

ПОЛОВОЕ РАЗВИТИЕ И ФУНКЦИЯ ГОНАД У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Л.И. Папуша¹, Д.Н. Балашов^{1,2}, А.Н. Тюльпаков³, Е.В. Скоробогатова^{1,2}, Е.Е. Курникова², Ю.В. Скворцова^{1,2}, А.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава; ²ФГУ Российская детская клиническая больница; ³ФГУ Эндокринологический научный центр РАМН, Москва

Контакты: Людмила Ивановна Папуша ludmila.mur@mail.ru

Исследование посвящено изучению влияния различных режимов кондиционирования на половое развитие и функцию гонад у детей и подростков после трансплантации гематологических стволовых клеток. В исследование было включено 45 больных: 23 пациента с апластической анемией, получивших немиелоаблативное кондиционирование, и 22 — с острым миелобластным лейкозом, развившимся после миелоаблативного кондиционирования. Клиническую оценку полового развития проводили на основании классификации Таннера, лабораторные анализы включали определение уровней гонадотропинов, половых стероидов, антимюллерова гормона и ингибина В. В результате показано, что немиелоаблативные режимы кондиционирования не оказывали негативного воздействия на половое развитие ни у одного из пациентов. У больных, получивших миелоаблативное кондиционирование, зарегистрирована чрезвычайно высокая частота поражения гонад: гипергонадотропный гипогонадизм — у 8 из 12 девочек на фоне резкого снижения функционального резерва яичников у всех пациенток; поражение герминативного эпителия — у 9 из 10 мальчиков.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, нарушение полового развития, режимы кондиционирования, дети

SEXUAL DEVELOPMENT AND GONADS FUNCTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION USING DIFFERENT CONDITIONING REGIMES

L.I. Papusha¹, D.N. Balashov^{1,2}, A.N. Tul'pakov³, E.V. Skorobogatova^{1,2}, E.E. Kurnikova², Y.V. Skvortsova^{1,2}, A.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Russian Children Clinical Hospital, Moscow;

³Endocrinology Research Center, Moscow

Various conditioning regimes influence on sexual development and gonads function in children and adolescent after stem cell transplantation was studied. 45 patients were enrolled in the study: 23 patients with aplastic anemia (AA), who received non-myeloablative conditioning, and 22 patients with acute myeloid leukemia (AML) after myeloablative conditioning. Sexual development was estimated by Tanner classification, laboratory tests included gonadotrophic hormones, sex steroids, antiMullerian hormone and inhibin B level detection. It has been shown that non-myeloablative conditioning does not influence sexual development in any patients. Extremely high frequency of gonads lesion in patients received myeloablative conditioning was registered: hypergonadotrophic hypogonadism in 8 from 12 girls with severe decrease of ovaries functional reserve in all patients; germinal epithelium lesion in 9 from 10 boys.

Key words: hemopoietic stem cell transplantation, sexual development failure, conditioning regimes, children

Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в настоящее время является эффективным методом терапии больных с различными гематологическими, онкологическими и иммунологическими заболеваниями.

Несмотря на то что отдаленные результаты трансплантации значительно улучшились, частота развития тяжелых посттрансплантационных осложнений в силу особенностей данного метода терапии по-прежнему остается весьма высокой. В числе поздних осложнений ТГСК заметная роль принадлежит эндокринопатиям, среди которых наиболее часто встречаются гипотиреоз, нарушение функции гонад, бесплодие и нарушения роста [1, 2]. К сожалению, как гематологи, так и другие специалисты, ведущие пациентов после трансплантации, относятся к этим проблемам как ко второстепенным,

удовлетворяясь выполнением главной задачи — излечением пациента от потенциально смертельного заболевания. Способствует такому отношению и то, что в полной мере эндокринологические проблемы проявляются в тот период, когда пациенты уже длительное время находятся на амбулаторном лечении, а зачастую вообще уходят из-под катамнестического наблюдения. Тем не менее высокая частота эндокринопатий, всесторонне ухудшающих качество жизни детей, является веским аргументом для тщательного детального изучения данной проблемы с целью оптимизации профилактических мер и разработки адекватного лечебного алгоритма.

