ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Кафедра факультетской терапии

**Допускается к защите**

Заведующий кафедрой

*д.м.н., проф., Шишкин А.Н.*

*« »\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_*

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

*на тему: Ферритин как маркер избыточной воспалительной реакции*

Выполнил студент

602 группы

Титов А.К.

Научный руководитель:

К.м.н., доц. Кулибаба Т.Г.

Санкт-Петербург

2016 год

# Список сокращений

вГФС – вторичный гемофагоцитарный синдром

ГФС - гемофагоцитарный синдром

ГХ – гемохроматоз

ЖДА – железодефицитная анемия

ИЛ – интерлейкин

МЕ – международные единицы

ПЖ – перегрузка железом

пГФС – первичный гемофагоцитарный синдром

РЭС – ретикуло-эндотелиальная система

СМА – синдром макрофагальной активации

СФ – сывороточный ферритин

Ф – ферритин

ЭБВ – вирус Эпштейн-Барр

Hb – гемоглобин

Оглавление

[Список сокращений 2](#_Toc451111321)

[Введение 4](#_Toc451111322)

[Глава 1. Ферритин - диагностический маркер воспалительных реакций 6](#_Toc451111323)

[1.1. Метаболизм железа и ферритин 6](#_Toc451111324)

[Источники железа для нужд организма 6](#_Toc451111325)

[Транспорт железа в плазме крови и его поступление в клетки 7](#_Toc451111326)

[Строение ферритина, его фракции. Депонирующая функция ферритина 8](#_Toc451111327)

[Регуляция содержания железа в клетке 10](#_Toc451111328)

[Дефекты метаболизма железа 12](#_Toc451111329)

[1.2. Функция ферритина в воспалительной реакции 14](#_Toc451111330)

[1.3. Обзор причин гиперферритинемии более 1000 нг/мл 16](#_Toc451111331)

[1.4. Вторичный гемофагоцитарный синдром 20](#_Toc451111332)

[Общие аспекты этиологии и патогенеза 20](#_Toc451111333)

[Модель патогенеза 22](#_Toc451111334)

[Эпидемиология 23](#_Toc451111335)

[Этиологические факторы ГФС 25](#_Toc451111336)

[Диагностика 27](#_Toc451111337)

[Глава 2. Характеристика клинического материала и методов 34](#_Toc451111338)

[2.1. Характеристика клинического материала 34](#_Toc451111339)

[2.2. Статистическая обработка 36](#_Toc451111340)

[2.3. Лабораторная диагностика 37](#_Toc451111341)

[Принцип методики набора «ИФА-ферритин» 38](#_Toc451111342)

[Глава 3. Результаты собственного исследования 41](#_Toc451111343)

[3.1. Выявление частоты основных клинических и лабораторных маркеров в структуре клинической картины болезни пациентов с вГФС и сепсисом 41](#_Toc451111344)

[3.2. Результаты сравнения групп вГФС и сепсиса 44](#_Toc451111345)

[3.3. Обсуждение результатов 45](#_Toc451111346)

[3.4. Клинический случай успешной терапии пациента с вГФС, осложнившим течение болезни Стилла взрослых 48](#_Toc451111347)

[Заключение 52](#_Toc451111348)

[Выводы 54](#_Toc451111349)

# Введение

Ферритин является одним из железосодержащих белков организма человека. В большинстве случаев ферритин воспринимается исключительно как маркер содержания железа, в то время как его клиническое значение выходит за рамки диагностики железодефицитной анемии (ЖДА), различных форм гемохроматоза (ГХ) и перегрузки железом (ПЖ). Повышение ферритина часто интерпретируется исключительно как признак ПЖ, в то время как его нормальные значения, казалось бы, исключают диагноз ЖДА. Однако ферритин не только представляет собой депо железо, но и является позитивным белком острой фазы, т.е. его уровень в крови повышается при любом воспалительном и инфекционном процессе. Как результат, повышенный или нормальный ферритин может маскировать наличие железодефицитной анемии в тех случаях, когда она сочетается с воспалением. Также ферритин представляет особый интерес в качестве маркера гипервоспалительной реакции, при которой уровень ферритина резко возрастает (до тысяч и десятков тысяч нг/мл). К таким реакциям относятся в т.ч. гемофагоцитарный синдром (ГФС), недостаточно изученное и освещенное в литературе состояние, которое крайне редко вовремя диагностируется и, в то же время, представляет огромную опасность для жизни пациента. Однако своевременная диагностика и рано начатое лечение позволяет снизить смертность пациентов от ГФС, что подтверждается сообщениями о том, что позднее начло терапии этопозидом является значимым фактором риска ранней смерти пациента [14].

В литературе имеется значительное количество упоминаний о том, что сывороточный ферритин является достаточно чувствительным и специфичным маркером ГФС как у детей, так и, хотя и в меньшей степени, у взрослых. При этом также отмечается, что ГФС исключительно сложно дифференцировать от сепсиса, особенно в тех случаях, когда инфекция послужила триггером для развития ГФС и персистирует параллельно с развитием ГФС. Хотя точных данных, отражающих смертность от ГФС нет, все авторы отмечают, что прогноз при отсутствии лечения неблагоприятный и смертность приближается к 100%. Своевременное лечение позволило добиться 54% выживаемости у детей при использовании протокола HLH-94 [33].

Учитывая вышесказанное, актуальным представляется сравнить группу пациентов с ГФС и группу пациентов с сепсисом для поиска критериев по которым можно было бы проводить дифференциальный диагноз данных пациентов.

**Цель работы**: выявить различия в группах пациентов со вторичным (развившемся во взрослом возрасте) ГФС и пациентов с сепсисом или констатировать их отсутствие. Особое внимание предполагается уделить сывороточному ферритину как потенциально перспективному маркеру, способному улучшить дифференциальный диагноз вГФС и сепсиса

**Задачи работы**:

1. Определить спектр клинических и биохимических критериев, по которым будет проводиться сравнение групп пациентов.
2. Описать группу пациентов с вГФС с точки зрения клинических и биохимических проявлений данного синдрома и сопоставить полученные результаты с данными литературы.
3. Выявить статистически значимые различия в клинических и биохимических показателях между группами пациентов с вГФС и пациентов с сепсисом.

# Глава 1. Ферритин - диагностический маркер воспалительных реакций

## 1.1. Метаболизм железа и ферритин

Железо, в основном, входит в состав белков, среди которых есть как гемсодержащие, где железо находится в небелковой части (гем), так и негемовые железосодержащие белки, связывающие железо непосредственно. К первой группе относятся гемоглобин и миоглобин, ко второй - транспортные белки трансферрин, ферритин и различные ферменты. Приблизительно 1/3 железа организма находится в составе ферритина, который исполняет роль депо железа.

### Источники железа для нужд организма

Организм человека содержит достаточные запасы железа, однако оно должно постоянно поступать с пищей, т.к. происходит его физиологическая потеря (около 1 мг железа в сутки). При синтезе железосодержащих белков используется не только железо пищи, но и железо, освобождающееся при постоянном распаде дефектных и старых эритроцитов в клетках печени и селезёнки.

Железо пищи, в основном, представлено ионами Fe3+ (т.е. окисленным железом), однако железо всасывается в двенадцатиперстной кишке только в восстановленном виде, т.е. необходимо окислить Fe3+ в Fe2+. Этот переход катализирует дуоденальный цитохром B ([Dcytb](https://en.wikipedia.org/wiki/Dcytb" \o "Dcytb)), располагающийся на щеточной кайме энтероцитов [46], а также этому способствует аскорбиновая кислота, содержащаяся в пище. В сутки человек потребляет около 15-20 мг железа, но всасывается не более 3-4 мг [4].

Количество железа, выделяющееся из энтероцитов в кровь регулируется за счет усиления или ослабления синтеза белка апоферритина (ферритина, не содержащего железа), который накапливает железо, превращаясь в ферритин, и удерживает его внутри клетки. При физиологическом обновлении эпителия слизистой оболочки, клетки слущиваются и избыточное железо в составе ферритина выводится из организма. При недостатке железа в организме апоферритин в энтероцитах почти не синтезируется, т.к. интенсивность его синтеза зависит от концентрации железа (более подробно эти механизмы описаны в подразделе «Регуляция содержания железа в клетках организма»). После поступления железа в кровь, его транспортирует белок плазмы крови трансферрин (рис.1).

Помимо этого существуют также внешние механизмы регуляции поступления железа в кровь из энтероцитов, одним из которых является регуляция гепсидином, специальным фактором, выделяемым гепатоцитами в ответ на повышенные уровни трансферрина сыворотки. Гепсидин блокирует транспортер, который обеспечивает секрецию ионов железа энтероцитами в кровь и уменьшает захват железа пищи энтероцитами [29].

### Транспорт железа в плазме крови и его поступление в клетки

Железо в плазме переносится с помощью трансферрина, который синтезируется в печени. Он связывает только окисленное железо (Fe3+). Одна молекула трансферрина связывает до двух ионов Fe3+. Нормальное насыщение трансферрина железом составляет около 33% [2]. При поступлении в кровь железо из восстановленной формы в окисленную переводит белок церулоплазмин.

Для проникновения внутрь клетки трансферрин связывается с рецептором к нему на поверхности клетки, что приводит к захвату трансферрина и освобождению железа внутри клетки (см. рис.1)



**Рис. 1. Поступление в ткани железа пищи.**  Аскорбиновая кислота окисляет Fe3+до Fe2+, т.к. только в такой форме железо всасывается. В энтероците железо соединяется с апоферритином. Та часть, железа, которая не связалась с ферритином поступает в кровь, где с помощью церулоплазмина восстанавливается до Fe3+ и вводится в состав трансферрина. После чего комплекс трансферрин-железо поглощается клетками тех тканей, которым необходимо железо. Если в организме повышен уровень железа, то повышается уровень апоферритина в энтероцитах, как результат железо не поступает в кровоток, а энтероциты постепенно слущиваются. Это один из механизмов снижения поступления железа в кровь [1].

При этом трансферрин, теряя железо превращается в апотрансферрин, по-прежнему оставаясь связанным с рецептором к трансферрину. Этот комплекс возвращается на мембрану, где апотрансферрин отсоединяется от рецептора, оказывается в межклеточном веществе и диффундирует в кровеносное русло, где снова начинает выполнять свою транспортную функцию.

### Строение ферритина, его фракции. Депонирующая функция ферритина

Внутриклеточное железо, если оно не используется для синтеза железосодержащих белков, запасается в составе ферритина. Одна молекула Ф способна аккумулировать до 4500 ионов железа и постепенно высвобождать их в соответствии с нуждами клетки. Молекула Ф состоит из «белковой раковины», которая содержит в центре полость – ядро, где и хранятся атомы железа. В состав одной молекулы входят 24 субъединицы, каждый из которых может быть или легкой (L) или тяжелой (H). Каждая из этих типов субъединиц играет свою роль в процессе включения железа в состав ядра. Поскольку Fe2+ токсично для клетки, оно окисляется до Fe3+, что обеспечивается ферментными комплексами, располагающимися на Н-субъединицах, в то время как гидратация и транспорт ионов железа к ядру – функция L-субъединиц (рис. 2). Разный набор субъединиц (их соотношение) в молекуле Ф определяет существование нескольких изоформ этого белка в разных тканях.

Железо может извлекаться из Ф с помощью хелаторов, которые проникают в ядро, связывают определенное количество атомов железа и переносят их в цитоплазму, либо при деградации Ф. Ферритины, которые богаты H-субъединицами, быстрее накапливают и освобождают железо, в то время как Ф, богатые L-субъединицами, медленнее высвобождают железо. Примечательно, что именно Ф, богатые L-субъединицами, содержатся в селезенке и печени, которые играют основную роль в депонировании железа в организме [43]. Деградация Ф осуществляется либо с помощью лизосом, либо под воздействием протеосом. При этом протеосомная деградация является более предпочтительной, т.к. при ней Ф разрушается полностью и освобождает все железо, которое в нем содержится, в то время, как при лизосомной деградации Ф превращается в гемосидерин, что играет определенную роль в патогенезе гемохроматозов [11].

