

11. Teselkin Yu.O. *The antioxidant activity of blood serum as a criterion for evaluating the functional state of the antioxidant system and the efficacy of exogenous antioxidants. [Antioksidantnaya aktivnost' syvorotki krovi kak kriteriy otsenki funktsional'nogo sostoyaniya antioksidantnoy sistemy organizma i effektivnost' primeneniya ekzogennykh antioksidantov].* Diss. Moscow; 2003. (in Russian)
12. Popov I., Lewin G., eds. Antioxidative homeostasis, its evaluation by means of chemiluminescent methods. In: *Handbook of chemiluminescent methods in oxidative stress assessment.* Transworld Research Network. Kerala, 2008, 361—91.
13. Rusin B.A. *Chemiluminescence ftalgidrazidov. Biohemilyumi-cence. Proceedings of the Moscow Society of Naturalists. [Hemiluminestsentsiya ftalgidrazidov. Biohemiluminestsentsiya. Trudy moskovskogo obshchestva ishytateley prirody].* Moscow: Nauka; 1983. (in Russian)
14. Merenyi G., Lind J., Eriksen T.E. Nucleophilic addition to diazaquinones. Formation and breakdown of tetrahedral intermediates in relation to luminol chemiluminescence. *J. Amer. Chem. Soc.* 1986; 108: 1716—26.
15. Niki E. *Free Radical Initiators as Source of Water- or Lipid-Soluble Peroxyl Radicals. Methods in enzymology.* L. Packer & A.N. Glazer, eds. New-York: Academic Press; 1990.
16. Uotila J.T., Kirkkola A.L., Rorarius M. et al. The total peroxy radical-trapping ability of plasma and cerebrospinal fluid in normal and pre-eclamptic parturients. *Free Radic. Biol. Med.* 1994; 16(5): 581—90.
17. Lissi E.A., Salim-Hanna M., Pascual C., Castillo M.D. Evaluation of total antioxidant potencial (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurement. *Free Radic. Biol. Med.* 1995; 18(2): 153—8.
18. Popov I., Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. VI. Antioxidant characteristics of human blood plasma, low density lipoprotein, serum albumin and aminoacids during *in vitro* oxidation. *Luminescence.* 1999; 14: 169—74.

Поступила 01.02.17
Принята к печати 20.02.17

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616-092:612.112.3]-074

Потапенко В.Г.¹, Первакова М.Ю.², Лапин С.В.², Титов А.К.³, Суркова Е.А.², Петрова Н.Н.¹, Черноокая Н.Ю.¹, Миронова О.П.¹, Потихонова Н.А.⁴, Узденова Е.И.¹, Афанасьев Б.В.²

РОЛЬ ФРАКЦИОННОГО АНАЛИЗА ФЕРРИТИНА В ДИАГНОСТИКЕ ВТОРИЧНОГО ГЕМОФАГОЦИТАРНОГО СИНДРОМА

¹СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31», 197110, Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург;

³ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург;

⁴ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА РФ, 191024, Санкт-Петербург

Вторичный гемофагоцитарный синдром (ВГФС) представляет собой жизнеугрожающее состояние, характеризующееся неспецифическими проявлениями: системной воспалительной реакцией, цитопениями, поражением печени и высоким содержанием ферритина в сыворотке крови. Одним из проявлений ВГФС является снижение уровня гликозилированного ферритина (ГФ) в сыворотке крови, выраженного в процентах от общего уровня. Определение ГФ может быть использовано для дифференциального диагноза с другими схожими по клинической картине критическими состояниями, прежде всего, с септическим процессом. Целью данного исследования было определение клинической ценности измерения ГФ для диагностики и дифференциальной диагностики ВГФС. Проанализированы образцы сыворотки крови и клинические данные пациентов с диагнозом ВГФС ($n = 40$), тяжелого сепсиса ($n = 24$), цитолитического синдрома ($n = 36$) и здоровых доноров ($n = 40$). Определено общее содержание ферритина турбидиметрическим методом («BioSystems», Испания) и рассчитан ГФ. Для определения уровня ГФ гликозилированную фракцию ферритина осаждали с помощью конканавалина А, полимеризованного с сепарозой 4В («GE Healthcare», США). Нормальные значения ГФ составили 78,3—87,1%. При ВГФС снижение содержания ГФ составило $25,0 \pm 18,4\%$ и было значительно ниже, чем при сепсисе — $47,0 \pm 17,7\%$ ($p < 0,001$) и цитолитическом синдроме — $63,5 \pm 18,7\%$ ($p < 0,001$). По результатам ROC-анализа площадь под кривой ГФ была наибольшей по сравнению с другими маркерами ВГФС, в частности, общим ферритином, триглицеридами, фибриногеном. При уменьшении уровня ГФ ниже 30,4% используемый нами метод обеспечивает клиническую чувствительность 69%, специфичность 94,3% и точность 86,9% в проведении дифференциального диагноза ВГФС. При расчете абсолютного содержания негликозилированного ферритина было обнаружено, что его значения коррелируют с концентрацией триглицеридов, международным нормализованным отношением, аспаратаминотрансферазой, аланинаминотрансферазой и общим билирубином у больных ВГФС ($p < 0,05$). Таким образом, снижение уровня ГФ позволяет с высокой точностью диагностировать ВГФС.

