

ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Сенькина Е.А., Зайцева Г.А., Загоскина Т.П.,
Градобоева Т.Г.

ФГУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Росмедтехнологий», г. Киров

Резюме. Исследованы показатели клеточного и гуморального иммунитета у 45 больных множественной миеломой до применения химиотерапии. Установлено, что в общей группе больных нарушено соотношение Т- и В-лимфоцитов за счет увеличения количества CD3-лимфоцитов при уменьшении CD20-клеток, снижены количество HLA-DR лимфоцитов, процент фагоцитирующих нейтрофилов, уровень IgM и титр комплемента, увеличено число CD8-клеток, повышена активность сывороточного лизоцима и β -лизинов. Иммунные нарушения оказались менее выраженными у больных с I стадией заболевания и при варианте Бенс-Джонса. Высокодозная химиотерапия способствовала усугублению нарушений, прежде всего, Т-звена иммунитета. Полученные данные свидетельствуют о необходимости регулярного иммунологического мониторинга больных миеломой с целью индивидуального подхода к назначению иммунокорректирующей терапии.

Ключевые слова: множественная миелома, иммунологические показатели.

Senkina E.A., Zaitseva G.A., Zagoskina T.P., Gradoboeva T.G.

IMMUNE DISTURBANCES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

Abstract. A study of cell and humoral immune indices was carried out in forty-five pre-treated patients with multiple myeloma. Imbalance in T:B lymphocyte ratio was revealed, due to increased CD3⁺ cells and decreased CD20⁺ cell levels. Accordingly, lowered levels of HLA-DR-lymphocytes, high CD8 cell scores, low percentages of phagocytizing neutrophils, decreased IgM and complement titers, increased serum lysozyme and β -lysine activities were observed. Immune disorders in the patients with II and III stage disease were much more frequent, as compared to stage I, and they depended on immune variant of myeloma. Minimal immune defects were noted in cases with Bence Jones variant. High-dose chemotherapy resulted into more expressed immune disorders, mainly, altered T-cell immunity. These data are indicative for a necessity of a regular immunological monitoring, aiming for administration of immunocorrective therapy. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 6, pp 571-576)

Введение

Множественная миелома (ММ) — наиболее часто встречающаяся опухоль из группы иммуноглобулинсекретирующих лимфом, имеет многовариантный характер течения, отражаю-

щий особенности поражения костного мозга, костей, а также специфику продукции опухолевыми клетками моноклональных иммуноглобулинов и их фрагментов [1]. Не вызывает сомнения и факт, что заболевание протекает на фоне вторичной иммунной недостаточности, клиническим проявлением которой является подверженность больных ММ смешанным инфекциям [7]. Способствующими факторами служат активация эндогенной инфекции, расширение входных ворот вследствие повреждения кожи,

Адрес для переписки:

Сенькина Елена Александровна,
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72.
Тел.: (8332) 54-51-83.
Факс: (8332) 54-97-31.
E-mail: immunlab@yandex.ru

слизистых оболочек, длительной катетеризации центральных вен [2]. Лабораторными показателями, подтверждающими наличие у больных иммунодефицита, являются снижение содержания CD4-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) [6], угнетение фагоцитарной функции нейтрофилов, нарушение продукции цитокинов [4], снижение синтеза нормальных иммуноглобулинов [1]. Приводятся данные о большей сохранности клеточного звена иммунитета при миеломе Бенс-Джонса, по сравнению с IgG и IgA миеломой [4], а также об отсутствии дефицита гуморального звена иммунитета у 38,1% больных в дебюте заболевания с вариантом IgA, тогда как при IgG-миеломе он выявлялся у 85,7% пациентов [5].

Цель настоящей работы заключалась в оценке комплекса иммунологических показателей у больных ММ с учетом стадии и иммунохимического варианта заболевания, проводимой терапии.

Материалы и методы

Иммунологические показатели исследованы у 45 больных ММ в возрасте от 36 до 86 лет (медиана 58 лет) до назначения химиотерапии, из них 22 пациента были обследованы после лечения. Диагноз ММ ставился на основании общепринятых критериев: при наличии более 10% плазматических клеток в костном мозге, остеопороза и/или остеодеструкции в костях скелета, а также моноклонального белка в сыворотке крови или моче. Вариант IgG диагностирован у 27 пациентов, IgA – у 12, Бенс-Джонса – у 6. Распределение больных по стадиям Durie-Salmon было следующим: с I стадией – 9 человек, со II – 17, с III – 19 соответственно.