Двумя ключевыми факторами, определяющими вероятность развития эндокринопатий у пациентов, получивших ТГСК, служат интенсивность и состав режимов кондиционирования (РК), а также развитие хронической реакции «трансплантат против

Таблица 1. *Возрастные характеристики пациентов и их число при распределении на группы*

Показатель	АА		Пол	ОМЛ	
	М	Ж		М	Ж
Медиана возраста к моменту ТГСК (разброс), годы	12,9 (10–15)	13,2 (7–17)	13,9 (12–16)	12 (8–14)	
Медиана возраста на момент обследования (разброс), годы	15,4 (11–20)	16,5 (9,6–21)	16,1 (15–17)	17,2 (12–24)	
Число пациентов в подгруппах	11	12	10	12	
Общее число пациентов в нозологических группах	23		22		

Таблица 2. *хРТПХ у пациентов после аллогенной ТГСК*

Диагноз	Пол	хРТПХ	
		Локализованная форма (иммуносупрессивная терапия на момент обследования)	Экстенсивная форма
АА	М	4 (–)	
	Ж	1 (–)	1 (–)
ОМЛ	М	2 (–)	1 (+)
	Ж	1 (–)	1 (+)
Всего...		8	3

хозяина» (хРТПХ). РК принято разделять на миелоаблативные и немиелоаблативные. Целью миелоаблативных РК является максимально полное уничтожение как злокачественных клеток, так и здоровых гемопоэтических клеток костного мозга реципиента для эрадикации злокачественного клона и обеспечения стойкого приживления трансплантата. При таких режимах для достижения максимального цитотоксического эффекта используются высокие дозы алкилирующих агентов или γ -облучения, вызывающие выраженную органную, негематологическую токсичность, которая и является дозозаменяющим фактором. При немиелоаблативных РК основной упор делается на максимальную иммуносупрессию при умеренной циторедукции с целью создания оптимальных условий для приживления трансплантата. Дозы миелотоксических препаратов в этих режимах таковы, что экстрамедуллярная токсичность является либо весьма низкой, либо отсутствует вовсе.

Несмотря на то что существует целый ряд работ, посвященных изучению особенностей эндокринологических осложнений у реципиентов ТГСК [3, 4], данные, полученные в более ранних исследованиях, не всегда применимы к пациентам, получающим ТГСК в последние 10 лет. Связано это, в первую очередь, со все более частым использованием современных модифицированных РК и новых препаратов, призванных именно минимизировать негематологическую токсичность.

Цель нашего исследования – сравнительная оценка влияния миелоаблативных и самых «щадящих» немиелоаблативных РК на половое развитие и гонадную функцию детей и подростков после ТГСК, а также анализ факторов риска, ассоциированных с их нарушением. Это необходимо для оптимизации профилактических мер и модификации алгоритмов терапии эндокринологических осложнений.

Материалы и методы

К сожалению, давность некоторых трансплантаций и значительная удаленность большинства пациентов от трансплантационного центра стали причиной, препятствовавшей включению их в исследование, в связи с чем из 209 потенциальных кандидатов для обследования (125 – с острым миелобластным лейкозом – ОМЛ и 84 – с апластической анемией – АА) доступными для анализа оказались лишь 22 пациента с ОМЛ, которым проводились высокоинтенсивные

миелоаблативные РК перед ТГСК, и 23 больных АА, получившие немиелоаблативные РК. Группы пациентов с другими нозологиями не могли быть включены в настоящее исследование в связи с малым их количеством, препятствующим адекватной статистической обработке данных.

Таким образом, в данное исследование вошли 45 пациентов (24 девочки и 21 мальчик) в возрасте от 12 до 25 лет (в среднем 15,5 года) на разных сроках (от 1 до 12 лет) после проведения аллогенной ТГСК. В группу больных АА, получивших немиелоаблативные РК (1-я группа), включено 23 пациента (11 мальчиков и 12 девочек) с приобретенной тяжелой или сверхтяжелой АА, а в группу пациентов с ОМЛ, которым проводились миелоаблативные РК (2-я группа) – 22 больных (10 мальчиков и 12 девочек), табл. 1.

У пациентов с АА в качестве кондиционирования использовали 2 режима: в одном случае – комбинация циклофосфида в суммарной дозе (СД) 100 мг/кг, флударабина в СД 100 мг/м² и антитимочитарного глобулина – АТГАМ («Пфайзер»; № 013104/01, 01.07.2008) в СД 100 мг/кг; в другом – АТГАМ в СД 90 мг/кг и циклофосфамид в СД 200 мг/кг. У больных ОМЛ применялись несколько химиотерапевтических (ХТ) режимов, где в качестве основных миелоаблативных агентов выступали бусульфид и/или мельфалан (табл. 2, 3). Ни одному из пациентов не проводилось тотального облучения тела

Таблица 3. Возрастные особенности, РК и результаты обследования пациенток женского пола после ТГСК