Ключевые слова: гемофагоцитарный синдром; сепсис; ферритин; гиперферритинемия; гликозилированный ферритин.

Для корреспонденции: Первакова Маргарита Юрьевна, врач КЛД клинико-диагностической лаборатории НМЦ молекулярной медицины ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава РФ; e-mail: margaritalerner@gmail.com

Для цитирования: Потепенко В.Г., Первакова М.Ю., Лапин С.В., Титов А.К., Суркова Е.А., Петрова Н.Н., Черноокая Н.Ю., Миронова О.П., Потихонова Н.А., Узденова Е.И., Афанасьев Б.В. Роль фракционного анализа ферритина в диагностике вторичного гемофагоцитарного синдрома. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (1); 21-27. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-1-21-27>

Potapenko V.G.¹, Pervakova M.Yu.², Lapin S.V.², Titov A.K.³, Surkova E.A.², Petrova N.N.¹, Chernookaya N.Yu.¹, Mironova O.P.¹, Potikhonova N.A.⁴, Uzdenova E.I.¹, Afanasiev B.V.²

THE ROLE OF FRACTION ANALYSIS OF FERRITIN IN DIAGNOSTIC OF SECONDARY HEMOPHAGOCYTE SYNDROME

¹The state budget institution of health care "The municipal clinical hospital № 31" of the St. Petersburg health care department, 197110 St. Petersburg, Russia

²The Federal state budget educational institution of higher education "The Pavlov First Saint Petersburg State Medical University" of Minzdrav of Russia, 197022 St. Petersburg, Russia

³The Federal state budget scientific institution "The V.A. Almazov North-Western federal medical research center" of Minzdrav of Russia, St. Petersburg, Russia

⁴The Federal state budget scientific institution "The Russian research institute of hematology and transfusiology" of the Federal medical biological agency of Russia, 191025 St. Petersburg, Russia

The secondary hemophagocytic syndrome is a life-threatening condition characterized by non-specific manifestations: systemic inflammatory reaction, cytopenia, liver affection, high content of ferritin in blood serum. One of manifestations of secondary hemophagocytic syndrome is decreasing of level of glycosylated ferritin in blood serum expressed in percentage of total level. The detection of glycosylated ferritin can be applied for a differentiated diagnosis with clinically similar conditions, including septic process. The purpose of study was to determine clinical value of measurement of glycosylated ferritin for diagnostic and differentiated diagnosis of secondary hemophagocytic syndrome. The analysis was applied to samples of blood serum and clinical data of patients with diagnoses of secondary hemophagocytic syndrome (n=40), severe sepsis (n=24), cytolytic syndrome (n=36) and healthy donors (n=40). The total content of ferritin is established using turbidimetric technique ("BioSystems", Spain). The glycosylated ferritin was calculated. To determine level of glycosylated ferritin the glycosylated fraction of ferritin was precipitated using concanavalin A, polymerized with sepharose 4B ("GE Healthcare", USA). The normal values of glycosylated ferritin made up to 78.3%-87.1%. Under secondary hemophagocytic syndrome decreasing of content of glycosylated ferritin made up to 25.0 ± 18.7% and was significantly lower than under sepsis (47.0 ± 17.7%, p<0.001) and cytolytic syndrome (63.5% ± 18.7%, p<0.001). According the results of ROC-analysis, the area under curve was maximal as compared with other markers of secondary hemophagocytic syndrome, including total ferritin, triglycerides, fibrinogen. At decreasing of level of glycosylated ferritin lower than 30.4% the applied technique provides clinical sensitivity 69%, specificity 94.3%, accuracy 86.9% in applying differentiating diagnosis of secondary hemophagocytic syndrome. At calculation of absolute content of non-glycosylated ferritin it was discovered that its values correlate with concentration of triglycerides, international normalized ratio, aspartataminotransferase, alaninaminotransferase and total bilirubin in patients with secondary hemophagocytic syndrome (p<0.05). Therefore, decreasing of level of glycosylated ferritin permits to diagnose secondary hemophagocytic syndrome with higher accuracy.

Key words: hemophagocytic syndrome; sepsis; ferritin; hyperferritinemia; glycosylated ferritin

For citation: Potapenko V.G., Pervakova M.Yu., Lapin S.V., Titov A.K., Surkova E.A., Petrova N.N., Chernookaya N.Yu., Mironova O.P., Potikhonova N.A., Uzdenova E.I., Afanasiev B.V. The role of fraction analysis of ferritin in diagnostic of secondary hemophagocyte syndrome. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63 (1): 21-27. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-1-21-27>

For correspondence: Pervakova M.Yu., physician of the clinical diagnostic laboratory of the research medical center of molecular medicine of the Federal state budget educational institution of higher education "The Pavlov First Saint Petersburg State Medical University". e-mail: margaritalerner@gmail.com

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study was implemented at the expense of grant of the Russian scientific foundation (project №16-15-00118).