Наибольшее количество Ф содержится в костном мозге, селезенке и печени, т.к. эти органы принимают наиболее активное участие в обмене железа. Часть Ф экскретируется в плазму крови. Эта фракция богата L-субъединицами, кроме того, она является гликозилированной, что отражает ее секреторное происхождение. В то время как при разрушении клеток выделяется негликозилированный Ф. Данная фракция появляется в крови как результат цитолиза и является его индикатором. Считается, что поступление Ф в кровь пропорционально его содержанию в тканях, исходя из этого концентрация Ф - важный показатель запасов железа в организме [1]. Однако исходя из данных [11] сывороточный гликозилированный Ф содержит очень малое количество железа, в отличие от тканевого Ф, а появление негликозилированного Ф в крови не связано с запасами железа. Тем не менее, сывороточный ферритин (СФ) является признанным лабораторным маркером дефицита железа и ЖДА. Тем не менее следует внимательно относиться к этому маркеру, т.к. при существующем дефиците железа СФ может повышаться в силу других причин (например, в результате цитолиза). По той же причине СФ не может служить надежным маркером перегрузки железом, несмотря на данные некоторых авторов [3]

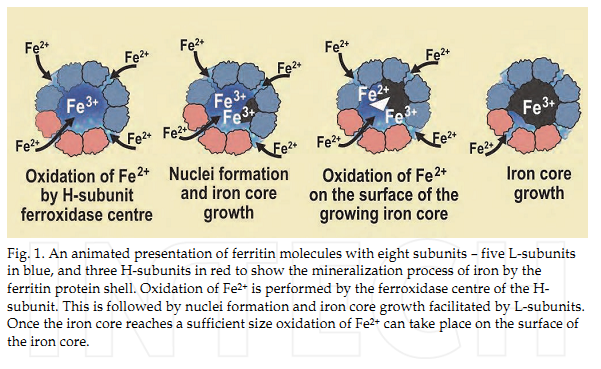


Рисунок 2. Процесс депонирования железа в тканях: *1* – окисление Fe2+ до Fe3+  за счет H-ферритиновых субъединиц; *2* – образование ферригидратного ядра в центре полости молекулы ферритина; *3* – окисление Fe2+ до Fe3+ на поверхности ферригидратного ядра ферритина; *4* – рост железного ядра ферритина [11].

### Регуляция содержания железа в клетке

Количество железа в клетке зависит от скорости его захвата, депонирования и использования. Ключевым агентом захвата железа в неэритроидных клетках является клеточный рецептор трансферрина. Соответственно, скорость захвата железа определяется количеством трансферриновых рецепторов на мембране клетки. Белок апоферритин в свою очередь депонирует избыток клеточного железа, превращаясь при связывании с ним в ферритин. Таким образом трансферриновые рецепторы и ферритин в некотором смысле являются белками-антагонистами, синтез которых регулируется на этапе трансляции и зависит от количества железа в клетке.

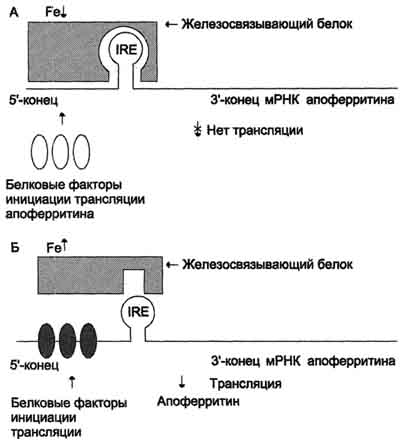


Рис. 3. Регуляция синтеза апоферритина [1]

Так, мРНК, кодирующая молекулу апоферритина способна связывать регуляторный белок (IRE-связывающий белок, IRE-СБ), который блокирует трансляцию мРНК и, как следствие, синтез апоферритина. мРНК рецепторов трансферрина также способна связываться с IRE-СБ, но он наоборот стабилизирует её и ускоряет трансляцию рецепторов трансферрина. Железо в высоких концентрациях способно взаимодействовать с IRE-СБ и деактивировать его, таким образом, увеличивая продукцию апоферритина и снижая производство трансферриновых рецепторов, что снижает концентрацию железа цитоплазмы. Когда в клетке содержание железа низкое, IRE-СБ остается активным и усиливает захват железа, повышая количество железа, доступного клетке.



Рис. 4. Метаболизм железа в организме [8]

### Дефекты метаболизма железа

Существуют состояния, связанные как с избыточным содержанием железа, так и с его недостатком.

Врачи часто сталкиваются с **дефицитом железа** и с его прямым следствием, **железодефицитной анемией**. Она развивается, чаще всего, как результат хронической кровопотери, при активном потреблении железа организмом, например, при беременности, либо при нарушении всасывания железа в связи с функциональной или органической недостаточностью ЖКТ.

В тех ситуациях, когда система ферритинового депо не справляется с нарастающей концентрацией железа в клетке, ионы железа начинают связываться с белковой частью ферритина, нарушая его структуру и превращая его в малорастворимый гемосидерин, содержащий до 37% железа [1]. Накапливающийся во внутренних органах гемосидерин является причиной развития **гемохроматоза**. Непосредственным этиологическим фактором избыточного накопления железа могут быть генетически детерминированные дефекты ферментов и белков участвующих во всех этапах метаболизма железа, таким образом, конкретных причин развития гемохромотоза может быть достаточно много. Например, существует генетический дефект белка *HFE,* который приводит к так называемому HFE-зависимому наследственному гемохроматозу. При этой мутации гепатоциты некорректно распознают повышенный уровень железа сыворотки, не вырабатывают достаточное количество белка гепсидина (его физиологическая роль описана в разделе «Источники железа для нужд организма»). Как следствие увеличивается всасывание железа энтероцитами и его высвобождение в плазму [29].

## 1.2. Функция ферритина в воспалительной реакции

Помимо той важной роли, которую Ф играет в метаболизме железа, он выполняет также ряд других функций в организме. Одной из его функций является участие в реакции острой фазы.

Реакция острой фазы (ответ острой фазы, преимунный ответ) – комплексная защитная реакция организма, направленная на обезвреживание и снижение темпов размножения патогенов. Данная реакция необходима организму, т.к. полноценный специфичный иммунный ответ развивается в течение 5-14 дней. Для того, чтобы поддерживать неспецифическую защиту организма до момента развития иммунного ответа возникла реакция острой фазы. Она включает в себя несколько компонентов, в том числе: лихорадку, изменение профиля белков крови (смещение его в сторону глобулиновой фракции), снижение уровня железа и цинка сыворотки. Все эти реакции направлены на уменьшение резистентности микроорганизмов. Снижение концентраций железа и цинка в плазме необходимо для того, чтобы уменьшить доступность этих ионов для микроорганизмов, которым они необходимы для включения их в состав своих ферментов. Кроме того, ионы железа способны разветвлять процессы свободнорадикального окисления, гиперактивация которых усиливает повреждение собственных клеток иммунной системы, в которых продуцируются свободные радикалы [50]. Это косвенно подтверждается тем фактом, что при лечении анемии у пациентов с ревматоидным артритом с использованием препаратов железа, у них ухудшалось течение основного заболевания [15].

Снижение сывороточных ионов металлов связано с усилением их захвата клетками ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС). Для того, чтобы эффективно захватывать железо плазмы, клетки РЭС должны усилить количество синтезируемого ферритина. Это происходит под воздействием провосполительных цитокинов, основными из которых являются ИЛ-1 и ИЛ-6. Считается, что большую роль в ответе острой фазы играет ферритин, богатый H-субъединицами (H-ферритин), т.к. он способен захватывать железо быстрее, чем более стабильный L-ферритин. Кроме того именно H-ферритины, по той же причине, обеспечивают защиту клеток от свободных радикалов [66]. Исходя из этих данных становится ясно, что в плазме увеличивается содержание именно H-ферритина, в то время как в норме Ф плазмы богат L-субъединицами [11, [9](http://med.by/dmn/book.php?book=11-5_3)]. Клетка способна регулировать количество содержащегося в ней H-ферритина путем его секреции в плазму, таким образом избавляясь от его излишков, ведущих к избыточному захвату железа. Возможно, это является главной причиной повышения Ф в плазме во время ответа острой фазы, однако прямых указаний на это в литературе найдено не было.

При заболеваниях, сопровождающихся длительной циркуляцией в плазме провоспалительных цитокинов, происходит задержка железа в клетках РЭС и перегрузка их железом в составе Ф. При этом Ф начинает превращаться в гемосидерин, который выполняет как защитную роль, так и повреждающую. Гемосидерин крайне медленно деградирует, но, в то же время прочно связывает железо, не позволяя ему высвобождаться. Таким образом он защищает клетку от перегрузки железом. Большие количества гемосидерина подвергаются аутофагоцитозу, откладываясь в сидеросомах. Именно сидеросомы можно считать конечным этапом деградации Ф.

Описанные механизмы демонстрируют способность хронических воспалительных заболеваний приводить к гемосидероз РЭС при пониженном уровне сывороточного железа, что проявляется так называемой анемией хронического заболевания. Ф не является единственным белком, ответственным за поддержание сниженного уровня железа сыворотки. При воспалении повышается уровень гепсидина, что приводит к снижению всасывания железа в кишечнике.

Помимо железосвязывающей функции ферритин также участвует в регуляции работы клеточного звена иммунной системы. В то же время на секрецию Ф клетками РЭС также влияют Т-лимфоциты [11]. Было показано, что Ф в условиях *in vitro* способен подавлять ответ лимфоцитов на различные митогены, ингибировать лимфоцитарную реакцию, блокировать доступ лимфоцитов к различным регуляторам, экранируя поверхность клетки от них. Кроме того, Ф обладает антиапоптотическим действием за счет снижения интенсивности оксидативного стресса.

## 1.3. Обзор причин гиперферритинемии более 1000 нг/мл

Содержание ферритина, как белка острой фазы, может увеличиваться при любом воспалительном процессе, как инфекционного, так и неинфекционного характера. Учитывая это, Якубовский С.В. и др. [10] предложили использовать сывороточный ферритин в качестве прогностического маркера эффективности консервативной терапии при остром холецистите, и, как следствие, маркера необходимости оперативного вмешательства, также встречается информация об информативности ферритина, как маркера интенсивности воспаления при перитоните [5]. Однако максимальное повышение ферритина, которое было зафиксировано при холецистите не превышало 250 нг/мл, что приближается к верхней границе нормы, но не превышает ее.

В то же время, существует ряд состояний, при которых ферритин повышается до тысяч и даже десятков тысяч нг/мл, при этом клиническая картина достаточно неспецифична. При таких состояниях необходим тщательный диагностический поиск и принципиально разный терапевтический подход.

Многие авторы предлагают оценивать уровень ферритина совместно с уровнем сывороточного железа [25] и/или уровнем насыщения трансферрина [56], т.к. это рационально с позиции патофизиологии и позволяет сузить круг поиска возможных причин гиперферритинемии.

**Гиперферритинемия при низком уровне сывороточного железа** говорит о наличии воспалительного синдрома (см. раздел 2 главы 1). В этом случае ферритин крайне редко повышается более 1000 нг/мл. Таким образом, воспалительные заболевания могут маскировать существующую ЖДА, поэтому, в этом случае, не стоит переоценивать диагностическую роль Ф в диагностике ЖДА.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Сниженное насыщение трансферрина/железа сыворотки | Нормальное насыщение трансферрина/железа сыворотки | Повышенное насыщение трансферрина/железа сыворотки |
| Воспалительный синдром | Дисметаболический синдром  Мутация ферропортина  Наследственная ацерулоплазминемия  Поздняя кожная порфирия  Другие причины | Цитолиз  Хронический алкоголизм  Гемохроматозы 1-3 типов  Массивные гемотрансфузии и дизеритропоэз |

Табл. 1. Дифференциальная диагностика причин гиперферритинемии в зависимости от уровня насыщения трансферрина/железа сыворотки. Комментарий в тексте

**Гиперферритинемия с нормальным или повышенным уровнем железа сыворотки**

Любой цитолиз приводит к повышению сывороточного ферритина [32], например, хронический гепатит, гемолиз, рабдомиолиз, инфаркт миокарда [23]. Более того, острые гепатиты (вне зависимости от этиологии) могут приводить к резкому повышению Ф до 10000-20000 нг/мл [48], вероятно, с преобладанием негликозилированного. Было показано, что острые повреждения печени составляют 19% случаев повышения ферритина более 3000 нг/мл [64]. Уровень СФ статистически значимо коррелирует с повышением уровня АЛТ при печеночном цитолизе [21].

При хроническом алкоголизме помимо повышенного СФ, который может иногда превышать 1000 нг/мл [56], наблюдается увеличение уровней насыщения трансферрина и сывороточного железа в отсутствие цитолиза. Кроме того происходит изолированная перегрузка железом печени [31]. Считается, что ферритин повышается за счет индукции его синтеза алкоголем.

При многих злокачественных опухолях наблюдается гиперферритинемия. Часто она имеет связь с динамикой процесса и, например, предложена в качестве маркера прогрессии заболевания и ответа на терапию при лимфомах [51, 54]. Однако данный онкомаркер является крайне неспецифичным, поэтому он вытеснен новыми более точными методами. В настоящее время, использование СФ в качестве онкомаркера не оправданно.

Болезнь Стилла взрослых характеризуется значительным повышением ферритина до 10 000 нг/мл, что было предложено в качестве диагностического маркера данного заболевания, позволяющего провести дифференциальный диагноз с другими сходными состояниями. Примечательно, что характерно снижение гликозилированной фракции Ф до 20%. [6].

Также гиперферритинемия наблюдается при гипертиреозе, синдроме наследственной гиперферритинемии-катаракты – редком заболевании, возникающем вследствие мутации в гене, кодирующем L-ферритин, сахарном диабете, при котором уровень ферритина коррелирует с уровнем гликированого гемоглобина, а также при болезни Гоше.

В ряде случаев гиперферритинемия, если она также сопровождается повышением уровня насыщения трансферрина и железа плазмы (за исключением гемохроматоза 4 типа и ацерулоплазминемии), указывает на наличие перегрузки железом, однако, как следует из вышесказанного, для достоверной диагностики данного состояния, помимо исследования уровня СФ, требуются другие методы.