№	Диагноз	РК	Возраст во время ТГСК (при обследова- нии), годы	Начало менархе, возраст, годы	Стадия по Таннеру	ЛГ, ЕД/л	ФСГ, ЕД/л	Эстрадиол, пмоль/л	АМГ, нг/мл	Функция яичников
1	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	11 (12,5)		В3Р2	3,67	5,2	187		N
2	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	11 (15)	12	В5Р5	3	5,9		6,2	N
3	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	17 (20)	13	В5Р5	4,8	5,2	251	2	N
4	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	12 (16)	13	В5Р5	9	6,8	141	5,3	N
5	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	14 (19)	13	В5Р5	2,6	8,6	88	2	N
6	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	17 (19)	14	В5Р5	4,1	4,41	618	2,1	N
7	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	15 (17)	12	В5Р5	12,9	4,9	295	3,1	N
8	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	7 (10,5)		В2Р2	2	5,6	106		N
9	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	15 (18)	13	В5Р5	2,8	1,6	598	2	N
10	АА	ЦФ 200 мг/кг; АТГАМ 90 мг/кг	19 (25)	13	В5Р5	3,1	2,8	496	2,1	N
11	АА	ЦФ 200 мг/кг; АТГАМ 90 мг/кг	7 (15)	12	В5Р5	6,4	2,5		2,2	N
12	АА	ЦФ 100 мг/кг; Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	15 (19)	13	В5Р5	5,1	4,2		2,1	N
13	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; Флу 150 мг/м ² , Ме 180 мг/м ²	12 (14)		В3Р3	15	20		0,02	Гипо
14	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; Флу 150 мг/м ² , Ме 140 мг/м ²	12 (24)		В5Р5	50	120		0	Гипо
15	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; ЦФ 120 мг/кг	11 (23)		В5Р5	55	178		0	Гипо
16	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; ЦФ 120 мг/кг	14 (24)		В5Р5	20,4	116		0	Гипо
17	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; ЦФ 150 мг/кг	8 (13,5)		В2Р1	18,8	56,7	24,8		Гипо
18	ОМЛ	Бу 16, ЦФ 120, Ме 140	13 (20)	12	В5Р5	4,4	5,4	102	0,6	N
19	ОМЛ	Бу 16 мг/кг; ЦФ 120 мг/кг; Ме 140 мг/м ²	14 (17)	12	В5Р5	48,8	57,4	10,9	0	Гипо

Продолжение табл. 3

№	Диагноз	РК	Возраст во время ТГСК (при обследова- нии), годы	Начало менархе, возраст, годы	Стадия по Таннеру	ЛГ, ЕД/л	ФСГ, ЕД/л	Эстрадиол, пмоль/л	АМГ, нг/мл	Функция яичников
20	ОМЛ	Флу 150 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	16 (18)	14	B5P5	8,4	4,4	193	0,2	
21	ОМЛ	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	10 (15)	13	B5P5	5	5,3		0,3	
22	ОМЛ	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	14 (15)	13,5	B5P5	3,1	3,8	204	0,5	
23	ОМЛ	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	15 (21)	13	B5P5	6,7	6,1	90	0,8	
24	ОМЛ	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	11,5 (13)	—	B2P2	25,4	45,6	57	0	Гипо

Примечание. Здесь и в табл. 4: Бу – бусульфид; ЦФ – циклофосфан; Флу – флуларабин; АПТАМ – иммуноглобулин антигитимитарный (лошадиный); АРА-Ц – цитозин-арабинозид; Ме – мelfалан; N – норма; Гипо – гипогонадизм; P – развитие молочных желез.

(ТОТ). Все больные с ОМЛ перед ТГСК получали ХТ по стандартным протоколам, где в качестве базисных ХТ-агентов применялись этопозид, антрациклины и высокие дозы цитозин-арабинозида. Пациенты с АА, имевшие родственного HLA-идентичного донора, получали ТГСК без проведения предшествующей иммуносупрессивной терапии. Из 11 пациентов с хРТГПХ (8 – с ограниченной формой, 3 – с экстенсивной) на момент обследования иммуносупрессивную терапию получали 2 больных экстенсивной хРТГПХ (девочка и мальчик с ОМЛ).

Клиническую оценку стадии полового созревания проводили на основании классификации Таннера [1], где I стадия соответствует допубертатному уровню полового созревания, а V стадия – половозрелому уровню. Кроме лобкового оволосения, у девочек оценивали степень развития молочных желез, у мальчиков – гениталий. Дополнительно у мальчиков фиксировали объем яичек с помощью тестикулометра Прадера, а у девочек документировали возраст менархе и регулярность менструального цикла.

Лабораторные исследования включали определение концентрации гонадотропных гормонов (лютеинизирующего – ЛГ и фолликулостимулирующего – ФСГ) и половых стероидов (тестостерона у мальчиков и эстрадиола у девочек). У мальчиков нормальным показателем ЛГ считали 2,2–11,1 ЕД/л, а ФСГ 1,6–9,7 ЕД/л; у девочек 2,6–12,1 и 2–11,6 ЕД/л соответственно. Также с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) у девочек осуществлялось исследование концентрации антимюллера гормона (АМГ) – маркера овариального резерва (референсные значения 2,1–7,3 нг/мл), а у мальчиков – показателя ингибина В – маркера сперматогенеза (референсные значения 125–225 пг/мл).