Received 11.08.2017
Accepted 20.08.2017

Введение. Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, или гемофагоцитарный синдром (ГФС), представляет собой тяжелое воспалительное состояние, характеризующееся лихорадкой, гепатомегалией, спленомегалией, панцитопенией, высоким уровнем сывороточного ферритина и избыточной доброкачественной пролиферацией активированных макрофагов. Патологической основой ГФС является дефект иммунной системы, который обуславливает неадекватную индукцию цитотоксических лимфоцитов под действием триггерного фактора, такого как инфекция. Результатом является бесконтрольная активация Т-лимфоцитов и макрофагов с последующим цитокиновым штормом.

Первичный ГФС является аутосомно-рецессивным генетическим заболеванием, которое обычно развивается в раннем детском возрасте. Вторичный ГФС (ВГФС) может развиваться в любом возрасте и является осложне-

нием тяжелых инфекций, ревматологических, онкологических заболеваний. В случаях, когда ВГФС возникает на фоне ревматического заболевания, его часто обозначают термином «синдром макрофагальной активации». Считается, что при синдроме макрофагальной активации более выражены коагулопатия, цитопения, гиперферритинемия, но терапевтический эффект стероидов выше. С другой стороны, ВГФС близко связан с другими состояниями, протекающими с повышением уровня ферритина сыворотки: септическим шоком, катастрофическим антифосфолипидным синдромом и болезнью Стилла, поэтому все эти заболевания часто объединяют термином «гиперферритинемический синдром».

Первичный ГФС проявляется анемией, высокой лихорадкой, цитолитическим или холестатическим синдромом, цитопенией, гипертриглицеридемией, что нашло отражение в критериях диагноза, разработанных

группой по изучению детского, генетического ГФС. Критерии ВГФС как отдельной нозологической единицы пока находятся в стадии разработки, поэтому во многих клиниках критерии первичного ГФС экстраполируют на ВГФС. В то же время у пациентов, получающих иммуносупрессивную, цитостатическую терапию, как отмечают многие исследователи, данные критерии неприменимы ввиду низкой чувствительности и специфичности. Проведение дифференциального диагноза с острым инфекционным процессом, особенно сепсисом, представляет собой сложную задачу, так как оба эти жизнеугрожающие состояния имеют схожие клинические проявления. В отличие от сепсиса при ГФС, необходимо использовать иммуносупрессивные препараты, в том числе этопозид, циклоспорин А, большие дозы препаратов иммуноглобулина человека. Глюкортикоидные гормоны при этом малоэффективны.

Ферритин является доступным лабораторным маркером ГФС и ассоциированных с ним заболеваний. В процессе секреции гепатоцитов молекула ферритина подвергается гликозилированию в эндоплазматической сети клетки, что увеличивает стабильность белка. Продуктами ферритина являются клетки Купфера, гепатоциты, макрофаги. В норме большая часть сывороточного ферритина гликозилирована. Негликозилированный ферритин находится в тканях, поэтому повышение сывороточного ферритина за счет негликозилированного служит признаком тканевого повреждения. Умеренное неспецифическое снижение уровня гликозилированного ферритина (ГФ) иногда наблюдается при инфекционных и аутоиммунных состояниях, хотя при ВГФС описано наиболее выраженное снижение гликозилированной фракции. Диапазон нормальных значений ГФ и степени его снижения при различных состояниях сильно различаются в разных исследованиях и требуют валидации. Концентрация общего ферритина, достаточная для диагностики ВГФС, до настоящего времени не определена, поэтому в качестве пороговой величины в литературе используют значения 1000, 4000 и 10 000 нг/мл. Даже в сочетании с другими критериями ВГФС специфичность и чувствительность гиперферритинемии как маркера не высоки, поскольку на начальном этапе развития ВГФС тканевое повреждение может быть незначительным.

Целью данного исследования было изучение клинической ценности определения ГФ для диагностики и дифференциальной диагностики ВГФС.

Материал и методы. Проведен анализ клинических данных и биоматериала от 64 пациентов (из них у 46 проспективно), получавших лечение в Городской клинической больнице № 31, Первом Санкт-Петербургском медицинском университете им. И.П. Павлова, Северо-Западном университете им. И.И. Мечникова, Городской больнице № 15, НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. Проанализированы образцы сыворотки крови и клинические данные двух исследуемых групп пациентов с диагнозами ВГФС ($n = 40$) и тяжелого сепсиса ($n = 24$). Группы сравнения составили образцы сыворотки и клинические данные, полученные от здоровых доноров ($n = 40$) и пациентов с цитолитическим синдромом при поражениях гепатобилиарной системы ($n = 36$).

Первая группа пациентов с установленным диагнозом ВГФС включала 40 человек, медиана возраста 57 лет (8—74), 19 лиц мужского пола и 21 — женского. У всех больных выполнялись критерии НЛН-2004 для ГФС [6]. Клиническая картина включала лихорадку, устойчивую

к противомикробной терапии широкого спектра, цитопении, необъяснимые органические повреждения (легкие, ЦНС). У пациентов с инфекцией или коллагенозом пусковым фактором к развитию ВГФС послужило основное заболевание. У 11 пациентов отмечена хронологическая связь между дебютом/прогрессированием лимфомы и развитием ВГФС. У 23 пациентов точного провоцирующего фактора ВГФС не выявлено. Девятнадцати пациентам с ВГФС проводилась терапия, направленная на купирование воспалительного ответа. Использовали внутривенный иммуноглобулин, этопозид, циклоспорин А. Положительная клинико-лабораторная динамика достигнута у 16 (85%) пациентов.

