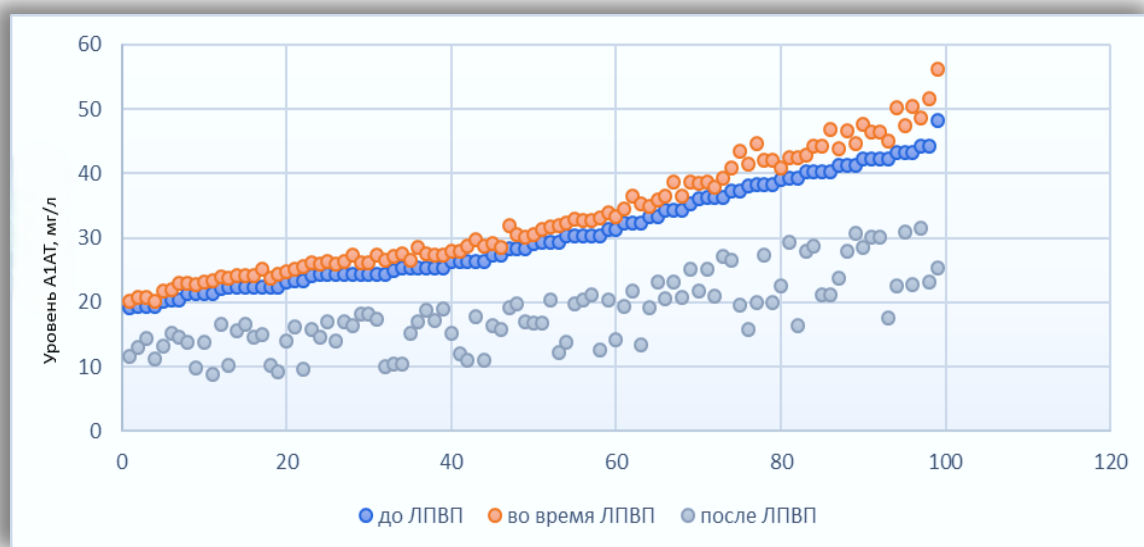


Рисунок 5.5.2 - Зависимость уровня альфа-1-антитрипсина (мг/л) от схем лечения осложнений вирусной этиологии

Примечание: ЛПВП- лечение противовирусными препаратами

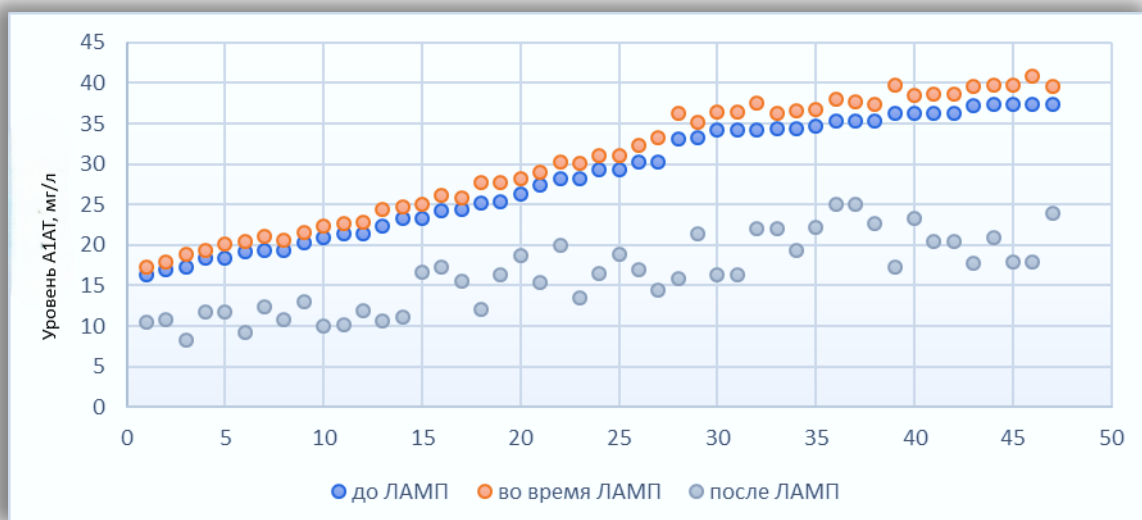


Рисунок 5.5.3 - Зависимость уровня альфа-1-антитрипсина (мг/л) от схем лечения осложнений грибковой этиологии

Примечание: ЛАМП- лечение антимикотическими препаратами

Таким образом, анализ полученных значений уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки крови больных ХЛЛ в динамике на трех этапах применения схем лечения инфекционных осложнений, показывает статистически значимую зависимость концентрации альфа-1-антитрипсина от стадии течения осложнения, периода проведения терапии и разрешения патологии бактериального, вирусного или грибкового генеза, что может быть использовано для контроля эффективности терапии данной группы осложнений у пациентов с ХЛЛ.

В последующем была выявлена сила воздействия каждого фактора влияния (этиологии бактериального, вирусного и грибкового генеза) на изменение уровня альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови больных ХЛЛ. Для этого был проведен однофакторный дисперсионный анализ уровня альфа-1-антитрипсина сыворотки пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии возбудителя инфекционных осложнений. Дисперсионный комплекс для изучения силы влияния фактора воздействия (этиология патогена) включал данные уровня альфа-1-антитрипсина пациентов с ХЛЛ в разные периоды течения основного заболевания (амбулаторное наблюдение и стационарное лечение, а также у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ). Анализ силы влияния проводился по отношению к контролю (30 условно-здоровых пациентов и 36 больных ХЛЛ без наличия инфекционных осложнений) (таблица 5.5.7).

Таблица 5.5.7 - Сила влияния инфекционных осложнений бактериального, вирусного и грибкового генеза на уровень альфа-1-антитрипсина сыворотки крови больных ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Вариансы (средние квадраты, σ2)	F	F- критическое	Сила влияния (%)
Стадия А ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	16010,33	4	4002,58	235,96	2,45	88****
Случайное (внутригрупповое)	1848,95	109	16,96			
Общее	17859,28	113	158,04			
Стадия В ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	22161,24	4	5540,31	258,42	2,43	86****
Случайное (внутригрупповое)	3301,52	154	21,43			
Общее	25462,86	158	161,15			
Стадия С ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	27689,43	4	6922,35	274,49	2,41	83****
Случайное (внутригрупповое)	5068,92	201	25,21			
Общее	32758,36	205	159,79			

Примечание: ***- $F > 0,999$, где F-показатель достоверности по Фишеру.

Дисперсионный анализ показал высокую степень силы влияния инфекционных осложнений на уровень альфа-1-антитрипсина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ вне зависимости от стадии течения основного заболевания. Таким образом, патогенетическое воздействие возбудителей инфекционных осложнений увеличивало уровень альфа-1-антитрипсина при развитии патологических процессов в организме больных. Сила влияния патогенов при стадии В ХЛЛ составила 86%, несколько меньшее влияние при стадии С ХЛЛ – 83%. Наибольшее же влияние на увеличение уровня альфа-1-антитрипсина наблюдается при стадии А ХЛЛ (88%), что можно объяснить большим сохранением функциональных возможностей организма пациентов. Таким образом, результаты исследований показали, что изменение концентрации альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови больных ХЛЛ зависело не только от наличия возбудителя инфекционных осложнений, но и от стадии течения основного заболевания.

При проведении анализа силы влияния проводимого лечения химиопрепаратами (схемы R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) на уровень альфа-1-антитрипсина у пациентов без наличия осложнений инфекционной этиологии также использовался метод однофакторного дисперсионного анализа (таблица 5.5.8)

Таблица 5.5.8 - Сила влияния схем химиотерапии (R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) на уровень альфа-1-антитрипсина сыворотки крови больных ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Варианты (средние квадраты, σ^2)	F	F-критическое	Сила влияния (%)
Факториальное (межгрупповое)	44363,97	4	11090,99	587,66	2,51	96***
Случайное (внутригрупповое)	1264,49	67	18,87			
Общее	45628,47	71	642,65			

Примечание: ***- $F > 0,999$, где F-показатель достоверности по Фишеру.

Результат анализа показывает значимую силу влияния схем химиотерапевтического лечения на изменение уровня альфа-1-антитрипсина в сравнении с результатами влияния этиологических факторов бактериального, вирусного и грибкового генеза на увеличение его концентрации в сыворотке крови. Было установлено некоторое преобладание силы влияния препаратов входящих в схемы химиотерапии при лечении ХЛЛ, что, вероятно, связано с их действием на клетки печени - основные продуценты альфа-1-антитрипсина. Данные различия силы влияния должны приниматься во внимание при трактовке результатов исследования уровня альфа-1-антитрипсина среди пациентов, которым проводится лечение химиопрепаратами, так как возможным перекрестные воздействия как схем химиотерапии, так и непосредственно этиологических факторов, вызывающих осложнения инфекционного генеза. Кроме того, мы допускаем прямое влияние препаратов, входящих в схемы лечения больных ХЛЛ на биохимические свойства возбудителей инфекционных осложнений.

Однако при отсутствии влияния схем химиотерапии нами достоверно доказано статистически значимое влияние каждого из видов инфекционных агентов на увеличение уровня альфа-1-антитрипсина в том числе, и на этапе доклинического проявления осложнений. Это позволяет использовать альфа-1-антитрипсин в комплексе с другими диагностическими критериями для прогнозирования возникновения и оценки тяжести инфекционной патологии при ХЛЛ.

ГЛАВА 6 ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЛАКТОФЕРРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

6.1 Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от присоединения инфекционных осложнений

При оценке степени увеличения уровня лактоферрина сыворотки крови относительно показателей контрольной группы были сформированы 3 группы: группа 1 – умеренное повышение лактоферрина до 2 раз, группа 2 - значительное повышение лактоферрина от 2 до 4 раз, группа 3 – выраженное повышение лактоферрина более 4 раз от стандартных показателей.

Уровень лактоферрина сыворотки венозной крови условно-здоровых доноров (контрольная группа, n=30) находился в пределах от 755 нг/мл до 998 нг/мл, $M \pm m = 876 \pm 17$ нг/мл. Сравнение уровня лактоферрина у пациентов разных групп продемонстрировало наличие статистически значимых отличий в уровне лактоферрина между контрольной группой и Группой 2 и на отсутствие статистически значимых отличий в уровне ЛФ между контрольной группой и Группой 1 (таблица 6.1.1).

Таблица 6.1.1 - Концентрация лактоферрина у пациентов ХЛЛ и группы контроля

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Пациенты с ХЛЛ	
		Группа 1 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на амбулаторном наблюдении n=36)	Группа 2 (пациенты с ХЛЛ, находящиеся на стационарном лечении n=34)
Уровень ЛФ, нг/мл	876±17	1196±21	1221±22
Min-Max уровень ЛФ, нг/мл	755 - 998	1010 - 1382	1025 – 1417
Статистическая значимость (критерий χ^2)		0,675	0,801
Статистическая значимость (критерий Фишера)		0,173	0,154
Статистическая значимость (критерий Стьюдента)		p=0,176 [^]	p=0,003*

Примечание: [^] - различия статистически не значимы;

* - различия статистически значимы;

p - статистическая значимость по сравнению с контролем.

Также был изучен уровень лактоферрина у пациентов при применении различных схем химиотерапии. Выявлено наличие достоверного влияния схем химиотерапии на выработку лактоферрина и его выделения в сыворотку крови при ХЛЛ. Изучение проводилось в группе пациентов без наличия инфекционных осложнений (таблица 6.1.2).

Таблица 6.1.2 - Анализ влияния схем химиотерапии на выработку лактоферрина у пациентов с ХЛЛ

Уровень ЛФ, нг/мл	Схемы химиотерапии							
	R-CHOP		FCR		BR		Хлорамбуцил (лейкеран)	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
M±m	1145± 34	674± 32	1222± 37	761± 44	1234± 36	726± 27	1182 ± 55	792± 38
Min-Max	1052- 1330	532-826	1014- 1327	550-925	1089- 1377	645-868	1001- 1478	612-975
Статистическая значимость (критерий χ^2)	0,876		0,654		0,762		0,832	
Статистическая значимость (критерий Фишера)	0,124		0,241		0,126		0,182	
Статистическая значимость (Т критерий для парных выборок)	0,001*		0,001*		0,001*		0,001*	

Примечание: * - различия статистически значимы;

M – среднее, m – стандартная ошибка среднего;

Min- минимальный уровень ЛФ; Max – максимальный уровень ЛФ.

Результаты сравнения уровня лактоферрина до и после применения различных схем химиотерапии указывают на наличие статистически значимых отличий между выборками. Все схемы (R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) достоверно влияли на снижение уровня лактоферрина ($p < 0,001$) в сравнении с исходными показателями (рисунок 6.1.1).

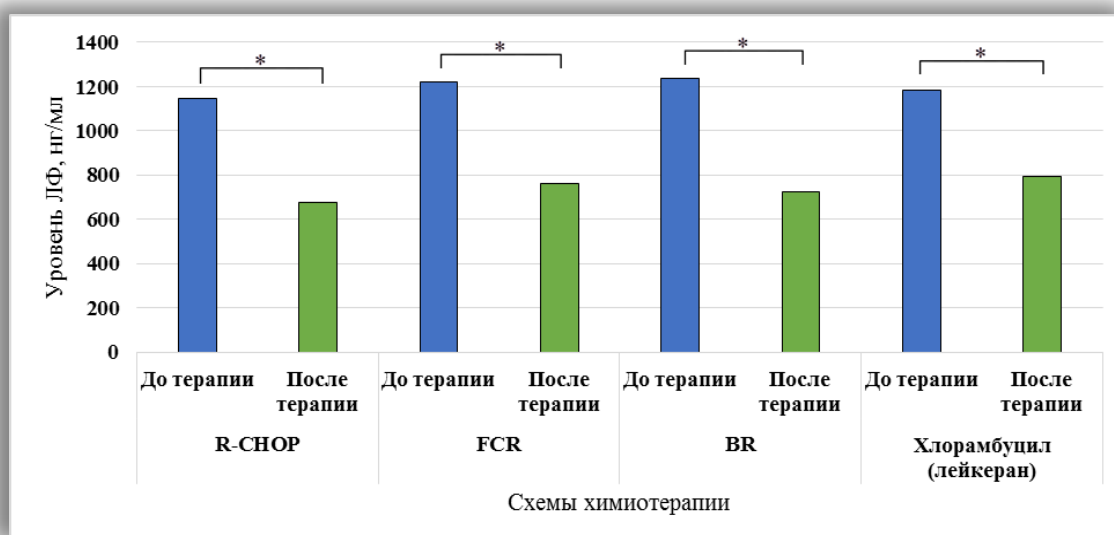


Рисунок 6.1.1 - Влияние различных схем химиотерапии на изменение уровня лактоферрина у больных ХЛЛ.

Примечание: * – различия до и после лечения статистически значимы (значения p для Т критерия для парных выборок $<0,05$)

6.2 Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от периодов течения основного заболевания при присоединении инфекционных осложнений

При течении процесса в период стационарного лечения увеличение лактоферрина выше контрольных значений наблюдалось при всех эпизодах наблюдения (197 эпизодов), выражено превысив значения группы сравнения без инфекционных осложнений ($M \pm m = 755 \pm 20$) (таблица 6.2.1.).

Таблица 6.2.1 - Концентрация лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ на разных стадиях ХЛЛ в период стационарного лечения заболевания

Уровень ЛФ, нг/мл	Стадия А (n=39)	Стадия В (n=56)	Стадия С (n=102)
Min величина	2756	3095	3012
Max величина	3996	5596	5975
Mid величина	3491 ± 35	4449 ± 35	4651 ± 43
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	0,001*	0,001*	0,001*

Примечание: * - различия статистически значимы;
p - value по сравнению с контролем

При сравнении уровня лактоферрина в трех выборках (у пациентов на трех стадиях ХЛЛ в период амбулаторного лечения) были показаны статистически значимые отличия между выборками по уровню лактоферрина в сравнении с контролем (период амбулаторного наблюдения без инфекционных осложнений – $M \pm m = 1196 \pm 21$), а также выявлено статистически значимое отличие уровня лактоферрина по сравнению с периодом стационарного лечения при наличии инфекционных осложнений. Средние значения лактоферрина на каждой стадии ХЛЛ умеренно превышали уровень при ХЛЛ без инфекционных осложнений и оказались значительно ниже, чем при инфекционных осложнениях основного заболевания в период стационарного лечения (таблица 6.2.2).

Таблица 6.2.2 - Концентрация лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ на разных стадиях ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения течения заболевания

Уровень ЛФ, нг/мл	Стадия А (n=36)	Стадия В (n=41)	Стадия С (n=50)
Min величина	2425	2731	2657
Max величина	3624	3952	4472
Mid величина	3193±46	3398±35	3666±42
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	p < 0,001*	p < 0,001*	p < 0,001*
	p ¹ < 0,001*	p ¹ < 0,001*	p ¹ < 0,001*

Примечание: * - различия статистически значимы;
p - value по сравнению с контролем;
p¹ - value по сравнению с периодом стационарного лечения

В таблице 6.2.3 представлены изменения уровня лактоферрина у впервые выявленных пациентов с диагнозом ХЛЛ, осложненного инфекционным синдромом при различных стадиях его течения в сравнении с результатами у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ без присоединившейся инфекции ($M \pm m = 1004 \pm 18$ нг/мл). Минимальные уровни лактоферрина демонстрируют неоднородность при разных стадиях ХЛЛ от 2156 нг/мл (при стадии А) до 3881 нг/мл (при стадии С). Аналогичная ситуация наблюдается и в показателях максимального уровня лактоферрина, однако с обратной зависимостью от 4400 нг/мл при стадии С и 4941 нг/мл при стадии А. У 15 пациентов с А стадией уровень лактоферрина превышал нормальные показатели умеренно (до 2854 нг/мл), однако наиболее часто прослеживалось его значительное увеличение с диапазоном от 3365 до 4941 нг/мл как, например, у 27 пациентов с впервые выявленным заболеванием ХЛЛ. Так же, как и при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ выявлено отсутствие выраженного превышения уровня лактоферрина при стадии С ХЛЛ (таблица 6.2.3).

Таблица 6.2.3 - Концентрация лактоферрина сыворотки крови у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ на разных стадиях течения заболевания

Уровень ЛФ, нг/мл	Стадия А (n=29)	Стадия В (n=30)	Стадия С (n=27)
Min величина	2156	2252	3881
Max величина	4941	4161	4400
Mid величина	3967±39	3541±34	4193±35
P-value (критерий Краскел-Уоллеса)	p <0,001*	p <0,001*	p <0,001*
	p ¹ <0,05*	p ¹ <0,001*	p ¹ <0,001*
	p ² <0,001*	p ² <0,05*	p ² <0,05*

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value по сравнению с контролем;

p¹ - value по сравнению с периодом стационарного лечения;

p² - value по сравнению с периодом амбулаторного наблюдения пациентов с ХЛЛ

6.3 Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений

Средний уровень лактоферрина сыворотки венозной крови при присоединении инфекционных осложнений вирусной природы находился в пределах 3601± 26 нг/мл; при развитии инфекционных осложнений бактериальной этиологии, динамика изменений уровня лактоферрина в среднем составила 5761 ± 40 нг/мл, что более чем в 1,5 раза выше, чем при вирусных осложнениях ХЛЛ; микотические осложнения ХЛЛ способствовали повышению уровня лактоферрина сыворотки крови в среднем до 3241 ± 33 нг/мл. Группу сравнения данной категории пациентов составляли пациенты с ХЛЛ без инфекционных осложнений. Динамика зависимости данных показателей представлены в таблице 6.3.1.

Таблица 6.3.1 - Анализ различия концентрации лактоферрина у пациентов с ХЛЛ при присоединении инфекционных осложнений различной этиологии

Уровень ЛФ, нг/мл	Группа без инфекционных осложнений (n=102)	Этиология инфекционных осложнений		
		Бактериальная (n=169)	Вирусная (n=129)	Грибковая (n=112)
Min величина	1121	3146	3028	2542
Max величина	1548	5961	3944	3798

Продолжение таблицы 6.3.1

Mid величина	1258±28	5761 ± 40	3601± 26	3241 ± 33
Статистическая значимость (критерий Стьюдента)		p < 0,001*	p < 0,001*	p < 0,001*

Примечание: * - различия статистически значимы;
p - value по сравнению с контролем
(группа без инфекционных осложнений).

