

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1439

О.В. Смирнова, В.Т. Манчук, Ю.Н. Агилова

НИИ медицинских проблем Севера, Красноярск, Российская Федерация

## Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой

Инфекционные осложнения — ведущая причина смертности больных множественной миеломой (ММ), их появление расценивают как неблагоприятный прогностический фактор в течении заболевания. **Цель исследования:** изучить клинические и иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных G-иммунохимическим вариантом ММ для поиска наиболее информативных показателей в их прогнозировании. **Методы:** проведено нерандомизированное контролируемое исследование. Для сравнения выделено 3 группы: группа 1 (n = 47) — больные ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; группа 2 (n = 54) — больные ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных осложнений; группа 3 (n = 125) — практически здоровые добровольцы. Материалом для исследования послужила венозная кровь, которую брали при поступлении больных в гематологическое отделение до начала патогенетического лечения. Идентификацию G-варианта ММ осуществляли методом иммунофиксации и электрофореза. Иммунологический статус оценивали при помощи непрямой иммунофлуоресценции. Концентрацию IgA, M, E и G и цитокинов ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 8, ФНО α, ИФН γ в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом. Для изучения активности нейтрофильных гранулоцитов применяли хемилуминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции активных форм кислорода. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA v. 8.0 (США). **Результаты:** проанализированы данные от 101 больного ММ и 125 практически здоровых добровольцев. Средний возраст больных ММ составил 60,53±6,78 года. Группа практически здоровых добровольцев была сопоставима по полу и возрасту с группами больных ММ. У больных ММ при наличии инфекционных осложнений обнаружено развитие комбинированного вторичного T- и B-клеточного иммунодефицита, изменения в неспецифическом звене иммунитета зависели от стадии заболевания, выявлялись однонаправленные нарушения в спонтанной и индуцированной хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов на II и разнонаправленные — на III стадии заболевания (p = 0,045). Установлены преобладание содержания провоспалительных цитокинов над противовоспалительными (p < 0,001) и девиация иммунного ответа по T<sub>H1</sub>-типу. **Заключение:** полученная совокупность 6 информативных показателей (содержание ИЛ 2, 4, ФНО α, IgG, абсолютное число CD4<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup> клеток) дает возможность разработки способа прогнозирования инфекционных осложнений у больных ММ.

**Ключевые слова:** неспецифический иммунитет, цитокины, специфический иммунитет, нейтрофильные гранулоциты, лимфоциты, инфекционные осложнения, множественная миелома.

(Для цитирования: Смирнова О.В., Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 534–540. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1439)

534

O.V. Smirnova, V.T. Manchuk, Yu.N. Agilova

Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

## Clinical and Immunological Features of Infectious Complications in Patients with Multiple Myeloma

**Background:** Infectious complications — the leading cause of mortality in patients with multiple myeloma (MM), their appearance is regarded as an adverse prognostic factor in the course of the disease. **Objective:** The aim of our study was to evaluate the clinical and immunological features of infectious complications in patients with G-immunochemical MM to find the most informative indicators in their forecasting. **Methods:** A randomized controlled trial was made. All patients were divided into 3 groups for comparison: Group 1 (n = 47) — MM patients, G-immunochemical variant with infection, Group 2 (n = 54) — MM patients, G-immunochemical option no infectious complications, and Group 3 (n = 125) — healthy volunteers. Research material was deoxygenated blood taken on admission of a patient to the hematology department before the pathogenetic treatment. Identification of G-variant was carried by immunofixation and electrophoresis. The immune status was assessed by indirect immunofluorescence. The concentration of IgA, M, E and G, and the levels of IL 2, IL 4, IL 8, TNF α, IFN γ in serum was determined by enzyme immunoassay. The activity of neutrophil granulocytes (NG) was studied by chemiluminescent analysis of spontaneous and induced production of reactive oxygen species. Statistical analysis was performed using the software STATISTICA v. 8.0 (USA). **Results:** We analyzed data from 101 patients with MM and 125 healthy volunteers. The average age of MM patients was 60.53±6.78 years. The group of healthy volunteers was similar in sex and age to groups of patients with MM. In patients with MM in the presence of infectious complications the researchers detected combined secondary development of T and B cell immunodeficiency, changes in non-specific immunity depended on the stage of the disease, unidirectional irregularities in spontaneous and induced chemiluminescence activity NG in II stage disease and multidirectional irregularities in stage III (p = 0.045). Prevalence of the content of proinflammatory cytokines on inflammatory (p < 0.001) and the deviation of the immune response to T<sub>H1</sub>-type were detected. **Conclusion:** the set of 6 informative indicators (the content of IL 4, IL 2, TNF α, IgG, the absolute number of CD4<sup>+</sup> and CD19<sup>+</sup> cells) enables the development of prediction method of infectious complications in patients with MM.