Результаты

1-я группа. Из 12 девочек, которым была проведена ТГСК по поводу АА, к началу эндокринологического обследования регулярный менструальный цикл был зафиксирован в 10 случаях у пациенток с V стадией полового созревания по классификации Таннера; у 1 девочки определялась III стадия полового развития, а у 1 – половое созревание началось после ТГСК и на данный момент соответствует II стадии. У всех пациенток на момент обследования уровни исследуемых гормонов соответствовали нормальным возрастным показателям: среднее значение ЛГ составило 5 (разброс 2–11,9) ЕД/л, ФСГ – 5,3 (1,5–8,6) ЕД/л, эстрадиола – 285,5 (88–618) пмоль/л. Уровни АМГ у пациенток с регулярным менструальным циклом также были в пределах нормы (1,3–6 нг/мл), что свидетельствует о нормальном овариальном резерве.

Из 11 мальчиков с АА 8 достигли IV–V стадии полового созревания по Таннеру к моменту эндокринологического обследования, а 3 пациента вступили в пубертат после ТГСК и на данный момент их половое развитие соответствует II стадии по Таннеру. Ни у одного из 11 мальчиков с АА не было выявлено лабораторных и клинических признаков нарушений полового развития, а уровни гормонов находились в пределах нормальных значений: среднее значение ЛГ составило 2,4 (разброс 1,1–4,14) ЕД/л, ФСГ – 3,4

(1,2–10) ЕД/л, тестостерона – 13,6 (6,6–18,1) нмоль/л. Уровни ингибина В у всех больных этой группы были в пределах возрастной нормы (125–225 пг/мл).

2-я группа. В связи с тем что у пациентов с ОМЛ имелись различия в используемых режимах кондиционирования, мы стратифицировали больных в этой группе в зависимости от используемого базисного миелоаблативного агента (бусульфан или мельфалан).

Из 12 пациентов, которым было проведено миелоаблативное кондиционирование, 7 девочек получили бусульфан (СД 16 мг/кг) в качестве базисного препарата. На момент ТГСК 2 девочки были допубертатного возраста, остальные вступили в пубертат, причем 3 из них имели регулярный менструальный цикл. После ТГСК у всех 7 девочек развился гипергонадотропный гипогонадизм: аменорея, высокие уровни гонадотропинов (среднее значение ЛГ составляло 31,3 ЕД/л, разброс 18,8–59,3 ЕД/л; ФСГ – 50,9 ЕД/л, разброс 45,6–89,2 ЕД/л), низкий эстрадиол – 55 (10,9–80,2) пмоль/л. Все пациентки, кроме одной, получали заместительную гормональную терапию (ЗГТ) препаратами половых гормонов. У 1 больной терапия была временно отложена в связи с выраженной задержкой роста и отставания костного созревания на фоне высокодозной терапии глюкокортикоидами, необходимой для лечения хРТПХ. У всех девочек выявлены предельно низкие уровни АМГ (0–1 нг/мл), что свидетельствовало о крайне низком овариальном резерве. У 1 пациентки отмечалось восстановление регулярного менструального цикла после 1 года ЗГТ на фоне низкого овариального резерва с учетом низкого уровня АМГ (0,6 нг/мл) и малого количества антральных фолликулов по данным ультразвукового исследования (УЗИ).

У 5 пациенток в качестве основного миелоаблативного агента был использован мельфалан в дозе 180 мг/кг. На момент ТГСК 1 девочка была допубертатного возраста, остальные вступили в пубертат и у 3 – имелся регулярный менструальный цикл. К моменту начала обследования у 1 девушки выявлен гипергонадотропный гипогонадизм (ЛГ – 25,4 ЕД/л, ФСГ – 45,6 ЕД/л), а у 4 – регулярный менструальный цикл и нормальные уровни гонадотропинов (ЛГ, ФСГ <10 ЕД/л). Однако при исследовании уровня АМГ у всех пациенток отмечено его уменьшение (0–0,8 нг/мл), что свидетельствует о резком снижении функционального резерва яичников.

При обследовании мальчиков, получивших ТГСК по поводу ОМЛ, было документировано повышение уровня ФСГ (среднее значение – 16,3, разброс 13,4–29,5 ЕД/л) у 9 из 10 пациентов. У 1 мальчика в этой группе была экстенсивная хРТПХ, по поводу которой он получал иммуносупрессивную терапию, при обследовании все показатели были в норме. Также у этих пациентов зафиксировано снижение уровня ингибина В (разброс 0–38,1 пг/мл).