Вторая группа пациентов с тяжелым сепсисом, инфекционно-токсическим шоком, полиорганной недостаточностью включала 15 мужчин и 9 женщин с медианой возраста 57,5 года (18—82). Диагноз «сепсис» устанавливали на основании критериев АССП/SCCM. У всех пациентов был верифицирован первичный очаг воспаления. Все получали антибактериальную, антимикотическую, противовирусную терапию эмпирически с последующей коррекцией по результатам бактериологических данных. У 20 пациентов сепсис развился на фоне глубокого иммунодефицита (гемобласты после цитостатического лечения, ВИЧ-инфекция, хроническая инфекция вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ)), у 4 пациентов с предшествующей патологией иммунитета не было. Заболевания крови диагностированы на основании критериев ВОЗ. Хроническая ЭБВ-инфекция диагностирована на основании критериев М. Окапо [20].

В группу пациентов с цитолитическим синдромом входило 14 мужчин и 16 женщин, медиана возраста 54,5 года (20—85). У всех пациентов диагностированы воспалительные ($n = 15$), токсические ($n = 8$), аутоиммунные ($n = 7$) поражения гепатобилиарной системы.

Уровень аминотрансфераз — аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) у пациентов данной группы превышал нормальные значения не менее чем в 2 раза. Медиана АЛТ 152,7 МЕ/л (65—1008), АСТ — 146,8 МЕ/л (97,7—282,2). Активность ферментов определяли кинетическим методом на анализаторе AU-480 («Beckman Coulter», США).

Содержание триглицеридов и билирубина определяли колориметрическим методом («Beckman Coulter», США), фибриноген и международное нормализованное отношение (МНО) — клоттинговым методом на анализаторе Sysmex CA-600 (Япония).

В группе здоровых доноров проанализированы образцы сыворотки 40 человек: 18 мужчин и 22 женщины, медиана возраста 23,5 года (21—43).

Кровь на анализ ферритина в группе сепсиса взята в пределах суток до летального исхода. В группе ВГФС измерение уровня ферритина проводилось в день постановки диагноза, в контрольных группах (с цитолитическим синдромом и у доноров) — произвольно.

Концентрацию общего ферритина в сыворотке крови определяли методом иммунотурбидиметрии на анализаторе AU-480 («Beckman Coulter», США). Процент ГФ устанавливали методом, предложенным М. Wogwood и соавт. [21], основанным на определении содержания ферритина в парных образцах сыворотки крови. Для связывания гликозилированной фракции ферритина один из образцов сыворотки крови инкубировали в течение 2 ч с раствором конканавалина А, сорбированного на сепарозе 4В («GE Healthcare», США). Второй образец ин-

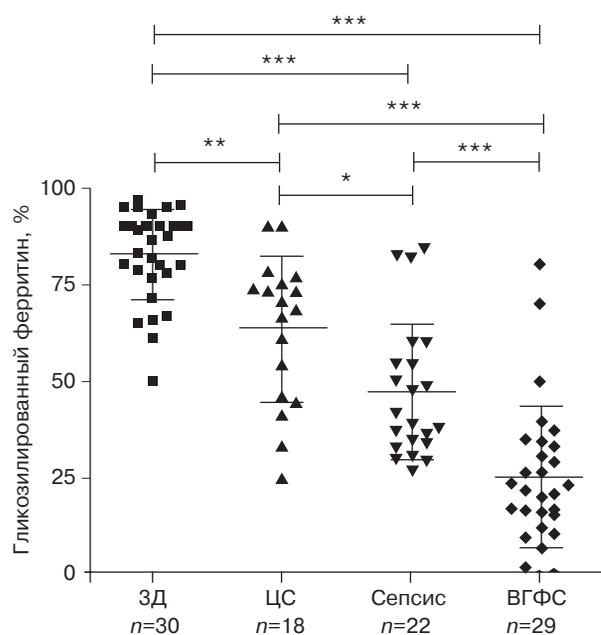


Рис. 1. Процент ГФ в разных группах больных, метод ANOVA с поправкой Бонферрони.

Достоверное различие: $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. ЗД — здоровые доноры; ЦС — цитолитический синдром.

кубировали с раствором сефарозы 4В («GE Healthcare», США) для контроля неспецифического связывания. После этого образцы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин и определяли концентрации ферритина в надосадочной жидкости с помощью иммунотурбидиметрического метода (реактивы компании «Biosystems», Испания). Таким образом, концентрация ферритина, измеренная в первом образце, показывала уровень негликозилированной фракции, а во втором образце — общий уровень ферритина после обработки сефарозой. Процент гликозилирования определяли по формуле:

$$\text{ГФ} = \left[\frac{\text{ферритин общий} - \text{ферритин негликозилированный}}{\text{ферритин общий}} \right] \cdot 100\%$$

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6.0.