Сравнение уровня лактоферрина у пациентов с бактериальными, вирусными и грибковыми осложнениями с группой без инфекционных осложнений выявило наличие статистически значимых отличий между выборками по уровню лактоферрина у пациентов трех групп с группой без инфекционных осложнений.

Был проведен анализ результатов исследования уровня лактоферрина в зависимости от этиологии инфекционных осложнений и стадии течения ХЛЛ. При каждом из видов инфекционных осложнений ХЛЛ, средний уровень лактоферрина превышал его показатели у пациентов без осложнений ($p < 0,001$). Таким образом, уже на первом этапе лечения, концентрация лактоферрина сыворотки крови пациентов может служить критерием настороженности присоединения осложнений инфекционного генеза (таблица 6.3.2).

Таблица 6.3.2 - Концентрация лактоферрина сыворотки крови у пациентов с ХЛЛ в зависимости от этиологии инфекционных осложнений на разных стадиях течения основного заболевания

Этиология осложнений	Стадия ХЛЛ	Уровень ЛФ, нг/мл			Статистическая значимость		
		Min	Max	Mid величина	критерий χ^2	критерий χ^2	критерий Стьюдента
Бактериальные осложнения	A(n=39)	3146	4899	43575±35	$\frac{A^{BO}}{A^{BO}}$ p=0,787	$\frac{A^{BO}}{A^{BO}}$ p=0,176	$\frac{A^{BO}}{A^{BO}}$ p < 0,001*
	B(n=50)	3398	4841	4612±45	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p=0,699	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p=0,186	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p < 0,001*
	C(n=80)	3312	5961	4763±36	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p=0,754	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p=0,199	$\frac{A^{BO}}{A^{GO}}$ p < 0,05*
Вирусные осложнения	A(n=34)	3156	3784	3564±34	$\frac{B^{BO}}{B^{BO}}$ p=0,745	$\frac{B^{BO}}{B^{BO}}$ p=0,204	$\frac{B^{BO}}{B^{BO}}$ p < 0,001*
	B(n=41)	3028	3842	3739±39	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p=0,802	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p=0,164	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p < 0,001*
	C(n=54)	3249	3944	3702±32	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p=0,782	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p=0,193	$\frac{B^{BO}}{B^{GO}}$ p < 0,01*

Продолжение таблицы 6.3.2

Грибковые осложнения	A(n=31)	2746	3798	34906±36	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,693}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p=0,177}$	$\frac{C^{BO}/C^{BO}}{p < 0,001^*}$
	B(n=36)	2542	3810	3444±32	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,745}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,193}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p < 0,001^*}$
	C(n=45)	2827	3657	3314±34	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,792}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p=0,199}$	$\frac{C^{BO}/C^{GO}}{p < 0,01^*}$

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value сравнение между стадиями A, B и C при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, A^{BO}, BO или GO).

Из таблицы 6.3.2 видно, что на всех стадиях ХЛЛ при присоединении осложнений бактериальной, вирусной или грибковой этиологии фиксировалось значительное повышение уровня лактоферрина сыворотки крови, а именно, у 36,9% всех пациентов с осложнениями. Наивысшие концентрации лактоферрина были зафиксированы на стадиях A, B и C только при присоединении осложнений бактериальной этиологии (выраженное превышение показателей у 32,5% всех пациентов с осложнениями). При вирусных и грибковых инфекциях уровень лактоферрина не превышал границы значительных увеличений данного показателя (до 3,5 раз больше контроля).

Самый высокий уровень лактоферрина зафиксирован на стадии C ХЛЛ при присоединении бактериальных осложнений (5961 нг/мл). При обследовании данной категории пациентов имели место клинические, лабораторные и инструментальные признаки бактериальных осложнений, таких как заболевания органов дыхания от верхних отделов (синуситы, фарингиты, бронхиты) до нижних отделов (бактериальные пневмонии), а также бактериальная патология мочевыделительной системы (циститы и нефриты). Именно в этой группе пациентов (75 эпизодов) отмечается наибольший среднестатистический уровень лактоферрина - 4763±36 нг/мл. Данные показатели статистически значимо выше, чем у контрольной группы пациентов и группы пациентов с вирусными или грибковыми осложнениями.

Наименьшие средние показатели лактоферрина (3314±34 нг/мл) были получены у пациентов из группы с осложнениями грибковой этиологии, у которых максимальный его уровень не превышал 3657 нг/мл. Это ниже, чем при бактериальных осложнениях и вирусной инфекции. При сравнении результатов пациентов с вирусными осложнениями и пациентов без какой-либо инфекционной патологии, прослеживается прямо пропорциональная зависимость роста лактоферрина от умеренного до значительного превышения нормальных концентраций. У 60 пациентов уровень лактоферрина превышал нормальные значения более чем в 2 раза. В

дальнейшем у данных пациентов были обнаружены признаки вирус зависимых осложнений, таких как герпетические поражения кожи (везикулярный дерматит), ротовой полости (гингивостоматит и фаринготонзиллит), герпетическая болезнь глаз, грипп с пневмонией, моноклеоз. Наибольшее повышение лактоферрина в данной группе выявлено в 32 эпизодах из 129, у которых диагностировались осложнения вирусной этиологии генерализованной формы.

При анализе результатов, полученных при обследовании пациентов с ХЛЛ с наличием осложнений грибковой этиологии, выявлено увеличение концентрации лактоферрина в диапазоне от 2542 до 3810 нг/мл. У большинства пациентов данной категории помимо наличия грибковой патологии имелись и другие хронические заболевания бактериальной или вирусной этиологии в стадии латентного течения (хронические бронхиты, хронические тонзиллиты, циркулирующие в крови IgG к вирусу герпеса), которые в комплексе с грибковыми осложнениями давали более высокие значения лактоферрина, сопоставимые со значениями при вирусных инфекциях, но не превышавшие показатели при острых бактериальных патологиях. Таким образом, превышение уровня лактоферрина при бактериальных осложнениях статистически значимо были выше по третьему порогу ($p < 0,001$), однако данный показатель превышал вирусозависимое увеличение лактоферрина сыворотки крови только в 1,5 раза ($p < 0,01$).

Нами проведен анализ результатов уровня лактоферрина сыворотки крови в зависимости от этиологического фактора инфекционного осложнения и формы течения процесса (локализованная и генерализованная). Стадия течения ХЛЛ в данном случае не учитывалась. Данные представлены в таблице 6.3.3.

Таблица 6.3.3 - Уровни лактоферрина в зависимости этиологии осложнений и формы течения процесса

№ п/п	Форма осложнений	Этиологические факторы осложнений	n	ЛФ (нг/мл, $M \pm m$)		Статистическая значимость		
						критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
1	Локализованные	Бактериальные осложнения	138	4412 $\pm$ 30	3618 $\pm$ 32	$\frac{L^{BO}}{L^{VO}}$ $p=0,776$	$\frac{L^{BO}}{L^{VO}}$ $p=0,202$	$\frac{L^{BO}}{L^{VO}}$ $p < 0,001^*$
2		Вирусные осложнения	97	3376 $\pm$ 34		$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p=0,724$	$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p=0,215$	$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p < 0,001^*$
3		Грибковые осложнения	112	3167 $\pm$ 33		$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p=0,802$	$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p=0,187$	$\frac{L^{BO}}{L^{GO}}$ $p < 0,01^*$

Продолжение таблицы 6.3.3

4	Генерализованные	Бактериальные осложнения	31	5358±38	4863±36	$\frac{\Gamma_{\text{БО}} * \Gamma_{\text{ВО}}}{p=0,764}$	$\frac{\Gamma_{\text{БО}} * \Gamma_{\text{ВО}}}{p=0,224}$	$\frac{\Gamma_{\text{БО}} * \Gamma_{\text{ВО}}}{p < 0,001}$
5		Вирусные осложнения	32	3681±34				
6		Грибковые осложнения	0	—				

Примечание: * - различия статистически значимы;

p - value сравнение между локализованными и генерализованными формами при осложнениях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии (например, $\Gamma_{\text{БО, ВО}}$ или $\Gamma_{\text{ВО}}$).

В связи с тем, распределение этого показателя было нормальным, применена его оценка по критерию Стьюдента. Были установлены статистически значимые отличия по уровню лактоферрина между выборками пациентов с каждым этиологическим фактором осложнений в каждой из исследованных групп и выявлено значимое увеличение среднего уровня лактоферрина при всех видах патогенов, формах осложнений и стадиях ХЛЛ в сравнении с группой пациентов без инфекционных осложнений.

Влияние периода течения заболевания на уровень лактоферрина наиболее выражено прослеживалось при стационарном лечении пациентов с ХЛЛ, а также при случаях впервые выявленной патологии (пациенты с впервые установленным диагнозом ХЛЛ). При амбулаторном наблюдении и лечении пациентов с ХЛЛ повышение уровня лактоферрина было меньшим, однако концентрации значимо превышали показатели пациентов в различные периоды наблюдения и на различных стадиях ХЛЛ при отсутствии инфекционных осложнений.

При анализе полученных данных обращает внимание наиболее выраженное повышение лактоферрина при разных периодах ХЛЛ во время генерализации инфекционного процесса, что подтверждается данными как при бактериальных, так и при вирусных осложнениях.

6.4 Изменения уровня лактоферрина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от нозологии инфекционных осложнений

Нами были исследованы динамические изменения средних уровня лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ при различных нозологиях бактериальной, вирусной и

грибковой инфекции. Видовой состав возбудителей, вызывающих инфекционные осложнения ХЛЛ был описан в главе 4.4..

Результаты анализа лактоферрина сыворотки крови пациентов при разных нозологиях осложнений представлены в таблицах 6.4.1, 6.4.2, 6.4.3.

При сравнении уровня лактоферрина у пациентов в группах локализованных и генерализованных инфекций (таблицы 6.4.1, 6.4.2, 6.4.3) в зависимости от нозологии инфекционных осложнений установлено отсутствие статистически значимых внутригрупповых отличий по уровню лактоферрина. Кроме этого были проведены сравнения между группами локализованных и генерализованных форм в целом (таблицы 6.4.1 и 6.4.2), в результате чего были выявлены существующие статистически значимые отличия по уровню лактоферрина локализованных и генерализованных форм бактериальных и вирусных осложнений (генерализации процесса грибковой инфекции зафиксировано не было).

Таблица 6.4.1 - Уровни лактоферрина в зависимости от нозологии бактериальных осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/ п	Диагноз инфекционного осложнения	n		ЛФ (нг/мл, M±m)	Статистическая значимость			
					критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдент a	
I.	Локализованные формы бактериальных осложнений							
1.	Другой острый синусит (Острые синуситы, вовлекающие более одного синуса, но не пансинуситы) <i>МКБ-10 J01.8</i>	22	37	4425± 34	4102±40	I:II p=0,776	I:II p=0,205	I:II p<0,001*
						1:2 p=0,793	1:2 p=0,224	1:2 p=0,49
	Стрептококковый фарингит (Стрептококковая ангина) <i>МКБ-10 J02.0</i>	15	3969± 36	1:3 p=0,698		1:3 p=0,186	1:3 p=0,31	
				1:4 p=0,706		1:4 p=0,193	1:4 p=0,30	
2.	Пневмония, вызванная <i>Klebsiellapneumoniae</i> <i>МКБ-10 J15.0</i>	9	36	4271± 37	4003±36,	1:5 p=0,693	1:5 p=0,203	1:5 p=0,35
						2:3 p=0,803	2:3 p=0,226	2:3 p=0,34
	Пневмония, вызванная стрептококком группы В <i>МКБ-10 J15.3</i>	12		4123± 35		2:4 p=0,754	2:4 p=0,194	2:4 p=0,30
						2:5 p=0,749	2:5 p=0,153	2:5 p=0,41
	Другие бактериальные пневмонии <i>МКБ-10 J15.8</i>	15		4039± 35		3:4 p=0,802	3:4 p=0,218	3:4 p=0,34
3.	Острый бронхит, вызванный стрептококком <i>МКБ-10 J20.2</i>	10	21	3812± 39	3771±35	3:5 p=0,799	3:5 p=0,165	3:5 p=0,38
						4:5 p=0,692	4:5 p=0,192	4:5 p=0,31

Продолжение таблицы 6.4.1

	Острый бронхит, вызванный другими уточненными агентами <i>МКБ-10 J20.8</i>	11		3770±35				
4.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) <i>МКБ-10 K12.0</i> (Стрептококковые и стафилококковые стоматиты.)	16	16	3653±32				
5.	Другие хронические тубулоинтерстициальные нефриты <i>МКБ-10 N11.8</i>	16	28	3953±35	3889±34			
	Интерстициальный цистит (хронический) <i>МКБ-10 N30.1</i>	12		3772±37				
II.	Генерализованные формы бактериальных осложнений							
6.	Сепсис, вызванный <i>Staphylococcus aureus</i> <i>МКБ-10 A41.0</i>	10		5986±43	6:7 p=0,765 6:8 p=0,801	6:7 p=0,189 6:8 p=0,196	6:7 p=0,44 6:8 p=0,31	
7.	Сепсис, вызванный другим уточненным стафилококком (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) <i>МКБ-10 A41.1</i>	11		5668±40	7:8 p=0,743	7:8 p=0,192	7:8 p=0,34	
8.	Сепсис, вызванный другими грамотрицательными микроорганизмами (<i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia coli</i>) <i>МКБ-10 A41.5</i>	10		5157±42				

Таблица 6.4.2 - Уровни лактоферрина в зависимости от нозологии вирусных осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	n		ЛФ (нг/мл, M±m)		Статистическая значимость		
						критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
I.	Локализованные формы вирусных осложнений							
1.	Герпетический везикулярный дерматит <i>МКБ-10 B00.1</i>	2	41	3215± 31	3044±32	I:II p=0,714	I:II p=0,202	I:II p<0,001*
	Герпетический гингивостоматит и фаринготонзиллит <i>МКБ-10 B00.2</i>	36		3045± 30		1:2 p=0,694	1:2 p=,239	1:2 p=0,38
						1:3 p=0,704	1:3 p=0,178	1:3 p=0,42
						2:3 p=0,739	2:3 p=0,194	2:3 p=0,43

Продолжение таблицы 6.4.2

	Герпетическая болезнь глаз <i>МКБ-10 B00.5</i>	3		2998± 34				
2.	Гриппозная бронхопневмония, сезонный вирус гриппа идентифицирован <i>МКБ-10 J10.0</i>	17	31	3387± 32	3299±33,			
	Грипп с другими респираторными проявлениями <i>МКБ-10 J10.1</i>	14		3412± 40				
3.	Пневмония, вызванная вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J12.2</i>	10	23	3523± 34	3461±30			
	Острый бронхит, вызванный вирусом парагриппа <i>МКБ-10 J20.4</i>	15		3489± 31				
II.	Генерализованные формы вирусных осложнений							
4.	Диссеминированная герпетическая болезнь (Сепсис, вызванный вирусом простого герпеса) <i>МКБ-10 B00.7</i>	9		3698±38	4:5 p=0,756 4:6 p=0,793 5:6 p=0,768	4:5 p=0,215 4:6 p=0,165 5:6 p=0,191	4:5 p=0,24 4:6 p=0,40 5:6 p=0,13	
5.	Мононуклеоз, вызванный гамма- герпетическим вирусом (вирусом Эпштейна-Барр) <i>МКБ-10 B27.0</i>	11		3607±31				
6.	Цитомегаловирусны й мононуклеоз <i>МКБ-10 B27.1</i>	12		3659±30				

Таблица 6.4.3 - Уровни лактоферрина в зависимости от нозологии грибковых осложнений при локализованной и генерализованной формах

№ п/п	Диагноз инфекционного осложнения	п	ЛФ (нг/мл, M±m)	Статистическая значимость		
				критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
I.	Локализованные формы грибковых осложнений					
1.	Рецидивирующие афты полости рта (Афтозный стоматит (большой) (малый)) МКБ-10 K12.0 (Кандидозные)	61	3096±41	1:2 p=0,743	1:2 p=0,195	1:2 p=0,29
2	Тонзиллярный аспергиллез МКБ-10 B44.2	51	3319±34			
II.	Генерализованные формы грибковых осложнений					
3.	—	—	—	—	—	—

При анализе полученных средних уровней лактоферрина сыворотки крови, приведенных в таблицах 6.4.1, 6.4.2, 6.4.3 было зафиксировано статистически значимое его повышение при всех нозологических формах осложнений бактериальной, вирусной и грибковой этиологии. При этом в случае возникновения генерализации процесса, данный показатель увеличивался в 1,5-2 раза в сравнении с процессами локального характера. Внутригрупповое различие уровня лактоферрина (группы локализованных и генерализованных осложнений) не было статистически значимо, что говорит об общем механизме влияния видов патогенов на выработку лактоферрина и высвобождение его в сыворотку крови при атаке бактериальных, вирусных или грибковых агентов на иммунную систему пациентов с ХЛЛ (рисунки 6.4.1, 6.4.2).



Рисунок 6.4.1 - Уровни лактоферрина в зависимости от нозологической формы осложнений

Примечание: Нозологические формы указаны согласно МКБ-10.



Рисунок 6.4.2 - Уровни лактоферрина в зависимости от нозологической формы осложнений

Примечание: Нозологические формы указаны согласно МКБ-10.

Факт общего механизма влияния видов патогенов на выработку лактоферрина подтверждает также анализ уровня лактоферрина при влиянии каждого семейства и рода патогенов (таблицы 6.4.4, 6.4.5, 6.4.6).

Таблица 6.4.4 - Уровни лактоферрина в зависимости от семейства и рода патогенов бактериальной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п / п	Возбудители инфекционных осложнений бактериальной этиологии	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень ЛФ, нг/мл M±m	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализов анные			критерий χ2	критерий Фишера	критерий Стьюдена
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10				
1	Семейство: Streptococcaceae	62		—		4378± 30	1:2 p= 724	1:2 p= 0,201	1:2 p=0,001
	Streptococcus agalactiae	11	J02.0, J15.3, N11.8, N30.1	—	—	4153± 53	1:3 p=0,785	1:3 p=0,165	1:3 p=0,01
	Streptococcus pyogenes	13	J02.0, J15.8, J20.2	—	—	4961± 53	1:4 p=0,767 1:5 p=0,799	1:4 p=0,143 1:5 p=0,176	1:4 p=0,01 1:5 p=0,08
	Streptococcus viridans	30	J01.8, J02.0, J15.8, J20.2, N11.8, N30.1	—	—	4363± 37	1:6 p=0,815 2:3 p=0,754	1:6 p=0,199 2:3 p=0,203	1:6 p=0,039 2:3 p=0,01

Продолжение таблицы 6.4.4

	Streptococcus pneumoniae	8	J01.8, J15.8, J20.2	–	–	3830±45	2:4 p=0,749	2:4 p=0,221	2:4 p=0,01
2	Семейство: Staphylococcaceae	20		21		5958±57	2:5 p=0,808	2:5 p=0,187	2:5 p=0,01
	Staphylococcus epidermidis	12	J20.8, K12.0, N11.8, N30.1	11	A41.1	5995±73	2:6 p=0,799	2:6 p=0,134	2:6 p=0,01
	Staphylococcus aureus	8	J15.8, N11.8, N30.1	10	A41.0	5773±34	3:4 p=0,754	3:4 p=0,156	3:4 p=0,01
3	Семейство Enterobacteriaceae	9		10		4767±78	3:5 p=0,803	3:5 p=0,187	3:5 p=0,01
	Klebsiella pneumoniae	9	J15.0	–	–	7423±58	3:6 p=0,777	3:6 p=0,209	3:6 p=0,05
	Escherichia coli	–		10	A41.5		4:5 p=0,745	4:5 p=0,212	4:5 p=0,44
4	Семейство Enterococcaceae	13		–		3814±52	4:6 p=0,801	4:6 p=0,203	4:6 p=0,001
	Enterococcus faecalis	13	J15.8, N11.8	–	–		5:6 p=0,833	5:6 p=0,172	5:6 p=0,001
5	Семейство Pseudomonadaceae	12		–		3931±69			
	Pseudomonas aeruginosa	12	J15.8, N11.8, N30.1	–	–				
6	Семейство Moraxellaceae	22		–		5230±66			
	Acinetobacter baumannii	22	J01.8, J15.8, J20.8,	–	–	5941±57			

Таблица 6.4.5 - Уровни лактоферрина в зависимости от семейства и рода патогенов вирусной этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень ЛФ, нг/мл	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализов анные			критерий χ^2	критерий Фишера	критери й Стьюде нта
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	M±m			
1	Вирус герпеса 1 типа (HSV-1)	43	<i>B00.1, B00.2, B00.5</i>	9	<i>B00.7</i>	3156±24	1:2 p=0,698 1:3 p=0,703	1:2 p=0,184 1:3 p=0,202	1:2 p=0,01 1:3 p=0,09
2	Вирус Эпштейна Барр (ВГЧ-4)	—	—	11	<i>B27.0</i>	3618±21	1:4 p=0,712 1:5 p=0,744	1:4 p=0,156 1:5 p=0,162	1:4 p=0,21 1:5 p=0,01

Продолжение таблицы 6.4.5

3	Грипп (птичий, гонконгский, H1N1)	29	<i>J10.0, J10.1</i>	–	–	2956±27	2:3 p=0,734 2:4 p=0,752	2:3 p=0,182 2:4 p=0,193	2:3 p=0,001 2:4 p=0,01
4	Парагрипп	25	<i>J20.4, J12.2</i>	–	–	3359±29	2:5 p=0,742 3:4 p=0,701	2:5 p=0,196 3:4 p=0,209	2:5 p=0,09 3:4 p=0,12
5	Цитомегаловирус (CMV)	–	–	12	<i>B27.1</i>	3561±30	3:5 p=0,733 4:5 p=0,694	3:5 p=0,175 4:5 p=0,158	3:5 p=0,01 4:5 p=0,05

Таблица 6.4.6 - Уровни лактоферрина в зависимости от семейства и рода патогенов грибковой этиологии при возникновении осложнений локализованной и генерализованной форм

№ п/ п	Возбудители инфекционных осложнений	Формы инфекционного поражения систем органов пациентов с ХЛЛ				Уровень ЛФ, нг/мл	Статистическая значимость		
		Локализова нные		Генерализ ованные			критерий χ^2	критерий Фишера	критерий Стьюдента
		п	МКБ- 10	п	МКБ- 10	M±m			
1	Candida	61	K12.0	–	–	33965±25	1:2	1:2	1:2
2	Aspergillus	51	B44.2	–	–	3645± 33	p=0,731	p=0,186	p=0,15

Таким образом, между группами патогенов имеются некоторые отличия в степени влияния на изменение уровня лактоферрина конкретных представителей бактериальной и вирусной инфекции. При присоединении инфекционных осложнений, вызванных грибами, статистически значимых отличий между выборками по уровню лактоферрина в зависимости от рода патогенов не выявлено, что подтверждает гипотезу об общем механизме влияния каждого из них на выработку лактоферрина (рисунок 6.4.2).