Это является косвенным признаком снижения фертильности, так как в большинстве случаев отражает повреждение герминативного эпителия. Все мальчики в данной подгруппе имели IV–V стадию полового созревания по Таннеру. Кроме того, у 3 пациентов определялся уменьшенный объем яичек – 12 мл, что также является одним из признаков поражения герминативного эпителия. Уровни тестостерона у всех подростков соответствовали нормальным значениям (среднее значение – 20,5 нмоль/л, разброс 9–33 нмоль/л). Содержание ЛГ в сыворотке крови также находилось в нормальных возрастных пределах у всех пациентов (среднее значение – 6,7 ЕД/л, разброс 3,4–9,9 ЕД/л). Лишь у 1 больного уровень ЛГ отличался от нормы (15,7 ЕД/л), однако уровень тестостерона соответствовал возрасту, что являлось косвенным признаком субклинического поражения клеток Лейдига. Подробно результаты исследования представлены в табл. 3 и 4.

Обсуждение

Несмотря на то что в настоящее время в нашей клинике проведено более 450 ТГСК у детей с различными заболеваниями, лишь 2 нозологические группы (ОМЛ и АА), состоящие из достаточного для статистической обработки числа пациентов, доступны для анализа данных в контексте данного исследования.

Это связано прежде всего с большим спектром патологий, многие из которых нередко встречались лишь у небольшого числа пациентов (вплоть до единичных наблюдений), а особенности течения заболеваний в каждом конкретном случае часто являлись причиной возникновения различий в проводимой подготовительной терапии, даже в контексте одной патологии. Нельзя также не учитывать отличия в проводимой терапии у ряда больных в пределах одного заболевания, что было обусловлено коммерциализацией новых препаратов и разработкой более совершенных технологических методик. Эти факторы служили основанием для внедрения альтернативных подходов к проводимой подготовительной ХТ.

Цитотоксическая ХТ может вызвать длительное или перманентное поражение герминативного эпителия яичек у лиц мужского пола, что является причиной развития олиго- или азооспермии, а также приводит к повышению уровня ФСГ и уменьшению объема тестикул [5]. По данным различных авторов, эта проблема варьирует в широких пределах (от 10 до 90%) и зависит от вариантов используемых РК [6]. Наиболее тяжелый токсический эффект описан при применении в кондиционировании комбинации бусульфана и циклофосфамида [7].

По нашим сведениям, у 9 из 10 мальчиков с ОМЛ, получивших в РК бусульфан в дозе 16 мг/кг, были выявлены признаки изолированного поражения герминативного эпителия, а именно: высокий уровень ФСГ (>12 мЕД/л), низкие уровни ингибина В (0–38,1 пг/мл) и уменьшенный объем тестикул

Таблица 4. Возрастные особенности, РК и результаты обследования пациентов мужского пола после ТГСК

№	Диагноз	Возраст во время ТГСК (при обследо- вании), годы	РК	Стадия по Таннеру	Объем яичек	ЛГ, ЕД/л	Ингибин В, пг/мл	ФСГ, ЕД/л	Тестостерон, нмоль/л	Функция герминативного эпителия
1	АА	13 (15)	Флу 150 мг/м ² , АТГАМ 150 мг/кг	G5P5	20	1,8	120	2,7	18,1	N
2		14 (20)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G5P5	20	3,3	250	2,2	16,3	N
3		13 (17)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G5P5	20	4,14	141	3,39	16,5	N
4		15 (18)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G5P5	20	2,21	202	2,27	9,2	N
5		10 (12)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G2P2	10	1,1	225	1,2		N
6		10 (12,5)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G2P2	12	2	190	2	8,4	N
7		11 (14)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G4P4	15	2	220	2,3	10,5	N
8		12 (13)	ЦФ 100 мг/кг, Флу 100 мг/м ² , АТГАМ 100 мг/кг	G2P2	12	2,9	225	2	6,6	N
9		16 (18)	ЦФ 200 мг/кг, Флу 100 мг/м ²	G5P5	20	9,2	240	2,8	21,5	N
10		13 (14)	ЦФ 200 мг/кг, АТГАМ 90 мг/кг	G4P4	20	1,7	191	1,9	15	N
11		14 (16)	ЦФ 200 мг/кг, АТГАМ 90 мг/кг	G5P5	20	3,2	125	10	16	N
12	ОМЛ	16 (17)	Бу 16 мг/кг, Флу 150 мг/м ² , Ме 140 мг/м ²	G5P5	20	3,4	14,6	11	33	Дисф
13		18 (19)	Бу 16 мг/кг, Флу 150 мг/м ² , Ме 180 мг/м ²	G5P5	20	4,4	35,29	23,6	17,4	Дисф
14		14 (15,4)	Бу 16 мг/кг, Флу 150 мг/м ² , Ме 140 мг/м ²	G5P5	15	9,9	38,1	11,5	22,7	Дисф
15		15 (16)	Бу 16 мг/кг, Флу 150 мг/м ² , Ме 140 мг/м ²	G5P5	15	15,7	19,2	14,4	17,2	Дисф
16		13 (14)	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	G4P4	15	3,5	17,3	12,7	8,4	Дисф
17		14 (15)	Флу 100 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ²	G5P5	12	8	17,15	20	26,4	Дисф