Результаты. В данной работе определяли степень снижения процента ГФ у больных ВГФС и трех групп сравнения: больных тяжелым сепсисом, цитолитическим синдромом и здоровых лиц. Среднее значение фракции ГФ у здоровых доноров составило $82,7 \pm 11,7\%$ (95% ДИ 78,3—87,1%). Во всех обследованных группах больных ГФ был достоверно ниже, чем у здоровых доноров, кроме того, группы достоверно различались. При цитолитическом синдроме средний уровень ГФ был снижен до $63,5 \pm 18,7\%$, при сепсисе — до $47 \pm 17,7\%$ и при ВГФС составил $25 \pm 18,4\%$. Значения ГФ в обследованных группах представлены на рис. 1.

У всех больных ВГФС и сепсисом регистрировалось повышение общего содержания сывороточного ферритина, медианы которого составили 7635 (2863—13559) нг/мл и 2163 (1095—3941) нг/мл соответственно при диапазоне нормальных значений 20—250 нг/мл. Медиана общего ферритина у пациентов с цитолитическим синдромом составила 199,5 нг/мл (42,7—353) и незначительно ($p > 0,05$) превышала значения, определенные у здоровых лиц: 47,25 нг/мл (21,25—120,5). Биохимический профиль пациентов с ВГФС и сепсисом приведен в табл. 1.

Для сравнения клиничко-лабораторных параметров тестов определения ГФ и общего содержания ферритина был использован ROC-анализ для групп пациентов с сепсисом и ВГФС (целевой диагноз — ВГФС) (рис. 2). На рис. 2 также приведены ROC-кривые для содержания триглицеридов и фибриногена, входящих в диагностические критерии ГФС, и АСТ, повышение которой является одним из критериальных маркеров синдрома макрофагальной активации. Площадь под кривой для ГФ составила 0,9229 и была значительно больше, чем для общего содержания ферритина — 0,7886. Площади под кривыми для значений триглицеридов, фибриногена и АСТ составили 0,8278, 0,586 и 0,5546 соответственно.

В табл. 2 приведен анализ тестов ГФ и общего ферритина согласно критериям достоверности при использовании различных пороговых значений.

При использовании значений ГФ 78,1% и общего ферритина 306 нг/мл, которые максимально приближены к диапазону значений здоровых доноров, специфичность обоих методов неудовлетворительна (40 и 0% соответственно).

При определении уровня ГФ использование порогового значения ниже 30,4% обеспечивает специфичность 94,3% и чувствительность 69%. Для содержания общего ферритина наибольшая специфичность достигается при значениях выше 7851 нг/мл, но при этом чувствительность метода снижается до менее 50%.

Кроме того, использование порогового значения ниже 30,4% дает наибольший индекс точности — 86,9% и отношение правдоподобия положительного результата 12,07.

В образцах контрольной группы и группы сравнения,

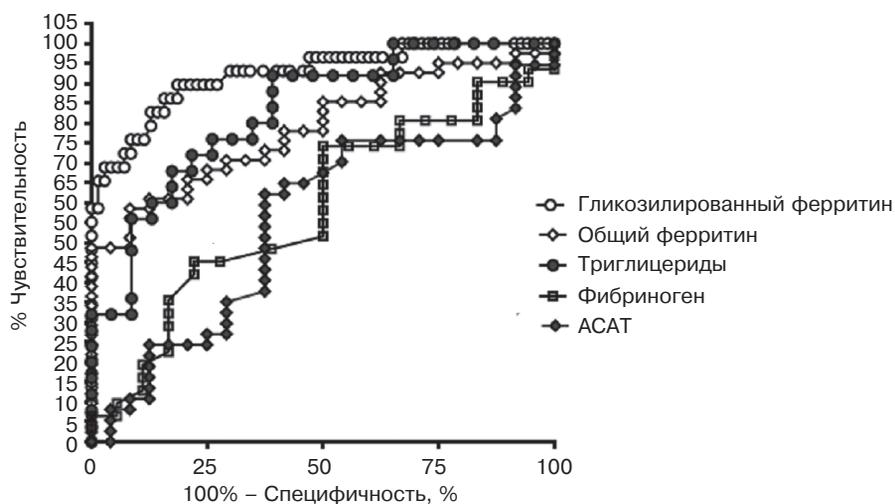


Рис. 2. Значение ГФ, концентрации ферритина, триглицеридов, фибриногена в дифференциальной диагностике ВГФС и сепсиса (целевой диагноз — ВГФС). ROC-анализ.

Таблица 1

Биохимический профиль пациентов с ВГФС и сепсисом

Показатель	Группа пациентов	Количество измерений	Медиана	25-й квартиль	75-й квартиль	Статистическая значимость	
Ферритин общий, нг/мл	ВГФС	41	7635	2863	13559	$p < 0,01$	
	Сепсис	24	2163	1094,7	3940,5		
Гликозилированный ферритин, %	ВГФС	31	21	10	33		
	Сепсис	22	40,1	33,7	55,9		
Негликозилированный ферритин, нг/мл	ВГФС	29	4869	2793	18003		
	Сепсис	22	1547	376	3062		
Триглицериды, ммоль/л	ВГФС	25	3,1	2,2	4,1		
	Сепсис	23	1,38	0,75	2,37		
МНО	ВГФС	36	2,37	1,02	2,03		
	Сепсис	22	1,73	1,47	2,4		
Фибриноген, г/л	ВГФС	31	2,8	0	13,7		
	Сепсис	19	3,9	0,68	9		
АЛТ, МЕ/л	ВГФС	38	55	22	134,5		Различия статистически незначимы
	Сепсис	24	82	15,6	56,7		
АСТ, МЕ/л	ВГФС	37	165	33,5	156		
	Сепсис	24	42,5	13,1	140,1		
Билирубин, мкмоль/л	ВГФС	38	19,5	12,7	59,9		
	Сепсис	23	30	19,4	89		