Иммунологическое тестирование включало комплекс показателей: подсчет количества лейкоцитов и лимфоцитов в венозной крови, определение относительного и абсолютного содержания CD3, CD20, CD4, CD8, CD16, CD56, HLA-DR лимфоцитов методом непрямой иммунофлуоресценции с подсчетом клеток на флуоресцентном микроскопе, меченных моноклональными антителами («Сорбент», г. Подольск). Исследовали фагоцитарную активность нейтрофилов: процент фагоцитирующих клеток (ФАН) и количество частиц латекса, поглощенных одним фагоцитом, или фагоцитарный индекс (ФИ); способность нейтрофилов к кислородзависимому киллингу – по результатам спонтанного НСТ-теста, подсчитывая процент клеток

с гранулами диформаза. Оценивали уровень сывороточных иммуноглобулинов (Ig) классов А, G, М методом радиальной иммунодиффузии; общий титр сывороточного комплемента – по 50% гемолизу эритроцитов барана; активность лизоцима и бета-лизинов в сыворотке крови – с помощью ускоренной фотонейтриметрии, определяя степень лизиса взвеси суточных культур *M. lizodeithicus* и *B. subtilis*.

Для сравнения служили иммунологические параметры 200 здоровых лиц – первичных доноров, прошедших медицинское освидетельствование в соответствии с действующими инструкциями.

При статистической обработке результатов применяли программы MS Excel, «Biostat», «Statistica 6.0» (StatSoft, Inc.). Статистическую значимость различий устанавливали, используя t-критерий Стьюдента для независимых и зависимых (при повторном исследовании показателей иммунитета после лечения) выборок. Различия считались достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе иммунологических показателей в общей группе больных ММ были получены достоверные различия со здоровыми (табл. 1). В частности, зарегистрировано увеличение абсолютного количества CD3-лимфоцитов за счет повышения содержания субпопуляции CD8-клеток. При этом уровень CD20-лимфоцитов был снижен. Отмечалось уменьшение количества активированных HLA-DR лимфоцитов и тенденция к снижению содержания CD16 NK-клеток. Наряду с этим констатировали уменьшение числа фагоцитирующих нейтрофилов, хотя количество фагоцитируемых ими частиц не изменялось. Уровень нормальных иммуноглобулинов класса М был достоверно ниже нормы. Наблюдалось повышение активности факторов неспецифической гуморальной резистентности (бета-лизинов и лизоцима), что, по-видимому, имело компенсаторный характер.

При сравнении иммунологических показателей у пациентов с различными стадиями ММ, статистически значимые различия были получены в основном по содержанию гуморальных факторов иммунной защиты. Хотя концентрация нормальных IgM в крови больных ММ снижена во всех стадиях заболевания ($p < 0,001$), у больных с III стадией снижение было более выраженным, чем у больных с I стадией ММ ($p < 0,05$). В то же время уровень лизоцима у больных

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОБЩЕЙ ГРУППЕ БОЛЬНЫХ ММ И В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ (M±m)