**Key words:** non-specific immunity, cytokines, specific immunity, neutrophil granulocytes, lymphocytes, infectious complications, multiple myeloma.

(For citation: Smirnova O.V., Manchuk V.T., Agilova Yu.N. Clinical and Immunological Features of Infectious Complications in Patients with Multiple Myeloma. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 534–540. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1439)

## Обоснование

Множественная миелома (ММ) — злокачественное заболевание крови, обусловленное неопластической пролиферацией плазматических клеток с тотальным замещением костного мозга, наличием М-протеина в сыворотке крови, развитием костных и почечных осложнений [1].

ММ (по данным REAL-классификации 1994 г.) — периферическая В-клеточная лимфоидная опухоль низкой степени злокачественности. Ежегодно в среднем регистрируют 3 новых случая заболевания на 100 тыс. населения [2]. ММ — это болезнь пожилого возраста, поэтому с возрастом число заболевших увеличивается. Так, у лиц старше 60 лет заболеваемость в среднем составляет уже 37 случаев на 100 тыс. населения [2]. В Российской Федерации ежегодно диагностируют приблизительно 20 тыс. новых случаев ММ, при этом средний возраст заболевших составляет 62 года [2]. В настоящее время наблюдается увеличение числа больных младше 40 лет: до 5% всех случаев заболеваний приходится на эту возрастную группу. В целом за последние годы зафиксировано увеличение общего числа случаев заболеваний ММ [3].

Согласно иммунохимической классификации ММ, в зависимости от продуцируемого иммуноглобулина выделяют 5 вариантов заболевания: G, A, D, E и несекретирующая миелома. Частота встречаемости иммунохимических вариантов ММ соответствует распределению нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови: G-миелома обнаруживается в 50% случаев, A-миелома — в 25%, D-миелома — в 1%, M-миелома и несекретирующая форма встречаются очень редко [4]. G-иммунохимический вариант ММ является наиболее прогностически благоприятным.

В настоящее время современные способы лечения (лучевая и химиотерапия) способствуют увеличению продолжительности и повышению качества жизни больных ММ, однако данное заболевание до сих пор остается неизлечимым. При этом общая продолжительность жизни с момента постановки диагноза до наступления летального исхода не превышает 8 лет, а медиана выживаемости составляет 4,5 года [1, 2, 4]. Среди причин смертности больных ММ лидируют инфекционные осложнения [5]. Выделяют местные и генерализованные инфекционно-воспалительные процессы. Наиболее часто при ММ встречаются сепсис, пневмония, тяжелые поражения желудочно-кишечного тракта [5–7]. Инфекционно-воспалительные заболевания утяжеляют состояние больных ММ, способствуют прогрессированию онкологического процесса [8–10]. Адекватная антибактериальная терапия при онкологическом состоянии не всегда купирует возникшие осложнения. Таким образом, возникновение инфекционных осложнений может расцениваться как неблагоприятный прогностический фактор в течении ММ.

Целью нашего исследования было изучить клинические и иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных G-иммунохимическим вариантом ММ для поиска наиболее информативных показателей прогнозирования.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное контролируемое исследование.

### Критерии соответствия

Критерии включения:

- согласие пациентов на участие в исследовании;
- верифицированный G-иммунохимический вариант ММ;
- первичное обращение к врачу-гематологу (до обращения пациенты не получали патогенетического лечения по поводу ММ, диагноз был первичным);
- отсутствие патогенетической терапии на момент взятия крови.

Критерии невключения:

- отказ пациентов от участия в исследовании;
- другие иммунохимические варианты ММ;
- сопутствующие онкологические заболевания;
- ВИЧ-инфекция;
- возраст более 80 лет.

### Условия проведения

Отбор больных ММ, их клиническое и лабораторное обследование и наблюдение осуществляли в гематологическом отделении Краевой клинической больницы г. Красноярска, иммунологические тесты выполняли в лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера.

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2011 по 2013 г.

### Описание медицинского вмешательства

Диагноз ММ верифицировали по результатам клинического и лабораторного обследования. Идентификацию G-варианта ММ проводили методом иммунофиксации и электрофореза. Диагноз подтвержден сочетанием диагностических критериев по Durie, Salmon (1975; 2000) [4] и наличием (либо отсутствием) инфекционных осложнений. Степень поражения костей подтверждалась рентгенологическим исследованием и результатом магнитно-резонансной томографии.

Объектом исследования служила венозная кровь, которую брали утром, с 8 до 9 ч, натощак из локтевой вены в пробирки с гепарином при поступлении больного в стационар, до назначения патогенетической терапии. Динамическое наблюдение за больными осуществляли на протяжении всего периода пребывания их в стационаре.