Таблица 2

Показатели достоверности тестов определения ГФ и общего ферритина при различных пороговых значениях для диагностики ВГФС

Показатель	Гликозилированный ферритин		Общий ферритин	
	< 78,1%	< 30,4%	> 306 нг/мл	> 7851 нг/мл
Чувствительность, %	96,6	69,0	97,6	48,8
Специфичность, %	40,0	94,3	0,0	95,8
Отношение правдоподобия положительного результата	1,61	12,07	0,98	11,71
Отношение правдоподобия отрицательного результата,	0,09	0,33	0,0	0,53
Прогностическая ценность положительного результата, %	40,0	83,3	62,5	95,2
Прогностическая ценность отрицательного результата, %	96,6	88,0	0,0	52,3
Индекс точности, %	56,6	86,9	61,5	66,2

в которых содержание общего ферритина было в пределах нормальных границ, его уровень не коррелировал со степенью гликозилирования. При выраженном повышении уровня общего ферритина наблюдалась достоверная отрицательная корреляция с процентом его гликозилированной фракции ($p = 0,0024$; $r = -0,4166$). Абсолютное содержание негликозилированной фракции ферритина с высокой степенью достоверности коррелировало с общим уровнем сывороточного ферритина как при ВГФС ($p < 0,0001$; $r = 0,9123$), так и при сепсисе ($p < 0,0001$; $r = 0,9356$). Результаты корреляционного анализа негликозилированной фракции и общего ферритина у больных ВГФС и сепсисом представлены на рис. 3.

Таким образом, максимальный уровень общего ферритина и минимальный процент гликозилированной фракции зарегистрирован у пациентов с ВГФС. Это свидетельствует о том, что гиперферритинемия при ВГФС являлась результатом селективного увеличения уровня тканевого негликозилированного ферритина.

В группе больных ВГФС абсолютные значения содержания негликозилированного ферритина положительно коррелировали с содержанием триглицеридов ($r = 0,5888$; $p = 0,0080$), МНО ($r = 0,4094$; $p = 0,0340$), АЛТ ($r = 0,6624$; $p = 0,0002$), АСТ ($r = 0,5210$; $p = 0,0076$) и общего билирубина ($r = 0,4145$; $p = 0,0353$) в группе больных ВГФС. В группе больных сепсисом взаимосвязь данных показателей отсутствовала.

Обсуждение. ВГФС и сепсис — состояния, похожие как клинически, так и по изменению биохимических показателей крови. Условиями благоприятного исхода при этих состояниях являются своевременно поставленный диагноз и начало терапии.

Гиперферритинемия имеет значение в дифференциальной диагностике, но повышение уровня сывороточного ферритина наблюдается и при перегрузке железом, инфекционных, аутоиммунных, редких наследственных заболеваниях (гемохроматозы I—III типа, болезнь Гоше и другие). Для дифференциального диагноза между

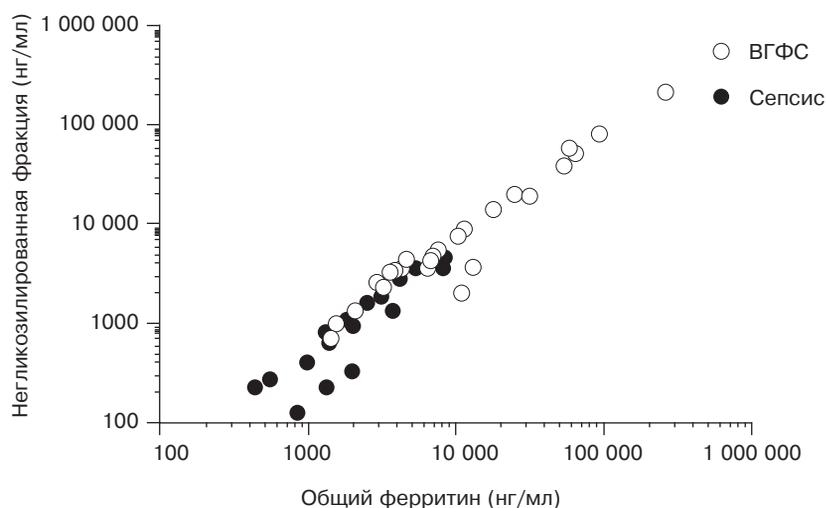


Рис. 3. Результаты корреляционного анализа негликозилированной фракции ферритина и общего ферритина для дифференциальной диагностики ВГФС и сепсиса.

ВГФС и другими гиперферритинемиями можно использовать тест определения процента ГФ сыворотки крови. Методика фракционного анализа воспроизводима в большинстве лабораторий, так как для определения ГФ достаточно общеклинического оборудования.