Продолжение табл. 4

№	Диагноз	Возраст во время ТГСК (при обследовании), годы	РК	Стадия по Таннеру	Объем яичек	ЛГ, ЕД/л	Ингибин В, пг/мл	ФСГ, ЕД/л	Тестостерон, нмоль/л	Функция герминативного эпителия
18		12 (14)	Бу 16, ЦФ 120, Ме 140	G4P4	20	5,5	15,49	13,4	19,4	Дисф
19		15 (17)	Флу 120 мг/м ² , АРА-Ц 8 г/м ² , Ме 180 мг/м ² , АТРАМ 90 мг/кг	G5P5	12	7,1	0	29,5	16,9	Дисф
20		17 (19)	Бу 16, ЦФ 150, АТГ	G5P5	20	8,4	173	4,6	20,4	N
21		12 (15)	Бу 16 мг/кг, ЦФ 120 мг/кг, Ме 140 мг/м ²	G5P5	12	3,6	20	16,3	10,5	Дисф

Примечание. Дисф – дисфункция; G – стадии развития гениталий у мальчиков.

(n=3), не соответствующий стадии полового созревания. В то же время у пациентов с АА, получивших циклофосфамид в дозе 100 мг/кг в качестве основного гонадотоксичного препарата, данных, подтверждающих наличие поражения герминативного эпителия, не обнаружено, что было подтверждено нормальными значениями уровней ФСГ и ингибина В. Ингибин В является маркером сперматогенеза и особенно полезен при проведении оценки фертильности у подростков, исследование спермограммы которых представляет сложности. Он секретируется в семенных канальцах клетками Сертоли и участвует в регуляции синтеза ФСГ гипофизом по принципу отрицательной обратной связи [8]. По данным ряда исследований, использование гонадотоксичных препаратов приводит к снижению концентрации ингибина В, что отражает нарушение процессов сперматогенеза (олиго- или азооспермия) [9]. Нарушения продукции тестостерона не зафиксировано ни в одном случае, что подтверждает результаты ряда исследовательских групп, доказавших устойчивость клеток Лейдига к цитостатической терапии [10, 11]. По данным J.E. Sanders и соавт. [12], функция клеток Лейдига сохраняется у большинства мальчиков, получивших кондиционирование с использованием бусульфана и циклофосфамида, несмотря на поражение герминативного эпителия. Есть также данные, демонстрирующие повышение уровня ЛГ на фоне нормального уровня тестостерона [6]. В нашем исследовании повышенный уровень ЛГ (15,7 ЕД/л) зарегистрирован лишь у 1 мальчика с ОМЛ при нормальном уровне тестостерона (17,2 нмоль/л), что по всей видимости соответствует субклиническому поражению клеток Лейдига. В недавнем исследовании показано, что крайне важным является продолжение мониторинга уровня тестостерона в динамике, так как с увеличением срока после проведения ТГСК и увеличением возраста пациента риск развития поражения клеток Лейдига возрастает [6]. По данным ряда исследований, экстенсивная хРТПХ также способна обуславливать нарушение сперматогенеза [7], что, учитывая особенности этого осложнения, может быть результатом либо аутоиммунного поражения, либо аллореактивного Т-клеточного повреждения герминативного эпителия. В нашем исследовании мы не можем сделать выводов о влиянии экстенсивной хРТПХ на сперматогенез, поскольку она была лишь у 1 обследуемого подростка с ОМЛ, у которого поражение герминативного эпителия не выявлено. Имеются сведения о редкой частоте восстановления сперматогенеза как после использования в РК ТОТ, так и после ХТ [13]. Случаи нормального сперматогенеза и рождения детей описаны также у мужчин с ОМЛ, у которых в РК использовали бусульфан и циклофосфамид [14]. Прогностически благоприятными факторами восстановления сперматогенеза у реципиентов ТГСК являются ранний возраст на момент проведения ТГСК, длительный интервал после ее выполнения, а также отсутствие экстенсивной хРТПХ в анамнезе [14]. Пока мы не можем представить информацию о восстановлении функции герминативного эпителия в связи с малым сроком наблюдения за нашими пациентами (1–3 года).

Наиболее гонадотоксичным препаратом в отношении овариогенеза у женщин является бусульфан [2–12, 15] и в меньшей степени – циклофосфамид [16]. Одним из основных факторов, влияющих на вероятность развития гонадотоксичности, является возраст пациенток. Принято считать, что девочки, подвергшиеся ТГСК в допубертатном возрасте (до наступления менархе), имеют хороший прогноз в плане овариогенеза [17], что связано с уменьшением количества примордиальных фолликулов в яичниках с возрастом. Однако, по данным отдельных исследовательских групп, некоторые алкиляторы (например,

бусульфан) вызывают поражение яичников независимо от возраста пациентов [15, 18]. В нашем исследовании гипогонадизм развился у 100% девочек, получивших бусульфан в дозе 16 мг/кг независимо от возраста на момент проведения ТГСК.