**Состояния, сопровождающиеся перегрузкой железом**

Перегрузка железом встречается при врожденном гемохроматозе первого типа, который наследуется по аутосомно-рециссивному типу. Гетерозиготы по данной мутации асимптомны, но могут демонстрировать повышение сатурации трансферрина и умеренное увеличение сывороточного ферритина [39]. В то же время у гомозигот наблюдается выраженное повышение ферритина и насыщения трансферрина выше 80%. Обязательным этапом в диагностике данного заболевания является оценка запасов железа печени с помощью МРТ. Однако окончательным доказательством будет обнаружение мутации C282Y в гене HFE в шестой хромосоме. При гемохроматозах типов 2 и 3 также наблюдается повышение ферритина и насыщения трансферрина [42]. Среди других причин перегрузки железом встречаeтся синдром дисметаболического гепатосидероза (dysmetabolic hepatosiderosis syndrome), который характеризуется значительной перегрузкой железом, нарушением метаболизма углеводов и/или дислипидемией. При этом синдроме наблюдается гиперферритинемия, сопровождающаяся нормальным уровнем насыщения трансферрина. Биопсия печени в 50% случаев выявила простой стеатоз [23]. Две трети пациентов с данным заболеванием являются гетерозиготами по одной из мутаций в гене HFE [16].

Редкими причинами являются длительное парентеральное применение железа или гемотрансфузии в анамнезе, поздняя кожная порфирия, нарушение миелопоэза с гиперабсорбцией железа пищи, врожденная ацерулоплазминемия.

В ряде источников обсуждается термин «гиперферритинемический синдром» под которым предполагают объединять болезнь Стилла взрослых, катастрофический антифосфолипидный синдром, ГФС и септический шок [57].

## 1.4. Вторичный гемофагоцитарный синдром

Еще одной причиной повышения СФ является гемофагоцитарный синдром (ГФС, син. синдром макрофагальной активации), при котором ферритин может быть значительно повышенным, так же как и при болезни Стилла (более 10000 нг/мл). Поскольку этот синдром очень часто не распознается вовремя, а также ведет к высокой смертности (>90% среди пациентов, не получавших своевременную терапию [37], механизмы его развития требуют более детального описания.

### Общие аспекты этиологии и патогенеза

ГФС можно определить, жизнеугрожающее состояние, вызванное неконтролируемой активацией и пролифирацией морфологически доброкачестенных лимфоцитов и макрофагов, секретирующих избыток цитокинов (цитокиновый шторм), что, в конце концов, приводит к полиорганной недостаточности и смерти.

Такой массивный иммунный ответ развивается за счет неспособности Т-лимфоцитов проявлять свою цитотоксичность, что приводит к их гиперактивации и, как результат, к избыточной секреции провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, активируют моноцитарно-макрофагальное звено иммунной системы, которое вновь стимулирует пролиферацию Т-клеток. При этом причины исходной активации Т-лимфоцитов могут быть различными. Важно то, что, в то время как лимфоциты здорового человека отреагируют на данный стимул адекватно, лимфоциты человека, способного потенциально развить ГФС, окажутся несостоятельными. Чем больше эта несостоятельность, тем более слабый триггер способен запустить патологическую реакцию, тем раньше ГФС проявится у данного индивидуума. В настоящее время классическое деление ГФС на первичный (развивающийся в раннем детстве, пГФС) и вторичный (приобретенный, развивающийся позже, вГФС), представляется не столь существенным, т.к. как в том, так и в другом случае, ключевую роль все равно играют генетические дефекты. Различие состоит лишь в серьезности дефектов и в том, выявлены они или остаются нераспознанными. Изученные дефекты, полностью или значительно блокирующие цитотоксичность лимфоцитов, будучи в гомозиготном состоянии, приводят к раннему дебюту ГФС, который принято называть «первичным». Однако, несмотря на раннее развитие, даже «первичный» ГФС требует триггера [20]. Было показано, что степень нарушения функции белка, кодируемого дефектным геном, коррелирует со возрастными сроками дебюта заболевания. Так, мутация, приводящая к полной несостоятельности белка, обуславливает раннее развитие синдрома. Например, ГФС, ассоциированный с дефектом гена PRF1, ведущим к наиболее серьезным нарушениям цитотоксичности Т-лимфоцитов, практически всегда дебютирует в раннем детстве (см. рис. 5) [52, 58, 62]. В дальнейшем термины пГФС и вГФС, которые по-прежнему широко распространены, будут использоваться в значениях «ранний ГФС» и «поздний ГФС» соответственно.

Интерес к проблеме ГФС значительно возрос за последние 10 лет, о чем свидетельствует тот факт, что поисковый запрос "adult hemophagocytic lymphohistiocytosis" в базе Pubmed в 2003-2004 гг. возвращал пользователю 17 результатов, в то время как в 2014-2015 гг. – 197 результатов.

### Модель патогенеза

Общая схема патогенеза пГФС и вГФС принципиально не отличается. CD8+ лимфоциты в норме подавляют избыточную пролиферацию АПК, которые экспрессируют антигены патогенна (опухолевой клетки или инфекционного агента и т.д.), провоцируя постоянную пролиферацию Т-лимфоцитов. Это избыточное число неполноценных Т-клеток, которые неспособны уничтожить носителя антигена, производит огромное число провоспалительных цитокинов (в первую очередь, IFN-γ [38, 60], которые прорываются в системный кровоток и обуславливают картину ГФС [61]. Эта модель объясняет значительный терапевтический эффект этопозида, который действует именно на активированные Т-лимфоциты.

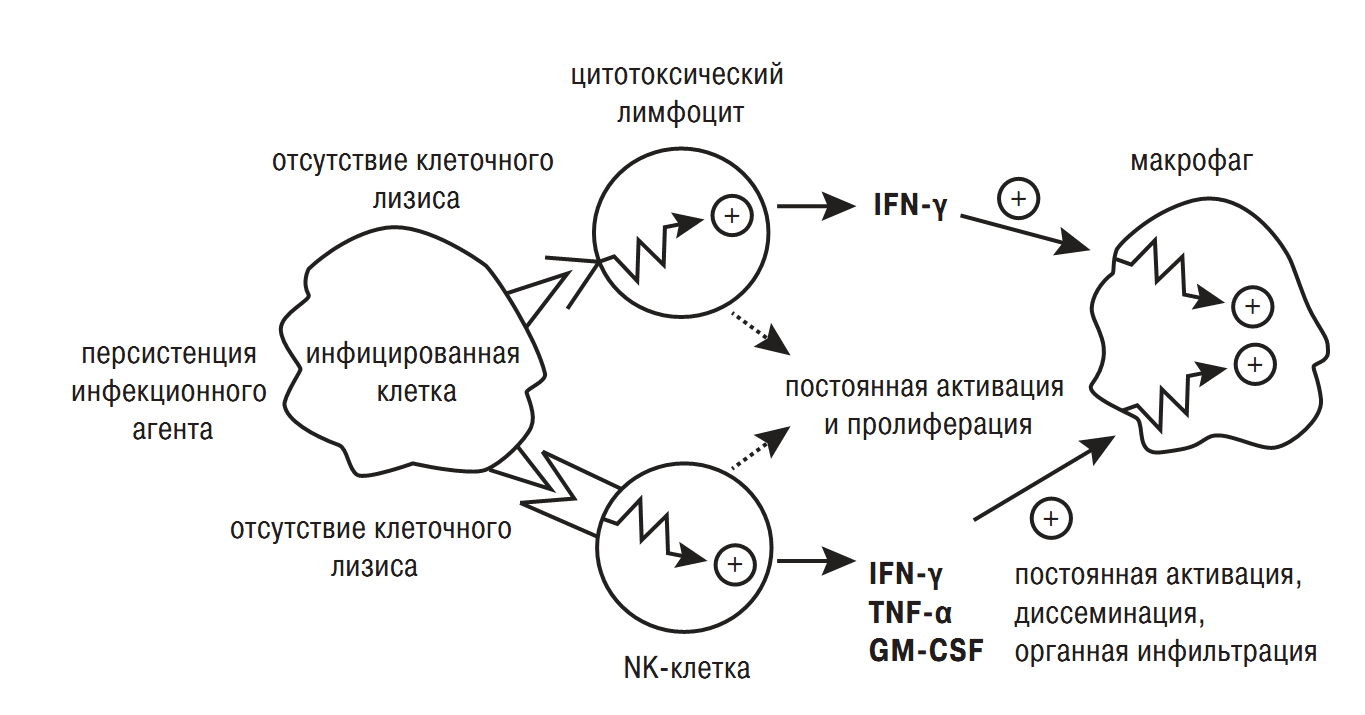


Рис. 5а. Общий патогенез ГФС

Врожденный, «серьезный»

Приобретенный, «легкий»

**Иммунный дефект**

**Иммунная активация**

**Дети, пГФС**

**Взрослые, вГФС**

**Вклад в патогенез**

**Частота**

Рис. 5б. Различия первичного и вторичного ГФС. ГФС развивается под воздействием двух факторов: триггера, который приводит к иммунной активации (обычно, инфекция) и дефекта иммунной системы, не позволяющего справиться с триггером. Как результат из-за гиперактивации иммунной системы, страдает собственный организм. На фоне серьезного дефекта (например, мутация гена перфорина, PRF1) любая инфекция приведет к развитию ГФС. Т.к. это случится в детском возрасте, такой ГФС будет расценен как первичный (пГФС, левая часть рисунка). В то время как при Т-клеточной кожной лимфоме, сопровождающейся постоянной активацией опухолевых Т-лимфоцитов, необходима сильная активация иммунной системы (массивная инфекция, сепсис) для развития ГФС (вГФС, правая часть рисунка) [14].

### Эпидемиология

Создается впечатление, что, в целом, частота ГФС в популяции сильно зависит от расово-этнического состава. В Российской федерации отсутствует какая-либо информация по этому поводу. Шведский национальный регистр оценивает заболеваемость ГФС в 1.5:1 000 000 детей, рожденных живыми в 2007-2011 гг. [47]. Однако, в Техасской детской больнице частота ГФС была оценена как 1:3000 госпитализаций [12]. Во взрослой сети частота выявления синдрома может достигать 1:2000 госпитализаций в специализированных лечебные учреждениях [53].

Название ГФС крайне неудачно, т.к. создается впечатление, что этот диагноз верифицируется исключительно биопсией, что не отражает реальной ситуации. В целом гемофагоцитоз, т.е. наличие фагоцитированных эритроидных клеток в костном мозге, - характерный, но не единственный и не специфичный признак ГФС. Недавнее исследование аспиратов ККМ 58 пациентов, у которых подозревалось наличие ГФС, показало, что само по себе наличие гемофагоцитоза не коррелирует с вероятностью наличия ГФС [35].

Для диагностики, а чаще, для стандартизирования проявлений первичного ГФС и фиксации их в клинических исследованиях используются диагностические критерии, разработанные Histiosyte Society (критерии HLH-2004).

**Критерии HLH-2004 [34]**

1. Обнаружение мутаций генов PRF1, UNC13D, Munc18-2, STX11
2. Присутствие 5 из 9 признаков:

1. Персистирующая лихорадка выше 38,5 °C в течение более 7 дней

2. Спленомегалия

3. 2- или 3-ростковая цитопения, т. е.

• гемоглобин < 90 г/л

• тромбоциты < 100 × 109

• нейтрофилы < 1 × 109

4. Гипертриглицеридемия (≥ 3 ммоль/л, или ≥ 265 мг/дл) и/или гипофибриногенемия (< 1,5 г/л)

5. Морфологическая картина гемофагоцитоза в костном мозге, селезенке или лимфатических узлах

6. Низкое или полное отсутствие активности NK-клеток

7. Ферритин > 500 нг/мл

8. Повышение уровня растворимого sСD25 в крови

Важно отметить, что критерии HLH-2004 разрабатывались и апробировались для пациентов с пГФС, в то время как для вГФС общепринятые критерии отсутствуют, поэтому более актуально исследование именно «взрослой» формы данного синдрома, т.к. различия в реактивности детей и взрослых могут существенно изменять клиническую картину и диагностическую значимость различных лабораторных маркеров.

### Этиологические факторы ГФС

К развитию как пГФС, так и вГФС могут приводить те события, которые вызывают значительное напряжение иммунной системы, особенно Т-клеточного звена. В зависимости от выраженности врожденного дефекта иммунной системы, вклад генетической и триггерной составляющей может быть различным. Так, человеку с мутацией PRF1 достаточно практически любого инфекционного агента для развития ГФС. С другой стороны, некоторые вирусы, такие как Эбола и вирус конго-крымской геморрагической лихорадки вызывают сходные с ГФС состояния у пациентов с нормальным генотипом [38, 40]. Часто не удается идентифицировать триггер [55].