При поступлении собирали анамнез всех пациентов, оценивали клинические синдромы (поражения костей, нервной системы, почек, синдром повышенной вязкости крови, геморрагический синдром, синдром нарушения гемопоэза, угнетение иммунитета), измеряли пульс, артериальное давление, частоту дыхательных движений, температуру тела, выполняли стандартные исследования крови (развернутый клинический анализ крови, биохимическое исследование крови с определением мочевины, электролитов, активности АЛТ, АСТ, содержания альбумина, С-реактивного белка, оценкой коагуляционного профиля). Проводили микробиологическое исследование мокроты больных при поступлении. При обнаружении возбудителя *Legionella pneumophila* ведение больных осуществляли согласно рекомендациям Британского торакального общества (BTS, 2001; 2004).

Иммунный статус оценивали методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> (ОО «Сорбент», Россия). Для дополнительной оценки Т-клеточного звена иммунной системы определяли следующие соотношения: CD4<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup>, лейкоциты / CD3<sup>+</sup>,

лейкоциты / CD19<sup>+</sup>, а также индекс активации Т лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup> / CD19<sup>+</sup>) [11].

Центрифугированием в градиенте плотности фико-колл-верографин ( $\rho = 1,077$ ) по методу А. Воуин (1968) выделяли лимфоциты. Содержание иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, Е и G в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом (ИФА). По интенсивности относительного синтеза IgA (IgA / CD19<sup>+</sup>), IgE (IgE / CD19<sup>+</sup>), IgG (IgG / CD19<sup>+</sup>), IgM (IgM / CD19<sup>+</sup>) оценивали состояние гуморального звена иммунной системы [12]. Относительный синтез иммуноглобулина представляет собой отношение содержания данного иммуноглобулина в сыворотке крови к абсолютному числу CD19<sup>+</sup> лимфоцитов. Содержание интерлейкинов (ИЛ) 2, 4 и 8, фактора некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$ , интерферона (ИФН)  $\gamma$  в сыворотке крови больных ММ и здоровых добровольцев оценивали с применением ИФА, используя наборы реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Для изучения активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) как неспецифического звена иммунной системы использовали хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции активных форм кислорода НГ больных ММ в зависимости от стадии заболевания и практически здоровых добровольцев [13]. На 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL 3606 (Россия) в течение 90 мин осуществляли оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. Вычисляли следующие параметры: время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции ( $T_{\max}$ ), максимальное значение интенсивности хемилюминесценции ( $I_{\max}$ ), площадь кривой хемилюминесценции (S). Для усиления хемилюминесценции использовали люминол. Для индукции респираторного взрыва применяли опсонизированный зимозан. По соотношению площади индуцированной ( $S_{\text{инд}}$ ) к площади спонтанной ( $S_{\text{спонт}}$ ) хемилюминесценции определяли усиление хемилюминесценции, и обозначали данный показатель как индекс активации.

Для определения наиболее значимых показателей гуморального, клеточного и неспецифического звена иммунитета при развитии инфекционных осложнений и оценки равномерности распределения исследуемых показателей нами был применен дискриминантный анализ по методу Forward stepwise. Число заданных шагов соответствовало числу исследуемых параметров иммунного статуса.

### Исходы исследования

На основании комплексного изучения показателей гуморального, клеточного и неспецифического звена иммунитета при развитии инфекционных осложнений у больных ММ с использованием математических методов были выявлены 6 наиболее информативных показателей в прогрессировании заболевания: концентрация ИЛ 2, 4, IgG, ФНО  $\alpha$ , абсолютное число CD4<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup> клеток.

### Анализ в подгруппах

Для сравнения было выделено 3 группы: группа 1 ( $n = 47$ ) — больные ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; группа 2 ( $n = 54$ ) — больные ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных осложнений; группа 3 ( $n = 125$ ) — практически здоровые добровольцы.

По стадиям ММ сформировали следующие подгруппы больных: больные ММ на II стадии заболевания с инфекционными осложнениями ( $n = 19$ ), больные ММ на II стадии заболевания без инфекционных осложнений

( $n = 45$ ), больные ММ на III стадии заболевания с инфекционными осложнениями ( $n = 28$ ), больные ММ на III стадии заболевания без инфекционных осложнений ( $n = 9$ ) и практически здоровые добровольцы.

### Методы регистрации исходов

Деление больных ММ по стадиям осуществляли по классификации Durie, Salmon [14], развитие инфекционных осложнений оценивали по диагностическим критериям МКБ-10 [15], оценку степени тяжести пневмонии у больных производили по шкале CURB-65 BTS (2004), определяли индекс тяжести пневмонии (PSI) [16]. Сепсис у пациентов диагностировали при наличии пневмонии и двух или более SIRS-критериев (синдром системного ответа на воспаление, Systemic Inflammatory Response Syndrome) [11]. Оценку первичных исходов давали по месячной смертности. Летальность больных ММ от инфекционных осложнений оценивали по данным патологоанатомического вскрытия.