Данные о роли циклофосфамида в развитии гонадотоксичности у девочек противоречивы и нуждаются в уточнении [19–21]. Ни у одной из 12 пациенток, получивших кондиционирование, где базовым препаратом являлся циклофосфамид в суммарных дозах 100 или 200 мг/кг, при обследовании в сроки от 1 года до 6 лет после ТГСК не выявлено патологии яичников, что коррелирует с большинством ранее опубликованных исследований.

Следует принимать во внимание, что роль мельфалана в поражении функции гонад у пациентов, учитывая различия в результатах ряда исследовательских групп, выяснена не до конца [22]. В нашем исследовании у 3 мальчиков с ОМЛ, получивших в РК мельфалан в дозе 180 мг/м², зафиксировано поражение герминативного эпителия, а из 5 девочек с ОМЛ, также получивших мельфалан в дозе 180 мг/м², у 1 выявлен гипергонадотропный гипогонадизм, тогда как у остальных регистрировалось резкое снижение овариального резерва (низкие уровни АМГ) на фоне регулярного менструального цикла и при нормальном уровне гонадотропинов. Данные результаты являются в известной степени обескураживающими, поскольку на основании некоторых публикаций, касающихся фертильности женщин, получивших кондиционирование высокими дозами мельфалана [22, 23], мы разрабатывали мельфалансодержащие РК именно с целью сохранения функции гонад у девочек с ОМЛ промежуточного риска. Для оценки потенциала фертильности необходимо проведение дальнейших исследований в динамике, поскольку 1 из пациенток во 2-й ремиссии ОМЛ, получившая кондиционирование с высокими дозами мельфалана перед аутоТГСК, через 13 лет родила здоровых близнецов после неосложненной беременности.

Необходимо также отметить роль АМГ в оценке функции яичников у пациенток после ТГСК. АМГ относится к классу трансформирующих факторов роста; он секретируется гранулезными клетками преантральных и антральных фолликулов и отражает величину пула примордиальных фолликулов [24]. Экспрессия АМГ в яичнике плода начинается в конце III триместра беременности, едва регистрируется при рождении, а максимальное ее значение определяется после достижения половой зрелости. Скорее всего, АМГ в женской гонаде функционально активен в период перехода от фолликула в состоянии покоя к растущему фолликулу. Уровень АМГ не меняется в течение менструального цикла женщины и не зависит от уровня других биохимических маркеров. С возрастом число при-

мордиальных, преантральных и маленьких антральных фолликулов сокращается и содержание АМГ уменьшается [13]. Таким образом, уровень АМГ является надежным маркером для определения овариального резерва у женщины. Поскольку АМГ продуцируется не только антральными фолликулами, но и более мелкими преантральными, которые не всегда можно визуализировать при УЗИ, определение содержания этого гормона является более надежным маркером овариального резерва, чем оценка количества антральных фолликулов при трансвагинальном УЗИ, тем более, что его выполнение не всегда возможно у девочек-подростков. Нами выявлено значительное снижение уровня АМГ не только у пациенток с гипергонадотропным гипогонадизмом, но также и у тех девушек, которые имели регулярный менструальный цикл и нормальные уровни гонадотропинов. Таким образом, диагностированное нами субклиническое поражение яичников еще раз подтвердило ценность исследования АМГ в сыворотке крови, что, несомненно, является более точной методикой для верификации состояния овариального резерва.

Пациентам женского пола с гипергонадотропным гипогонадизмом как правило проводится ЗГТ с целью восстановления нормального менструального цикла, а также для нормализации обменных процессов, обеспечивающих минерализацию костной ткани. Обычно при отсутствии вторичных половых признаков или недостаточном их развитии назначаются малые дозы эстрогенов с последующим переходом на циклическую терапию с использованием комбинированных эстроген-прогестагеновых препаратов. В связи с имеющейся возможностью восстановления функции яичников существуют рекомендации о регулярном выполнении пауз в проводимой терапии (сроком от 2 до 6 мес), что необходимо для адекватной оценки функции яичников, причем первый перерыв следует делать спустя 1 год после осуществления ТГСК [6, 13, 21]. Известно также, что время, необходимое для восстановления функции яичников, зависит от варианта используемого РК. В нашем исследовании у всех девочек 1-й группы, получивших циклофосфамид в РК, менструальный цикл восстановился в течение 2–3 мес после проведения ТГСК. На сегодняшний день восстановление функции яичников выявлено только у 1 пациентки с гипергонадотропным гипогонадизмом.