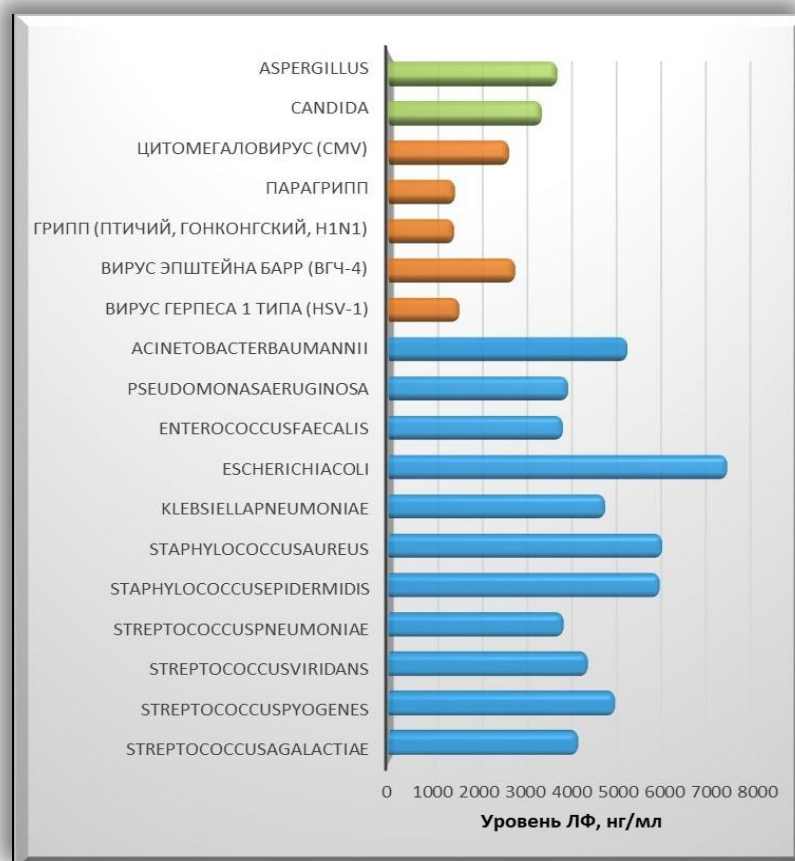


Рисунок 6.4.2 - Уровень лактоферрина (нг/л) в зависимости от семейства и рода патогенов

6.5 Закономерности изменений уровня лактоферрина у пациентов с ХЛЛ в зависимости от периодов лечения инфекционных осложнений

Было проведено исследование уровня лактоферрина в динамике во время трех периодов лечения инфекционных осложнений антибактериальными, противовирусными и антимикотическими препаратами в зависимости от лидирующего вида возбудителя. Первый этап исследования уровня лактоферрина до начала лечения осложнений, второй этап - через 4 дня после начала лечения и третий этап - через 5 дней после завершения лечения инфекционных осложнений. На данных этапах лечение основного заболевания стандартными схемами химиотерапии приостанавливалось до разрешения осложнений. По данной схеме были исследованы три категории пациентов с ХЛЛ: проходящие стационарное лечение, состоящие на амбулаторном наблюдении и при впервые выявленной патологии ХЛЛ. Результаты анализа полученных данных представлены в таблицах 6.5.1, 6.5.2 и 6.5.3.

Для сравнения уровня лактоферрина до лечения, через 4 дня и через 5 дней после завершения лечения у пациентов с различными формами инфекционных осложнений внутри таких групп как бактериальные, вирусные и грибковые осложнения при стационарном и амбулаторном лечении, а также у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ мы использовали Т критерий для парных выборок, так как выборки связаны между собой (таблицы 6.5.1, 6.5.2 и 6.5.3). Для этого предварительно проверили исходные данные на нормальность распределения и равенство дисперсий в сравниваемых выборках. В первом случае использовали критерий χ^2 , во втором – критерий Фишера. Во всех случаях данные отвечали требованиям для использования Т критерия для парных выборок.

Таблица 6.5.1 - Уровни лактоферрина (нг/мл) в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ в период стационарного лечения основного заболевания в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы пациентов	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	Т критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=89)	Локализованная (n=58)	4412±30	3164±20	1489±10	I/II p=0,805 I/III p=0,793 II/III p=0,799	I/II p=0,156 I/III p=0,186 II/III p=0,198	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=31)	5358±38	3583±21	1592±11	I/II p=0,734 I/III p=0,726 II/III p=0,710	I/II p=0,190 I/III p=0,147 II/III p=0,162	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
Осложнения вирусной этиологии (n=58)	Локализованная (n=40)	3376±34	2482±23	1067±12	I/II p=0,766 I/III p=0,740 II/III p=0,799	I/II p=0,153 I/III p=0,195 II/III p=0,166	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=18)	3681±34	2365±24	1049±16	I/II p=0,764 I/III p=0,773 II/III p=0,766	I/II p=0,192 I/III p=0,180 II/III p=0,163	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*

Продолжение таблицы 6.5.1

Осложнения грибковой этиологии (n=50)	Локализованная (n=50)	3167± 33	2174±19	920±13	I/II p=0,767 I/III p=0,746 II/III p=0,793	I/II p=0,194 I/III p=0,211 II/III p=0,204	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Таблица 6.5.2 - Уровни лактоферрина (нг/мл) в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ в период амбулаторного наблюдения в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы пациентов	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=46)	Локализованная (n=46)	3406± 22	2587± 19	1457±15	I/II p=0,801 I/III p=0,755 II/III p=0,747	I/II p=0,177 I/III p=0,232 II/III p=0,176	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—
Осложнения вирусной этиологии (n=44)	Локализованная (n=34)	1986± 16	1136± 14	509±10	I/II p=0,795 I/III p=0,811 II/III p=0,802	I/II p=0,200 I/III p=0,196 II/III p=0,178	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=10)	2386± 18	1625± 12	1057±11	I/II p=0,732 I/III p=0,730 II/III p=0,746	I/II p=0,198 I/III p=0,201 II/III p=0,132	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*

Продолжение таблицы 6.5.2

Осложнения грибковой этиологии (n=37)	Локализованная (n=37)	1839±15	1241±11	899±19	I/II p=0,695 I/III p=0,735 II/III p=0,729	I/II p=0,197 I/III p=0,170 II/III p=0,188	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p < 0,001 - статистическая значимость различий.

Таблица 6.5.3 - Уровни лактоферрина (нг/мл) в сыворотке крови у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ в зависимости от инфекционных осложнений и этапов их лечения

Группы пациентов	Формы осложнений	Этапы проведения лечения			Статистическая значимость		
		I этап - до лечения	II этап - через 4 дня после начала лечения	III этап - через 5 дней после завершения лечения	критерий χ^2	критерий Фишера	T критерий для парных выборок
Осложнения бактериальной этиологии (n=34)	Локализованная (n=34)	3758±28	2791±20	1286±13	I/II p=0,687 I/III p=0,745 II/III p=0,765	I/II p=0,202 I/III p=0,165 II/III p=0,171	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=0)	—	—	—			
Осложнения вирусной этиологии (n=27)	Локализованная (n=23)	2180±22	1863±17	828±10	I/II p=0,811 I/III p=0,798 II/III p=0,783	I/II p=0,169 I/III p=0,173 II/III p=0,179	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализованная (n=4)	3457±33	2795±22	1955±17	I/II p=0,752 I/III p=0,795 II/III p=0,781	I/II p=0,195 I/III p=0,151 II/III p=0,189	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*

Продолжение таблицы 6.5.3

Осложнения грибковой этиологии (n=25)	Локализован ная (n=25)	1819± 16	1347±15	829±11	I/II p=0,801 I/III p=0,785 II/III p=0,732	I/II p=0,154 I/III p=0,192 II/III p=0,153	I/II p<0,001* I/III p<0,001* II/III p<0,001*
	Генерализова нная (n=0)	—	—	—	—	—	—

Примечание: * - различия статистически значимы;
p <0,001- статистическая значимость различий.

Выявлено достоверное различие уровня лактоферрина сыворотки крови в процессе лечения выявленных осложнений с исходным показателем лактоферрина до начала терапии (p <0,001). Такое различие справедливо как для уровня лактоферрина зафиксированного после 4 дней от начала лечения осложнений, так и через 5 дней после завершения соответствующей терапии (p <0,001). Среднестатистическое различие между показателями лактоферрина через 4 дня после начала терапии находится в пределах 1,5 раз от исходных значений. При стабилизации процесса, нивелировании клинических проявлений инфекционных осложнений, уровень лактоферрина чаще всего достигал границ нормы, в сравнении с исходными концентрациями различия составляют в среднем от 2,0 до 2,5 раз.

Также был проведен корреляционный анализ полученных показателей уровня лактоферрина. В анализ были включены значения концентраций до и после лечения, а именно через 5 дней после окончания терапии инфекционных осложнений. Выявлена сильная положительная корреляция влияние проводимого лечения концентрацию лактоферрина в период стационарного лечения ХЛЛ, при амбулаторном наблюдении пациентов с ХЛЛ и у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ: при осложнениях бактериального генеза (r=0,992, p<0,001), вирусного генеза (r=0,988, p<0,001) и грибковой этиологии (r=0,995, p<0,001).

Таким образом, анализ полученных значений уровня лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ в динамике на трех этапах применения схем лечения инфекционных осложнений, показывает прямую зависимость концентрации лактоферрина от стадии течения осложнения и разрешения патологий любого генеза, что позволяет рекомендовать его для контроля эффективности терапии данной группы осложнений у пациентов с ХЛЛ.

Была выявлена сила воздействия каждого фактора влияния на изменение уровня лактоферрина в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ. Для этого был проведен однофакторный дисперсионный анализ уровня лактоферрина сыворотки пациентов с ХЛЛ в зависимости от

этиологии возбудителя инфекционных осложнений. Дисперсионный комплекс для изучения силы влияния фактора воздействия (этиология патогена) включал данные уровня лактоферрина пациентов с ХЛЛ в разные периоды основного заболевания (стационарное и амбулаторное лечение, а также у пациентов с впервые установленным диагнозом ХЛЛ). Анализ силы влияния проводился по отношению к контролю (30 условно-здоровых пациентов и 102 пациента ХЛЛ без наличия инфекционных осложнений), таблица 6.5.4.

Таблица 6.5.4

Сила влияния инфекционных осложнений бактериального, вирусного и грибкового генеза на уровень лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Вариансы (средние квадраты, σ2)	F	F- критическое	Сила влияния (%)
Стадия А ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	85467,71	4	19650,33	174,29	2,45	81****
Случайное (внутригрупповое)	15876,62	109	453			
Общее	88954,54	113	971,48			
Стадия В ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	234523,67	4	47321,12	166,95	2,43	72****
Случайное (внутригрупповое)	43256,52	154	359,39			
Общее	26519,46	158	2379,66			
Стадия С ХЛЛ						
Факториальное (межгрупповое)	349754,43	4	64276,98	201,63	2,61	74****
Случайное (внутригрупповое)	64239,78	201	348,81			
Общее	383727,56	205	2661,76			

Примечание: ***- $F > 0,999$, где F-показатель достоверности по Фишеру.

Дисперсионный анализ показал высокую степень силы влияния инфекционных осложнений (возбудителей бактериальной, вирусной и грибковой этиологии) на уровень лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ. Сила влияния патогенов при стадии В ХЛЛ составила 72%. Сохранилась высокая сила влияния и при стадии С ХЛЛ – 74%. Наибольшее же влияние на увеличение уровня лактоферрина наблюдается при стадии А ХЛЛ – 81%, что можно объяснить большим сохранением функциональных возможностей иммунитета организма

пациентов, отвечающих за выработку лактоферрина. Таким образом, изменение концентрации лактоферрина в сыворотке пациентов с ХЛЛ зависело не только от наличия возбудителя инфекционных осложнений, но и от стадии течения основного заболевания.

При проведении анализа силы влияния проводимого лечения химиопрепаратами (схемы R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) на уровень лактоферрина у пациентов без наличия осложнений инфекционной этиологии также использовался метод однофакторного дисперсионного анализа (таблица 6.5.5)

Таблица 6.5.5

Сила влияния схем химиотерапии (R-CHOP, FCR, BR, Хлорамбуцил (лейкеран)) на уровень лактоферрина сыворотки крови пациентов с ХЛЛ (метод однофакторного дисперсионного анализа)

Разнообразие (источник вариации)	Дисперсии (суммы квадратов, SS)	Числа степеней свободы (v)	Вариансы (средние квадраты, σ^2)	F	F-критическое	Сила влияния (%)
Факториальное (межгрупповое)	153,31	4	47,52	12,5	2,51	32***
Случайное (внутригрупповое)	205,91	67	3,65			
Общее	342,62	71	5,68			

Результат проведенного анализа показывает статистически значимую силу влияния схем химиотерапевтического лечения на изменение уровня лактоферрина (32%). Однако, в сравнении с результатами, полученными при изучении влияния этиологических факторов (бактериального, вирусного и грибкового генеза) на увеличение концентрации лактоферрина в сыворотке крови выявлено преобладание силы влияния инфекционных патогенов (в среднем более 79%). Поэтому при трактовке показателей уровня лактоферрина в сыворотке крови у пациентов с ХЛЛ можно условно пренебречь возможным влиянием препаратов химиотерапевтического ряда, так как основное влияние на его продукцию клетками, участвующими в иммунной защите, принадлежит именно возбудителям. Статистически значимое влияние каждого из видов инфекционных патогенов на увеличение уровня лактоферрина в сыворотке крови вне зависимости от схем химиотерапии, а также на этапе доклинических проявлений инфекции, делает определение уровня лактоферрина перспективным маркером ранней диагностики того или иного вида инфекционного осложнения ХЛЛ.

ГЛАВА 7. УСТАНОВЛЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ СИНТЕЗА БАКТЕРИЯМИ БЕЛКА, ИММУНОХИМИЧЕКИ СХОДНОГО С ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

7.1 Определение устойчивости микроорганизмов к лактоферрину человека

Выживание микроорганизмов в тканях хозяина определяется динамическим процессом равновесия между деструкцией бактерий защитными факторами организма и размножением возбудителей инфекции, угнетающих или избегающих эти защитные механизмы. Варианты тактического разнообразия в системе «паразит – хозяин» отражают высокие адаптационные возможности обоих участников системы, и в первую очередь микробной клетки. В связи с тем, что основной контингент пациентов с ХЛЛ, у которых уровень лактоферрина сыворотки был повышен, составляли пациенты с осложнениями бактериальной природы, следующей задачей было выяснение механизмов, обеспечивающих устойчивое существование микроорганизмов в организме пациентов.

На предварительном этапе мы проводили исследования с бактериями нескольких видов, выделенных от пациентов с инфекционным синдромом у пациентов с ХЛЛ. Полученные результаты представлены на рисунке 7.1.

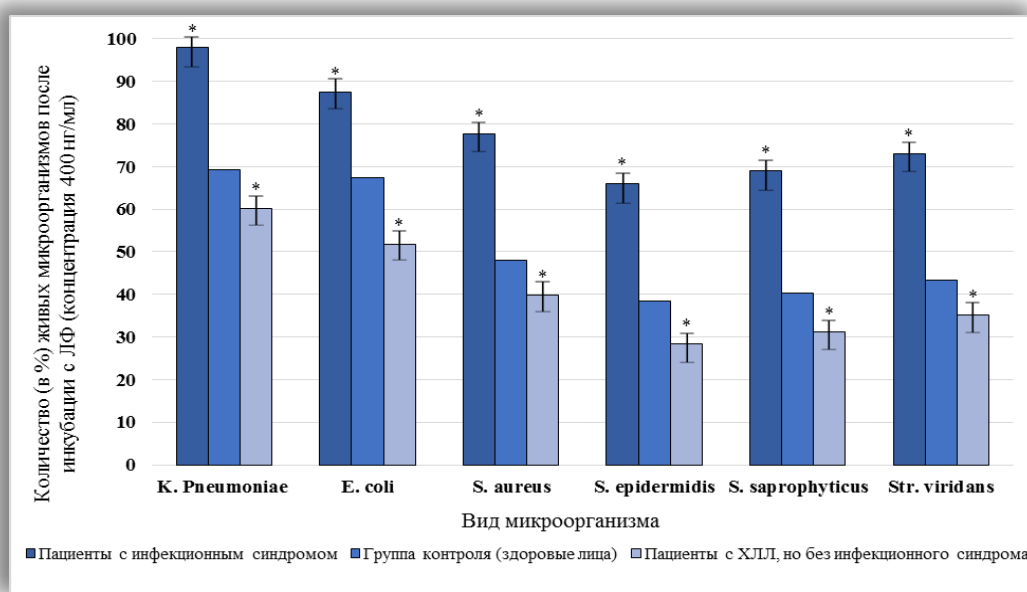


Рисунок 7.1 - Выживаемость микроорганизмов, выделенных от пациентов с ХЛЛ и условно-здоровых лиц, после инкубации с лактоферрином человека

Примечание: * – значение достоверности $p < 0,05$ при сравнении с контролем

Установлено, что микроорганизмы, выделенные от пациентов с ХЛЛ с инфекционным синдромом и без него, а также здоровых лиц отличались разной к нему устойчивостью, что позволяет рассматривать критерий устойчивости бактерий к данной концентрации лактоферрина в качестве прогностического.

7.2 Определение продукции белка, иммунологически сходного с лактоферрином человека

Определение продукции белка, иммунологически сходного с лактоферрином человека (МдЛФ) проходило следующие стадии: проводили посев в пробирки с 0,2 мл мясопептонного бульона суточной агаровой культуры микроорганизмов. Параллельно нами были проставлены контрольные пробы с МПБ, не содержащие микроорганизмов. После инкубации всех пробирок в течение 24 ч $t=37^{\circ}\text{C}$, содержимое их центрифугировали (5000 об/мин в течение 45 минут). Предположение о присутствии МдЛФ в пробах подтверждали на основании результатов ИФА анализа с использованием тестовых систем для определения концентрации лактоферрина фирмы Nycult biotech (Netherlands). Результаты представлены в таблице 7.2. В пробах с МПА без бактерий МдЛФ не было обнаружено.