Иммунологические показатели	Группы обследованных				
	Здоровые (n = 200)	Больные ММ			
		общая группа (n = 45)	I стадия (n = 9)	II стадия (n = 17)	III стадия (n = 19)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,0±2,0	5,9±0,3	5,7±0,4	5,8±0,4	6,0±0,4
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,6±0,12	1,8±0,11	1,8±0,28	2,0±0,16	1,7±0,19
CD3, 10 ⁹ /л	1,04±0,074	1,43±0,089**	1,54±0,241*	1,47±0,136**	1,34±0,136*
CD20, 10 ⁹ /л	0,17±0,020	0,11±0,012*	0,12±0,034	0,11±0,020	0,10±0,016*
CD4, 10 ⁹ /л	0,62±0,042	0,66±0,050	0,79±0,117	0,63±0,079	0,61±0,079
CD8, 10 ⁹ /л	0,34±0,028	0,46±0,041*	0,52±0,126*	0,43±0,061	0,44±0,057
CD4/CD8	1,8±0,08	1,7±0,15	1,9±0,45	1,8±0,27	1,6±0,18
NK, CD16, 10 ⁹ /л	0,37±0,050	0,27±0,034	0,22±0,071	0,31±0,047	0,26±0,060
HLA-DR, 10 ⁹ /л	0,33±0,023	0,25±0,021*	0,24±0,064	0,23±0,026*	0,26±0,033
T-NK, CD56, 10 ⁹ /л	0,20±0,034	0,12±0,018	0,14±0,066	0,08±0,016	0,15±0,026
ФАН, %	79,0±1,3	43,8±3,8***	53,4±8,7***	45,1±5,3***	38,1±6,4***
ФИ	8,0±0,2	8,6±0,3	9,6±0,78*	8,6±0,36	8,1±0,52
НСТ, %	12,2±1,2	11,7±1,5	15,8±4,7	10,2±1,8	11,1±2,12
Комплемент, у.е.	5,5±0,50	3,5±0,23	3,3±0,60	3,5±0,36	3,6±0,34
IgM, г/л	1,6±0,04	0,51±0,06***	0,64±0,14***	0,58±0,12***	0,38±0,03***
β-лизины, %	21,9±0,89	32,4±1,35***	33,0±4,10*	31,5±1,98**	32,8±1,97***
Лизоцим, мкг/л	6,5±0,08	8,1±0,34***	6,7±0,56	8,0±0,59***	8,9±0,48***

Примечание. Различия с нормой достоверны при: * – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001.

Жирным шрифтом отмечены значимые различия I и III стадий. Результаты исследования IgG, IgA не приведены в таблице из-за большого разброса вследствие продукции моноклонального парапротеина.

с III стадией ММ превышал как показатели в группе контроля, так и в группе пациентов с I стадией (p < 0,05). Отмечалась явная тенденция к снижению содержания CD4-лимфоцитов и значения ФАН у больных с III стадией по сравнению с больными с I стадией. Как показали проведенные нами ранее исследования [3], угнетение фагоцитарной функции нейтрофилов и снижение титра сывороточного комплемента способствуют развитию инфекционных осложнений у больных ММ. Снижение содержания CD4-лимфоцитов также является значимым иммуноло-

гическим нарушением при ММ. Считается, что исходно высокий уровень CD4- и CD20-клеток обуславливает лучшую выживаемость больных и свидетельствует о меньшей поврежденности иммунной системы [6].

Минимальное число статистически значимых различий объясняется, на наш взгляд, выраженной вариацией показателей у больных и небольшой численностью групп. Тем не менее при внимательном рассмотрении удалось установить, что частота отклонений иммунологических показателей от нормы среди больных

ТАБЛИЦА 2. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ММ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИММУНОХИМИЧЕСКОГО ВАРИАНТА ЗАБОЛЕВАНИЯ (M±m)

Иммунологические показатели	Группы обследованных			
	Здоровые (n = 200)	Больные с разными вариантами ММ		
		IgG (n = 27)	IgA (n = 12)	Бенс-Джонса (n = 6)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,0±2,0	5,9±0,3	5,5±0,5	6,6±0,7
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,6±0,12	1,9±0,16	1,6±0,18	2,2±0,20
CD3, 10 ⁹ /л	1,04±0,074	1,49±0,129**	1,26±0,158	1,49±0,123
CD20, 10 ⁹ /л	0,17±0,020	0,10±0,013*	0,10±0,018	0,17±0,054
CD4, 10 ⁹ /л	0,62±0,042	0,71±0,069	0,57±0,101	0,56±0,065
CD8, 10 ⁹ /л	0,34±0,028	0,46±0,060*	0,43±0,070	0,48±0,060
CD4/CD8	1,8±0,08	1,9±0,21	1,6±0,33	1,2±0,16*
NK, CD16, 10 ⁹ /л	0,37±0,050	0,28±0,050	0,23±0,047	0,34±0,064
HLA-DR, 10 ⁹ /л	0,33±0,023	0,25±0,030*	0,21±0,027*	0,30±0,056
T-NK, CD56, 10 ⁹ /л	0,20±0,034	0,12±0,024	0,13±0,030	0,12±0,066
ФАН, %	79,0±1,3	41,2±4,4***	40,3±8,5***	62,3±9,7*
ФИ	8,0±0,2	8,7±0,35	7,9±0,67	9,7±0,86*
НСТ, %	12,2±1,2	10,2±1,6	9,7±2,0	22,7±5,90*
Комплемент, у.е.	5,5±0,50	3,1±0,33	4,2±0,27	4,3±0,21
IgM, г/л	1,6±0,04	0,61±0,086***	0,37±0,048***	0,35±0,061***
β-лизины, %	21,9±0,89	31,0±1,78***	36,0±2,83***	31,2±2,09
Лизоцим, мкг/л	6,5±0,08	7,7±0,41***	8,6±0,63***	8,9±1,17***