Заключение

Несмотря на то что недостаточное число обследованных пациентов пока не позволяет сделать однозначных умозаключений и выводов, очевидно, что терапия больных, получающих ТГСК, не может проводиться без учета особенностей негематологической токсичности. Современные методы обследования пациентов дают возможность адекватно

верифицировать гонадотоксические осложнения, что, безусловно, является чрезвычайно важной составляющей эффективной терапии, позволяющей

обеспечить адекватное качество жизни потенциально курабельных пациентов онкогематологического профиля.

Л и т е р а т у р а

1. Shalet S.M., Brennan B.M.D. Endocrine late effects after bone marrow transplant. *Br J Haematol* 2002;118:58P66.
2. Cohen A., Bekassy A.N., Gaiero A. et al. Endocrinological late complications after hematopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:43—8.
3. Kolb H.J., Bender-Gotze C. Late complications after allogeneic bone marrow transplantation for leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1990;6:61—72.
4. Legault L., Bonny Y. Endocrine complications of bone marrow transplantation in children. *Pediatr Transplant* 1999;3:60—6.
5. Sklar C.A., Kim T.H., Ramsay N.K. Testicular function following bone marrow transplantation performed during or after puberty. *Cancer* 1984;53:1498—501.
6. Wallage H., Green D. Late effects of childhood cancer. London: Arnold, 2004.
7. Grigg A.P., McLachlan R., Zaja J., Szer J. Reproductive status in long-term bone marrow transplant survivors receiving busulfan-cyclophosphamide (120 mg/kg). *Bone Marrow Transplant* 2000;26:1089—95.
8. Lähteenmäki P.M., Toppari J., Ruokonen A. et al. Low serum inhibin B concentrations in male survivors of childhood malignancy. *Eur J Cancer* 1999;35:612—9.
9. Van Beek R.D., Smit M., van den Heuvel-Eibrink M.M. et al. Inhibin B is superior to FSH as a serum marker for spermatogenesis in men treated for Hodgkin's lymphoma with chemotherapy during childhood. *Hum Reprod* 2007;22(12):3215—22.
10. Bramsig J.H., Heimes U., Heiernann E. et al. The effects of different cumulative doses of chemotherapy on testicular function. *Cancer* 1990;65:1298—302.
11. Michel G., Socie G., Gebhard F. et al. Late effects of allogeneic bone marrow transplantation for children with acute myeloblastic leukemia in first complete remission: the impact of conditioning regimen without total-body irradiation—a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle. *J Clin Oncol* 1997;15:2238—46.
12. Sanders J.E., the Seattle Marrow Transplant Team. The impact of marrow transplant preparative regimens on subsequent growth and development. *Semin Haematol* 1991;28:244—9.
13. Liu J., Malhotra R., Voltarelli J. et al. Ovarian recovery after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:1—4.
14. Rovo A., Tichelli A., Passweg J.R. et al. Spermatogenesis in long-term survivors after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in associated with age, time interval since transplantation, and apparently absence of chronic GvHD. *Blood* 2006;108:1100—5.
15. Afify Z., Shaw P.J., Clavano-Harding A., Cowell C.T. Growth and endocrine function in children with acute myeloid leukaemia after bone marrow transplantation using busulfan/cyclofosfamide. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:1087—92.
16. Salooja N., Szydlo R.M., Socie G. et al. Pregnancy outcomes after peripheral blood or bone marrow transplantation: A retrospective survey. *Lancet* 2001;358:271—6.
17. Matsumoto M. Ovarian function after bone marrow transplantation performed before menarche. *Arch Dis Child* 1999;80:452—4.
18. Teinturier C., Hartmann O., Valteau-Couanet D. et al. Ovarian function after autologous bone marrow transplantation in childhood: high dose busulfan is a major cause of ovarian failure. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:989—94.
19. Sanders J.E., Hawley J., Levy W. et al. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood* 1996;87:3045—52.
20. Sanders J.E. Growth and development after hematopoietic cell transplant in children. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:223—7.
21. Thibaud E., Rodrigues-Macias K., Trivin C. et al. Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:287—90.
22. Singhal S., Powles R., Treleaven J. et al. Melphalan alone prior to allogeneic bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors for hematologic malignancies: alloengraftment with potential preservation of fertility in women. *Bone Marrow Transplant* 1996;18:1049—55.
23. Jackson G.H., Wood A., Taylor P.R. et al. Early high dose chemotherapy intensification with autologous bone marrow transplantation in lymphoma associated with retention of fertility and normal pregnancies in females. Scotland and Newcastle Lymphoma Group, UK. *Leuk Lymphoma* 1997;28(1—2):127—32.
24. De Vet A., Laven F.H., Themmen A.P., Fauser B.C. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357—62.