Таблица 7.2 -Синтез МдЛФ микроорганизмами, выделенными от пациентов с инфекционным синдромом при ХЛЛ

Вид микроорганизма	n	Концентрация МдЛФ, определяемая в культуральной среде (нг/мл)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	$9,6 \pm 1,1$
<i>Escherichia coli</i>	21	$7,1 \pm 0,7$
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	$7,4 \pm 0,9$
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	21	$6,8 \pm 0,1$
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	21	$6,5 \pm 0,5$
<i>Streptococcus viridans</i>	21	$8,4 \pm 1,0$

В дальнейших экспериментах было решено использовать клебсиеллы, так как в наших исследованиях они, с одной стороны, встречались наиболее часто среди Г- микроорганизмов, вызывающих инфекционные осложнения при ХЛЛ, а с другой, клебсиеллы оказались наиболее устойчивыми к действию человеческого лактоферрина. Были использованы штаммы *K.pneumoniae*, выделенные от лиц с ХЛЛ, имеющих осложнения бактериальной природы, а также микроорганизмы, выделенные от лиц из контрольной группы. Сбор штаммов проводился

параллельно от пациентов и от здоровых лиц. При необходимости микроорганизмы помещали в 0,5% агар, налитый высоким столбиком в пробирку, с заливкой сверху слоем стерильного вазелинового масла высотой 2 см. Перед исследованием культуры предварительно прошли несколько пассажей через питательную среду.

K. pneumoniae, выделенных от больных и здоровых лиц продемонстрировали различный уровень продукции МдЛФ, а именно: у штаммов, полученные от пациентов с ХЛЛ и инфекционным синдромом синтез МдЛФ составил в среднем $9,6 \pm 1,1$ нг/мл, что с достоверностью $p < 0,05$ ниже, чем у штаммов, выделенных от здоровых лиц $17,9 \pm 2,2$ нг/мл. У микроорганизмов, выделенных от пациентов с ХЛЛ без инфекционного синдрома, продукция МдЛФ в среднем составила $18,4 \pm 2,5$ нг/мл.

Интересно, что интенсивность синтеза МдЛФ клебсиеллами напрямую зависела от наличия лактоферрина в среде, что было выявлено нами на этапе определения устойчивости микроорганизмов к лактоферрину человека. При этом все без исключения культуры *K. pneumoniae* продуцировали МдЛФ, как в присутствии человеческого лактоферрина в среде культивирования, так и в его отсутствии, однако, среднее значение концентрации ($M \pm m$) МдЛФ в среде без лактоферрина составляло $24,6 \pm 2,3$ нг/мл, а в среде, содержащей лактоферрин на 37,5% ниже - только $15,3 \pm 1,7$ нг/мл ($p < 0,05$).

Таким образом, можно говорить о наличие своего рода системы «ЛФ человека - МдЛФ микроорганизмов», что еще раз подтверждает значимость как собственно железа, так и биомолекул, обеспечивающих его метаболизм.

7.3 Физико-химические свойства вещества, иммунологически сходного лактоферрином человека.

Известно, что лактоферрин относится к трансферриновому семейству и способен активно связывать и транспортировать Fe^{3+} , а также другие металлы переменной валентности. Изученные ранее лактоферрины представляют собой гликопротеины с молекулярными массами в пределах 75—80 кДа и имеющие в своём составе внутримолекулярные дисульфидные связи. Полипептидная цепь лактоферрина формирует два глобулярных домена, именуемых М- и С-долями, соединенными α -спиралью. Каждая доля содержит по железосвязывающему центру. Третичные структуры аполактоферрина (лактоферрина не содержащего железа) и лактоферрина связавшего железо, различаются [37, 49, 61, 117]. В изучении биологических

свойств лактоферрина существенную роль выполняют исследования сравнительного плана, в связи с чем является важным изучение структуры и свойств лактоферринов из различных видовых источников. В литературе имеются только единичные сведения о наличии вещества, сходного с лактоферрином человека у прокариот. Белок при этом даже не выделяли [74, 118, 130, 193].

Полученный нами МдЛФ представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 85 кДа, коэффициентом диффузии в агарозе $3,1 \times 10^{-7} \text{ см}^2 \text{ сек}^{-1}$, относительной электрофоретической подвижностью 0,42. МдЛФ обладает малой гидрофобностью и элюируется с фенилсефарозы 0,4 М сульфатом аммония. Изоэлектрическая точка его равна 9,2.

МдЛФ, несмотря на иммунологическую идентичность с лактоферрином, выделенным из молока человека, тем не менее, по некоторым своим физико-химическим показателям отличается от лактоферрина. Особенно заметно отличие в электрофоретической подвижности МдЛФ и лактоферрина молока человека. По полученным данным относительная электрофоретическая подвижность МдЛФ равна $0,41 \pm 0,006$, в то время как лактоферрина, полученного из молока человека составляет $0,47 \pm 0,003$. Эти различия можно считать еще одним подтверждением наличия нескольких изоформ лактоферрина, обладающими идентичной молекулярной массой, иммунологически сходными, но отличающимися сродством к различным ионогенным группам (рисунок 8.1).

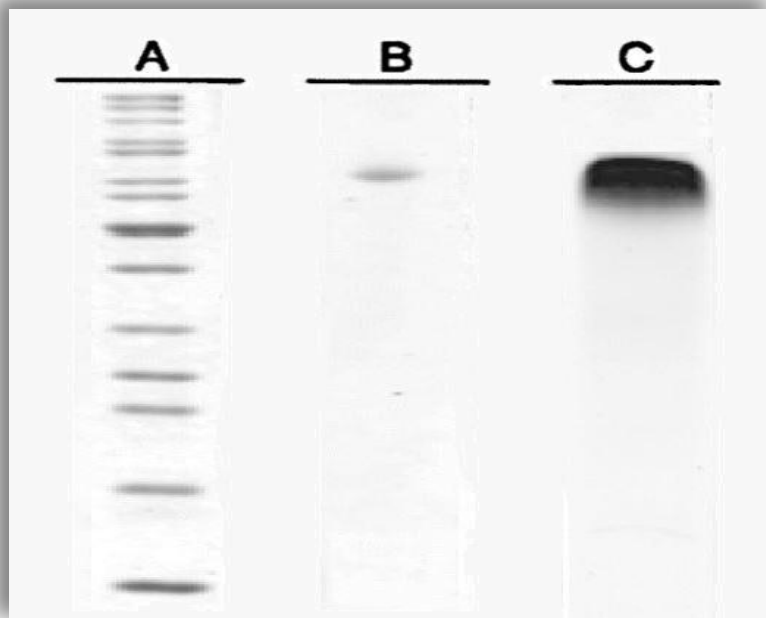


Рисунок 8.1 - Электрофореграмма МдЛФ, выделенного на ионообменном сорбенте

Примечание: А – стандарты молекулярных масс (Sigma, США); В – стандарт человеческого лактоферрина (Sigma, США); С – МдЛФ

Диссоциацию комплекса лактоферрина с Fe^{3+} изучали двумя методами: при низких концентрациях хелатирующих анионов (диссоциация Fe^{3+} происходит одновременно от двух железосвязывающих центров лактоферрина) и при высоких концентрациях хелатирующих анионов (диссоциация Fe^{3+} от двух железосвязывающих центров происходит отдельно). Лактоферрин, насыщенный железом (холоЛФ) обладает характерным спектром поглощения в видимой области. Спектры оказались схожим для белков бактерий, животных и человека. Не обнаружено различий между белками бактерий и человека в опытах по диссоциации комплекса лактоферрина с Fe^{3+} (рисунок 8.2).

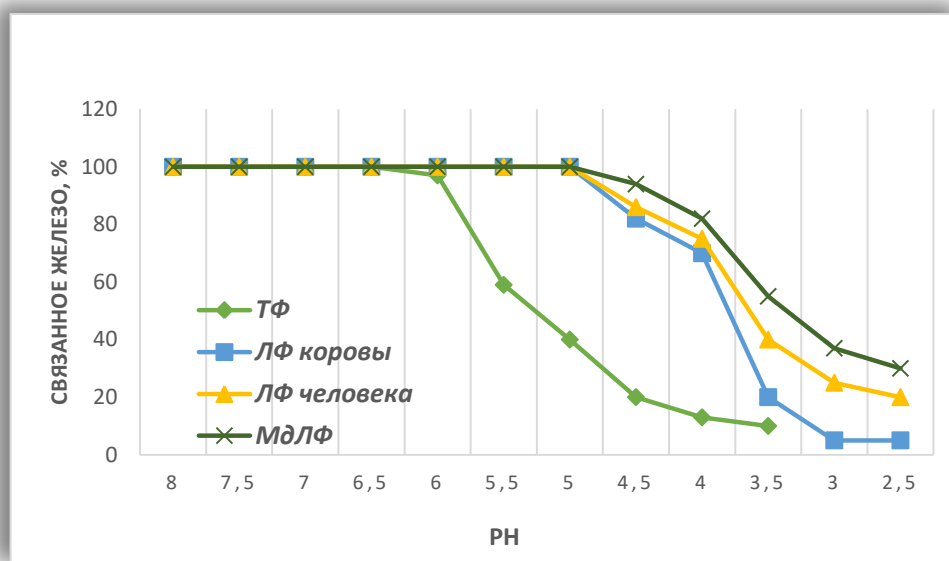


Рисунок 8.2 - pH-зависимость высвобождения железа, показанная для сывороточного ТФ человека, ЛФ человека, ЛФ коровы и МдЛФ

Сводные данные по физико-химическим свойствам МдЛФ представлены в таблице 8.1

Таблица 8.1 - Физико-химические свойства МдЛФ.

Свойства	МдЛФ
Молекулярная масса	85000±5000
Относительная электрофоретическая подвижность в агаре	0,42±0,005
Коэффициент диффузии в агарозе $\text{см}^2 \text{сек}^{-1}$	$3,1 \times 10^{-7}$
Гидрофобность	Элюируется с фенолсефарозы 0,4М сульфатом аммония
Осаждение сульфатом аммония, % насыщения и диапазон осаждения	50 – 75
Полное осаждение	75
Осаждение 50% этанолом	Не осаждается
Осаждение 60% ацетоном	Полное (обратимое)
Осаждение 0,9М хлорной кислотой	Необратимое
Изоэлектрическая точка	9,2
Отношение к температуре	Устойчив при 65°C - 30 минут

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Широкий спектр дефектов врожденного и адаптивного иммунного ответа обнаруживается у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) с ранних стадий заболевания. Из наиболее часто встречающихся и опасных видов осложнений можно выделить осложнения инфекционного генеза. Подавляющая масса возбудителей этой патологии, по своей природе являются симбионтами, но могут развиваться и дисбиотические отношения, некоторые из которых также провоцируют развитие инфекции. [1, 2, 24]

Как правило, при прогнозировании развития инфекции, клиницист опирается на тяжесть течения основного заболевания, исходя из положения: чем выше тяжесть течения лейкоза – тем больше шансов для формирования инфекционного синдрома. К сожалению, патогенетическая сущность этого процесса в значительной степени остается не изученной, также как и управление им. [25, 31, 50, 51]

Лабораторная диагностика инфекций у пациентов с ХЛЛ, основанная на традиционных принципах – выявлении возбудителя и обнаружении специфических изменений в организме пациента – не всегда оказывается эффективной ввиду отсутствия надежных информационных тестов, позволяющих отличить изменения, вызванные непосредственно основным заболеванием, или являющихся результатом проводимой химиотерапии, от изменений, причиной которых стал тот или иной возбудитель. Выделение и последующая идентификация микроорганизмов, как «золотой стандарт» диагностики ограничивается тем, что причиной инфекции могут быть возбудители, находящиеся в некультивируемой форме, а также вирусы. Это ограничение само по себе уже может являться источником ошибочного заключения о степени вероятности возникновения инфекционного процесса [5, 6, 11].

Проведенный на первом этапе нашей работы анализ показал, что локализованные инфекционные осложнения ХЛЛ наблюдались более чем в 70% случаев. Локализация процесса была представлена преимущественно поражением верхних и нижних дыхательных путей, мочеполовой системы, кожных покровов. Генерализация процесса имела место в 17% случаев. Среди возбудителей преобладали грамположительные бактериальные патогены, а среди вирусных агентов - вирус герпеса 1 типа (HSV-1) и, в меньшей степени, вирус Эпштейн-Барра. Из грибковой микрофлоры лидирующая позиция принадлежала грибам рода *Candida*, затем – представителям рода *Aspergillus*. Схожие с нашими результаты были получены и другими исследователями. В их работах описывается, что у пациентов с онкогематологическими заболеваниями до начала терапии инфекционные эпизоды в основном ассоциированы с

облигатными патогенами с преимущественным поражением органов дыхания и кожи [6, 29, 50, 99, 113].

Неизбежное при дальнейшем прогрессировании ХЛЛ применение цитотоксических агентов, а так же химио- и антибактериальных препаратов приводило к дальнейшему угнетению иммунного ответа. Антибактериальная терапия у пациентов данной группы, с одной стороны, снижает риск бактериальных осложнений и смертности, с другой стороны, может стать триггером для развития дисбиоза. Проявление дисбиоза при этом характеризуется уменьшением качественного разнообразия микрофлоры и количества ключевых комменсалов с одновременным развитием доминирования видов *Enterococcus*, *Streptococcus* и бурным ростом числа потенциально патогенных микроорганизмов. Чаще всего такими патобионтами становятся представители семейства *Enterobacteriaceae*, а именно *Escherichia coli*, *Shigella* spp. и *Klebsiella* spp., что подтверждается как нашей работой, так и работами других авторов [46, 47, 48, 52, 53, 107].

Обращает на себя внимание ограниченное количество публикаций по исследованию маркеров патогенности бактерий, занимающих лидирующие позиции среди возбудителей инфекций у пациентов с гематологическими заболеваниями. Наиболее изученными факторами вирулентности являются энтерококковый поверхностный протеин, субстанция агрегации, гиалуронидаза, желатиназа и цитолизин. Считается установленным, что энтерококковый поверхностный протеин и субстанция агрегации стимулируют адгезию бактериальных клеток и участвуют в образовании биопленок, гиалуронидаза – повышает инвазивную способность и расщепляет гиалуроновую кислоту, желатиназа – участвует в образовании биопленок и гидролизует желатин, коллаген, гемоглобин, фибриноген, инсулин и другие белки, а цитолизин разрушает эритроциты, макрофаги и лейкоциты [27, 33, 39, 107, 116, 207].

Функции CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, выполняющих ключевую роль в защите от вирусных и грибковых инфекций при ХЛЛ, существенно нарушаются [1, 172, 173, 176, 198]. В связи с этим инфекции, вызываемые вирусом простого герпеса 1 типа (HSV-1) и Эпштейн-Барра достаточно часто идентифицировались и нами и другими исследователями, у пациентов с ХЛЛ. Эти результаты следует считать неблагоприятными с прогностической точки зрения. По данным ряда авторов, вирус Эпштейна–Барра, блокируя пути апоптоза путем повышения экспрессии белка bCL-2 (антиапоптотические свойства которого позволяют считать bCL-2 онкогенным белком) и вызывает пролиферацию В-лимфоцитов, которая, в свою очередь, способствует появлению геномных aberrаций. У пациентов с синдромом Рихтера, осложняющего течение ХЛЛ в 2–10 % случаев, и инфицированных вирусом Эпштейна–Барр, отмечается особенно быстрое течение и резистентность к проводимой терапии [41, 78, 97].

Известно, что лечение антибиотиками широкого спектра и их комбинациями приводит к повышению частоты кандидозной колонизации в среднем на 20%. При этом колонизация слизистых в развитии инвазивного кандидоза имеет значение только при наличии главного патогенетического фактора — неэффективности фагоцитоза. В настоящее время доказано (у ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом), что без значительного снижения числа и функции нейтрофилов инвазивный кандидоз и другие оппортунистические микозы не развиваются. Последовательность «колонизация — инвазия — диссеминация» наиболее часто наблюдается именно у больных с гематологическими злокачественными новообразованиями при развитии нейтропении [11, 17, 22, 31]. У обследованных нами пациентов с инфекционным синдромом местный процесс грибковой этиологии имел место, но системные поражения отсутствовали, что свидетельствует об адекватности проводимой им терапии.

Дальнейшие наши эксперименты были направлены на выявление биохимических маркеров ответа организма пациентов с ХЛЛ на развитие осложнений инфекционного генеза. Они показали существенные различия в концентрации неоптерина (НП), альфа-1-антитрипсина (А1АТ) и лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови пациентов в зависимости от стадии течения болезни, вида инфицирующего агента и особенностей химиотерапии основного заболевания.

Если у пациентов с ХЛЛ без инфекционных осложнений в период амбулаторного наблюдения не было выявлено достоверных отклонений от нормы (химиотерапевтическое лечение данной категории пациентов не проводилось), то в периоде стационарного лечения ХЛЛ при получении пациентами стандартных схем химиопрепаратов, зафиксировано статистически значимое превышение концентраций альфа-1-антитрипсина, тогда как уровень неоптерина и лактоферрина не претерпевал таких изменений. Полученные результаты, по нашему мнению, могут объясняться реализацией цитопротекторного действия альфа-1-антитрипсина в ответ на цитотоксическое действия химиопрепаратов и полностью согласуются с актуальными результатами других исследователей. В частности, публикации последних лет подтверждают, что альфа-1-антитрипсин обладает иммунорегуляторным и противовоспалительным свойствами, что было продемонстрировано на нескольких моделях заболеваний, включая диабет I типа, волчанку, остеопороз и инсульт [143, 164, 177, 178]. Способность ингибитора сериновой протеазы альфа-1-антитрипсин обладать защитными функциями пораженных органов способом, не зависящим от его активности ингибитора протеазы, доказано также в работах, посвященных исследованию его роли в регуляции синцитиализации трофобласта и экспрессии воспалительного фактора, уменьшении воспаления и хондропротекторного действия при артрите, а также защите от повреждения печени, вызванного этанолом [91, 101, 149, 203, 204]. Очевидно, что биологическая роль альфа-1-антитрипсина гораздо шире, чем казалось ранее. Было установлено, что одним из

обнаруживаемых эффектов применения альфа-1-антитрипсина было ингибирование ядерной активности NF-kB - универсального фактора транскрипции, нарушение регуляции которого вызывает воспаление, аутоиммунные заболевания, а также развитие вирусных инфекций и рака. Альфа-1-антитрипсин подавлял уровни мРНК генов, нацеленных на NF-kB, а также самого NF-kB (P65 и P50) в клетках человека. Кроме того, альфа-1-антитрипсин способствует транскрипции *col2a1*, *asea1* и *sox9* и подавляет экспрессию генов *mmp13* и *adamts5* [205]. Альфа-1-антитрипсин обладает дополнительными противовоспалительными и тканезащитными эффектами, включая повышение стабильности митохондриальных мембран, ингибирование апоптоза, модулирование баланса про- и противовоспалительных цитокинов и стимулирование иммунологической толерантности. Исследования на культурах клеток и животных показали, что альфа-1-антитрипсин ограничивает повреждение тканей, подавляя раннее воспаление и способствуя индукции и стабилизации регуляторных Т-клеток [91, 177]. Сопоставив эти данные с материалами, свидетельствующими о том, что, дефицит альфа-1-антитрипсина приводит к индукции различных патологических состояний, включая системные аутоиммунные заболевания (например, первичный синдром Шегрена), можно прийти к закономерному выводу, что повышение концентрации альфа-1-антитрипсина в условиях интоксикации, вызванной применением различных химиотерапевтических схем лечения ХЛЛ, связано с его цитопротекторным, противовоспалительным, антиапоптотическим и антиокислительным действием [172].

Выявленное наличие статистически значимых отличий уровня альфа-1-антитрипсина в сыворотке крови пациентов с инфекционными осложнениями от его уровня у пациентов без инфекционных осложнений мы также связываем с его иммуномодулирующим действием, участием в дифференцировке и активации лимфоцитов и, с уже упомянутой ранее, его ролью в регуляции восстановления тканей организма [62, 136, 204].