***Инфекции***

Отмечено, что различные инфекционные агенты, т.е. и бактерии, и грибы, и простейшие, и вирусы могут являться триггерами ГФС. Более того, инфекция, согласно ряду источников, самый частый триггер как при семейном, так и при приобретенном ГФС [55].Наиболее часто с ГФС ассоциирован вирус Эпштейн-Барр (ЭБВ). Он встречается как у пациентов как с подтвержденным генетическим дефектом, так и без него. Также создается впечатление, что не только ЭБВ может вызывать ГФС, но и «гены ГФС» ответственны за развитие хронической герпетической и ЭБВ-инфекции, за счет нарушения работы иммунной системы. С помощью мета-анализа было установлено, что наиболее частыми причинами ГФС у взрослых являются ЭБВ, ВИЧ, ЦМВ среди вирусных агентов, Mycobacterium tuberculosis и Rickettsia - среди бактерий, Лейшмании – среди простейших, а Гистиоплазмы – среди грибковых микроорганизмов.

Дифференциальная диагностика сепсиса и ГФС по-прежнему является сложной задачей [13]. Действительно, тяжелый сепсис и ГФС имеют общее звено патогенеза, а именно системное действие цитокинов, которое вызывают в конечном итоге полиорганную недостаточность. Это обуславливает их клиническое сходство.

Поскольку триггером являлась инфекция, то иммуносупрессивная терапия представляется большинству врачей не только не целесообразной, но и противопоказанной. Однако именно она требуется в первую очередь пациентам с ГФС, в отличие от септических больных. Поэтому точный диагноз должен быть поставлен в кратчайший срок, чтобы корректная терапия была начата вовремя. Показано, что позднее назначение этопозида ассоциировано с более высоким риском смерти от прогрессии синдрома [14, 36].

***Ревматологические заболевания***

Когда речь идет о ревматологических заболеваниях, в частности, к болезни Стилла взрослых, обычно используют термин «синдром макрофагальной активации». Данное состояние настолько сходно с ГФС, что некоторые авторы считают, что поставленный диагноз зависит от того, к какому врачу больной обратится раньше - к ревматологу или к гематологу. Однако следует выделять те случаи, когда гипервоспалительный синдром при болезни Стилла взрослых развивается не вследствие нарушенной цитотоксичности, а значит, отсутствуют характерные признаки ГФС и требуется иной терапевтический подход [18]. Диагностику осложняет тот факт, что при болезни Стилла взрослых наблюдается резкая гиперферритинемия.

Этиологические факторы и патогенез первичного и вторичного гемофагоцитарного синдрома во многом схожи, но диагностическая тактика у взрослых пациентов и детей должна отличаться. Диагностика вГФС представляется более сложной, т.к. для него не создано единых диагностических критериев.

***Злокачественные опухоли***

Ряд исследований свидетельствует, что злокачественные опухоли лидируют среди причин ГФС взрослых, составляя 45%, в то время как у детей данный показатель – лишь 8% [41]. Среди злокачественных опухолей, обуславливающих развитие ГФС, наиболее часты онкогематологические заболевания. Кроме того, именно при опухолях из гемопоэтических клеток, организм наиболее подвержен воздействию серьезных инфекций, что также увеличивает риск развития ГФС.

Помимо вышесказанного, ГФС может осложнять аллогеннную трансплантацию гемопоэтических клеток.

### Диагностика

Следует ещё раз подчеркнуть, что критерии HLA-2004 были разработаны и протестированы для пГФС, возникающего в детском возрасте. Некоторые авторы отмечают, что частота и специфичность ряда клинических и биохимических критериев (в том числе, СФ) заметно различаются у детей с ГФС и взрослых пациентов. Кроме того, у взрослых, в отличие от детей, на первом месте среди триггеров ГФС стоят гематологические злокачественные заболевания, а мутации, ассоциированные с развитием первичного ГФС, обычно либо не идентифицируются (т.е. это какие-либо неописанные мутации) либо находятся в гетерозиготном состоянии, что также изменяет специфичность диагностических критериев. В настоящее время ГФС взрослых составляет до 40% всех случаев ГФС, со медианой по возрасту в момент диагностики от 40 до 50 лет [55]. Описаны случаи ГФС у людей старше 70 лет [55]. Даже «классические» генетические варианты ГФС встречаются все чаще у взрослых пациентов, поэтому нельзя ориентироваться только на возраст, разделяя «генетический, первичный» и «приобретенный, вторичный» ГФС [65].

Таким образом, необходимо совершенствование диагностических критериев для вторичного ГФС, т.к. использование HLA-2004 не вполне корректно.

Клинические характеристик и «взрослого» и «детского» ГФС также несколько отличаются (см. табл.2)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Клинический признак | Детский ГФС (пГФС) | Взрослый ГФС (вГФС) | Прогноз/комментарии |
| Возраст (медиана, разброс) | 8 мес. (0-15 лет), 76% <2 лет | 49 лет (41-67 лет), случаи >70 лет | Возраст <6 мес., >50 лет – хуже прогноз |
| Лихорадка >38.5º С, >7 дней | 100% | 100% | Лихорадка не ↓ через 3-7 дней – плохой прогноз |
| Спленомегалия >3 см ниже реберной дуги | ≈70% | 50-83% | Плохой прогноз у взрослых |
| Гепатомегалия | 95% | 18-67% |  |
| Неврологическая симптоматика | 33% | 9-25% | Плохой прогноз у детей |
| Другие | <40% сыпь, лимфаденопатия, желтуха | <33% лимфаденопатия, сыпь, 42% вовлечение легких |  |

Табл. 2. Клинические различия пГФС и вГФС [52,55]

Ферритин в диагностике вГФС

В недавнем исследовании уровень сывороточного ферритина ≥10000 нг/мл продемонстрировал специфичность 86% у детей и лишь 60% у взрослых. В другом исследовании ферритин более 50000 нг/мл имел специфичность 17% и чувствительность менее 20% для ГФС взрослых. Среди других заболеваний, сопровождающихся высоким уровнем СФ, по разным источникам, выделяют перегрузку железом, печеночную и почечную недостаточность, серповидно-клеточную анемию, инфекцию, миелоидный или лимфоидный гемобластоз, ревматологическое/воспалительное заболевание и реакцию трансплантат против хозяина [44, 49]. Другие исследования продемонстрировали, что 18% случаев ГФС сопровождается уровнем СФ от 3000 до 10000 нг/мл. В японском исследовании, где использовали порог диагностики (cutoff) в 3000 нг/мл, чувствительность и специфичность были соответственно 66% и 68%. Таким образом ГФС у взрослых следует предполагать в тех случаях, когда уровень СФ не превышает 10000 нг/мл, в отличие от детского ГФС, для которого такой диагностический порог является характерным. В то же время нормальный уровень СФ практически не встречается ни при детском, ни при взрослом ГФС. Важно отметить, что достаточно специфичным для ГФС маркером, по мнению ряда авторов [26, 63], является гликозилированный ферритин. Его снижение менее 20% (при нормальных значениях 50-80%) вносит значительный вклад в диагностику ГФС и болезни Стилла взрослых. Для других заболеваний столь выраженное снижение гликозилированного ферритина не описано.

Moore С. и др. [49] проанализировали причины гиперферритинемии более 1000 нг/мл, на базе крупного специализированного медицинского центра. К сожалению уровни сывороточного железа и ОЖСС были доступны лишь у 352 пациентов, что позволило рассчитать насыщение трансферрина. Как и ожидалось, самый высокий средний уровень насыщения трансферрина был найден в группе перегрузки железом (50 %). Самое низкое насыщение наблюдалось у пациентов с анемией хронического заболевания (18,9 % ) и больных с инфекциями ( 24 %), что полностью согласуется с патофизиологической ролью ферритина (см. раздел 2 и 3 главы 1). Так как «хронические» и инфекционные заболевания предполагают наличие более-менее длительной воспалительной реакции, сатурация трансферрина и уровень железа сыворотки при этом снижается в рамках ответа острой фазы, благодаря увеличению синтеза ферритина, который депонирует железо крови.

Результаты исследования Moore С. и др. представлены на рис. 6 и 7.

Moore С. и др. отмечают, что в их исследование попало всего 6 пациентов с ГФС/СМА/болезнью Стилла взрослых, что может быть связано с низкой частотой встречаемости даже в крупном центре. Хотя пациенты с ГФС и болезнью Стилла взрослых имели заметно более высокий средний уровень ферритина, чем среднее значение по всем пациентам (14,242 [SD, 9379] против 2535 [SD, 3512], P < 0.001) и среднее по всем воспалительным состояниям (14,242 [SD, 9379] против 2101 [SD, 2064], P < 0.001), тем не менее, высокие значения СФ встречались также и в других группах, в т.ч. среди злокачественных состояний и инфекций (см. рис.7)

Среди пациентов с неизвестной причиной гиперферритинемии было 3 пациента с трансплантированными органами, получающими постоянную иммуносупрессивную терапию. 2 других пациента демонстрировали признаки системного заболевания (потеря веса, лихорадка), но, к сожалению, диагноз не был установлен.

Рис. 6. Причины гиперферритинемии по данным Moore С. и др. В скобках обозначены номера, которыми эти состояния отмечены на рисунке 7. Справа от каждого состояния указано количество пациентов, которое входило в данную группу и процент от общего числа пациентов в исследовании [49].

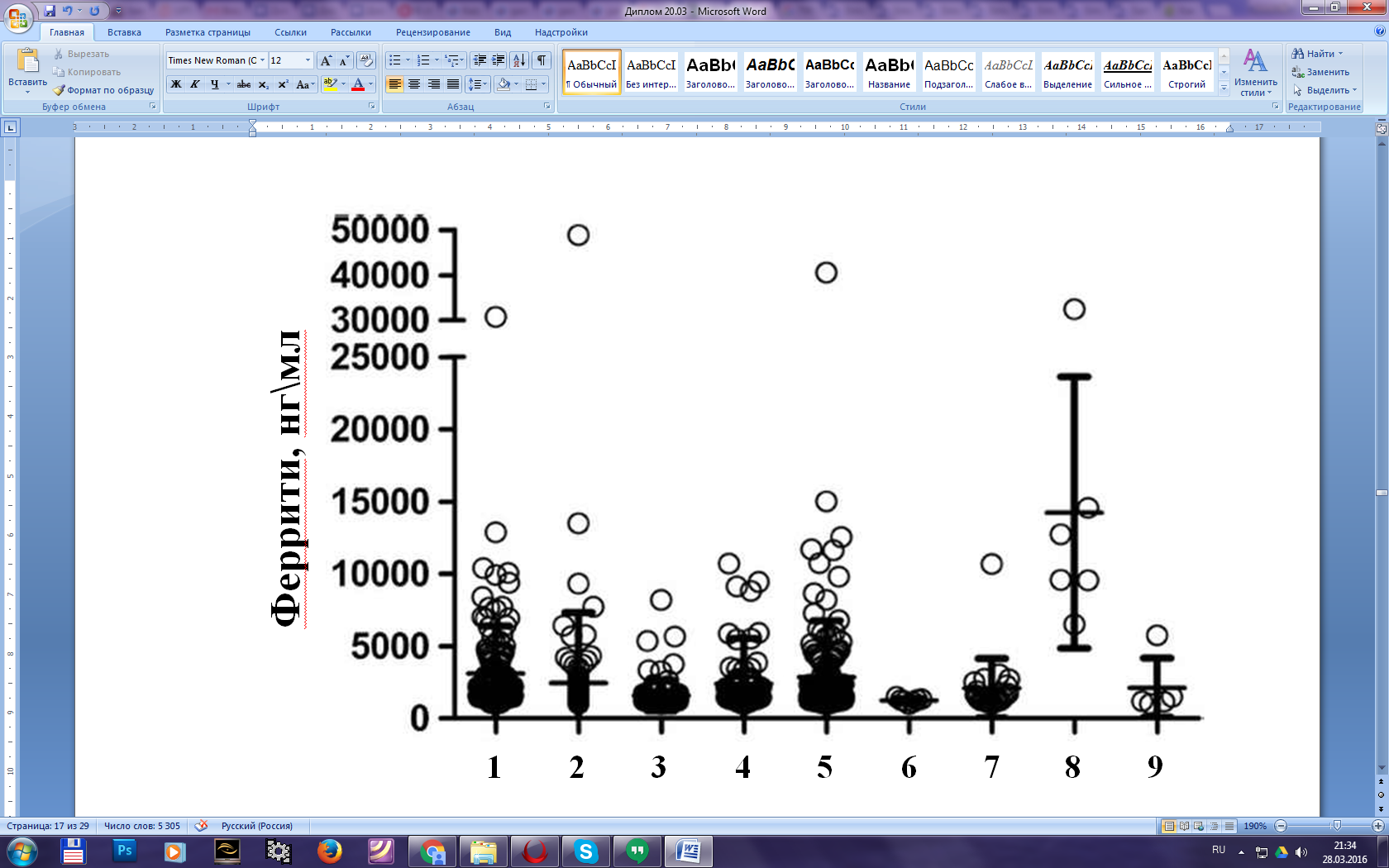


Рис. 7. Средний уровень ферритина и крайние значения в зависимости от клинического состояния (обозначены цифрами), названия состояний – на предыдущем рисунке [49].