Примечание. Различия с нормой достоверны при * – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001.

с III стадией ММ превышала таковую в других группах обследованных. В частности, лимфопения отмечалась у 11,1% больных с I стадией, у 11,8% – II, и у 21,1% – III; снижение количества CD20-лимфоцитов более чем на 33% от нормы наблюдалось у 55,6% больных с I стадией, у 64,7% – II стадией и у 68,4% – III стадией. Аналогично снижение числа CD4-лимфоцитов (более 33% от нормы) было зарегистрировано у 11,1% больных с I стадией, 29,4% – II стадией и 31,6% – III стадией. Количество больных со снижением активности фагоцитарной реакции тоже возрастало в зависимости от стадии:

от 44,4% в I стадии, до 58,8% – во II стадии и 68,4% – в III стадии.

Проанализированы результаты иммунологического тестирования больных с разными иммунохимическими вариантами ММ (IgG, IgA, Бенс-Джонса). Так, наибольшее число иммунологических нарушений сопровождало IgG и IgA варианты ММ (нарушение соотношения T- и B-лимфоцитов в результате увеличения содержания CD3 и снижения числа CD20-клеток, повышение количества CD8-лимфоцитов, снижение процента HLA-DR клеток и значения ФАН, ослабление комплементарной активности сыворотки крови, снижение уровня IgM),