Оценку степени тяжести пневмонии у больных ММ производили по шкале CURB-65 BTS (спутанность сознания, мочевины крови  $>7$  ммоль/л при норме 2,5–7, частота дыхательных движений  $\geq 30$  в минуту при норме 16–20, систолическое артериальное давление  $<90$  мм рт.ст при норме 110–129, диастолическое артериальное давление  $\leq 60$  мм рт.ст. при норме 70–89, PSI — индекс тяжести пневмонии по прогностической шкале PORT). В случаях, когда температура тела больного была ниже 36 или выше 38 °С, частота сердечных сокращений — более 90 уд./мин, частота дыхательных движений — от 20 и выше в мин, или содержание артериального диоксида углерода было менее 32 мм рт.ст., а число лейкоцитов в крови — менее 4 или более  $12 \times 10^9$ /л, диагностировали септическое воспалительное заболевание. Диагноз «Сепсис» устанавливали при наличии пневмонии и 2 или более SIRS-критериев.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинских проблем Севера (Красноярск). Протокол № 11 от 12.12.2011 г.

### Статистический анализ

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ STATISTICA v. 8.0 (StatSoft Inc., США). Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, определяли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего (m). Оценку достоверности различий средних осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Обработка данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, включала определение медианы (Me) и перцентилей ( $C_{25}$ – $C_{75}$ ). Статистическую значимость различий оценивали с использованием критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным  $p < 0,05$ . Для системного анализа использовали дискриминантный и канонический подход.

## Результаты

### Участники исследования

Участников исследования разделили на 3 группы: 47 больных ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; 54 пациента с ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных ос-



ложений и 125 практически здоровых добровольцев. Возраст больных ММ составил от 43 до 76 (средний возраст  $60,5 \pm 6,8$ ) лет. Из 101 больного ММ мужчин было 39 (39%), женщин — 62 (62%). Возраст мужчин составил от 47 до 73 ( $60,0 \pm 2,3$ ) лет, женщин — от 43 до 76 ( $61,0 \pm 3,7$ ) лет. Статистически значимых различий по полу и возрасту между больными ММ с /без инфекционных осложнений не отмечено ( $p = 0,060$ ). Группа практически здоровых добровольцев была сопоставима по полу и возрасту с группами больных ММ ( $p = 0,057$ ). Группы больных ММ были разделены на подгруппы в зависимости от стадии заболевания (II, III стадии; см. Методы).

У 93 (93,93%) человек обнаружены деструктивные очаги в костях. Статистически значимых различий в сопутствующих заболеваниях между больными ММ на II и III стадии заболевания отмечено не было ( $p = 0,080$ ). При поступлении в гематологическое отделение у 47 (46%) больных развились инфекционные осложнения: у 2 (1,98%) — сепсис при наличии пневмонии и 2 или более SIRS-критериев; у 45 (44,6%) — острая пневмония. У 19 (29,7%) больных ММ на II стадии и у 28 (75,7%) пациентов с ММ III стадии заболевания диагностировали инфекционные осложнения, при этом не обнаружено статистически значимых различий по числу больных сепсисом в данных группах (по одному пациенту в каждой группе;  $p = 0,070$ ).

#### Основные результаты исследования

У 47 (46,5%) больных во время клинического наблюдения развились инфекционные осложнения: у 2 (1,98%) отмечалась генерализованная гнойно-септическая инфекция (сепсис), у 45 (44,6%) — локальные воспалительные заболевания (острая пневмония).

От инфекционных осложнений, несмотря на проводимую антибактериальную терапию, умерли 4 (3,96%) человека. Смертность в группе с инфекционными осложнениями составила 1,88%, в общей группе ММ — 4,04%.

Пациентов, у которых рентгенологически в легких диагностировали воспалительный инфильтрат, и которые имели 3 или более симптомов или признаков воспаления (кашель, отделение мокроты, одышка, боль в грудной клетке или другие признаки, подтверждающие развитие пневмонии аускультативно), относили к группе больных ММ с инфекционными осложнениями (пневмонией).

Только у 30% больных ММ с острыми пневмониями диагноз был подтвержден положительным микробиологическим тестом. Наиболее часто встречающимися изолированными патогенами были *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Не было обнаружено статистически значимых различий по микробиологическим агентам у больных ММ со II и III стадией заболевания ( $p = 0,060$ ).