Анализ концентрации неоптерина и лактоферрина у пациентов с ХЛЛ с инфекционным синдромом в сравнении с группой контроля без присоединившихся инфекционных осложнений также выявил их достоверное повышение. Имеют место и внутригрупповые различия динамики концентрации неоптерина и лактоферрина в зависимости от периода ХЛЛ: наибольший подъем их уровня при стационарном лечении, а также рост уровня неоптерина и лактоферрина у впервые выявленных пациентов с ХЛЛ по сравнению с группой амбулаторных пациентов. Такие результаты могут быть объяснены сохранением достаточно адекватных механизмов защиты организма в период стационарного лечения ХЛЛ и серьезных нарушений со стороны иммунной системы, развивающихся у пациентов, не подвергавшихся специфическому химиотерапевтическому лечению. Примечательно, что подобные тенденции были описаны исследователями, занимавшимися изучением уровня неоптерина и лактоферрина при

туберкулезе в сочетании с ВИЧ инфекцией. Уровни неоптерина и лактоферрина в крови у пациентов с активным туберкулезом были выше, чем у здоровых людей, с большой величиной эффекта 1,99. У больных туберкулезом уровень неоптерина и лактоферрина в крови был выше до противотуберкулезной терапии, чем после нее в течение нескольких месяцев. Метаанализ исследований пациентов с коинфекцией ВИЧ-туберкулез дал аналогичные результаты, с более высокими уровнями неоптерина и лактоферрина в крови у пациентов, чем в контрольной группе, а также более высокие уровни неоптерина в крови у пациентов до, чем после противотуберкулезной терапии [73, 98, 158].

Выявленное в нашей работе повышение концентрации лактоферрина при присоединении инфекционного синдрома вне зависимости от его генеза объясняется поливалентным действием, которое оказывает лактоферрин как на организм человека, так и на возбудителя инфекции. Известно, что апоформа лактоферрина обладает бактериостатическим и бактерицидным действием как из-за его способности улавливать трехвалентное железо, блокируя доступность железа хозяина для патогенов, так и благодаря взаимодействию с микробной поверхностью, приводящему к повреждению мембраны и изменению ее проницаемости. Холоформа лактоферрина (молекула, насыщенная железом - может содержать до двух ионов трехвалентного железа) также может оказывать бактерицидное действие на некоторые патогены. Наряду с этим, лактоферрин способен ингибировать проникновение вируса путем связывания с клеточными рецепторами или вирусными частицами. Он также может вызывать митохондриальную и каспазо-зависимую регулируемую гибель клеток и апоптозоподобную активность у патогенных дрожжей. Кроме того, лактоферрин противодействует механизмам, выработанным микробными патогенами для заражения и проникновения в организм хозяина, таким как адгезия, колонизация, инвазия, образование биопленок и производство факторов вирулентности, таких как протеазы и токсины. [75, 110, 114]

На следующем этапе нами был проведен анализ результатов уровня неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в зависимости от этиологии возбудителей. Выявлено преобладание влияния возбудителей бактериальной этиологии на концентрацию неоптерина и лактоферрина, которая была более чем в 3 раза выше, чем при вирусных осложнениях ХЛЛ. Примечательно, что в некоторых литературных источниках описывается превышение концентрации неоптерина и лактоферрина при вирусных инфекциях в сравнении с их концентрацией при инфекциях бактериальных. К примеру, при анализе концентрации неоптерина в образцах сыворотки 40 пациентов с подтвержденным диагнозом гриппозной инфекции и стационарным лечением более 24 часов и сравнении с показателями 100 здоровых доноров крови и 48 пациентов с пневмонией того же возраста, было выявлено, что у всех

больных гриппом концентрации неоптерина и лактоферрина были значительно выше по сравнению с таковыми у пациентов с пневмонией и у здоровых людей. Также были выявлены положительные корреляции между длительностью госпитализации и концентрацией неоптерина и лактоферрина [73, 146]. Мы считаем, что подобная мозаичность результатов не противоречит друг другу и связана с влиянием на выработку неоптерина и лактоферрина конкретных возбудителей инфекционной патологии. Более низкие значения концентрации неоптерина у больных с вирусной инфекцией в наших исследованиях могут быть объяснены увеличением при вирусной инфекции CD8⁺ Т-клеток (Т-киллеров), как это было показано другими исследователями при изучении концентрации неоптерина при подостром тиреоидите, этиология которого до конца не изучена, однако считается, что он возникает вскоре после вирусных инфекций [100, 159, 211].

Микотические осложнения ХЛЛ также явились причиной повышения уровня неоптерина и лактоферрина сыворотки крови в наших исследованиях, что может быть объяснено вовлечением специфических иммунологических механизмов в борьбу с данной группой возбудителей, в которой участвуют как гуморальные, так и клеточные звенья защиты. Неоптерин же, как известно, продуцируется активированными моноцитами/макрофагами и является классическим маркером клеточного иммунитета [42, 135]. Следовательно, при активации этих клеток повышение уровня неоптерина в сыворотке, было ожидаемым, что и подтвердили наши результаты.

Существенное повышение лактоферрина при присоединении инфекционного синдрома вирусной этиологии может быть объяснено механизмами противовирусной активности лактоферрина против широкого спектра ДНК- и РНК-вирусов, а также его способностью модулировать иммунный ответ. *Modus operandi* лактоферрина включает как прямое связывание с вирусами или их рецепторами, так и активацию противовирусных реакций иммунной системой [71, 102, 110, 194, 200]. В литературе приводятся сведения о том, что обработка эпителиальной клеточной линии кишечника человека Сасо-2 бычьим ЛФ увеличивала в них экспрессию мРНК и белков нескольких генов интерферонов (IFN): IFNB, IFNL1 и IFNL2, а также генов, стимулированных IFN: ISG15, MX1, IFITM1 и IFITM3 [200]. Механизмы повышения лактоферрина при микозах в наших исследованиях могут быть объяснены ингибированием, вызванным секвестрацией железа, необходимого для выживания грибов, и производством свободных радикалов кислорода для более сложных механизмов, таких как активация макрофагов в фагоциты с последующей гибелью инфекционных агентов, как было показано при инвазии простейшими [141, 153, 171]. В принципе, антибактериальное, противовирусное и антимикотическое действие ЛФ хорошо описано в литературе, применение препаратов лактоферрина рекомендуются при самых разнообразных инфекциях, начиная с

инфекций, вызываемых метициллин-резистентным эпидермальным стафилококком и заканчивая энтеровирусами и SARS-CoV2, вызывающим COVID-19 [35, 61, 75, 93, 106, 109, 110].

Ожидаемым следует считать достоверное преобладание влияния генерализованных форм инфекционных осложнений на продукцию неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина по сравнению с локализованными формами [9, 20, 42, 90, 102, 114, 136, 177]. В наших исследованиях при генерализации процесса, значения превосходят таковые при локализованных формах в 1,8, 1,3 и 1,5 раза соответственно ($p < 0,001$). При стабилизации процесса и нивелировании клинических проявлений инфекционных осложнений, уровень неоптерина и лактоферрина в сравнении с исходными концентрациями снижался в среднем от 1,5 до 3,0 раз, что доказывает связь неоптерина, лактоферрина и альфа-1-антитрипсина с течением заболевания и делает их ценными биомаркерами для контроля эффективности проводимой терапии и уровня интоксикации у пациентов с ХЛЛ, а также выявления пациентов с повышенным риском ухудшения состояния.

Обсуждая роль микроорганизмов в продукции различных биологически активных соединений, следует отметить, что наряду с традиционными исследованиями в области инфекционной патологии, направленными на совершенствование приемов диагностики, профилактики и лечения инфекционного синдрома при ХЛЛ, на повестку дня в качестве приоритетной, выдвигается задача оценки эпидемиологической значимости отдельных штаммов. В частности, выявление факторов патогенности, характерных для возбудителей инфекции [6, 31, 47, 48]. Наиболее значимыми из этих факторов являются адгезины, благодаря которым происходит прикрепление бактерий и грибов к инвазивным устройствам и клеткам макроорганизма; наличие ферментов агрессии, таких как гиалуронидаза, желатиназа, липаза, протеазы; устойчивости микроорганизмов к факторам неспецифической резистентности организма, например, лизоциму [11, 17, 22, 31]. В связи с вышеперечисленными данными, выявленное нами повышение устойчивости к ЛФ штаммов, выделенных от больных, также может быть отнесено к факторам их патогенности [71, 75, 90].

Интерпретация полученных в дальнейших исследованиях результатов, а именно, большего содержания вещества, иммунохимически сходного лактоферрином человека (МдЛФ) в пробах, куда лактоферрин (ЛФ) предварительно добавлен не был, по сравнению с пробами, содержащими ЛФ, заключается в том, что ЛФ и МдЛФ, как было нами установлено после его выделения и очистки, имеют сходные физико-химические свойства. Поэтому ожидаемо, что в питательной среде, содержащей ЛФ человека, синтез бактериями МдЛФ тормозится по принципу отрицательной обратной связи. Тем же механизмом отрицательной обратной связи объясняется и сниженная продукция МдЛФ штаммами, выделенными от больных с

инфекционным синдромом по сравнению со штаммами, полученными от здоровых лиц. Повышение концентрации ЛФ в сыворотке при бактериальных инфекциях доказано и описано в многочисленных статьях и обзорах [75, 93, 106, 114, 171]. Благодаря своей структуре и способности конкурентно связывать железо, ЛФ оказывает два важных воздействия на бактерии: бактериостатическое и бактерицидное. Выделяя железо из окружающей среды, т.е. действуя как хелатор, он проявляет выраженный бактериостатический противомикробный эффект. Бактерицидный эффект главным образом связан с его катионным зарядом, который также сохраняется в пептидах, являющихся производными ЛФ (лактоферрицины). Катионный заряд позволяет ЛФ взаимодействовать с отрицательно заряженной клеточной мембраной, в частности, с липополисахаридами в грамотрицательных бактериях или липотейхоевыми кислотами в грамположительных бактериях, что приводит к дестабилизации мембраны и потере селективной проницаемости, вызывая бактериальный лизис [36, 49, 71, 131, 201].

Очевидно, что активный синтез бактериями МдЛФ необходим им потому, что действуя внеклеточно, МдЛФ, как и ЛФ человека, по-видимому, ослабляет разветвление цепи свободнорадикальных реакций и защищает микроорганизм-продуцент. С другой стороны, он позволяет продуценту успешно конкурировать в своеобразной «битве за железо» с другими бактериями, которые в такой ситуации начнут испытывать блокаду железозависимых ферментов, в том числе и окислительных, и потеряют способность размножаться. Некоторые исследователи, даже несмотря на то, что ЛФ является своего рода каноническим антибактериальным агентом, предлагают применять его в качестве пребиотической составляющей при создании лекарственных препаратов и приводят сведения, подтверждающие его эффективность в этом качестве. Так бычий ЛФ оказывает сильное пребиотическое действие, когда рост пробиотиков был умеренно замедлен. В случае инкубации пробиотиков при разных температурах, а именно 37°C, 28°C, комнатной температуре (примерно 22-24°C) и 22°C, бычий ЛФ проявлял более благоприятную пребиотическую активность в некоторых пробиотиках, когда их рост частично замедлялся при комнатной температуре. Более того, когда при 22°C полностью блокировался рост *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus coryniformis*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *B. angulatum*, *B. catenulatum* и *L. paraplantarum* эти пробиотики начали повторно расти в присутствии бычьего ЛФ (1-32 мг/мл) значительным и дозозависимым образом. Также значительно увеличивал рост *Pediococcus pentosaceus*, *L. rhamnosus* и *L. paracasei* (BCRC 17483; локально выделенный штамм), когда их рост замедлялся инкубацией при 22°C. [109, 208, 209]

Таким образом, микробные стратегии получения железа, в том числе, синтез МдЛФ, можно рассматривать как один из факторов, определяющих формирование и устойчивость

микробных ассоциаций, играющих важную роль в функционировании нормомикробиоценозов и патологических микробиоценозов организма хозяина. С точки зрения прогнозирования развития инфекционного синдрома при ХЛЛ и определения потенциальной опасности, выделяемых при посеве микроорганизмов, большое значение имеет оценка не только количество колониеобразующих единиц и вид микроорганизма, но и анализ патогенного потенциала выделенных штаммов.

ВЫВОДЫ

1. Локализованные инфекционные осложнения ХЛЛ зафиксированы в 73% случаев, генерализация процесса имела место у 17% больных. Среди возбудителей преобладали Г+ микроорганизмы - в 69,8% всех осложнений бактериальной этиологии, среди вирусов - представители семейства Herpesviridae - в 56,6% осложнений, из грибковой микрофлоры лидирующая позиция принадлежала грибам рода *Candida* - 54,5% осложнений.

2. Применяемые для лечения ХЛЛ схемы химиотерапии не влияют на изменение уровня неоптерина ($p > 0,05$) и оказывают статистически значимое влияние на повышение уровня альфа-1-антитрипсина ($p < 0,001$) и лактоферрина ($p < 0,05$).

3. Концентрация неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в сыворотке крови достоверно отражает отсутствие (наличие) инфекционных осложнений у больных ХЛЛ и составляет: неоптерина $2,1 \pm 0,2$ нмоль/л ($50,1 \pm 1,9$ нмоль/мл, $p < 0,001$), альфа-1-антитрипсина $3,4 \pm 0,2$ мг/л ($29,3 \pm 0,7$ мг/л, $p < 0,001$), лактоферрина 1196 ± 20 нг/мл (4952 ± 65 нг/мл, $p < 0,001$), что объясняется поливалентным действием, которое оказывают эти соединения как на организм человека, так и на возбудителей инфекции.

4. Наибольшее значение концентрации неоптерина регистрируется при осложнениях ХЛЛ бактериальной этиологии: $M \pm m = 76,5 \pm 2,2$ нмоль/л ($p < 0,001$), по сравнению с осложнениями микотической и вирусной этиологии - $22,1 \pm 0,9$ нмоль/л и $33,3 \pm 1,6$ нмоль/л соответственно. Идентичная закономерность характерна для концентрации лактоферрина при присоединении инфекционных осложнений: бактериальных - 4415 ± 41 нг/мл, вирусных - 3601 ± 26 нг/мл и грибковых - 3156 ± 33 нг/мл. Наиболее высокий уровень альфа-1-антитрипсина имеет место у пациентов при инфекционных осложнениях вирусной этиологии: $M \pm m = 30,3 \pm 0,7$ мг/л, затем грибковой - $28,4 \pm 1,0$ мг/л и бактериальной этиологии - $22,2 \pm 0,3$ мг/л.

5. Интенсивность синтеза МдЛФ микроорганизмами подчиняется механизму регуляции по принципу отрицательной обратной связи и зависит от концентрации лактоферрина в среде их обитания: $M \pm m = 24,6 \pm 2,3$ нг/мл при культивировании в питательной среде без лактоферрина; в среде, содержащей лактоферрин $M \pm m = 15,3 \pm 1,7$ нг/мл ($p < 0,05$). У штаммов, выделенных от пациентов с ХЛЛ и инфекционным синдромом $M \pm m = 9,6 \pm 1,1$ нг/мл, что меньше, чем у штаммов, выделенных от здоровых лиц $M \pm m = 17,9 \pm 2,2$ нг/мл ($p < 0,05$) и меньше, чем у микроорганизмов, выделенных от пациентов с ХЛЛ, но без инфекционного синдрома $M \pm m = 18,4 \pm 2,5$ нг/мл ($p < 0,05$).

6. Формирование инфекционного синдрома при ХЛЛ возможно при достижении предлагаемыми маркерами следующих значений на стадии А: неоптерина $\geq 27,3 \pm 3,2$ нмоль/л, альфа-1-антитрипсина $\geq 25,3 \pm 1,8$ мг/л, лактоферрина $\geq 3193 \pm 46$ нг/мл; на стадии В: неоптерина $\geq 32,1 \pm 4,7$ нмоль/л, альфа-1-антитрипсина $\geq 24,7 \pm 1,2$ мг/л, лактоферрина $\geq 3398 \pm 35$ нг/мл; на стадии С: неоптерина $\geq 36,3 \pm 3,1$ нмоль/л, альфа-1-антитрипсина $\geq 25,1 \pm 0,9$ мг/л, лактоферрина $\geq 3666 \pm 42$ нг/мл. Вне зависимости от стадии ХЛЛ потенциально опасными для развития инфекционного синдрома следует считать выделенные микроорганизмы, для которых характерным является: устойчивость к ЛФ человека (количество выживших клеток $\geq 98,03 \pm 7,2\%$) с одновременным уменьшением синтеза вещества, иммунологически сходного с ЛФ человека (МдЛФ $\leq 9,6 \pm 1,1$ нг/мл).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В обследовании пациентов с ХЛЛ целесообразно использование комплексной клинико-лабораторной диагностики с определением концентрации неоптерина, альфа-1-антитрипсина и лактоферрина в сыворотке крови. Данный подход позволяет как прогнозировать вероятность развития инфекционного синдрома, так и оценить динамику процесса и эффективность проводимой терапии.

2. Параллельно с обследованием пациентов, рекомендуется проводить определение устойчивости микроорганизмов, выделенных из организма больного, к лактоферрину человека и уровень синтеза ими МдЛФ для своевременного назначения превентивного лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахмедов М.И. Инфекционные осложнения и факторы риска их развития после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / М. И. Ахмедов, Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н. // Гематология и трансфузиология. –2022.– Т. 67, № 1. – С. 90–107. DOI:10.35754/0234-5730-2022-67-1-90-107.
2. Антонова Т.В., Ножкин М.С., Лиознов Д.А. Хронический гепатит С и онкогематологические заболевания / Т. В. Антонова, М. С. Ножкин, Д. А. Лиознов// Клиническая онкогематология. – 2023. – № 16, Т 1. – С. 46–53. DOI:10.21320/2500-2139-2023-16-1-46-53.
3. Балашов Д.Н. Современные подходы к лечению цитомегаловирусной инфекции у онкогематологических больных / Балашов Д. Н. // Онкогематология. – –2013. – № 1. – С. 46.
4. Бидерман Б.В. Гены иммуноглобулинов и стереотипные антигенные рецепторы при хроническом лимфолейкозе и других лимфопролиферативных заболеваниях / Б. В. Бидерман, А. Б. Сударинов // Гематология и трансфузиология. – 2023. – Т. 68, №1. – С. 70-79. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-70-79.
5. Буйлова И.А. Оценка современного состояния фармацевтической разработки противостафилококковых профилактических препаратов/ И.А Буйлова, М.В. Савкина, Л.В. Саяпина, М.А. Кривых, Ю.А. Обухов// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2024. – Т.101, №4. – С. 560–572. DOI: 10.36233/0372-9311-512.
6. Войцеховский В.В. Бронхолегочные осложнения хронического лимфолейкоза и множественной миеломы / В.В. Войцеховский, Ю.С. Ландышев, А.А. Григоренко // Благовещенск: «Производственно-коммерческое издательство «Зей». – 2008. – 303с.
7. Волкова М. А. Клиническая онкогематология, руководство для врачей / М.А. Волкова – 2 изд. – М.: Медицина, 2007. – 1120 с.
8. Воробьева А.И. Лимфопролиферативные заболевания / А.И. Воробьев и др. // Руководство по гематологии под ред. А.И. Воробьева. – 2003. – М. - 3-е изд. – Т. 2. –С. 40–184.
9. Гладких Р. А. Неоптерин как современный маркер воспаления /Р. А. Гладких, В. П. Молочный, И. В. Полеско // Детские инфекции. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 19-23.
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - Пер. с англ. - М.:Практика, 1999.