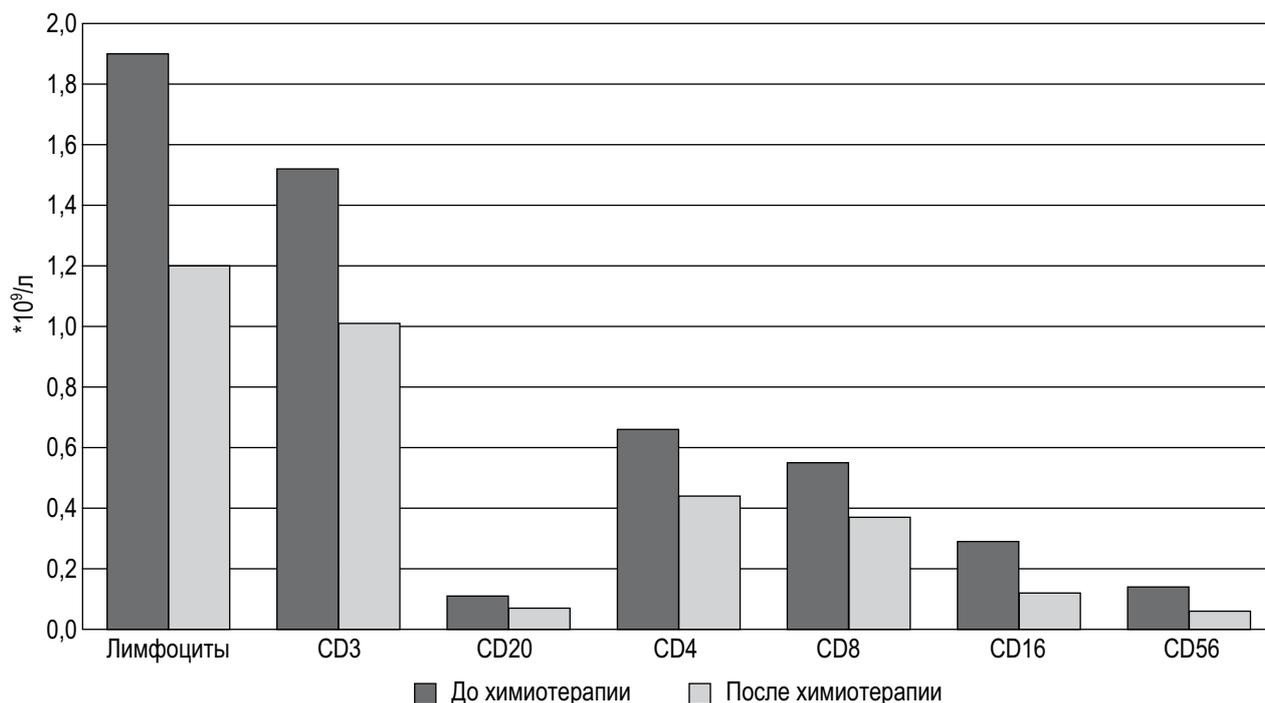


Рисунок 1. Динамика некоторых иммунологических показателей у больных ММ после проведения химиотерапии ($p < 0,05$)

по сравнению с вариантом Бенс-Джонса (табл. 2). При этом отклонения иммунологических показателей чаще регистрировались в группе больных IgG ММ, хотя по данным литературы [5], IgA миелома отличается более агрессивным течением, чем IgG-вариант.

Проведение химиотерапии приводило к снижению содержания общих лимфоцитов, CD3-, CD20-, CD4-, CD16- и CD56-клеток, т.е. нарушения Т-звена иммунитета становились более выраженными (рис. 1). Это согласуется с данными Кау N. и соавт. [8] о том, что химиотерапия у больных миеломой приводит к снижению Т-клеток и активированных, и наивных.

Нужно отметить выраженные индивидуальные колебания иммунологических показателей у больных. Так, количество CD20-клеток варьировало от 1 до 18% (абсолютное содержание – $0,01-0,34 \times 10^9/\text{л}$), CD4 – 23-60% (абсолютное содержание – $0,14-1,37 \times 10^9/\text{л}$), ИРИ (CD4/CD8) – 0,45-5,1; ФАН – 5-91%, уровень IgM – 0,18-2,3 г/л.

Таким образом, иммунологические нарушения у больных ММ затрагивают различные звенья защиты, отражая как наличие иммунной недостаточности, так и особенности индивидуального ответа на опухолевый рост. Зависимость подобных нарушений от клинического варианта

миеломы диктует необходимость оценки иммунного статуса больных на всех этапах патологического процесса, что поможет в выборе иммунокорректирующих препаратов.

Список литературы

1. Андреева Н.Е. Диагностика и лечение множественной миеломы. – М.: Российская медицинская академия последиplomного образования, 2001. – 28 с.
2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. – СПб.: Диалект, 2004. – 448 с.
3. Сенькина Е.А., Зайцева Г.А., Загоскина Т.П., Градобоева Т.Г., Криницына Е.Е. Иммунологические показатели у больных множественной миеломой с инфекционными осложнениями // Вестн. гематол. – 2007. – № 3. – С. 41-44.
4. Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В., Глазанова Т.В., Бубнова Л.Н., Лубо-Лесниченко И.Ф., Розанова О.Е., Губаренко Н.К., Блинов М.Н. Критерии прогноза течения и эффективности лечения множественной миеломы. – СПб., 1999. – 44 с.
5. Римащевская Е.В. Множественная миелома с секрецией IgA (особенности иммунохимической диагностики, клиники, прогноза и ответа

на терапию): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 38 с.

6. Kay N., Leong T., Bone N., Vessole D., Greipp P., Van Ness B., Oken M., Kyle R. Blood levels of immune cells predict survival in myeloma patients: results of an Eastern Cooperative Oncology Group phase 3 trial for newly diagnosed multiple myeloma patients // *Blood*. – 2001. – Vol. 98. – № 1. – P. 23-28.

7. Pratt G., Goodyear O., Moss P. Immuno-deficiency and immunotherapy in multiple

myeloma // *Br. J. Haematol.* – 2007. – Vol. 138. – № 5. – P. 563-579.

8. Kay N., Leong T., Bone N., Kyle R., Greipp P., Van Ness B., Oken M. T-helper phenotypes in the blood of myeloma patients on ECOG phase III trials E9486/E3A93 // *Br. J. Haematol.* – 1998. – Vol. 100, N 3. – P. 459-463.

поступила в редакцию 02.03.2009

отправлена на доработку 09.03.2009

принята к печати 18.06.2009