Другие лабораторные методы диагностики вГФС и их комбинации

Уровень sIL-2R и его диагностическая ценность лучше изучена у детей, однако согласно исследованию Tabata и соавт. обнаружили, что среди 110 взрослых, уровень sIL-2R более 5000 МЕ/мл имел чувствительность и специфичность для ГФС 90 и 77% соответственно. В 2014 г. группа экспертов Delphi, проанализировав 26 критериев выбрала 9 «абсолютно необходимых» для диагностики ГФС у взрослых (1-о,2-х,3-х ростковая цитопения, гемофагоцитоз, повышенный ферритин, лихорадка, органомегалия, наличие предрасполагающей триггерной болезни, повышенная ЛДГ, а также «малые критерии» (сыпь, нарушение функции печени, альбумин сыворотки, активность NK-клеток, sIL-2R, растворимый CD-163). На основании этих параметров была создана шкала HScore, позволяющая оценить риск развития ГФС у отдельного пациента. Вероятность развития ГФС >99% для HScore >250 [27, 28].

Активность NK-клеток является чувствительным и специфичным маркером семейного ГФС у детей [17]. Однако ценность данного маркера для взрослых пациентов остается сомнительной, т.к. около 50% и менее взрослых с ГФС имеют сниженную активность NK-клеток [35, 45]. Имеется также ряд других показателей активности иммунитета, которые могут быть полезными при постановке диагноза. Так, уровень ИФН-гамма>75 пг/мл и ИЛ-10>60 пг/мл имеют чувствительность 99%, а специфичность 93% в диагностике вГФС, в отличие от высокого уровня ИЛ-6, который наблюдается при сепсисе [59]. Снижение уровня CD-3+ и CD-8+ T-клеток и сниженное отношение CD4:CD8 сопряжено с худшей выживаемостью при ГФС [22]. Однако неизвестно, как можно модифицировать терапию, учитывая данный факт.

# Глава 2. Характеристика клинического материала и методов

## 2.1. Характеристика клинического материала

Исследование проведено на базе нескольких больниц города: Клинической больницы №31, Городской Покровской больницы, Клинической ревматологической больницы №25, Федерального центра им. Алмазова. Основной базой, где проходила лечение большая часть пациентов, была больница №31.

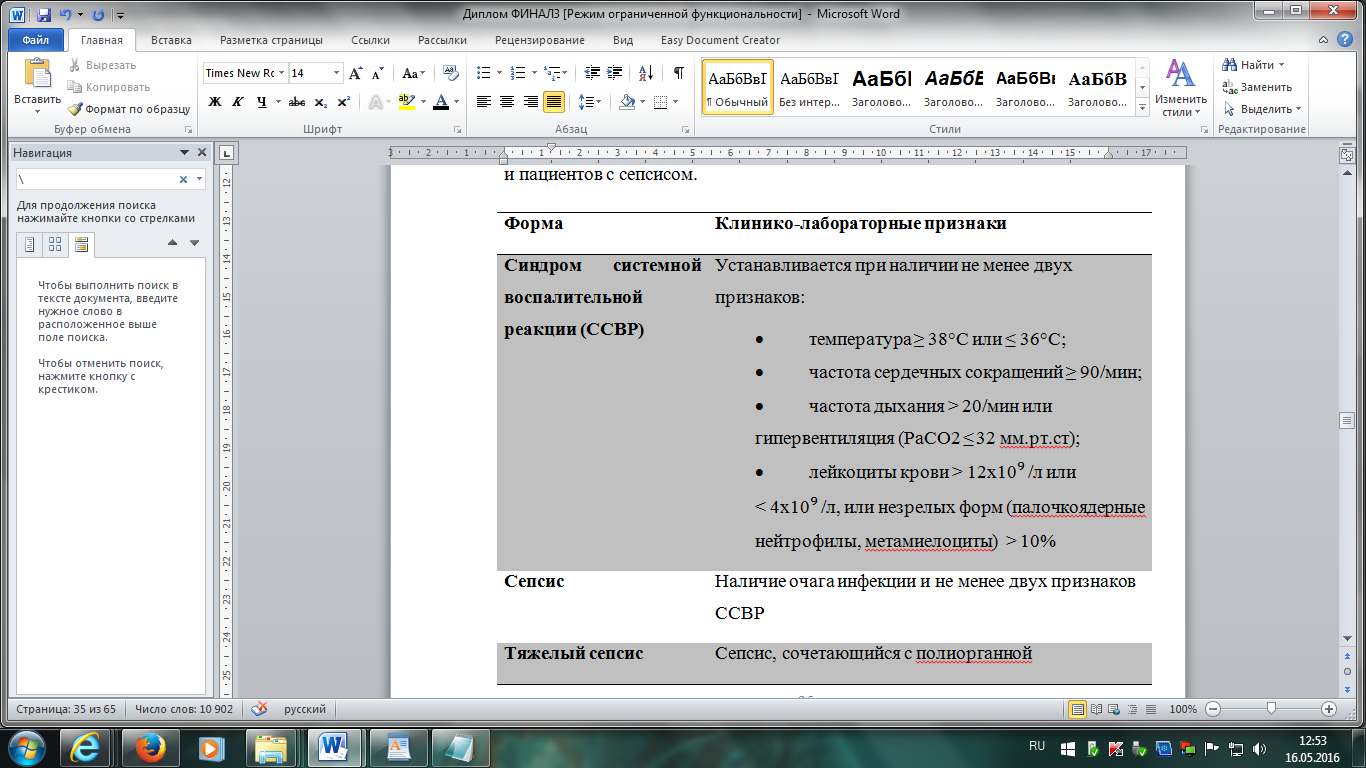
Из двух групп пациентов, одна была ретроспективной и состояла из 29 пациентов с вГФС, которые проходили лечение в 2008-2016 годах по поводу ГФС или в связи с другим заболеванием. Диагноз ГФС подтверждался с использованием критериев HLH-2004 и других диагностических маркеров, не входящих в данные критерии. В этой группе больных представлены пациенты, клинические и лабораторные проявления которых по тяжести не соответствовали той нозологии, которая предлагалась в качестве основного диагноза (напр. пациенты с билинейной цитопенией, больные лимфомой без поражения косного мозга).

В то же время, группа пациентов с сепсисом, состоявшая из 17 пациентов была проспективной и набиралась в соответствии с критериями ACCP/SCCM (см. табл. 3). В ряде случаев диагноз был подтвержден бактериологическими исследованиями венозной крови (27%).

В группе пациентов с вГФС средний возраст составил 51,5±18,8 лет (19-77 лет). Среди пациентов было 12 мужчин и 17 женщин.

Группа пациентов с сепсисом состояла из 17 человек, среди которых было 11 мужчин. Средний возраст пациентов составил 60,5±18,4 лет (34-82 года). В данную группу включались только те пациенты, у которых наблюдался летальный исход (вследствие прогрессирования полиоргнанной недостаточности). Клинические и лабораторные данные были получены путем анализа данных историй болезни, уровень сывороточного ферритина определялся в пробе венозной крови, взятой за 3-24 часа до смерти больного.

Таким образом, данные сывороточного ферритина у данной группы получены от пациентов, которые находились в тяжелом состоянии и вскоре погибли. Это условие являлось определяющим для того, чтобы в дальнейшем было возможно доказать, что высокий уровень сывороточного ферритина больных с ГФС обусловлен не столько их тяжелым состоянием, сколько развитием у них данного синдрома. Предполагалось строить данное доказательство на базе сравнения уровней СФ у пациентов с вГФС и пациентов с сепсисом.



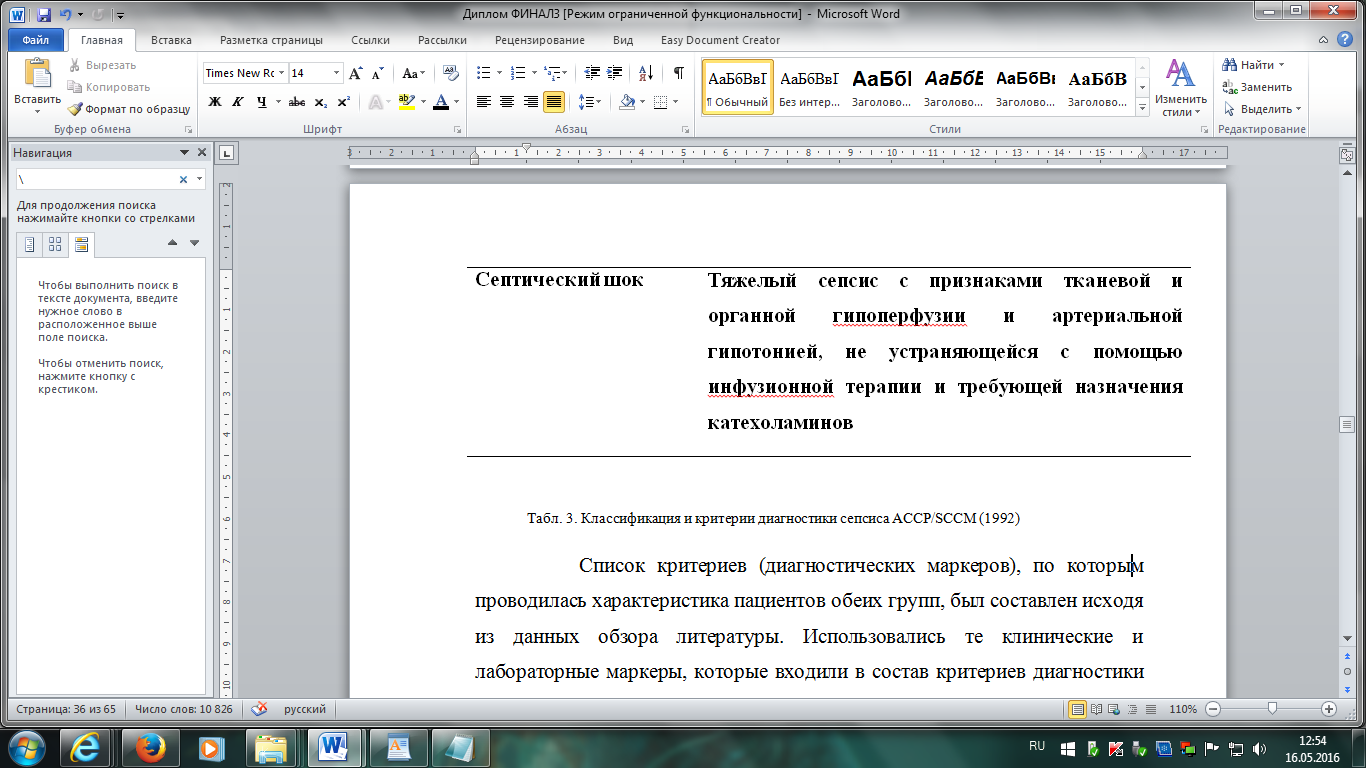


Табл. 3. Классификация и критерии диагностики сепсиса ACCP/SCCM (1992)

Список критериев (диагностических маркеров), по которым проводилась характеристика пациентов обеих групп, был составлен исходя из данных обзора литературы. Использовались те клинические и лабораторные маркеры, которые входили в состав критериев диагностики HLH-2004 [34], а также ряд дополнительных маркеров, диагностическая ценность которых демонстрировалась в других публикациях [26,28]. Однако из списков критериев были исключены те, доступность которых не позволяла использовать их на практике, такие как определение активности NK-клеток, измерение уровня sIL-2R, определение цитокинового профиля, анализ на фракции ферритина (гликозилированный, негликозилированый), прокальцитониновый тест. Критерии характеристики групп будут названы далее в соответствующих таблицах.

## 2.2. Статистическая обработка

Из историй болезни всех 46 пациентов были собраны данные по 22 клиническим и лабораторным критериям и составлены таблицы первичных данных. Из 22 критериев, 8 относились к категориальному типу, 14 относились к непрерывным величинам. В дальнейшем 3 критерия были исключены из анализа в связи с недостаточным количеством пациентов, по которым была известна данная информация. В дальнейшем часть критериев была объединена с созданием других критериев. Так, критерий «билинейная цитопения» включает как минимум 2 из следующих критериев: Hb<90 г/л, лейкоциты <4,0 х109 /л, тромбоциты < 100\*109 /л. Затем первичные таблицы были сведены в общую таблицу, где была отражена доля того или иного критерия в каждой группе (все непрерывные критерии были преобразованы в категориальные, с категориями: норма, повышение, понижение), а также приведены данные обзора литературы. Данная таблица представлена под номером 4.

Статистическая обработка проводилась на исходном массиве данных, т.е. до преобразования непрерывных величин в категориальные. Был использован тест Шапиро-Уилка для проверки гипотезы о нормальности распределения данных. Поскольку часть данных была распределена ненормально, было решено использовать критерий Мана-Уитни для парного сравнения значений средних значений каждой переменной (диагностического маркера) в двух группах. Для исходно категориальных критериев, таких как «Клиническое вовлечение ЦНС», «Вовлечение легких» и «Кожный геморрагический синдром» был применен критерий согласия Пирсона (критерий   \chi^2 ). Различия расценивались как статистически значимые при уровне достоверности p < 0,05.