11. Годовалов А.П. Активность факторов периферической крови против *Candida albicans* / А. П. Годовалов, И. А. Боев// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99, № 2. – С. 225–230. DOI: 10.36233/0372-9311-211.
12. Гривцова Л. Ю. Возможности иммунокорригирующего лечения в профилактике гематологических и инфекционных осложнений химиотерапии у онкологических больных / Л. Ю. Гривцова, В. Б. Ларионова, Н.А. Фалалеева // Онкогематология. – 2021. – Т. 16, № 4. – С. 23–30. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-4-23-30.
13. Гуськова Н. К. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. / Н. К. Гуськова, О.Н. Селютина, И. А.Новикова и др. // Южно-российский онкологический журнал. – 2020. – Т. 1, № 3. – С. 27–35. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-3.
14. Демин М. В. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / М. В. Демин, Д. С. Тихомиров, Б. В. Бидерман, О. А. Глинщикова, М. Ю. Дроков, А. Б. Сударилов, Т. А. Туполева, Ф. П. Филатов// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия – 2020. – Т. 21, № 4. – С.352–357. DOI:10.36233/0507-4088-90.
15. Дмитрива А.А. Влияние серологического статуса донора и реципиента на восстановление противовирусного иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.// Клеточная Терапия и Трансплантация. – 2021. – Т. 10, № 3. – С. 69-71.
16. Дмитрива А. А. Цитомегаловирусная инфекция при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток: основное клиническое значение и определения / А. А. Дмитрива, М. Ю. Дроков, Т. А. Туполева, В. Г. Савченко // Трансплантология. – 2022. – Т. 14, № 2. – С. 210-225. DOI:10.23873/2074-0506-2022-14-2-210-225.
17. Долгушин И. И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в борьбе с биопленкообразующими микроорганизмами: охотники или добыча?/ И.И.Долгушин, Е. А. Мезенцева //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – Т. 97, № 5. – С. 468–481. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-9.
18. Давыдова Ю. О. Субпопуляционный состав Т-хелперов у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. /Ю. О. Давыдова, Н. М. Капранов, К. А. Никифорова и др. // Клиническая онкогематология. – 2023. – Т. 16, № 2. – С. 137–45. DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-2-137-145.
19. Дроков М. Ю. Факторы риска повторных госпитализаций после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / М. Ю. Дроков, А.А. Дмитрива, Л.А.

- Кузьмина, В.А. Васильева, Е.Д. Михальцова, О.М. Королева, Е.В. Усикова, Е.Н. Паровичникова, В.Г. // Клиническая онкогематология – 2020. – Т. 13 – № 1 – С. 89–94. DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-89-94.
20. Дудина К.Р. Неоптерин – потенциальный диагностический и прогностический маркер при инфекционных заболеваниях / Дудина К.Р., Кутателадзе М.М., Знойко О.О. // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т.95, – № 6. С. 938-943.
21. Джумабаева Б.Т. Роль лейкоцитов в формировании нейтрофильных внеклеточных ловушек и тромбообразовании при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях (обзор литературы). //Клиническая онкогематология. – 2023. – Т. 16, № 3. – С. 263–7. DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-3-263-267.
22. Захарова Ю.В. Исследование in vitro механизмов взаимодействия грибов *Candida albicans* с *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов / Ю.В. Захарова, Л.Ю. Отдушкина, А.А. Марковская, Ю.В. Несвижский, С. С. Афанасьев, Л.А. Леванова. //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99, № 4. С. 420–427. DOI: 10.36233/0372-9311-271.
23. Зорникова К.В. Особенности Т-клеточного иммунного ответа у пациентов с онкогематологическими заболеваниями после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 и вакцинации / К.В. Зорникова, Н.О. Иванова, О.А. Алешина, С.А. Шитиков, В.Д. Давыдова, А.В. Боголюбова. // Гематология и трансфузиология. – 2024. – Т. 69, № 2. С. 200-216. DOI: 10.35754/0234-5730-2024-69-2-200-216.
24. Клясова Г. А. Современные возможности терапии инфекций, вызванных карбапенеморезистентными энтеробактериями, у больных с опухолями системы крови.// Онкогематология. – 2020. – Т. 15, № 2. С.92–107. DOI: 10.17650/1818 8346 2020 15 2 92 107.
25. Клясова Г.А. Профилактика и лечение инфекционных осложнений / Г.А. Клясова // Руководство по гематологии под ред. А. И. Воробьева. –3-е изд., перераб. и доп. – М. 2003. –Т. 2. –С. 210–230.
26. Копачевская К.А. Динамика содержания неоптерина и некоторых цитокинов в крови детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями / К.А. Копачевская, В.П. Молочный // Дальневосточный медицинский журнал. Инфекционные болезни, иммунология и иммунотерапия. – 2016. – Т. 4. С.42-46.
27. Костин Р.К. Микробиота желудочно-кишечного тракта и канцерогенез в различных органах человека / Р.К. Костин, Д.А. Малюгин, Л.Г. Соленова, Е.Д. Кулаева Е.Д. //

- Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –2023. – Т. 100, № 1. С. 110-125. DOI: 10.36233/0372-9311-310.
28. Кравцов А.Л. Оценка изменений фенотипа, интенсивности дегрануляции, гибели и лизиса нейтрофилов при моделировании *ex vivo* стафилококковой бактериемии / А.Л. Кравцов, С.А. Бугоркова, С.Н. Ключева, Т.П. Шмелькова, В.А. Кожевников. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – Т. 100, № 4. С. 293-305. DOI:10.36233/0372-9311-384.
29. Ландышев Ю.С. Клинические и морфологические особенности течения пневмоний у больных хроническим лимфолейкозом /Ю.С. Ландышев, В.В.Войцеховский, А.А. Григоренко и др // Бюллетень. – 2004. – Т.18. С. 20-25.
30. Лысак Н.В. Неоптерин у больных на ранней стадии ревматоидного артрита / Н.В. Лысак, О.В. Бугрова // Научно-практическая ревматология. - 2008. - № 1. С. 31—35.
31. Мальчикова А.О. Продукция биопленок среди возбудителей инвазивного кандидоза у больных опухолевыми заболеваниями системы крови и у больных без опухолевых заболеваний системы крови./ А.О. Мальчикова, Г.А. Клясова.// Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т.65. №3. С. 281-290. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-281-290.
32. Минаев М.С. CD20-позитивные В-лимфоциты в реактивном микроокружении опухоли как независимый иммуногистохимический фактор прогноза при нодулярном склерозе классической лимфомы Ходжкина / М. С. Минаев, Е.А. Перфилова, Д.А. Дьяконов и др. // Клиническая онкогематология. –2024. – Т. 17, № 2. С. 166–72. DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-166-172.
33. Моргачева Д.А. Роль микробиома в патогенезе инфекционного и иммунологического повреждения желудочно-кишечного тракта у детей с онкогематологическими заболеваниями / Д.А. Моргачева, Ю.В. Диникина, Ю.К. Тошина, М.Б. Белогурова. // Онкогематология. – 2021. – Т. 16, № 2. С. 86–93. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-2-86-93.
34. Никитин Е.А. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Клинические рекомендации. / Е.А. Никитин, Т.Е. Бялик, А.Ю. Зарицкий и др.// Современная онкология. – 2020. – Т. 22. № 3. С. 24–44. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385.
35. Николаев А.А. Иммунохимическая и физико-химическая характеристики лактоферрина биологических жидкостей человека / А. А. Николаев, Н.И. Аншакова // Вопросы медицинской химии. – 1985. – Т.31, № 3. С. 128-132.

36. Николаев А.А., Сухарев А.Е. Лактоферрин и его роль в репродукции (обзор литературы). Проблемы репродукции. – 2015. – Т. 21, № 6. – С. 33-38.
37. Онищенко А. В. Значение неоптерина в этиологической диагностике эндогенных увеитов / А. В. Онищенко, А. Д. Колбаско, Г. С. Чернышева и др. // Вестник офтальмологии. – 2011. – Т. 127, № 2. С.25-29.
38. Плосконос М.В. Влияние полисахарида *Clamidia trachomatis* на апоптоз и развитие мужского бесплодия / М.В. Плосконос, А.А. Николаев // Урология – 2014. – № 1. – С. 84-87.
39. Повещенко А.Ф. Кишечная микробиота и канцерогенез: актуальные аспекты / А. Ф. Повещенко, В. Н. Черкас, А. В. Кабаков, О. В. Казаков // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – Т. 100, № 3. – С. 247-260 DOI:10.36233/0372-9311-356.
40. Попкова М.И. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему / М. И. Попкова, О. В. Уткин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. –Т. 99, №1. – С. 93-108 DOI:10.36233/0372-9311-228.
41. Рукавицын О. А. Клиническое наблюдение эффективности совместного применения ингибиторов bCL-2 и pIЗК в лечении пациента с прогностически неблагоприятным хроническим лимфолейкозом с трансформацией в диффузную В-крупноклеточную лимфому (синдром Рихтера) / О. А. Рукавицын, В. П. Поп, М. В. Дрозд, Ю. Е.Рябухина // Онкогематология. – 2022. – Т. 17, № 4. – С. 38–47. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-4-38-47.
42. Свиридов Е.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете / Е.А. Свиридов, Т.А. Телегина // Успехи биологической химии. –2005. –Т. 45. – С. 355—390.
43. Селютина О. Н. PD-1 и LAG-3 как ранние маркеры прогноза при терапии больных хроническим лимфолейкозом / О. Н. Селютина, И. Б. Лысенко, Н. К. Гуськова, И. А. Новикова, Е.Ю. Златник, Т. Ф.Пушкарёва, Н. В, Николаева, И. А. Камаева, Е. А. Капуза, Я. С.Гайсултанова, Л. Я.Розенко // Онкогематология. – 2023. –Т. 18, № 4. С.156–62. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-4-156-162.
44. Селютина О.Н. Экспрессия LAG-3 на В-лимфоцитах как маркер прогноза ответа на терапию у больных хроническим лимфолейкозом / О. Н. Селютина, И. Б. Лысенко, Н. К. Гуськова и др // Сибирский онкологический журнал. – 2023. – Т.22, № 2. – С. 34–42. DOI: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-34-42.
45. Сухарев А.Е. Лактоферрин и лейкоциты крови у онкологических больных / А. Е. Сухарев, А. А. Николаев, М. Ю. Васильев // Лабораторное дело. – 1990. – № 8. – С. 33.

46. К. С. Тандилова Результаты лечения инфекций, вызванных *Enterobacterales* с продукцией карбапенемаз, у больных с заболеваниями системы крови / К. С. Тандилова, Г. А. Клясова, С.А. Хрульнова, Е. Н. Паровичникова, С. К. Кравченко, Е. О. Грибанов, Е. Е. Звонков, Г. М. Галстян, В. Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 48-49.
47. Хрульнова С.А. Генетическое разнообразие ванкомицинорезистентных *Enterococcus faecium*, выделенных из гемокультуры больных опухолями системы крови / С. А. Хрульнова, Г. А. Клясова, Федорова Фролов И.Н., Бидерман Б.В. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 305-313 DOI: 10.36488/смас.2021.3.305-313.
48. Хрульнова С.А. Изменение клонального состава карбапенем-нечувствительных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови больных опухолями системы крови / С. А. Хрульнова, А. Г. Коробова, А. В. Федорова, И. Н. Фролова, Г. А. Клясова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2020. – Т. 38, № 3. – С. 120-127. DOI:10.17116/molgen202038031120.
49. Царёв В.Н. Методика оценки антибактериальной активности полифункционального белка трансферринового ряда при экспериментальном моделировании кинетики развития *Staphylococcus aureus* / В. Н. Царёв, И. М. Макеева, Е. Р. Садчикова, М. С. Подпорин, Ю. А. Трефилова, А. В. Арзуканян, И. Л. Гольдман // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 6. – С. 617–626. DOI:10.36233/0372-9311-209.
50. Чеботкевич В. Н. Ассоциации цитомегаловирусных и респираторных вирусных инфекций у больных различными формами лейкозов / В. Н. Чеботкевич и др. // Труды 8-го Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 1998. — Т. 16, № 28. – С. 190.
51. Шаламова Е. А. и др. Системное Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание, ассоциированное с вирусом Эпштейна—Барр: обзор литературы и собственное клиническое наблюдение / Е. А. Шаламова, А. М. Ковригина, И. А. Шуплецова. и др. // Клиническая онкогематология. – 2021. – Т. 14, № 4. – С. 477–87. DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-4-477-487.
52. Н. М. Шлепотина Современные представления о механизмах взаимодействия биопленки и факторов клеточного иммунитета (обзор). / Н. М. Шлепотина, М. В. Пешикова, О. Л. Колесников, Ю. С. Шишкова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – Т. 97, №1. – С. 83–90. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-1-83-90.

53. С. В. Штыркова Факторы риска развития рецидивов перианальных инфекционных осложнений у пациентов с опухолевыми заболеваниями системы крови: результаты одноцентрового проспективного исследования / С. В. Штыркова, Ю. А. Чабаева, С. М. Куликов, К. И. Данишян, Е. Н. Паровичникова // Клиническая онкогематология. – 2024. – Т. 17, № 2. – С. 204–12. DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-204-212.
54. Adane T. Cytomegalovirus seroprevalence among blood donors: a systematic review and meta-analysis / T. Adane, S. Getawa // Journal of International Medical Research. – 2021. – Vol. 49, № 8. – P. 030006052110346.
55. Akhmedov M. Incidence, etiology, risk factors and outcomes of pre-engraftment bloodstream infections after first and second allogeneic hematopoietic cell transplantation / M. Akhmedov, G. Klyasova, L. Kuzmina, A. Fedorova, V. Vasilyeva, M. Drokov, E. Parovichnikova // Transplant Infectious Disease. – 2022. – Vol. 24, № 3. – P. 13842.
56. Allegra A. Secondary Immunodeficiency in Hematological Malignancies: Focus on Multiple Myeloma and Chronic Lymphocytic Leukemia / A. Allegra, A. Tonacci, C. Musolino, G. Pioggia, S. Gangemi // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 25, № 12. – P.738915. doi: 10.3389/fimmu.2021.738915.
57. Arruga F. Immune Response Dysfunction in Chronic Lymphocytic Leukemia: Dissecting Molecular Mechanisms and Microenvironmental Conditions / F. Arruga, B.B. Gyau, A. Iannello, N. Vitale, T. Vaisitti, S. Deaglio // International journal of molecular sciences. –2020. – Vol. 21, № 5. – P.1825. doi: 10.3390/ijms21051825.
58. Awais A. Rapid Resolution of Mycobacterium marinum Chronic Skin Infection during Lenalidomide Therapy for Chronic Lymphocytic Leukemia / A. Awais, C.S. Tam, D. Kontoyiannis et al // Clinical Infectious Diseases by Oxford University Press. – 2018. – Vol. 46, № 7. – P. 69-71. doi:10.1086/529388.
59. Bagnara D. Old and New Facts and Speculations on the Role of the B Cell Receptor in the Origin of Chronic Lymphocytic Leukemia / D. Bagnara, A. Mazzarello, F. Ghiotto et al // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 22. – P.14249. doi:10.3390/ijms232214249.
60. Bair S.M. Accelerating chimeric antigen receptor therapy in chronic lymphocytic leukemia: The development and challenges of chimeric antigen receptor T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia / S.M. Bair, D.L. Porter // Am. J. Hematol. – 2019. – № 94. – P. S10–S17. doi: 10.1002/ajh.25457.
61. Bartolomé F. Lactoferrin as Immune-Enhancement Strategy for SARS-CoV-2 Infection in Alzheimer's Disease Patients / F. Bartolomé, L. Rosa, P. Valenti, F. Lopera, J. Hernández-Gallego, J.L. Cantero, G. Orive, E. Carro // Front. Immunol. – 2022. – № 13. – P. 878201. doi: 10.3389/fimmu.2022.878201.

62. Berger M. Alpha-1-antitrypsin in cell and organ transplantation / M. Berger, M. Liu, M.E. Uknis, M. Koulmanda // *Am. J. Transplant.* – 2018. – Vol.18, №7. – P. 1589-1595. doi: 10.111.
63. Buglak A.A. Insights into Molecular Structure of Pterins Suitable for Biomedical Applications / A.A. Buglak, M.A. Kapitonova, Y.L. Vechtomova, T.A. Telegina // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol.23, № 23. – P. 15222. doi: 10.3390/ijms232315222.
64. Bustamante C. I. Herpes simplex virus infection in the immunocompromised cancer patients / C. I. Bustamante, J. C. Wade // *J. Clin. Oncol.* – 1991. – Vol. 9. – P. 1903–1915.
65. Barbara Eichhorst, Ten Hacken E. Special issue on chronic lymphocytic leukemia: Prognostication and therapeutic options introductory editorial// *Semin. Hematol.* – 2024. - Vol.61, №2. – P. 69-72. doi:10.1053/j.seminhematol.2024.03.002.
66. Candida Vitale Impact of Immune Parameters and Immune Dysfunctions on the Prognosis of Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia / C. Vitale, E. Boccellato, L. Comba, R. Jones, F. Perutelli, V. Griggio, M. Coscia // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, № 15. – P. 3856.
67. Cao J.X. The efficacy of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells for B-cell malignancies / J.X. Cao, W.L. Gao, J. You, L.H. Wu, J.L. Liu, Z.X. Wang // *Cytotherapy.* – 2019. – № 21. – P. 769–781. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.04.005.
68. Cerreto M. The Role of the Microenvironment and Cell Adhesion Molecules in Chronic Lymphocytic Leukemia / M. Cerreto, R. Foà, A. Natoni // *Cancers.* – 2023. – Vol. 15, № 21. – P. 5160. doi:10.3390/cancers15215160.
69. Chen C. The inhibitory effect of gut microbiota and its metabolites on colorectal cancer / C. Chen, H. Li // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2020. – Vol. 30, № 11. – P. 1607–13. doi:10.4014/jmb.2002.02032.
70. Dajon M. Toll-like receptor stimulation in cancer: A pro- and anti-tumor double-edged sword / M. Dajon, K. Iribarren, I. Cremer // *Immunobiology.* – 2017. – Vol. 222, № 1. – P. 89–100. doi:10.1016/j.imbio.2016.06.009.
71. Daniela Zarzosa-Moreno. Lactoferrin and Its Derived Peptides: An Alternative for Combating Virulence Mechanisms Developed by Pathogens / D. Zarzosa-Moreno, C. Avalos-Gómez, L.S. Ramírez-Texcalco, E. Torres-López, R. Ramírez-Mondragón, J.O. Hernández-Ramírez, J. Serrano-Luna, M. Garza // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25, № 24. – P. 5763. doi: 10.3390/molecules25245763.
72. Dogheim G.M., Amralla M.T., Werida R.H. Role of neopterin as an inflammatory biomarker in congestive heart failure with insights on effect of drug therapies on its level//*Inflammopharmacology.*–2022. – Vol.30, №5, - P.1617-1622. doi: 10.1007/s10787-022-01028-5.

73. Demirturk N. Serum neopterin levels in patients with HBV infection at various stages / N. Demirturk, T. Demirdal, O.C. Aktepe et al. // *Hepatogastroenterology*. – 2007. – Vol. 54, № 75. – P. 903–905.
74. Dholaria B. Improved outcomes of haploidentical hematopoietic cell transplantation with total body irradiation-based myeloablative conditioning in acute lymphoblastic leukemia / B. Dholaria, M. Labopin, E. Angelucci et al // *Transplant. Cell Ther.* – 2020. – Vol. 27, № 2. – P. 171–178. doi:10.1016/j.jtct.2020.10.008.
75. Drago-Serrano M.E. Lactoferrin: Balancing Ups and Downs of Inflammation Due to Microbial Infections / M.E. Drago-Serrano, R. Campos-Rodríguez, J. C. Carrero, M. Garza // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 3. – P. 501. doi: 10.3390/ijms18030501.
76. Du L. Delivery, structure, and function of bacterial genotoxins / L. Du, J. Song / *Virulence*. – 2022. – Vol. 13, № 1. – P. 1199–215. doi:10.1080/21505594.2022.2097417.
77. Eichhorst B. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / B. Eichhorst, T. Robak, E. Montserrat et al. // *Ann. Oncol.* – 2021. – Vol. 32, № 1. – P. 23–33. doi: 10.1016/j.annonc.2020.09.019.
78. Elnair R. Outcomes of Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL): an analysis of the SEER database / R. Elnair, M. Ellithi, A. Kallam et al. // *Ann. Hematol.* – 2021. – Vol. 100, № 10. – P. 2513–9. doi:10.1007/s002770210460 –y.
79. Fattizzo B. Autoimmune Cytopenias in Chronic Lymphocytic Leukemia: Focus on Molecular Aspects / B. Fattizzo, W. Barcellini // *Front. Oncol.* – 2020. – № 9. doi: 10.3389/fonc.2019.01435.
80. Fattizzo B. Recent insights into the role of the microbiome in malignant and benign hematologic diseases / B. Fattizzo, F. Cavallaro, F. Folino, W. Barcellini // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2021. – № 160. – P. 103289. doi: 10.1016/j.critrevonc.2021.103289.
81. Ferretti E. A novel role of the CX3CR1/CX3CL1 system in the cross-talk between chronic lymphocytic leukemia cells and tumor microenvironment / E. Ferretti, M. Bertolotto, S. Deaglio S, C. Tripodo, D. Ribatti, V. Audrito, F. Blengio, S. Matis, S. Zupo, D. Rossi et al. // *Leukemia*. – 2011. – № 25. – P. 1268–1277. doi: 10.1038/leu.2011.88.
82. Ferretti E. The nitric oxide synthase 2 pathway is targeted by both pro- and anti-inflammatory treatments in the immature human intestine / E. Ferretti, E. Tremblay, M.P. Thibault, D. Grynspan, K.M. Burghardt, M. Bettolli, C. Babakissa, E. Levy, J.F. Beaulieu // *Nitric Oxide*. – 2017. – № 66. – P. 53-61. doi: 10.1016/j.niox.2017.03.003.
83. Filip A.A. Circulating microenvironment of CLL: Are nurse-like cells related to tumor-associated macrophages / A.A. Filip, B. Cisel, D. Koczkodaj, E. Wasik-Szczepanek, T.