Также не установлено статистически значимых различий по тяжести острой пневмонии между больными ММ с II и III стадией заболевания (31,5 против 37,5%;  $p = 0,100$ ;  $\geq 3$  по шкале CURB-65). Концентрация C-реактивного белка была выше у пациентов с ММ II стадии, чем у больных с III стадией (183 против 143 мг/л;  $p = 0,045$ ). По содержанию альбумина в крови группы не различались ( $p = 0,050$ ).

Не было статистически значимых различий и в необходимости проведения искусственной вентиляции легких или вазопрессорной поддержки между пациентами со II и III стадией ММ (9,1 против 7,9%;  $p = 0,300$ ).

Смертность от пневмонии за 30 сут наблюдения составила 8,5% (умерли 4 больных ММ), из них доля больных ММ II стадии составила 5,26%, III стадии — 10,7%.

При оценке клеточного звена иммунитета на II стадии ММ с инфекционными осложнениями наблюдали значимое уменьшение относительного и абсолютного числа  $CD3^+$  и  $CD4^+$  клеток ( $p = 0,045$ ), абсолютного числа  $CD16^+$  клеток ( $p = 0,001$ ), относительного числа  $CD8^+$  и  $CD19^+$  клеток ( $p = 0,045$ ), а также статистически значимое уменьшение соотношения  $CD4^+ / CD8^+$  относительно группы больных без инфекционных осложнений ( $p < 0,001$ ). На III стадии ММ с инфекционными осложнениями наблюдали аналогичные изменения, при этом общее число  $CD3^+$  клеток было резко снижено ( $p = 0,001$ ). При оценке гуморального звена иммунитета у больных ММ с инфекционными осложнениями независимо от стадии заболевания статистически значимо увеличивались содержание IgG ( $p = 0,010$ ) и показатель соотношения IgG /  $CD19^+$  ( $p = 0,010$ ), при этом концентрация оставшихся иммуноглобулинов и показатели их относительного синтеза значимо снижались ( $p < 0,050$ ).

При оценке неспецифического звена иммунитета у больных с инфекционными осложнениями на II стадии ММ происходили однонаправленные механизмы активации НГ. Интенсивность хемилюминесценции, площадь кривой, а также индекс активации при спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности статистически значимо повышались ( $p = 0,045$ ). Повышенная индуцированная хемилюминесцентная активность фагоцитов обусловлена их активным участием в противобактериальном и противоопухолевом иммунитете организма. На III стадии ММ происходили разнонаправленные механизмы активации НГ. Интенсивность хемилюминесценции ( $p = 0,045$ ), площадь под кривой ( $p = 0,045$ ), а также индекс активации ( $p = 0,045$ ) при спонтанной и индуцированной хемилюминесценции статистически значимо повышались, при этом параметры индуцированной хемилюминесценции НГ были значимо ниже, чем при спонтанной ( $p = 0,045$ ).

При изучении особенностей цитокиновой регуляции у больных ММ при развитии инфекционных осложнений значимо увеличивалось содержание ФНО  $\alpha$  ( $p < 0,001$ ) и ИЛ 2 ( $p = 0,001$ ), резко снижалась концентрация ИЛ 4 ( $p = 0,001$ ), что позволило выявить дисбаланс цитокинов, преобладание провоспалительных цитокинов над противовоспалительными и нарушение цитокиновой регуляции в виде девиации клеточного иммунного ответа по  $T_{H1}$ -типу.

Установлено, что линейная дискриминантная функция состоит из 6 переменных ( $\lambda$  Уилкса = 0,062;  $p < 0,005$ ). Величины и статистическая достоверность уилксовой и частичной  $\lambda$  представлены в табл. 1.

Из 40 возможных маркеров инфекционных осложнений при ММ с помощью дискриминантного анализа были отобраны 6 наиболее информативных, которые могут использоваться в дальнейшем во врачебной практике. Наиболее значимыми параметрами дискриминантной

Таблица 1. Величины уилксовой и частичной  $\lambda$

Показатели (n = 101)	Уилксова $\lambda$	Частичная $\lambda$
ИЛ 4 (пг/мл) — X1	0,073	0,857
$CD4^+$ абс — X2	0,076	0,827
$CD19^+$ абс — X3	0,072	0,870
ФНО $\alpha$ (пг/мл) — X4	0,074	0,847
ИЛ 2 (пг/мл) — X5	0,081	0,773
IgG (г/л) — X6	0,080	0,784

**Таблица 2.** Величины и статистическая достоверность F-критерия Фишера для иммунологических параметров дискриминантной модели больных множественной миеломой с наличием и без инфекционных осложнений

Показатели (n=101)	p	F-критерий Фишера
ИЛ 4 (пг/мл) — X1	0,027	3,271
CD4+ (абс) — X2	0,0105	4,117
CD19+ (абс) — X3	0,040	2,943
ФНО α (пг/мл) — X4	0,020	3,554
ИЛ 2 (пг/мл) — X5	0,002	5,777
IgG (г/л) — X6	0,002	5,429

модели являются содержание ИЛ 2 и 4, IgG, ФНО α, а также абсолютное число CD4+ и CD19+ клеток. Значения коэффициентов и константы линейных дискриминантных функций представлены в табл. 2.