Графическая обработка данных проводилась при помощи программы Microsoft Office Excel 2007.

## 2.3. Лабораторная диагностика

Большая часть результатов лабораторных и инструментальных исследований, которые были использованы в работе, выполнялась на базе тех лечебных учреждений, где проходили лечение пациенты, однако, уровень сывороточного ферритина относился к категории тестов, которые недоступны лечебным учреждениям в рамках ОМС, кроме того, выполнение данного теста не является обязательным и необходимым для обеспечения лечебного процесса. В связи с этим было решено выполнять данное исследование на собственные средства. Учитывая экономическую составляющую вопроса, было принято решение проводить оценку уровня ферритина самостоятельно. Для этого сыворотка пациентов с сепсисом, взятая в течение 24 часов до летального исхода (обычно использовалась та сыворотка, которая оставалась в лаборатории учреждения после выполнения плановых биохимических анализов), замораживалась при -21ºС. По истечении 3 месяцев (в соответствии с инструкцией к набору для определения ферритина), накопившиеся сыворотки использовались для определения уровня ферритина в сыворотке пациентов. Данная процедура повторялась дважды.

Т.о. уровень ферритина сыворотки (СФ) пациентов из группы сепсиса и двух пациентов из группы ГФС, которые получили лечение после 15.10.2015, определялся с использованием метода иммуноферментного анализа (ИФА). У оставшейся части пациентов из группы ГФС , поскольку группа являлась ретроспективной, уровень СФ был определен ранее в лаборатории Клинической больницы №31.

Метод ИФА был выбран исходя из его доступности для автора работы, достаточным опытом работы с необходимым оборудованием, и в связи с его частым применением при анализе уровня различных белков в биологических жидкостях. Для определения СФ использовался набор «ИФА-ферритин» производителя ООО "Алкор Био". Альтернативой данному методу мог бы служить метод иммунофлюорисценции, однако не было доступно оборудование и набор реагентов для данной методики.

### Принцип методики набора «ИФА-ферритин»

Для выполнения анализа используется специальный планшет, состоящий из 96 лунок. Планшет можно разделять на отдельные полоски, т.о. использовать только часть лунок при необходимости, однако при каждом использовании необходимо составлять калибровочный график на построение которого используется 8 лунок планшета, поэтому анализ небольшого числа порций сыворотки неоправдан.

На твердой подложке (планшете) закреплены антитела к ферритину. Когда сывороткой пациента наполняются лунки планшета, происходит реакция между Ф сыворотки и антителами, закрепленными на планшете. Количество связавшихся с антителами молекул ферритина коррелирует с его концентрацией в растворе. Кроме того к сыворотке добавляется раствор, содержащий антитела к другому эпитопу ферритина, конъюгированные с пероксидазой хрена. Они присоединяются к молекулам ферритина, в том числе к тем, которые уже связались с антителами, закрепленными на планшете. Далее происходит инкубация на термостатируемом виброшейкере BioSan PST-60HL и затем многоэтапная отмывка планшета от сыворотки для удаления несвязного с планшетом ферритина. После этого лунки планшета заполняются раствором ТМБ, который является мишенью действия пероксидазы хрена. Пероксидаза расщепляет ТМБ, что приводит к изменению окраски раствора. Степень окраски прямо пропорциональна количеству комплексов антитела- пероксидаза, закрепившихся на стенках планшета, а значит, концентрации ферритина в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования Antos-2000, на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ферритина в исследуемых образцах.

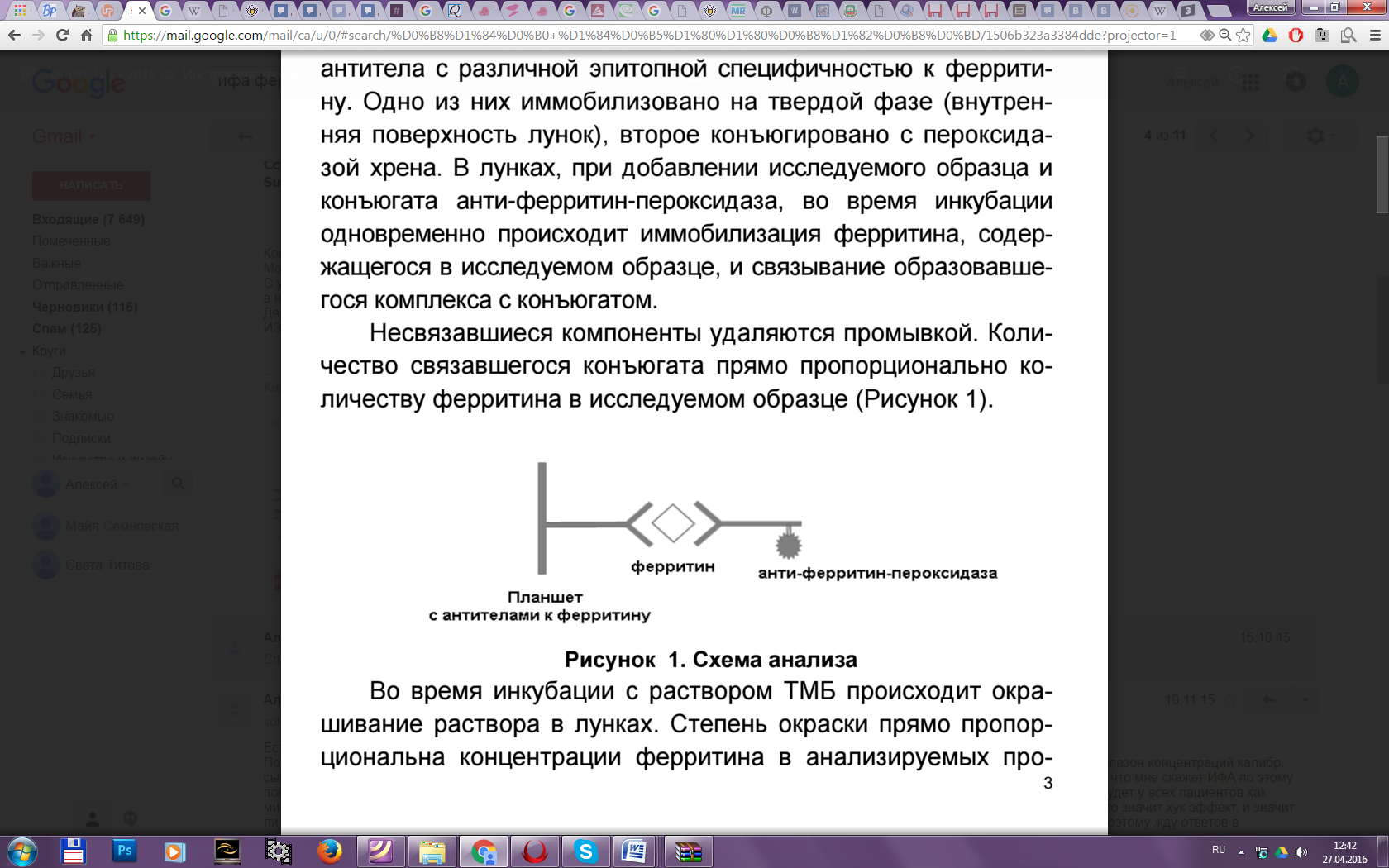


Рис. 8. Принцип метода ИФА-ферритин, описание в тексте. [7]

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации ферритина в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ферритина в исследуемых образцах.

# Глава 3. Результаты собственного исследования

## 3.1. Выявление частоты основных клинических и лабораторных маркеров в структуре клинической картины болезни пациентов с вГФС и сепсисом

На первом этапе исследования необходимо было определить структуру клинических и лабораторных проявлений у пациентов с ГФС и сепсисом с целью сравнения полученных данных с данными обзора литературы и дальнейшим статистическим анализом показателей.

В группе вГФС 23 пациента (79%) находились в стационаре с основным заболеванием гематологического профиля: различные лимфомы: как индолентные, так и высокой степени злокачественности, хронический лимфолейкоз, миеломная болезнь и другие заболевания. Также, среди пациентов были те, у кого основным заболеванием был висцеральный лейшманиоз, двусторонняя пневмония и болезнь Стилла взрослых. Спектр диагнозов согласуется с данными о наиболее частых этиологических факторах ГФС, в то же время, анализ данных по диагнозам пациентов не представляется обоснованным, т.к. большая часть пациентов проходила лечение на гематологических отделениях. Среди клинических проявлений, которые наиболее часто встречались в данной группе необходимо отметить лихорадку длительностью более 7 дней и более 38ºС (97%), билинейную цитопению (86%). Если в структуре цитопении присутствовала анемия, то, в большей части случаев (82%), она была резистентна к проводимым гемотрансфузиям (проводилось переливание более 4 доз эритроцитарной массы в месяц с приростом гемоглобина менее 10 г/л. Кроме того, в данной группе часто наблюдались биохимические критерии поражение печени (повышение двух из трех оцениваемых маркеров цитолиза): на момент диагностики вГФС поражение печени наблюдалось у 64% пациентов, в то время как в дальнейшем, данный маркер проявлялся уже у 96% пациентов. При этом у пациентов отсутствовали хронические заболевания печени в 93% случаев. Также важным лабораторным маркером при вГФС является повышение уровня сывороточного ферритина. В данной работе использовались различные пороговые значения (cutoff), выше которых данный маркер у данного пациента принимался как положительный. При использовании порога 500 нг/мл, у 97% пациентов с вГФС выявлялась гиперферритинемия, порога 3000 нг/мл преодолели 72% пациентов, а порог 10000 нг/мл преодолели лишь 41% пациентов с вГФС (в группе сепсиса – 0%), что говорит о высокой специфичности данного порогового значения, однако недостаточной чувствительности. Наконец, у пациентов с ГФС с частотами 38%, 72% и 74% наблюдались гипонатриемия, гемофагоцитоз и гипертриглицеридемия соответственно.

В то же время, среди пациентов с сепсисом наиболее частыми проявлениями были также лихорадка (60%), наличие инфильтрации в ткани легких по данным рентгенографии органов грудной клетки в двух проекциях (88%), биохимические критерии повреждения печени (65%). Обращает на себя внимание то, что из 4 пациентов, которым была выполнена пункционная биопсия костного мозга, гемофагоцитоз наблюдался только у одного пациента, однако эти данные в виду недостаточного количества наблюдений были исключены из дальнейшего анализа.

Полный список исходно категорий, по которым оценивались группы больных, представлен в таблице 4.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Клиническое проявление | Данные обзора литературы по вГФС | Данные группы вГФС | Данные группы сепсиса |
| Возраст | 49 лет, отдельные случаи >70 лет | 51,5 лет, 3 пациента >70 лет | 60,5 лет |
| Лихорадка | 96-100% | 97% | 60% |
| Спленомегалия | 50-83% | 53% | 42% |
| Кожный геморрагический синдром | Нет данных | 59% | 28,5% |
| Клиническое вовлечение ЦНС | 9-25% | 36% | 14% |
| Вовлечение легких\* | 42% | 48% | 88% |
| Билинейная цитопения | >85% | 86% | 70% |
| Тромбоцитопения | 78-94% | 79% | 71% |
| Лейкопения | 77% | 65% | 59% |
| Анемия | 67-94% | 72% | 66% |
| Биохимические критерии повреждения печени | 71-100% | 64% | 65% |
| Повышение ферритина  >500 нг/мл  >3000 нг/мл  >10000 нг/мл | 85-100%  -  43% | 97%  72%  41% | 82%  35%  0% |
| Гипертриглицеридемия  >1.86 г/л | 36-70% | 74% | 47% |
| Гипофибриногенемия  <1,6 г/л | 36-70% | 23% | 25% |
| Гемофагоцитоз | 62-95% | 72% | 1 пациент из 4 |
| Гипонатриемия |  | 38% | 12,5% |

Табл. 4. Характеристика группы пациентов с ГФС в сравнении с данными обзора литературы

\*вовлечение легких подразумевает наличие затенения в ткани легкого по данным рентгенограммы органов грудной клетки в двух проекциях.

## 3.2. Результаты сравнения групп вГФС и сепсиса

После предварительных тестов на нормальность (тест Шапиро-Уилка), т.к. многие блоки данным не подчинялись нормальному распределению, было решено использовать критерий Манна-Уитни для непрерывных переменных (значения лабораторных тестов: активность АЛТ, АСТ, уровни билирубина, ферритина, триглицеридов, натрия сыворотки) и критерий согласия Пирсона (критерий   \chi^2 ) для категориальных переменных (наличие/отсутствие гемофагоцитоза в результатах исследования аспиратов и трепанобиоптатов костного мозга, кожного геморрагического синдрома, инфильтрации легочной ткани по данным рентгенографии).

По результатам статистических тестов значимые различия между группами были выявлены по уровням ферритина (p=0,0004), триглицеридов (p=0,001) и АЛТ (p=0,026). Тенденция к значимым различиям наблюдалась у концентрации натрия сыворотки. Среди категориальных переменных группы значимо различались по частоте инфильтративных изменений в ткани легких по результатам рентгенографического исследования (p=0.00004) и по частоте развития геморрагического синдрома (p=0.036).