- Piersiak, A. Dmoszynska // *Blood Cells Mol.* – 2013. – № 50. – P. 263–270. doi: 10.1016/j.bcmed.2012.12.003.
84. Fisher A. The evolving use of measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia clinical trials / A. Fisher, H. Goradia, N. Martinez-Calle et al // *Front. Oncol.* – 2023. – Vol. 13. – P. 1130617. doi:10.3389/fonc.2023.1130617.
 85. Forster S.C. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses / S.C. Forster, N. Kumar, B.O. Anonye et al // *Nat. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 37, № 2. – P. 86–92. doi:10.1038/s41587-018-0009-7.
 86. Francesca A. Immune Response Dysfunction in Chronic Lymphocytic Leukemia: Dissecting Molecular Mechanisms and Microenvironmental Conditions / F. Arruga, B.B. Gyau, A. Iannello, N. Vitale, T. Vaisitti, S. Deaglio // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 5. – P. 1825.
 87. Fuchs D. Neopterin its clinical use in urinalysis / D. Fuchs, C. Stahl-Hennig, A. Gruber et al // *Kidney Int.* – 1994. – Vol. 47. – P. 8–11.
 88. Fust G. C1 and C4 abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia and their significance / G. Fust, Z. Miszlay, E. Czink, L. Varga, K. Paloczi, G. Szegedi, S.R. Hollan // *Immunol. Lett.* – 1987. – № 14. – P. 255–259. doi: 10.1016/0165-2478(87)90110-6.
 89. Goma W. The prognostic significance of immunostaining of Wnt signalling pathway molecules, E-cadherin and β -catenin in colorectal carcinoma / W. Goma, H. Al-Maghrabi, J. Al-Maghrabi // *Arab. J. Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 22, № 2. – P. 137–45. doi: 10.1016/j.ajg.2021.05.001.
 90. González-Chávez S. A. Lactoferrin: structure, function and applications. *Antimicrob Agents* / S. A. González-Chávez, S. Arévalo-Gallegos, Q. Rascón-Cruz // *Int J.* – 2009. – Vol. 3, № 4. – P. 301–308. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.07.020.
 91. Grander C. Alpha-1 antitrypsin governs alcohol-related liver disease in mice and humans / C. Grander, B. Schaefer, J. Schwärzler, F. Grabherr, D.M. Graaf, B. Enrich, G. Oberhuber, L. Mayr, M. Sangineto, N. aschke, T.E. Adolph, M. Effenberger, A.R. Moschen, C.A. Dinarello, H. Zoller, H. Tilg // *Gut.* – 2021. – Vol. 70, № 3. – P. 585-594. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321375.
 92. Gustafson M.P. Association of an increased frequency of CD14⁺ HLA-DR^{lo}/neg monocytes with decreased time to progression in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) / M.P. Gustafson, R. S. Abraham, Y. Lin, W. Wu, D. A. Gastineau, C. S. Zent, A. B. Dietz // *Br. J. Haematol.* – 2012. – №156. – P. 674–676. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08902. x.

93. Hassoun L.A. A systematic review of lactoferrin use in dermatology / L. A. Hassoun, R.K. Sivamani // *Crit Rev Food Sci Nutr.* – 2017. – Vol. 7, № 17. – P. 3632-3639. doi: 10.1080/10408398.2015.1137859.
94. Hetland G. Inflammatory markers calprotectin, NETs, syndecan-1 and neopterin in COVID-19 convalescent blood donors / G. Hetland, M.K. Fagerhol, V.P. Dimova-Svetoslavova, M. R. Mirlashari, N.T. Nguyen, A. Lind, S.O. Kolset, AVL. Søråas, LSH Nissen-Meyer // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2022. – Vol. 82, № 6. – P. 481-485. doi: 10.1080/00365513.2022.2123387.
95. Hofland T. Engaging Cytotoxic T and NK Cells for Immunotherapy in Chronic Lymphocytic Leukemia / T. Hofland, E. Eldering, A.P. Kater, S.H. Tonino // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – № 20. doi: 10.3390/ijms20174315.
96. Hofland J. Approach to the Patient: Insulinoma / J. Hofland, J.C. Refardt, R.A. Feelders, E. Christ, W.W. Herder // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2024. – Vol. 109, № 4. – P. 1109-1118. doi: 10.1210/clinem/dgad641.
97. Iannello A. Synergistic efficacy of the dual PI3K delta/gamma inhibitor duvelisib with the Bcl-2 inhibitor venetoclax in Richter syndrome PDX models / A. Iannello, N. Vitale, S. Coma et al // *Blood.* – 2021. – Vol. 37, № 24. – P. 3378–89. doi:10.1182/blood.2020010187.
98. Immanuel C. Serum neopterin levels in HIV infected patients with & without tuberculosis / C. Immanuel, L. Victor, K.S. Chelvi et al // *Indian J. Med. Res.* – 2005. – № 121. — P. 220–225.
99. Innocenti I. Subcutaneous immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia with secondary antibody deficiency. A monocentric experience during Covid-19 pandemics / I. Innocenti, A. Tomasso, G. Benintende, F. Autore, A. Fresca, F. Vuono, L. Stirparo, E. Galli, G. D'Arena, F. Sorà, D. Efremov, L. Laurenti // *Hematol. Oncol.* – 2022. – Vol. 40, № 3. – P. 469-474. doi: 10.1002/hon.2966.
100. Jungraithmayr T.C. Assessment of cytomegalovirus infections using neopterin and a new immunoblot / T.C. Jungraithmayr, M. Reschke, S.O. Grebe et al. // *Clin. Chim. Acta* – 2001. – Vol. 310, № 1. — P. 63–69.
101. Kaneva M.K. Alpha-1-antitrypsin reduces inflammation and exerts chondroprotection in arthritis / M.K. Kaneva, M.M. Muley, E. Krustev, A. R. Reid, P.R. Souza, F. Dell'Accio, J.J. McDougall, M. Perretti // *FASEB J.* – 2021. – Vol. 35, № 5. – P. 21472. doi: 10.1096/fj.202001801R.
102. Kell D.B. The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria / D.B. Kell, E.I. Heyden, E. Pretorius // *Front. Immunol.* – 2020. – № 11. – P. 1221. doi: 10.3389/fimmu.2020.01221.

103. Kemeriz F. Evaluation of Neopterin Level and Disease Severity in Patients with Psoriasis Vulgaris Treated with Narrowband UVB / F. Kemeriz, M. Gönül, F.P. Cengiz, N. Emiroğlu, B.C. Cemil // *Indian J. Dermatol.* – 2019. – Vol. 64, № 6. – P. 447-450. doi: 10.4103/ijid.IJD_53_18.
104. Keshavarz A. Toll-like receptors (TLRs) in cancer; with an extensive focus on TLR agonists and antagonists / A. Keshavarz, A. Pourbagheri-Sigaroodi, P. Zafari et al. // *IUBMB Life.* – 2021. – Vol. 73, № 1. – P. 10–25. DOI: <https://doi.org/10.1002/iub.2412>.
105. Khalil M. Epstein-Barr virus encephalitis presenting with a tumor-like lesion in an immunosuppressed transplant recipient / M. Khalil, C. Enzinger, M. Wallner-Blazek et al. // *J. Neurovirol.* – 2008. – Vol. 14, № 6, P. 574-578.
106. Khanum R. Lactoferrin modulates the biofilm formation and bap gene expression of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* / R. Khanum, P.Y. Chung, S.C. Clarke, B.Y. Chin // *Can. J. Microbiol.* – 2022. doi: 10.1139/cjm-2022-0135.
107. Kilani B. *Escherichia vulneris* as a cause of bacteremia in a patient with chronic lymphocytic leukemia / B. Kilani., L. Ammari, H.T. Benaïssa, B. T. Chaabane, C. Fendri // *International Journal of Infectious Diseases – Elsevier.* – 2018. – Vol.12, № 1. – P.110 –111. doi: 10.1016/j.ijid.2007.04.005.
108. Kitabayashi A. Late-onset herpes simplex virus associated interstitial pneumonia after allogeneic bone marrow transplantation / A. Kitabayashi et al // *Bone Marrow Transpl.* – 2000. – Vol. 25. – P. 225–226.
109. Kobayashi-Sakamoto M. Bovine lactoferrin increases the poly(I:C)-induced antiviral response in vitro / M. Kobayashi-Sakamoto, T. Maeda, M. Kimura, J. Yusa, H. Ito, H. Tani, Y. Kato, K. Hirose // *Biochem. Cell Biol.* – 2022. – Vol. 100, № 4. – P. 338-348. doi: 10.1139/bcb-2021-0342.
110. Krzyzowska M. Lactoferrin-Conjugated Nanoparticles as New Antivirals / M. Janicka, M. Tomaszewska, K. Ranoszek-Soliwoda, G. Celichowski, J. Grobelny, P. Szymanski // *Pharmaceutics.* – 2022. – Vol. 14, № 9. – P. 1862. doi: 10.3390/pharmaceutics14091862.
111. Lai Y.R. From DNA damage to cancer progression: potential effects of cytolethal distending toxin / Y. R. Lai, Y. F. Chang, J. Ma et al // *Front. Immunol.* –2021. – Vol. 12. – P. 760451. doi:10.3389/fimmu.2021.760451.
112. Lechowicz U. Post-Translational Modifications of Circulating Alpha-1-Antitrypsin Protein /U. Lechowicz, S. Rudzinski, A. Jezela-Stanek, S. Janciauskiene, J. Chorostowska-Wynimko // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. № 23. – P. 9187. doi: 10.3390/ijms21239187.
113. Leung W.H. Extrapulmonary tuberculous abscess in chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine: case report and review of literature / W.H. Leung, S.F. Tsang, C.S.

- Chim // American Journal of Hematology (AM J HEMATOL). – 2005. – Vol.79 - P. 246-247 doi:10.1002/ajh.20322 PMid:15981223.
114. Levay P. F. Lactoferrin: a general review / P. F. Levay, M. Viljoen // Haematologica. – 1995. – Vol. 80, № 3. – P. 252-67.
 115. Li Z. Y. Analysis of primary symptoms and disease spectrum in Epstein-Barr virus infected children / Z. Y. Li, J.G. Lou, J. Chen // Zhonghua Er Ke Za Zhi. – 2004. - Vol.42, №.1. - P. 20-22.
 116. Liu J. Intratumor microbiome in cancer progression: current developments, challenges and future trends / J. Liu, Y. Zhang // Biomark. Res. — 2022. – Vol. 10, № 1. – P. 37 doi:10.1186/s40364-022-00381-5.
 117. Liu Y.D. Toll-like receptor 2 regulates metabolic reprogramming in gastric cancer via superoxide dismutase 2 / Y. D. Liu, L. Y, L. Ying et al // Int. J. Cancer. – 2019. –Vol. 144, № 12. – P 3056–69. doi:10.1002/ijc.32060.
 118. Loutfy S. A. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus in children with acute lymphoblastic leukemia in Egypt / S. A. Loutfy et al // Saudi. Med. J. – 2006. – Vol. 27, № 8. – P. 1139–1145.
 119. Lu Y. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies /Y. Lu, X. Yuan, M. Wang et al // J. Hematol. Oncol. – 2022. – Vol. 15, № 1 – P. 47 doi:10.1186/s13045-022-01273-9.
 120. MacFarlane A.W.T. NK cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia is associated with loss of the mature cells expressing inhibitory killer cell Ig-like receptors /A. W. T. MacFarlane, M. Jilla, M. R. Smith, R. K. Alpaugh, M. E. Cole, S. Litwin, M. M. Millenson, T. Al-Saleem, A. D. Cohen, K. S. Campbell //Oncoimmunology –2017. – № 6. – P. 330235 doi: 10.1080/2162402X.2017.1330235.
 121. Maffei R. The monocytic population in chronic lymphocytic leukemia shows altered composition and deregulation of genes involved in phagocytosis and inflammation / R. Maffei, J. Bulgarelli, S. Fiorcari, L. Bertoncelli, S. Martinelli, C. Guarnotta, I. Castelli, S. Deaglio, G. Debbia, De. S. Biasi et al. //Haematologica. – 2013. – № 98. – P. 1115–1123. doi: 10.3324/haematol.2012.073080.
 122. Manukyan G., Neutrophils in chronic lymphocytic leukemia are permanently activated and have functional defects / G. Manukyan, T. Papajik, P. Gajdos, Z. Mikulkova, R. Urbanova, G. Gabcova, M. Kudelka, P. Turcsanyi, P. Ryznerova, V. Prochazka et al // Oncotarget. – 2017. – № 8. –P. 84889–84901 doi: 10.18632/oncotarget.20031.

123. Meyers J.D. Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia / J.D. Meyers, P. Ljungman, L.D. Fisher // *J. Infect. Dis.* – 1990. – Vol.162. – P.373–380.
124. Mirzaei R. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention / R. Mirzaei, A. Afaghi, S. Babakhani, M. R. Sohrabi, S. R. Hosseini-Fard, K. Babolhavaeji et al // *Biomed. Pharmacother.* – 2021. – Vol. 139, № 111619. doi:10.1016/j.biopha.2021.111619.
125. Molica S. Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment / S. Molica // *Leuk/ Lymphoma.* –1994. – Vol.13 – P. 203-214.
126. Molica S. Minimal residual disease and survival outcomes in patients with chronic lymphocytic leukemia: a systematic review and meta-analysis / S. Molica, D. Giannarelli, E. Montserrat // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* – 2019. – Vol. 19, № 7. – P. 423–30. doi:10.1016/j.clml.2019.03.014.
127. Morgenthau A. The role of lactoferrin binding protein B in mediating protection against human lactoferricin / A. Morgenthau, M. Livingstone, P. Adamiak, A. B. Schryvers // *Biochem. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 90, № 3 – P. 417-23. doi: 10.1139/o11-074.
128. Morgenthau A. Bacterial receptors for host transferrin and lactoferrin: molecular mechanisms and role in host-microbe interactions // A. Morgenthau, A. Pogoutse, P. Adamiak, T.F. Moraes, A.B. Schryvers // *Future Microbiol.* – 2013. – Vol. 8, № 12. –P. 1575-85. doi: 10.2217/fmb.13.125.
129. Morra E. Infectious Complications in Chronic Lymphocytic Leukemia / E. Morra, A. Nosari, M. Montillo // *Hematology, Transfusion and Cell Therapy.* – 2012. – Vol. 41, № 4, – P. 145. doi:10.1007/s00282-999-0145-0.
130. Morrissey S. M. Tumor-derived exosomes drive immunosuppressive macrophages in a pre-metastatic niche through glycolytic dominant metabolic reprogramm /S. M. Morrissey, F. Zhang, C. Ding et al // *Cell Metab.* – 2021. – Vol. 33, № 10. – P. 2040–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.002>.
131. Morrissey S. M. Transition metals at the host-pathogen interface: how *Neisseria* exploit human metalloproteins for acquiring iron and zinc / S.M. Morrissey, F. Zhang, C. Ding et al // *Essays Biochem.* – 2017. – Vol. 9, № 61(20) – P. 211-223. doi: 10.1042/EBC20160084.
132. Noor F. Recent Advances in Diagnostic and Therapeutic Approaches for Breast Cancer: A Comprehensive Review / F. Noor, A. Noor, A.R. Ishaq, I. Farzeen, M.H. Saleem, K. Ghaffa, M.F. Aslam, S. Aslam, J.T. Chen // *Curr Pharm Des.* – 2021. – Vol. 27, № 20 – P. 2344-2365. doi: 10.2174/1381612827666210303141416.

133. Noor F. The gut microbiota and hematopoietic stem cell transplantation: challenges and potentials / F. Noor, A. Kaysen, P. Wilmes, J. G. Schneider // *J. Innate. Immun.* – 2019. – Vol. 11, № 5. – P. 405–15. doi: 10.1159/000492943.
134. Nishihira K. Neopterin as a Marker of In-Stent Restenosis: to Have or Have Not// *J. Atheroscler. Thromb.* – 2018.- Vol. 1, № 25 (11). – P. 1089-1090. doi: 10.5551/jat.ED097.
135. Nuriye T.F. The Value of neopterin and Procalcitonin in Patients with Sepsis / T.F. Nuriye, A. Yuksel, Y. C. Ahmet et al // *SMJ.* –2010. – Vol. 103, № 3. –P. 210-216.
136. O'Brien M. E. A Review of Alpha-1 Antitrypsin Binding Partners for Immune Regulation and Potential Therapeutic Application / M. E. O'Brien, G. Murray, D. Gogoi, A. Yusuf, C. McCarthy, M. R. Wormald, M. Casey, C. Gabillard-Lefort, N. G. McElvaney, E. P. Reeves // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 5. – P. 2441. doi: 10.3390/ijms23052441.
137. Omaru N. Activation of NOD1 and NOD2 in the development of liver injury and cancer / N. Omaru, T. Watanabe, K. Kamata et al // *Front. Immunol.* – 2022. – Vol. 13, № 1004439. doi:10.3389/fimmu.2022.1004439.
138. Ozdemir E. Cytomegalovirus reactivation following allogeneic stem cell transplantation is associated with the presence of dysfunctional antigenspecific CD8+ T cells / E. Ozdemir, L.S. St John, G. Gillespie et al // *Blood.* – 2002. – Vol.100, № 1 – P. 3690-3697.
139. Pagano L. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies / L. Pagano, M. Caira, A. Candoni et al // *The SEIFEM-2004 study. Haematologica.* – 2006. – Vol. 91 –P. 1068-1075.
140. Palmblad J. Chronic idiopathic neutropenias and severe congenital neutropenia / J. Palmblad, H.A. Papadaki // *Curr. Opin. Hematol.* – 2008. – Vol. 15, № 1. – P. 8–14. doi: 10.1097/ MOH.0b013e3282f172d3.
141. Pammi M. Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants / M. Pammi, G. Suresh // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2017. – Vol. 28, № 6. P. 6. CD007137. doi: 10.1002/14651858.CD007137
142. Petersen C. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease / C. Petersen, J. L. Round // *Cell Microbiol.* – 2014. – Vol. 16, № 7. – P. 1024–33. doi:10.1111/cmi.12308.
143. Petrache I. Alpha-1 antitrypsin inhibits caspase-3 activity, preventing lung endothelial cell apoptosis / I. Petrache, I. Fijalkowska, T.R Medler, J. Skirball, P. Cruz, L. Zhen, H. I. Petrache, T. R. Flotte, R. M. Tudor // *Am. J. Pathol.* –2006. – Vol. 169, № 4. – P.1155-66.
144. Petrelli F. Use of antibiotics and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies / F. Petrelli, M. Ghidini, A. Ghidini, G. Perego, M. Cabiddu, S.