В данной работе определяли степень снижения ГФ у больных ВГФС, а также у больных тяжелым сепсисом, цитолитическим синдромом и у здоровых лиц. При этом ГФ оказался снижен по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров при всех исследуемых патологиях, однако был наименьшим в группе больных ВГФС: $25 \pm 18,4\%$, что было достоверно ниже по сравнению с количеством ГФ у больных сепсисом: $47 \pm 17,7\%$ ($p < 0,001$) и цитолитическим синдромом: $63,5 \pm 18,7\%$ ($p < 0,001$). Стоит отметить, что повышение фракции негликозилированного ферритина при цитолитическом синдроме имеет иной механизм, чем при ВГФС и сепсисе, и обусловлено потерей внутриклеточного ферритина при разрушении гепатоцитов, а не увеличением его синтеза.

Для определения пороговой величины ГФ, которая позволит отличить ВГФС от сепсиса, а также оценки диагностической значимости данного показателя по сравнению с другими маркерами ВГФС был использован ROC-анализ. Площадь под кривой для ГФ была наибольшей относительно уровней общего ферритина, триглицеридов, фибриногена и АСТ и составила 0,9229. Оптимальное пороговое значение ГФ равнялось 30,4%, при этом специфичность теста была 94,3%, чувствительность — 69%. Использование точки отсечения ГФ 30,4% дает наилучшие показатели достоверности: индекс точности — 86,9%, отношение правдоподобия положительного результата 12,07.

При корреляционном анализе было установлено, что только в группе больных ВГФС абсолютные значения негликозилированной фракции ферритина коррелируют с концентрацией триглицеридов, МНО, АСТ, АЛТ и общего билирубина. Прямая взаимосвязь между патологически повышенной негликозилированной фракцией и лабораторными признаками печеночного повреждения согласуется с современными представлениями о ВГФС

как о состоянии, при котором главным органом-мишенью является печень.

Полученные нами данные позволяют заключить, что снижение уровня ГФ представляет собой доступный и информативный маркер для диагностики и дифференциальной диагностики ВГФС.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за поддержку в проведении данной работы специалистам Городской клинической больницы № 31 (Санкт-Петербург) Н.В. Медведевой, А.В. Климович, И.А. Самородовой, В.В. Козыро, М.И. Набилковой, д-ру мед. наук Э.И. Подольцевой, канд. мед. наук И.А. Скороход, Д.А. Чигинской, В.В. Рябчиковой, М.Н. Смирновой, Н.В. Скоробогатовой, З.Р. Розовой, С.А. Трофимовой; Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе канд. мед. наук А.С. Повзуну, канд. мед. наук А.В. Рысеву, А.Ю. Каськову; Городской больницы № 15 (Санкт-Петербург) Е.В. Карягиной; Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург) Е.С. Павлюченко и Е.А. Кареву; Санкт-Петербургского государственного университета канд. мед. наук Т.Г. Кулибабе; Клинической ревматологической больницы № 25 (Санкт-Петербург) Ю.А. Нестерову; Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова (Москва) канд. мед. наук Г.О. Бронину.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №16-15-00118).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1—8, 10—26, 29, 30 см. REFERENCES)

- Потапенко В.Г., Потихонова Н.А., Байков В.В., Белогурова М.Б., Лисуков И.А., Климович А.В. и др. Вторичный гемофагоцитарный синдром у взрослых в клинической практике гематолога: обзор литературы и собственные данные. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика.* 2015; 8(2): 169—84.
- Тотоян А.А., Алешина Л.А., Марфичева Н.А., Зуева Е.Е., Лапин С.В. Медицинские стандарты иммунологического обследования больных с аллергическими нарушениями и нарушениями иммунной системы. *Медицинская иммунология.* 2002; 4(2): 379.
- Волкова О.Я., Смирнова В.И., Белан М.Л., Зыкова А.Б. Оценка возможности применения автоматического выделения ДНК для HLA-типирования молекулярно-биологическими методами. *Справочник заведующего КДЛ.* 2013; 10: 52—6.

REFERENCES

- Wang Z., Wang Y., Wang J., Feng C., Tian L., Wu L. Early diagnostic value of low percentage of glycosylated ferritin in secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int. J. Hematol.* 2009; 90(4): 501—5.
- Madkaikar M., Shabrish S., Desai M. Current Updates on Classification, Diagnosis and Treatment of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH). *Indian J. Pediatr.* 2016; 83(5): 434—43.
- Aricò M., Janka G., Fischer A., Henter J.I., Blanche S., Elinder G. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. Report of 122 children from the International Registry. FHL Study Group of the Histiocyte Society. *Leukemia.* 1996; 10(2): 197—203.