## 3.3. Обсуждение результатов

Различия между группами по уровням ферритина и триглицеридов были ожидаемы. Концентрация триглицеридов многократно описывалась в литературе в качестве диагностического критерия ГФС, как первичного, так и вторичного [28, 34]. Однако следует заметить, для пациентов с сепсисом уровень триглицеридов также был предложен в качестве прогностического маркера в другом исследовании [19], которое было посвящено раннему выявлению группы неблагоприятного прогноза среди пациентов с сепсисом. Среди пациентов с уровнем триглицеридов более 1,7 ммоль/л уровень летальности составил 81%, среди пациентов с уровнем триглицеридов менее 1,7 ммоль/л уровень летальности составил 58%. Авторы указывают, что различия в уровнях летальности для этих двух групп являлись значимыми. При этом среднее арифметическое значение уровня триглицеридов у пациентов, которые не выжили, составляло 1,89 ммоль/л, в то время как в нашем исследовании аналогичный показатель составил 1,76 ммоль/л, в сравнении с 3,28 ммоль/л у пациентов с ГФС. Следует учесть, что в исследовании [Cetinkaya](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cetinkaya%20A%5Bauth%5D) А. и соавт. использовались более строгие критерии включения (исключение пациентов с хроническими заболеваниями, парентеральным и энтеральным питанием за 6 часов до взятия пробы на уровень триглицеридов), в исследование было включено 84 пациента с сепсисом [19].

В настоящем исследовании в группе сепсиса средний уровень ферритина в группе сепсиса составил 2237,3 (27 – 6550). Эти данные согласуются с результатами исследования [M. M. Florido](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Missano%20Florido%20M%5Bauth%5D) и соавт. [30], в котором у пациентов c сепсисом на момент диагностики наблюдался средний уровень ферритина 954 (508,4 - 5394). Поскольку сепсис сопровождается синдром системной воспалительной реакции, то высокий уровень ферритина в качестве реакции на воспаление, в сочетании с низким уровнем железа сыворотки и трансферрина укладывается в концепцию ответа острой фазы.

Тот факт, что активность АЛТ по полученным данным в группе пациентов с сепсисом достоверно ниже, чем в группе пациентов с ГФС не согласуется с данными литературы, т.к. по данным Durila M. et al. [24] у пациентов с развивающимся сепсисом средний уровень АЛТ составлял 2,2 мккат/л, что составляет 130 МЕ/л на 1 день развития болезни.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Ферритин мкг/л | | ТГ, ммоль/л | | АЛТ, МЕ/л | |
| вГФС | Сепсис | вГФС | Сепсис | вГФС | Сепсис |
| Медиана | 4280 | 2434 | 3,2 | 1,4 | 43,8 | 21,5 |
| 25-ый квартиль | 1422,5 | 792,25 | 1,24 | 1,09 | 22 | 8,25 |
| 75-ый квартиль | 11258 | 3940,5 | 4,08 | 2,43 | 86 | 44,75 |
| Sig. (p) | 0.0004 | | 0,001 | | 0,026 | |

Табл. 5. Непрерывные переменные, значения которых значимо различаются в группах пациентов с ГФС и сепсисом.

По результатам статистической обработки категориальных переменных значимые различия между группами были выявлены по частоте кожного геморрагического синдрома и инфильтрации легочной ткани.

Более частое развитие геморрагического синдрома в группе пациентов с ГФС может быть связано с тем, что для этой патологии характерна тромбоцитопения в сочетании с гипофибриногенемией. В группе пациентов с ГФС тромбоцитопения встречалась у 79% пациентов.

Тот факт, что у больных с сепсисом чаще наблюдается инфильтрация в легочной ткани, может быть связан с тем, что пневмониогенный сепсис является одной из самых частых форм сепсиса. К сожалению, локализация первичного очага не оценивалась у пациентов в данной группе.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Кожный геморрагический синдром | | Вовлечение легких | |
| вГФС | Сепсис | вГФС | Сепсис |
| Частота | 59% | 28,5% | 48% | 88% |
| Sig. (p) | 0,036 | | 0,00004 | |

Табл. 6. Категориальные переменные, значения которых значимо различаются в группах пациентов с ГФС и сепсисом.

## 3.4. Клинический случай успешной терапии пациента с вГФС, осложнившим течение болезни Стилла взрослых

**Краткий анамнез**

Первые симптомы начали беспокоить пациентку К. (26 лет) в сентябре 2015 года, когда появилась припухлость и боль в правом, а затем левом коленных, голеностопных суставах. Боль была более выраженной с утра и уменьшалась в течение дня. Утренняя скованность присутствовала, но длилась менее получаса. Также наблюдались миалгии, наиболее выраженные - в четырехглавых мышцах бедер. Спустя месяц данные симптомы несколько ослабли, пациентка за медицинской помощью не обращалась. Периодически наблюдалось повышение температуры тела до субфебрильных значений. В октябре появились высыпания на волосистой части головы, выпадение волос. Больная получала лечение по поводу предполагаемого псориаза, диагностированного ревматологом поликлиники (салициловая мазь, шампунь с цинком) с положительным эффектом.

В середине декабря 2015 года на поверхности кожи пациентки, на паховых складках, затем на наружной стороне бедер и разгибательных поверхностях предплечий появляясь яркая «цвета копченого лосося» сыпь, с четко очерченной границей между элементами сыпи и непораженной кожей. Диаметр элементов был около 0.5 см. Одновременно с сыпью у пациентки возникла немотивированная ежедневная лихорадка с двумя-тремя в сутки подъемами температуры до 39º С, а также сильный кожный зуд. С этими симптомами пациентка была госпитализирована в инфекционную больницу им. Боткина 22.12.15, с подозрением на инфекционное заболевание. В течение трех недель пациентка была обследована в данном учреждении. Был выявлен нейтрофильный лейкоцитоз до 16/мкл, повышение ЛДГ до 743 МЕ/л, умеренная гепатоспленомегалия (не пальпируемая). Пациентка получала антибактериальную терапию, без эффекта, локализованного очага инфекции также не выявлено. Консультирована ревматологом, с 26.12.15 начата терапия преднизолоном 15 мг/сут. (с 31.12.15 – 30 мг/сут). Боли в суставах быстро разрешились, однако лихорадка сохранялась, эритема (распространенная с тенденцией к слиянию) нарастала (шея, спина, живот, паховые складки), нарастал мучительный кожный зуд. 12.01.16 пациентка была переведена в Клиническую Ревматологическую больницу №25, где на основании клинической картины, лабораторных данных (иммуноблотинг антинуклеарных антител, тест на LE-клетки отрицательный) был выставлен предварительный диагноз «Болезнь Стилла, синдром макрофагальной активации». Пациентка за время нахождения в стационаре получала следующие виды лечения: терапию преднизолоном 60 мг/сут, пульс-терапию преднизолоном 1000 мг/сут, однократное введение циклофосфана в различных дозах, однократное проведение плазмафереза, без отчетливой положительной динамики (сыпь мигрировала, исчезала, но затем снова появлялась).

На фоне первой процедуры плазмафереза (20.01.16) у пациентки возникло осложнение в виде эритродермии (плотная кожа сливового оттенка, нестерпимое жжение в пораженной коже) в области передней брюшной стенки. Лечение было прекращено, пациентка переведена в реанимацию с диагнозом «синдром Лайелла».

В биохимическом анализе крови отмечались следующие изменения (даны начальные, промежуточные и значения перед переводом пациентки в КБ№31): АлТ 269-80-564, АсТ 213-43-563, ЛДГ 2961-965-2840, ГГТП 219-214-160 МЕ/л, сывороточный ферритин 44293-13943-54500 нг/мл.

29.01.16 пациентка консультирована гематологом. В связи с наличием гормонорезистентного синдрома макрофагальной активации, с быстрым развитием гепатита, резким нарастанием уровня ферритина, высоким риском развития органных повреждений (ЦНС, легкие) и нарастанием кожных дефектов (риск вторичной инфекции на фоне иммуносупрессивной терапии) гематолог рекомендовал срочное начало терапии этопозидом. Для продолжения лечения пациентка переведена в КБ №31, 1.02.16 была начата терапия этопозидом в 150 мг/сут с отчетливым положительным эффектом на 2 сутки в виде апирексии. Повторное введение этопозида 7.02.16. Эритродермия постепенно разрешилась. Уровень ферритина сыворотки снизился до 8000 нг/мл. Спустя 3 недели пациентка была выписана. В дальнейшем терапия была изменена на Циклоспорин А, 1,5 мг/сутки, которую пациентка получает по настоящее время. На данный момент самочувствие пациентки удовлетворительное, жалоб не предъявляет, ферритин сыворотки не превышает 500 нг/мл.

**Обсуждение**

Многие события болезни укладываются в симптомы болезни Стилла взрослых, опубликованные клиникой Мейо: боль в горле, как первый симптом заболевания, о которой больная вспомнила в ходе детального опроса, перемежающаяся лихорадка до 38 град, кожная сыпь «цвета лосося» на ногах и руках, мигрирующие боли в суставах и миалгии, высокий сывороточный ферритин, возраст начала болезни. Более того, данное состояние соответствует диагнозу болезни Стилла согласно трем вариантам диагностических критериев (Yamaguchi и соавт., Cush, Fautrel и соавт.). Однако эритродермия, возникшая на фоне проводимого плазмафереза и пульс-терапии преднизолоном, не вписывается в типичную картину болезни Стилла. В то же время болезнь Стилла может осложняться синдромом макрофагальной активации (СМА).

СМА представляется состоянием, аналогичным вГФС, но для ревматологических заболеваний чаще используется этот термин. 01.02.16 была начата терапия этопозидом, что является одним из наиболее распространенных вариантов лечения вГФС, которая привела к апирексии, разрешению эритродермии и улучшению самочувствия больной. Ферритин снизился до 7000 нг/мл. Диагноз ГФС в данном случае был поставлен на основании клинической картины, данных сывороточного ферритина, известной ассоциации болезни Стилла взрослых с данным синдромом и резистености болезни к проводимой терапии. Аспирационная биопсия костного мозга до начала лечения этопозидом не выполнялась, а была выполнена уже после первого введения препарата. Тем не менее, по результатам исследования был обнаружен гемофагоцитоз, что увеличивает достоверность поставленного диагноза.

# Заключение

Сывороточный ферритин является важным биохимическим маркером, клиническое значение которого далеко выходит за рамки диагностики железодефицитной анемии. К сожалению, ферритин редко используется в клинике для диагностики реакций избыточного воспаления, к котором относится гемофагоцитарный синдром (ГФС).

Вторичный ГФС (вГФС) – редкий полиэтиологичный синдром, который характеризуется значительной летальностью. Раннее распознавание данного состояния и корректная, своевременно назначенная терапия улучшают шансы пациентов на излечение, т.к. было показано, что отсроченное лечение является фактором плохого прогноза. Т.о. вопрос быстрой дифференциальной диагностики сепсиса и вГФС является настолько актуальным, насколько это возможно для редко встречающейся патологии.

В данной работе был проведен анализ клинических и лабораторных данных пациентов с вГФС и сепсисом, было выполнено сравнение данных групп между собой по всем показателям для выявления статистически значимых различий. Среди всех показателей группы значимо различались по следующим диагностическим маркерам: уровень сывороточного ферритина, уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ), уровень триглицеридов сыворотки крови, частота инфильтрации в легочной ткани по данным рентгенологического исследования и частота кожного геморрагического синдрома. Тенденция к значимым различиям наблюдалась для концентрации натрия в сыворотке.

Для построения полноценной дифференциально-диагностической модели требуется большие выборки, что затруднительно в связи с тем, что вГФС является не только редкой патологией, но и также состоянием, которое плохо распознается клиницистами. Однако данные маркеры, по которым обнаружены статистически значимые различия, могут приниматься во внимание во время диагностического процесса у пациентов с неясным диагнозом.