Полученное уравнение канонической величины для больных ММ с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений имеет следующий вид:

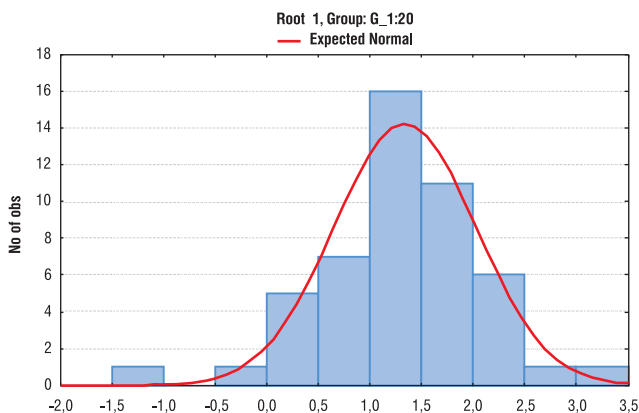
$$\begin{aligned}
 F1 &= -26,58 + 0,01 \times X1 + 0,19 \times X2 - 1,17 \times X3 + 0,15 \times X4 + 0,36 \times X5 - 0,03 \times X6, \\
 F2 &= -29,82 + 0,01 \times X1 + 0,26 \times X2 + 0,01 \times X3 + 0,15 \times X4 + 0,3 \times X5 - 0,025 \times X6, \\
 F3 &= -29,27 + 0,01 \times X1 + 0,27 \times X2 + 0,25 \times X3 + 0,19 \times X4 + 0,2 \times X5 + 0,08 \times X6, \\
 F4 &= -27,53 + 0,01 \times X1 + 0,23 \times X2 + 3,98 \times X3 + 0,08 \times X4 + 0,28 \times X5 + 0,09 \times X6,
 \end{aligned}$$

где X1–X6 — список наиболее информативных составляющих для дискриминации больных ММ с инфекционными осложнениями и таковых (см. табл. 2).

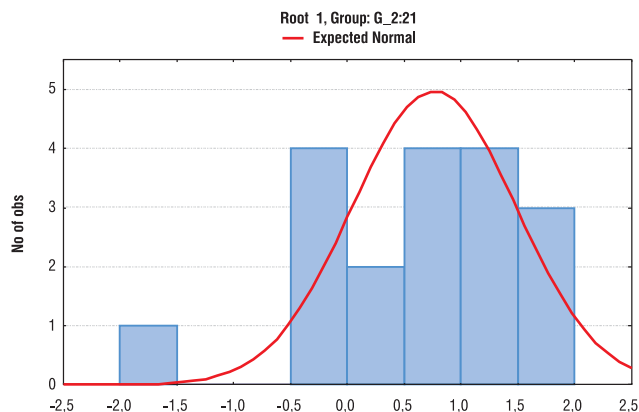
Значения переменных X1–X6 стандартизованы. Больные ММ на II стадии будут относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при  $F2 > F1$ , при  $F1 > F2$  они будут относиться к группе больных ММ на II стадии без инфекционных осложнений. Соответственно, больные ММ на III стадии будут относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при  $F4 > F3$ , а при  $F3 > F4$  — к группе больных ММ на III стадии без инфекционных осложнений.

Расстояние Махаланобиса составило 5,01 ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует о значимом различии между группами.

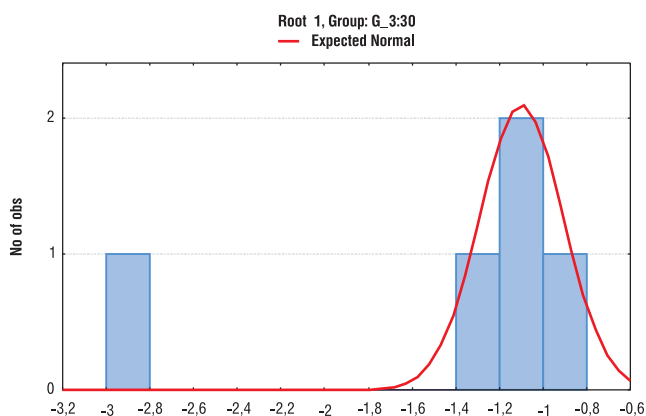
Точность диагностики в среднем имеет достоверность 89,1%.