4. Chandrakasan S., Filipovich A.H. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J. Pediatr.* 2013; 163(5): 1253—9.
5. Rosário C., Zandman-Goddard G., Meyron-Holtz E.G., D’Cruz D.P., Shoenfeld Y. The hyperferritinemic syndrome: macrophage activation syndrome, Still’s disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome. *BMC Med.* 2013; 11: 185.
6. Henter J.I., Horne A., Aricó M., Egeler R.M., Filipovich A.H., Imashuku S. et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr. Blood Cancer.* 2007; 48(2): 124—31.
7. Emmenegger U., Schaer D.J., Larroche C., Neftel K.A. Haemophagocytic syndromes in adults: current concepts and challenges ahead. *Swiss Med. Wkly.* 2005; 135(21—22): 299—314.
8. Buda P., Gietka P., Wieteska-Klimczak A., Ksiazek J. Secondary hemophagocytic syndromes. *Wiad Lek.* 2013; 66(2, Pt 2): 153—63.
9. Potapenko V.G., Potikhonova N.A., Baikov V.V., Belogurova M.B., Lisukov I.A., Klimovich A.V. et al. Secondary Hemophagocytic Syndrome in the Adult Patients. Literature Review and Authors’ Experience. *Klinicheskaya onkologiya. Fundamental’nye issledovaniya i klinicheskaya praktika.* 2015; 8(2): 169—84. (in Russian)
10. Worwood M., Cragg S.J., Williams A.M., Wagstaff M., Jacobs A. The clearance of 131I-human plasma ferritin in man. *Blood.* 1982; 60(4): 827—33.
11. Wang W., Knovich M.A., Coffman L.G., Torti F.M., Torti S.V. Serum ferritin: Past, present and future. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1800(8): 760—9.
12. Fardet L., Coppo P., Kettaneh A., Dehoux M., Cabane J., Lambotte O. Low glycosylated ferritin, a good marker for the diagnosis of hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(5): 1521—7.
13. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992; 101(6): 1644—55.
14. Dhote R., Simon J., Papo T., Detournay B., Sailler L., Andre M.H. et al. Reactive hemophagocytic syndrome in adult systemic disease: report of twenty-six cases and literature review. *Arthritis Rheum.* 2003; 49(5): 633—9.
15. 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; 50(6): 1227—35.
16. Han A.R., Lee H.R., Park B.B., Hwang I.G., Park S., Lee S.C. et al. Lymphoma-associated hemophagocytic syndrome: clinical features and treatment outcome. *Ann. Hematol.* 2007; 86(7): 493—8.
17. Saeed H., Woods R.R., Lester J., Herzig R., Gul Z., Monohan G. Evaluating the optimal serum ferritin level to identify hemophagocytic lymphohistiocytosis in the critical care setting. *Int. J. Hematol.* 2015; 102(2): 195—9.
18. Bone R.C., Sibbald W.J., Sprung C.L. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest.* 1992; 101(6): 1481—3.
19. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* Lyon: IARC Pres; 2008.
20. Okano M., Kawa K., Kimura H., Yachie A., Wakiguchi H., Maeda A. et al. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am. J. Hematol.* 2005; 80(1): 64—9.
21. Worwood M., Cragg S.J., Wagstaff M., Jacobs A. Binding of human serum ferritin to concanavalin A. *Clin. Sci. (Lond).* 1979; 56(1): 83—7.
22. Castillo L., Carcillo J. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis and severe sepsis/ systemic inflammatory response syndrome/multiorgan dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome share common intermediate phenotypes on a spectrum of inflammation. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2009; 10(3): 387—92.
23. Orbach H., Zandman-Goddard G., Amital H., Barak V., Szekanecz Z., Szucs G. et al. Novel biomarkers in autoimmune diseases: prolactin, ferritin, vitamin D, and TPA levels in autoimmune diseases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007; 1109: 385—400.
24. Tripathy R., Panda A.K., Das B.K. Serum ferritin level correlates with SLEDAI scores and renal involvement in SLE. *Lupus.* 2015; 24(1): 82—9.
25. Jouanolle A.M., Gandon G., Jézéquel P., Blayau M., Campion M.L., Yaouanq J. et al. Haemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet.* 1996; 14(3): 251—2.
26. Regenboog M., van Kuilenburg A.B., Verheij J., Swinkels D.W., Hol-lak C.E. Hyperferritinemia and iron metabolism in Gaucher disease: Potential pathophysiological implications. *Blood Rev.* 2016; 30(6): 431—7.
27. Totolian A.A., Aleshina L.A., Marficheva N.A., Zueva E.E., Lapin S.V. Meditsinskie standarty immunologicheskogo obsledovaniya bol’nykh s allergicheskimi narusheniyami i narusheniyami immunnoy sistemy. *Meditsinskaya immunologiya.* 2002; 4(2): 379. (in Russian)
28. Volkova O.Ya., Smirnova V.I., Belan M.L., Zykova A.B. Otsenka vozmozhnosti primeneniya avtomaticheskogo vydeleniya DNK dlya HLA-tipirovaniya molekulyarno-biologicheskimi metodami. *Sprav-ochnik zaveduyushchego KDL.* 2013. 10: 52—6. (in Russian)
29. Chapman R.W., Gorman A., Laulicht M., Hussain M.A., Sherlock S., Hoffbrand A.V. Binding of serum ferritin to concanavalin A in patients with iron overload and with chronic liver disease. *J. Clin. Pathol.* 1982; 35(5): 481—6.
30. Konijn A.M., Kaplan R., Or R., Matzner Y. Glycosylated serum ferritin in patients with hematological malignancies before and after bone marrow transplantation. *Leuk. Lymphoma.* 1992; 7(1—2): 151—6.

Поступила 11.08.17

Принята к печати 20.08.17