# Выводы

* анализ данных клинического и лабораторного обследования пациентов со вторичным гемофагоцитарным синдромом и данные литературы свидетельствуют о том, что вГФС имеет сходные с сепсисом проявления, однако их лечение резко отличается и часто является взаимоисключающим
* для вГФС необходимо разрабатывать отдельные диагностические критерии, использовать HLH-2004, разработанные для пГФС некорректно. Актуальным представляется создание полноценной дифференциально-диагностической модели для более точной диагностики вГФС.
* дифференциальную диагностику сепсиса и вГФС наиболее перспективно проводить, в первую очередь, по уровню ферритина, а также триглицеридов и АЛТ, учитывая, что уровни этих показателей в группе пациентов с вГФС статистически значимо выше, чем в группе сепсиса. Также необходимо учитывать, что у пациентов с вГФС чаще наблюдался кожный геморрагический синдром, а у пациентов с сепсисом – инфильтрация ткани легких по данным рентгенографии. Достоверность различий между группами по уровню натрия сыворотки требует дальнейшего изучения

# Список литературы

1. Биохимия: Учеб. для вузов. Под ред. Е.С. Северина. М: Гэотар-Мед. 2003. 779 с.
2. Волкова С.А., Боровков Н.Н. Основы клинической гематологии. Н. Новгород: Ниж. ГМА, 2013
3. Грицаев С.В., Абдулкадыров К.М., Шихбабаева Д.И. Миелодиспластический синдром и перегрузка железом: результаты скринингового обследования 289 больных // Фарматека. 2010. №10
4. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Патофизиология. Том 3. Механизмы развития болезней и синдромов. Книга 1. Патофизиологические основы гематологии и онкологии. СПб.: ЭЛБИ, 2002
5. Илюкевич Г.В., Смирнова Л.А. Ферропротеины как маркеры системного воспалительного ответа при остром распространенном перитоните // Весцi НАН Беларусi. Cер. мед-бiял.навук. 2002. N2. С.23-25
6. Имаметдинова Г.Р., Чичасова Н.В. Болезнь Стилла взрослых: клинические случаи // Современная ревматология. 2014. N 4. С. 39–42
7. Инструкция к набору реактивов "ИФА-Ферритин" для постановки реакции иммуноферментного анализа. АлкорБио. 2014.
8. Нарушения метаболизма железа [Электронный ресурс] // СидерАЛ. URL: http://sideral.ru/narushenie-metabolizma (Дата обращения: 15.05.2016)
9. Содержание гликозилированных форм L- и Н-ферритина в сыворотке крови человека при заболеваниях крови. Разработка тест-системы для иммуноферментного анализа гликозилированного ферритина [Электронный ресурс] // Достижения медицинской науки Белоруси URL:http://med.by/dmn/book.php?book=11-5\_3 (Дата обращения 15.05.2016)
10. Якубовский С. В., Конопелько Н. Ф., Кривонос Д. П. Металлопротеины как маркеры острой фазы воспаления у больных острым холециститом [Электронный ресурс]// Электронная версия «Медицинского журнала» Белорусского государственного медицинского университета, 2007. № 1 URL: http://rep.bsmu.by/xmlui/handle/BSMU/4129 (Дата обращения: 12.02.2016)
11. Alida M. K., Viljoen M. Acute Phase Proteins: Ferritin and Ferritin Isoforms//Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins, Prof. Francisco Veas (Ed.), ISBN: 978-953-307-252-4, InTech
12. Allen C. E., Yu X., Kozinetz C.A., McClain K.L. Highly elevated ferritin levels and the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer. 2008. Vol.50. P. 1227-1235
13. Allen C.E., McClain K.L. Pathophysiology and epidemiology of hemophagocytic lymphohistiocytosis // ASH Education Book. 2015. Vol. 2015(1). P. 177-182. doi. 10.1182/asheducation-2015.1.177
14. Arca M., Fardet L., Galicier L., et al. Prognostic factors of early death in a cohort of 162 adult haemophagocytic syndrome: impact of triggering disease and early treatement with etoposide // Br J Haematol. 2015. Vol. 168. P. 63-68
15. Blak D.R., Lunec J., Ahern M., Ring E.F., Bradfield. J., Gutteridge J.M. Effect of intravenous iron dextran on rheumatoid synovitis // Ann Rheum Dis. 1985. N44 (3), pp. 183-188
16. Bottomley S. Secondary iron overloads disorders. // Sem Hematol. 1998. Vol. 35. P. 77-86
17. Bryceson Y.T., Pende D. et al. A prospective evaluation of degranulation assays in the rapid diagnosis of familial hemophagocytic syndromes // Blood. 2012. Vol. 119(12). P. 2754-2763
18. Canna S.W., Behrens E.M., Not all haemophagocytes are created equally: appreciating the hetorogeneity of hemophagocytic syndromes // Curr Opin Rheumatol. 2012. Vol. 24. P. 113-118
19. Cetinkaya A., Is hypertriglyceridemia a prognostic factor in sepsis? // Ther Clin Risk Manag. 2014. Vol. 10. P. 147–150. doi. 10.2147/TCRM.S57791
20. Chandrakasan S., Filipovich A.H. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis and treatement // J Pediatr. 2013. Vol. 163. P. 1253-1259
21. Chotoo I. B.,Fletcher S. et al. Plasma ferritin in acute hepatocellular damage // Clinical chemistry. 2000. Vol. 46(6) P.885-886
22. Datal B. et al. Abnormalitis of the lymphocyte subsets and their immunophenotype, and their prognostic significance in adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. Ann Hematol. 2015. Vol. 94(7). P. 1111-1117
23. Dézier J, Venet M. Détermination de la ferritine sérique : intérêt et limite // Presse Méd 1992. Vol. 21. P. 1283 -1286
24. Durila M. Early diagnostic markers of sepsis after oesophagectomy (including thromboelastography). // BMC Anesthesiology BMC Series - open, inclusive and trusted 2012 Vol 12(12). Doi. 10.1186/1471-2253-12-12
25. Essaadouni L., Naji Y., Tazi- Mezalek Z. et al. Diagnostic d’une hyperferritinémie // Annales de medecine et de therapeuqiue. 2009. Vol. 1, N1 PP: 36 – 39
26. Fardet L, Coppo P, Kettaneh A, et al. Low glycosylated ferritin, a good marker for the diagnosis of hemophagocytic syndrome. ArthritisRheum. 2008. Vol. 58. P. 1521–1527
27. Fardet L., Galicier L., Lambortte O. et al. Development and validation of the HScore: a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. // Arthriris Rheumatol. 2014. Vol. 66(9). P. 2613-2620
28. Fardet L., Galicier L., Lambortte O. et al. Development and validation of the HScore: a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. // Arthriris Rheumatol. 2014. Vol. 66(9). P. 2613-2620
29. Fleming R.E., Britton R.S., Waheed A., Sly W.S., Bacon B.R. Pathophysiology of hereditary hemochromatosis // Semin. Liver Dis.. 2005. №4. С. 411-419.
30. Florido M.M. et al. Evaluation of iron, transferrin and ferritin serum levels in patients with severe sepsis and septic shock // Crit Care. 2012. Vol. 16(Suppl 1). P. 424. doi. 10.1186/cc11031
31. Halliday J, Mc keering L, Powel L: Isoferritine composition of tissues and serum in human cancers // Cancer Res 1976. Vol 36. P. 4486-4490
32. Hengeveld P, Jobsis A: Some aspects of iron metabolism during acute viral hepatitis // Hepatogastroenterology 1982, Vol. 29, P. 138-141
33. Henter J.I, Samuelsson-Horne A, Aricò M, Egeler R.M, Elinder G, Filipovich A.H, Gadner H, Imashuku S, Komp D, Ladisch S, Webb D, Janka G. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation // Blood. 2002. Vol. 100(7). P. 2367
34. Henter J.I., Horne A., Arico M. et al. HLH-2004: diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis // Pediatr. Blood Cancer. 2007. Vol. 48(2). P. 124–131
35. Ho C., Yao X et al. Marrow assesment for haemophagocytic lymphohistiocytosis demondtrates poor correlation with disease probability. Am J Clin Pathol. 2014. Vol. 141(1). P. 62-75
36. Imashuku S. et al. Requirement for etoposide in the treatement of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis // J Clin Oncol. 2001. Vol.19. P. 2665-2673
37. Janka G.E. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis // Eur J Pediatr. 1983. Vol. 140. P. 221-230
38. Jordan M.B., Huldemn D., Kappler J. et al. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. Blood. 2004. Vol. 104. P. 735-743
39. Jouanoll A, Gandon G, Lézéquelet P. et al. Haemochromatosis and HLA // H. Nature Genet. 1996 Vol. 14 P. 251-252
40. Karti S.S., Odabasi Z., Korten V. et al. Crimean-Condo hemorragic fever in Turkey // Emerg. Infect Dis. 2004. Vol.10. P.1379-1384
41. Lehmberf K., Sprekels B. Nichols K.E. et al. Malignancy-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis in children and adolescents // Br J Hematol. 2015. Vol. 170(4). P. 539-549
42. Lorcerie B., Audia S., Samson M. et al. Démarche diagnostique devant une hyperferritinémie // La Revue de Médecine Interne. 2015. Vol. 36 (8). P. 522-529
43. LuzzagoA., Arosio P., Iacobello C. et al Immunochemical characterization of human liver and heart ferritins with monoclonal antibodies // Biochem.Biophys.Acta. 1986. №V. С. 61 - 71.
44. Ma A.D., Fedorow Y.D., Roehrs P. Hyperferritinemia and haemophagocytic lymphohistiocytosis: single institution experiecne in adult and pediatric patients // Blood. 2012. Vol. 120(21). Abstract 2135
45. Martínez I. et al. La actividad citotóxica de las células natural killer como herramienta diagnóstica en pacientes pediátricos críticos con sospecha de síndrome hemofagocítico. Medicina Intensiva. 2015. Vol. 39(4). P. 213-221
46. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, Mudaly M, Richardson C, Barlow D, Bomford A, Peters TJ, Raja KB, Shirali S, Hediger MA, Farzaneh F, Simpson RJ An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron // Science. 2001. Vol. 29. pp. 1755-1759 doi:10.1126/science.1057206
47. Meeths M., Horne A., Sabel M. et al. Incidence and clinical presentaion of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in Sweden // Pediatr Blood Cancler. 2014. Vol. 62(2). P.346-352
48. Moirand R, Delamaire D, Loreat O: increase if glycosylated and non glycosylated serum ferritin in chronic alcoholism and evolution during alcohol withdrawal // Alcohol Clin Exp Res 1991. Vo.l 5. P. 963-9
49. Moore C. et al.Causes and Significance of Markedly Elevated Serum Ferritin Levels in an Academic Medical Center // J Clin Rheumatol. 2013. Vol. 19(6), P.324-328.
50. Orino K., Lehman. L., Tsuji. Y., Ayaki. H., et al. Ferrritin and the response to oxidative stress // Biochem J. 2001. N 357(Pt 1). P, 241-247
51. Ota T, Higashi S. Increased serum ferritin levels in adult still’s disease // Lancet. 1987. Vol. 1 P. 562-563.
52. Pagel J., Beutel K., Lehmberg K. et al. Distinct mutatuions in STXBP2 are associatied with variable clinical presentation in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL5) // Blood. 2012. Vol. 119. P. 6016-6024
53. Parikh S.A., Kapoor P., Letandre L., Kumar S. et al. Prognostic facrors and outcomes in adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. // Mayo Clinic Proc. 2014. Vol. 89(4). P. 484-492
54. Pavesi F. Serum ferritin as a tumor marker in patients with solid neoplasms // Haematologica. 1987. Vol. 72, P. 415-419
55. Ramos-Casals M., Brito-Zeron P., Lopez-Guillermo A. et al. Adult haemophagocytic syndrome // Lancet. 2014. Vol. 383(9927). P. 1503-1516
56. Robic M., Conduite à tenir devant une hyperferritinémie [Электронный ресурс] // Hepatoweb. URL:https://hepatoweb.com/DES/DES\_GO/SEMINAIRE\_102006/Hyperferritinemie.pdf (дата обращения: 15.05.2016)
57. Rosário C., Zandman-Goddard G., et al. The Hyperferritinemic Syndrome: macrophage activation syndrome, Still’s disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome // BMC Med. 2013. N11. P. 185. doi: 10.1186/1741-7015-11-185
58. Sieni E., Cetrica V., Snatoro A. et al. Genotype-phenotype study of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 // J Med Genet. 2011. Vol. 48. P. 343-352
59. Tang Y et al. Early diagnostic and prognosis significance of a specific Th1/Th2 cytokine pattern in children with haemophagocytic syndrome. Br J Haematol. 2008. Vol.143(1). P. 84-91
60. Tang Y., Xu X., Song H. et al. Early diagnostic and prognostic significance of a specific Th1/Th2 cytokine pattern in children with haemophagocytic syndrome // Br J Haematol. 2008. Vol. 143. P. 84-91
61. Terrell C.E., Jordan M.B. Perforin deficiency impairs a critical immunoregulatory loop involving murine CD8+ T-cells and dendritic cells. Blood. 2013. Vol.121. P. 5184-5191
62. Trizzino A., Zur S.U. et al. Genotype-phenotype study of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis due to perforin mutation // J Med Genet. 2008. Vol. 45. P. 15-21
63. Wang Y.N, Wang Z., Wang J..S, Feng C.C., Tian L.P., Wu L. [Diagnostic significance of glycosylated ferritin for patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis.] Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2008 Vol. 16(6). P. 1379-1382. Chinese.
64. Wormsbecker A. J, Sweet D. D, Mann S. L et al. Conditions associated with extreme hyperferritinaemia (>3000 ng/L) in adults // Internal Medicine Journal. 2015. Vol. 45(8). P. 828. DOI. 10.1111/imj.12768
65. Zhang K., Jordan M.B., Marsh R.A. et al. Hypomorphic mutations in PRF1, MUNC13-4 and STXBP2 are associated with adult-onset familial HLH. // Blood . 2011. Vol. 118(22). P. 5794-5798
66. Zhao G., Arosio P., Chasteen N.D. Iron(II) and hydrogen peroxide detoxification by human H-chain ferritin. An EPR spin-trapping study // Biochem. 2006 N 45(10) pp. 3429-3436

**Приложение**