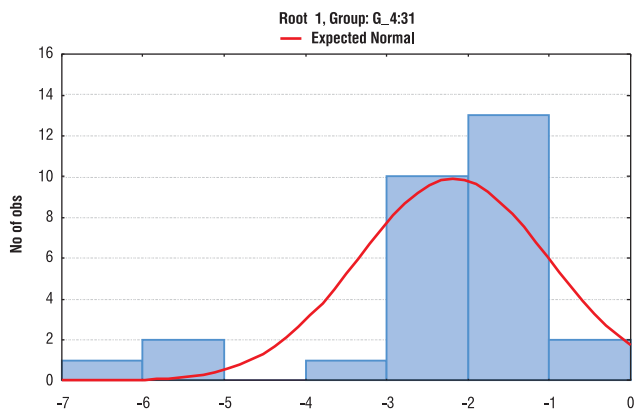
**Рис. 1.** Распределение больных множественной миеломой на II стадии заболевания без инфекционных осложнений по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.



**Рис. 2.** Распределение больных множественной миеломой на II стадии заболевания с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.



**Рис. 3.** Распределение больных множественной миеломой на III стадии заболевания без инфекционных осложнений по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.



**Рис. 4.** Распределение больных множественной миеломой на III стадии заболевания с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.

Уровень значимости  $F(48,244) = 4,638$  ( $p < 0,001$ ) позволяет делать вывод об адекватности построенной модели реальному процессу (рис. 1–4).

Наиболее значимые показатели, выявленные с помощью дискриминантного анализа, у больных ММ с инфекционными осложнениями следующие: содержание ИЛ 2 и 4, IgG, ФНО α, абсолютное число CD4+ и CD19+ клеток (% правильной классификации — 82%). Вывод об адекватности построенной модели реальному процессу исходит из уровня значимости  $F(48,244) = 4,6378$  ( $p < 0,001$ ). Таким образом, мы можем использовать полученные параметры для прогнозирования инфекционных осложнений при ММ.

### Обсуждение

По данным литературы, при гемобластозах имеют место значительные иммунные нарушения [9, 10], и ММ не стала исключением. У больных ММ, особенно при возникновении инфекционных осложнений, наблюдаются значимые изменения в относительном и абсолютном числе зрелых Т лимфоцитов, CD4<sup>+</sup> клеток, естественных киллеров, что свидетельствует о глубоких нарушениях в клеточном звене иммунитета, затрагивающих и врожденный сегмент. Параллельно усугубляются изменения в гуморальном звене, увеличивается содержание патогномоничного иммунохимического варианту ММ иммуноглобулина, при этом содержание оставшихся антител резко уменьшается. При изучении хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов нами обнаружены разнонаправленные нарушения, зависящие от стадии заболевания. Так, если на ранних стадиях ММ активность НГ возрастает, и они осуществляют противоопухолевую деятельность, направленную на деструкцию опухоли, то на последней стадии активность снижается, что не исключает их собственной роли в прогрессировании и распространении онкологического заболевания. Патогенетическая роль цитокинов (ИЛ 6) в прогрессировании ММ доказана многими авторами [17–21]. При возникновении инфекционных осложнений содержание провоспалительных цитокинов (ИЛ 2, ИЛ 8, ФНО α, ИФН γ) преобладает над противовоспалительными (ИЛ 4), при этом отмечается девиация иммунного ответа по T<sub>H1</sub>-типу, а следовательно, особенности цитокиновой регуляции организма направлены на активацию клеточного звена иммунитета.

Возникновение ММ — сложный патогенетический процесс, отражающий взаимодействие организма с опухолью. Несостоятельность противоопухолевой защиты организма зависит от работы всех звеньев, принимающих в этом участие. Дисфункция регуляторного звена иммунной системы усугубляет течение заболевания, вызывая его прогрессирование. Цитокины как регуляторы межклеточных взаимодействий в иммунной системе способствуют активации противоопухолевого иммунного ответа, а также служат связующим звеном между иммунной и другими системами организма [17, 19, 20]. Гуморальная регуляция межклеточных взаимодействий в иммунной системе опосредуется через цитокины, кроме того, многие из них сами по себе являются эффекторами иммунного ответа при опухолевых заболеваниях, воспалительных процессах и т.д. Именно поэтому становится возможным использовать цитокины в качестве показателей, регули-

рующих иммунный ответ, у больных ММ в прогнозировании инфекционных осложнений.

Основным инфекционным осложнением, регистрируемым при ММ, была острая пневмония. Пневмония характеризуется воспалительным поражением легочной ткани в ответ на инфекционный агент с последующим системным и локальным выбросом цитокинов (ФНО α, ИЛ 6, 8 и 1β) и активным вовлечением в воспалительный процесс клеток врожденного иммунитета — НГ [17]. Избыточная продукция цитокинов способствует развитию системной воспалительной реакции с возникновением полиорганной недостаточности и гибелью больного.