- Khakoo et al // *Cancers (Basel)*. – 2019. – Vol. 11, № 8. –P. 1174. doi:10.3390/cancers11081174.
145. Petrova V. I The hypoxic tumour microenvironment / V. Petrova, M. Annicchiarico-Petruzzelli, G. Melino, A. Amelio // *Oncogenesis*. – 2018. – P. 7, № 10. doi: 10.1038/s41389-017-0011-9.
 146. Pizzini A. Assessment of neopterin and indoleamine 2,3-dioxygenase activity in patients with seasonal influenza: A pilot study / A. Pizzini, K. Kurz, J. Santifaller, C. Tschurtschenthaler, I. Theurl, D. Fuchs, G. Weiss, R. Bellmann-Weiler // *Influenza Other Respir Viruses*. – 2019. – Vol. 13, № 6. P. – 603-609. doi: 10.1111/irv.12677.
 147. Postolache T. T. Decreasing Tryptophan and Increasing Neopterin Plasma Levels During Pregnancy are Associated with High First Trimester Porphyromonas gingivalis K-Serotype IgG Serointensity in a Cohort of Hispanic Women /T. T. Postolache, S. K. Upadhyaya, A. M. Spector, I. Mohyuddin, N. Constantine, R. K. Ernst, A. Wadhawan, S. V. O Dutra , A. Dagdag, H. Makkar, C. A. Lowry, F. Akram, D. Fuchs, L. A. Brenner, M. W. Groer, M. A. // *Reynolds Curr. Top. Med. Chem.* – 2022. – Vol. 22, № 25. – P. 2126-2144. doi: 10.2174/1568026622666220404115543.
 148. Chen Po–Wen Prebiotic effects of bovine lactoferrin on specific probiotic bacteria / P. W. Chen, Z. S. Liu, T. C. Kuo, M. C. Hsieh, Z. H. Li // *Biometals*. – 2017. –Vol. 30, № 2. – P. 237-248. doi: 10.1007/s10534-017-9999-8.
 149. Prendecki M. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Does Increased Neutrophil Adhesion Contribute to Lung Damage? / M. Prendecki, K. M. Lodge // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2022. – Vol. 67, № 1. – P. 6-7. doi: 10.1165/rcmb.2022-0100ED.
 150. Raa D. G. T. Diagnosis, treatment and supportive management of chronic lymphocytic leukemia: recommendations of the Dutch HOVON CLL working group/ D. G. T. Raa, L. van der Straten, M. van Gelder, S. Kersting, M. D. Levin, R. Mous, H. M. van der Straaten, M. R. Nijziel, E. van der Spek, E. F. M. Posthuma, J. P. H. Visser, M. van der Klift, K. de Heer, M. Bellido, J. K. Doorduijn, A. H. W. Bruns, R. A. P. Raijmakers, A. P. Kater // *Leuk. Lymphoma*. – 2022. – Vol. 63, №10. – 2276-2289. doi: 10.1080/10428194.2022.2084731.
 151. Randolph-Habecker J. Cytomegalovirus mediated myelosuppression / J. Randolph-Habecker, M. Iwata, B. Torok-Storb // *J. Clin. Virol.* – 2002. – Vol.25, № 2. – P.51–56.
 152. Reeves M. Reactivation of human cytomegalovirus in dendritic cells / M. Reeves, P. Sissons, J. Sinclair // *Discov. Med.* – 2005. – Vol.5, № 26. – P. 170-174.
 153. Reyes-López M. Activity of Apo-Lactoferrin on Pathogenic Protozoa / M. Reyes-López, G. Ramírez-Rico, J. Serrano-Luna, M. de la Garza // *Pharmaceutics*. – 2022 –Vol. 14, № 8. – P. 1702. doi: 10.3390/pharmaceutics14081702.

154. Reyna Figueroa J. Probiotic supplementation decreases chemotherapy induced gastrointestinal side effects in patients with acute leukemia / J. Reyna Figueroa, Barrón E. Calvillo, C. García Parra et al // J. Pediatr. Hematol. Oncol – 2019. –Vol. 41, № 6. – P. 468–72. doi:10.1097/ MPH.0000000000001497.
155. Riches J.C., Gribben J.G. Immunomodulation and immune reconstitution in chronic lymphocytic leukemia. Semin / J. C. Riches, J. H. Gribben // Hematol. – 2014. –№ 51. – P. 228–234. doi:2014.05.006.
156. Ridlon J.M. Taurocholic acid metabolism by gut microbes and colon cancer / J. M. Ridlon, P. G. Wolf, H. R. Gaskins // Gut. Microbes. – 2016. – Vol. 7, № 3. – P. 201–15. doi:10.1080/19490976.2016.1150414 .
157. Rossi D. Occult hepatitis B virus infection of peripheral blood mononuclear cells among treatment-naïve patients with chronic lymphocytic leukemia / D. Rossi, L. Sala, R. Minisini // Leuk. Lymphoma. – 2009. - Vol.50, № 4. – P.604-611.
158. Saghazadeh A. Elevated neopterin in tuberculosis and co-infection with HIV and the effect of treatment: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression / A. Saghazadeh, N. Rezaei // Int. Immunopharmacol. – 2022. – № 111. – P. 109147. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109147.
159. Sahin Tekin M. Cellular immunity in subacute thyroiditis: a new perspective through neopterin / M. Sahin Tekin, E. Kocaturk, S. Gurcu, H. Kayadibi, H. Dibeklioglu, G. Yorulmaz // Clin. Exp. Immunol. – 2022. – Vol. 209, № 1. – P. 109-114. doi: 10.1093/cei/uxac050.
160. Sakurai, A. Neopterin. / A. Sakurai, M. Goto // J. Bio. chem. – 1967.-Vol. 61, – P.142–145.
161. Sampsell K. The gut microbiota: a potential gateway to improved health outcomes in breast cancer treatment and survivorship / K. Sampsell, D. Hao, A.R. Reimer. // J. Mol. Sci. – 2020.- Vol. 21, № 23. – P. 9239. doi:10.3390/ijms21239239.
162. Sandherr M. Antiviral prophylaxis in patients with haematological malignancies and solid tumours: Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Oncology (DGHO) / M. Sandherr et al. // Ann. Oncol. – 2006. – Vol. 17, – P. 1051–1059.
163. Saral R. Acyclovir prophylaxis against herpes simplex virus infection in patients with leukemia. A randomised, double-blind, placebo-controlled study / R. Saral et al. // Ann. Intern. Med. – 1983. – Vol. 99, – P. 773–776.
164. Schwartz R.H. Alpha-1 antitrypsin in childhood asthma / R.H.Schwartz, J.D. Van Ess, D.E. Johnstone, E.M. Dreyfuss, M.A. Abrishami, H. Chai // J. Allergy. ClinImmunol. – 1977. – Vol. 59, № 1. – P. 31-4.

165. Semenza G.L. HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations / J. Clin. Invest – 2013. – Vol. 123. – P. 3664–3671. doi: 10.1172/JCI67230.
166. Sepich-Poore G.D. The microbiome and human cancer / G. D. Sepich-Poore, L. Zitvogel, R. Straussman et al. // Science. – 2021. – Vol. 371, № 6536. – P. 4552. doi:10.1126/science.abc4552.
167. Sester M. Dominance of virus-specific CD8 T cells in human primary cytomegalovirus infection / M. Sester, U. Sester, B.C. Gärtner et al. // J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. – Vol. 13, № 10, – P. 2577-84.
168. Shady M.M. Association of neopterin as a marker of immune system activation and juvenile rheumatoid arthritis activity / M.M. Shady, H.A. Fathy, A. Ali et al. // J. Pediatr (Rio J). – 2015. – Vol. 91, № 4. – P. 352—357.
169. Sharp L.K. Practical genetics: alpha-1- antitrypsin deficiency and the serpinopathies / L.K. Sharp, D.C. Crowther, D. Belorgey, E. Miranda, K. J. Kinghorn, D. A. Lomas. // Eur. J. Hum. Genet. – 2004. – Vol. 12, № 3. – P. 167-72.
170. Shi Y. Biol Human lactoferrin binds and removes the hemoglobin receptor protein of the periodontopathogen Porphyromonas gingivalis / Y. Shi, W. Kong, K. J. Nakayama. // Chem. – 2000. – Vol. 29, № 275(39) – P. 30002-8. doi: 10.1074/jbc.M001518200.
171. Shini V.S. A comprehensive review on lactoferrin: a natural multifunctional glycoprotein. / V.S. Shini, C.T. Udayarajan, P.A. Nisha. // Food Funct. – 2022. – Vol. 28, № 13(23). – P. 11954-11972. doi: 10.1039/d2fo02371g.
172. Singh B.B. Decrease in alpha-1 antiproteinase antitrypsin is observed in primary Sjogren's syndrome condition / B.B. Singh, J. Ohm, F. O. Quenum Zanbede, P. Chauhan, F-G. M. Kroese, A. Vissink, J. L. Ambrus, B.B. Mishra BB. // Autoimmunity – 2020. – Vol. 53, № 5. – P. 270-282. doi: 10.1080/08916934.2020.1768376.
173. Sobstyl M. The role of microbiota in the immunopathogenesis of endometrial cancer / M. Sobstyl, P. Brecht, A. Sobstyl, P. Mertowska, E. Grywalska // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 10. – P. 5756. doi:10.3390/ijms23105756.
174. Sogabe N. Warm autoimmune hemolytic anemia and IgM-monoclonal gammopathy following BNT162b2 COVID-19 vaccine in a patient with splenic marginal zone lymphoma / N. Sogabe, M. Kuno, Y. Nakagama, Y. Makuuchi, N. Harada, T. Takakuwa, H. Okamura, A. Hirose, M. Nishimoto, Y. Nakashima, H. Koh, M. Nakamae, Y. Kido, H. Nakamae, M. Hino M. // Rinsho Ketsueki. – 2022. – Vol. 63, № 10. – P. 1379-1385. doi: 10.11406/rinketsu.63.1379.

175. Souhail B. Antibiotic therapy for Enterococcus bacteraemia: warning for the antimicrobial stewardship team. European / B. Souhail, M. Le Maréchal, R. Manuello, R. Chrétien, P. Charlot, G. Déroutilhès, M. Della Guardia, V. Blanc, A. Fribourg, N. Degand, P. M. // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2019. – Vol. 38, – №. 11. – P. 2087-2095.
176. Sportoletti P. NK Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia and Their Therapeutic Implications / P. Sportoletti, F. De Falco, B. Del Papa, S. Baldoni, V. Guarente, A. Marra, E. Dorillo, C. Rompietti, F. Adamo, F. M., Ruggeri, L. M. Di Ianni, & E. Rosati // International journal of molecular sciences – 2021. – Vol. 22, № 13. – P. 6665. doi:10.3390/ijms22136665.
177. Strnad P. Alpha1-Antitrypsin Deficiency / P. Strnad, N. G. McElvaney, D. A. Lomas // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 382, № 15. – P. 1443-1455. doi: 10.1056/NEJMra1910234.
178. Sun R. Alpha-1 antitrypsin in autoimmune diseases: Roles and therapeutic prospects / R. Sun, Z. Xu, C. Zhu, T. Chen, L. E. Muñoz, L. Dai, Y. // Int. Immunopharmacol. – 2022. – №. 110. - P. 109001. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109001.
179. Tafreshi N.K. Development of a multiplex nested consensus PCR for detection and identification of major human herpesviruses in CNS infections / N.K. Tafreshi, M. Sadeghizadeh, S. Amini-Bavil-Olyae // J. Clin. Virol. – 2005. – Vol.32, № 4, – P. 318-324.
180. Telang S. Lactoferrin: A Critical Player in Neonatal Host Defense. Nutrients / – 2018. – Vol. 4, № 10(9). – P. 1228. doi: 10.3390/nu10091228.
181. Tsukada N. Distinctive features of “nurselike” cells that differentiate in the context of chronic lymphocytic leukemia / N. Tsukada, J. A. Burger, N. J. Zvaifler, T. J. Kipps. // Blood. – 2002. – Vol. 99. – P.1030–1037. doi: 10.1182/blood. V99.3.1030.
182. Turkulov V. Meningoencephalitis as the only manifestation of Epstein-Barr virus infection / V. Turkulov, N. Madle-Samardzija, S. Brkic // Med. Pregl. – 1999. – Vol.52, № 9-10. – P. 391-393, ISSN 0025-8105.
183. Ulvatne H. Lactoferricin B inhibits bacterial macromolecular synthesis in Escherichia coli and Bacillus subtilis / H. Ulvatne, Ø Samuelsen, H. H. Haukland, M. Krämer, L. H. Vorland // FEMS Microbiol. Lett. – 2004. – Vol. 15, № 237(2). – P. 377-84. doi: 10.1016/j.femsle.2004.07.001.
184. Vaisitti T. Ectonucleotidases in Blood Malignancies: A Tale of Surface Markers and Therapeutic Targets. / T. Vaisitti, F. Arruga, G. Guerra, S. Deaglio// Front. Immunol. –2019. – Vol.10. – P. 2301. doi: 10.3389/fimmu.2019.02301.
185. Vaisitti T. Chronic Lymphocytic Leukemia /T. Vaisitti, F. Arruga, A. Ferrajoli// Cancers (Basel). – 2020. - Vol. 167, № 49. – P.2504. doi: 10.3390/cancers12092504.

186. Van der Velden W.J. Mucosal barrier injury, fever and infection in neutropenic patients with cancer: introducing the paradigm febrile mucositis / W. J. Van der Velden, A. H. Herbers, M. G. Netea, N. M. Blijlevens // *Br. J. Haematol.* – 2014. – Vol. 167, № 4. – P. 441–52. doi: 10.1111/bjh.13113.
187. Vancíková Z. Cytomegalovirus infection in immunocompetent and immunocompromised individuals-a review / Z. Vancíková, P. Dvorák // *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* – 2001. – Vol.1, № 2. – P. 179-7.
188. Vardi A. Restrictions in the T-cell repertoire of chronic lymphocytic leukemia: High-throughput immunoprofiling supports selection by shared antigenic elements / A. Vardi, E. Vlachonikola, M. Karypidou, E. Stalika, V. Bikos, K. Gemenetzi, C. Maramis, A. Siorenta, A. Anagnostopoulos, S. Pospisilova, et al. // *Leukemia.* – 2017. – Vol. 31. – P. 1555–1561. doi: 10.1038/leu.2016.362.
189. Vlachonikola E. T Cell Defects and Immunotherapy in Chronic Lymphocytic Leukemia / E. Vlachonikola, K. Stamatopoulos, A. Chatzidimitriou. // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, № 13. – P. 3255. doi: 10.3390/cancers13133255.
190. Vidal R. et al. Diagnostico y tratamiento del deficit de alfa-1antitripsina Guidelines for the Diagnosis and Management of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Arch. // Bronconeumol.* – 2006. – Vol. 42, № 12. – P. 645-659.
191. Vivarelli S. Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy / S. Vivarelli, R. Salemi, S. Candido, L. Falzone, M. Santagati. // *Cancers (Basel).* – 2019. Vol. 11, № 1. – P. 38. doi:10.3390/cancers11010038.
192. Wadhwa P. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia / P. Wadhwa, V.A. Morrison // *Seminars in Oncology.* – 2006. – Vol.33. P. 240-249.
193. Wald A. Epidemiology of candida infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation / A. Wald, W. Leisenring, J. A. van Burik // *J. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 175, № 6. – P. 1459–1466.
194. Ward J.L. The Influence of Viral Infections on Iron Homeostasis and the Potential for Lactoferrin as a Therapeutic in the Age of the SARS-CoV-2 Pandemic / J.L. Ward, M. Torres-Gonzalez, M. C. B. Ammons. // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 27, № 14(15). – P. 3090. doi: 10.3390/nu14153090.
195. Watson L. Disease burden of chronic lymphocytic leukemia within the European Union / L. Watson, P. Wyld, D. Catovsky // *European Journal of Haematology (Eur J Haematol).* – 2008. – Vol. 81, № 4. – P. 253-258. doi:10.1111/j.1600-0609.2008.01114.
196. Werner G. VRE study group. Thirty years of VRE in Germany–“expect the unexpected”: The view from the National Reference Centre for Staphylococci and Enterococci

- / G. Werner, B. Neumann, R. E. Weber, M. Kresken, C. Wendt, J. K. // Drug Resistance Updates. – 2020. – Vol. 53. – P. 100732.
197. WHO Bulletin OMS, α 1-Antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. – 1997. – Vol. 75, № 5. – P. 397-415.
 198. Wierda W.G. Measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia: expert review and consensus recommendations / W. G. Wierda, A. Rawstron, F. Cymbalista. // Leukemia. – 2021. – Vol. 35, № 11. – P.3059–72. doi:10.1038/s41375-021-01241-1
 199. Wilson M.R. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA / M. R. Wilson, Y. Jiang, P. W. Villalta. // Science. – 2019. – Vol. 363, № 6428. – P. 7785. doi: 10.1126/science. aar7785.
 200. Wróbel M. Antiviral Effect of Bovine Lactoferrin against Enterovirus E. Molecules / M. Wróbel, J. Małaczewska, E. Kaczorek-Łukowska.// Molecules. – 2022. – Vol. 27, № 17. – P. 5569. doi: 10.3390/molecules27175569.
 201. Xu Y. Antibacterial properties of lactoferrin: A bibliometric analysis from 2000 to early 2022 / Y. Xu, Y. Wang, J. He, W. Zhu. // Front. Microbiol. – 2022. – Vol. 17, № 13. – P. 947102. doi: 10.3389/fmicb.2022.947102.
 202. Yano M. Natural Killer Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia: Functional Impairment and Therapeutic Potential / M. Yano, J. C. Byrd, & N. Muthusamy. // Cancers. – 2022. – Vol. 14, № 23. – P. 5787. doi: /10.3390/cancers14235787.
 203. Yoshida K. Alpha 1 Antitrypsin Regulates Trophoblast Syncytialization and Inflammatory Factor Expression / K. Yoshida, A. Yano, K. Kusama, G. Ishikawa, K. Tamura. // Int. J. Mol. Sci. – 2022, – Vol. 23, № 4. – P. 1955. doi: 10.3390/ijms23041955.
 204. Yuan Y. Anti-inflammaging effects of human alpha-1 antitrypsin / Y. Yuan, B. DiCiaccio, Y. Li, A. S. Elshikha, D. Titov, B. Brenner, L. Seifer, H. Pan, N. Karic, M. A. Akbar, Y. Lu, S. Song, L. Zhou. // Aging Cell. – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 12694. doi: 10.1111/accel.12694.
 205. Yuan Y. Human Alpha 1 Antitrypsin Suppresses NF- κ B Activity and Extends Lifespan in Adult Drosophila / Y. Yuan, M. Van Belkum, A. O'Brien, A. Garcia, K. Troncoso, A. S. Elshikha, L. Zhou, S. Song. // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12, № 10. –P. 1347. doi: 10.3390/biom12101347.
 206. Zhang X. Alpha-1 antitrypsin: A novel biomarker and potential therapeutic approach for metabolic diseases / X. Zhang, D. A. Ostrov, H. Tian. // Clin. Chim. Acta. –2022. – Vol. 1, № 534. – P. 71-76. doi: 10.1016/j.cca.2022.07.005.

207. Zheng D. Interaction between microbiota and immunity in health and disease / D. Zheng, T. Liwinski, E. Elinav. // *Cell Res.* – 2020. – Vol. 30, № 6. – P. 492–506. doi: 10.1038/s41422-020-0332-7.
208. Zhen-Shu Liu. A Single Plasmid of Nisin-Controlled Bovine and Human Lactoferrin Expressing Elevated Antibacterial Activity of Lactoferrin-Resistant Probiotic Strains / Liu Zhen-Shu, Lin Chuen-Fu, Lee Chung-Pei Lee, Hsieh Min-Chi, Lu Hung-Fu, Chen Ying-Fang, Ku Yu-We, Chen Po-Wen.// *Antibiotics (Basel).* – 2021. – Vol. 27, № 10(2). – P. 120. doi: 10.3390/antibiotics10020120.
209. Zhen-Shu Liu. Oral Administration of Recombinant Lactoferrin-Expressing Probiotics Ameliorates Diet-Induced Lipid Accumulation and Inflammation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice / Liu Zhen-Shu, Li Pei-Lin, Ku Yu-We, Chen Po-Wen.// *Microorganisms* – 2022. – Vol. 9, № 10(11). – P. 2215. doi: 10.3390/microorganisms10112215.
210. Zhou X. Enterococcus faecium: from microbiological insights to practical recommendations for infection control and diagnostics / X. Zhou, R. J. L. Willems, A. W. Friedrich, J. W. A. Rossen, E. Bathoorn. // *Antimicrobial Resistance & Infection Control.* – 2020. – Vol. 9, – №. 1. – P. 1-13. doi: 10.1186/s13756-020-00770-1.
211. Zwirska-Korczala K. Hepatocytes growth factor (HGF), leptin, neopterin serum concentrations in patients with chronic hepatitis C / K. Zwirska-Korczala, A. P. Dziambor, A. Wiczowski et al. // *Przegl. Epidemiol.* — 2001. — Vol. 55, № 3. — P. 164–169.