### Заключение

Изучены особенности клинических и иммунологических проявлений инфекционных осложнений у больных при множественной миеломе для поиска наиболее информативных показателей в их прогнозировании. Обнаружено развитие комбинированного вторичного Т- и В-клеточного иммунодефицита. Изменения в неспецифическом звене иммунитета зависели от стадии заболевания, обнаруживались однонаправленные нарушения в спонтанной и индуцированной хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов на II стадии заболевания и разнонаправленные — на III стадии. Установлены преобладание содержания провоспалительных цитокинов над противовоспалительными и девиация иммунного ответа по T<sub>H1</sub>-типу. Совокупность 6 информативных показателей у больных множественной миеломой на разных стадиях заболевания с инфекционными осложнениями и без них (концентрация ИЛ 2, 4, IgG, ФНО α, абсолютное число CD4<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup> клеток) имеет практическую значимость и дает возможность разработки способа прогнозирования инфекционных осложнений.

539

### Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке НИИ медицинских проблем Севера.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Вотякова О.М. Множественная миелома. Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М. 2007. С. 847–871.
2. Богданов А.Н., Мазуров В.И. Клиническая гематология. СПб.: Фолиант. 2008. 484 с.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2006; 17 (19 Прил. 1): 19–21.
4. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. СПб.: Диалект. 2004. 446 с.
5. Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Григоренко А.А., Савинова Т.А., Ландышев С.Ю., Горячева С.А., Мишук В.П. Особенности диагностики и лечения пневмонии у больных множественной миеломой. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013; 50: 23–29.
6. Голенков А.К., Шабалин В.Н. Множественная миелома. СПб.: Гиппократ. 1995. 144 с.
7. Круглова Ю.Д. Трудности диагностики множественной миеломы. Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013; 3 (30): 764.
8. Манчук В.Т., Смирнова О.В. Особенности прогнозирования возникновения инфекционных осложнений после проведения химиотерапии у больных острыми лейкозами. Медицинская иммунология. 2012; 14 (4–5): 403–408.
9. Смирнова О.В. Хронический миелолейкоз: клинические и иммунологические особенности у взрослых больных. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. 2012; 3–2: 185–189.
10. Smirnova O.V., Manchouk V.T., Savchenko A.A. Immune status & enzymes activity in blood lymphocytes in adult patients at different

- stages of acute lymphoblastic leukaemia. *Indian J. Med. Res.* 2011; 133 (3): 280–286.
11. Faix J.D. Biomarkers of sepsis. *Crit. Rev Clin Lab Sci.* 2013; 50 (1): 23–36.
  12. Земсков А.М., Караулов А.В., Земсков В.М. Комбинированная иммунокоррекция. М.: Наука. 1994. 260 с.
  13. De Sole P., Lippa S., Lixharru G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to assess oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.* 1983; 3: 391–400.
  14. Durie V.G., Harousseau J.L., Miguel J.S., Blade J., Barlogie B., Anderson K. et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006; 20: 1467–1473.
  15. Коды МКБ-10, электронная версия. URL: [www.mkb10.ru](http://www.mkb10.ru) (дата обращения к источнику: 26.10.2015 г.).
  16. British Thoracic Society Guidelines. *Thorax.* 2003; 58 (Suppl. II): 794.
  17. Кадагидзе З.Р. Цитокины. *Практическая онкология.* 2003; 4 (3): 2–9.
  18. Ševčíková S., Kubiczková L., Sedlářková L., Říhová L., Kryukov F., Szturz P., Hájek R. Cytokine profiles of multiple myeloma and Waldenström macroglobulinemia. *Klin. Onkol.* 2014; 27 (1): 18–23.
  19. Zheng M.M., Zhang Z., Belch A. R., Shively J.E., Pilarski L.M., Kirshner J. The systemic cytokine environment is permanently altered in multiple myeloma. *PLoS One.* 2013; 8 (3): 12–16.
  20. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. М.: Фолиант. 2008. 552 с.
  21. Росси Ж.Ф. Интерлейкин-6 как терапевтическая мишень при иммунопатологии и онкологических заболеваниях. *Иммунология гемопоза.* 2012; 10 (2): 8–34.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Смирнова Ольга Валентиновна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: [ovsmirnova71@mail.ru](mailto:ovsmirnova71@mail.ru)

**Манчук Валерий Тимофеевич**, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, научный руководитель НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: [man417@rambler.ru](mailto:man417@rambler.ru)

**Агилова Юлия Николаевна**, младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: [a\\_yulya@inbox.ru](mailto:a_yulya@inbox.ru)