

УДК 612.017.1:616-006.448

РОЛЬ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ МИЕЛОМНОЙ БОЛЕЗНИ

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

ФГБУ «НИИ медицинских Проблем Севера» СО РАМН, г. Красноярск, ovsmirnova71@mail.ru

Авторами изучена роль неспецифического иммунитета при прогрессировании миеломной болезни. С помощью проведенных исследований выявили, что развитие миеломной болезни в организме человека сопровождается изменением функциональных свойств периферических нейтрофильных гранулоцитов. По мере прогрессирования заболевания наблюдается увеличение спонтанной продукции АФК нейтрофилами, так показатели спонтанной продукции АФК у больных миеломной болезни на II и III стадии достоверно выше показателей контрольной группы. Индуцируемая продукция АФК нейтрофилами повышается во всех исследуемых группах, относительно спонтанной продукции и контрольных параметров, что доказывает роль нейтрофильных гранулоцитов, не только как клеток первой линии неспецифической противомикробной защиты, но и как цитотоксических эффекторов на опухолевые клетки.

Ключевые слова: миеломная болезнь, нейтрофильные гранулоциты, хемилюминесценция.

ROLE NONSPECIFIC IMMUNITY IN THE PROGRESSION OF MYELOMA DISEASE

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

FSBI «SRI Medical Problems of the North» RAMS, Krasnoyarsk

The authors studied the role of nonspecific immunity in the progression of multiple myeloma. With the help of the research revealed that the development of multiple myeloma in humans is accompanied by a change in the functional properties of peripheral neutrophils. As the disease progresses, an increase of spontaneous AFO production by neutrophils, as indices of spontaneous AFO production in patients with multiple myeloma at stage II and III significantly higher than the control group. Induced AFO production by neutrophils increased in all groups, with respect to the spontaneous production and control parameters, which proves the role of neutrophils, as the first line of nonspecific antimicrobial protection, but also as cytotoxic effectors against tumor cells

Keywords: multiple myeloma, neutrophilic granulocytes, chemiluminescence.

Введение

Миеломная болезнь (МБ) – злокачественный В-лимфопрлиферативный гемобластоз. По классификации REAL, миелома относится к лимфоидным опухолям низкой степени злокачественности. Частота встречаемости МБ среди всех злокачественных новообразований составляет 1 %, а в структуре гемобластозов – до 20 %. Ежегодно в Европейских странах регистрируются четыре новых случая на 100 000 населения. МБ до настоящего времени остается неизлечимым заболеванием и известна как болезнь пожилого возраста [1,2,3].

Согласно иммунохимической классификации выделяют 5 форм МБ в зависимости от продуцируемого иммуноглобулина: G, A, D, E, а также несекретирующая миелома, при которой иммуноглобулины не выделяются. Частота распределения нормальных иммунологических типов МБ соответствует концентрации нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови: G-миелома обнаруживается в 50 % случаев, А-миелома – в 25 %, D-миелома – в 1 %, М-миелома и несекретирующая форма встречаются очень редко.

В патогенезе ММ G-варианта наблюдается бесконтрольный синтез моноклонального парапротеина класса IgG, который инфильтрирует красный костный мозг, костную ткань, почки, формируя клиническую картину распространённого заболевания [2].

Причины, способствующие развитию МБ, на сегодняшний день так и остаются неизвестными. До настоящего времени предложено множество теорий о превращении нормальных клеток в опухолевые. Одним из факторов, обуславливающим развитие онкологического заболевания, является снижение реактивности иммунной системы. Иммунодефицитное состояние организма определяет развитие злокачественной опухоли, при этом сама опухоль способствует развитию и пролонгации иммунной супрессии. Нейтрофильные гранулоциты занимают одну из наиболее важных позиций в гуморально-клеточном иммунитете. С одной стороны, являясь клетками первой линии неспецифической противомикробной защиты, активно участвуют в воспалении, являясь не только фагоцитами, но и эффекторами каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления, обладают цитотоксическим действием на опухолевые клетки, способствуя противоопухолевой резистентности организма. Особенности функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов влияют на иммунологическую защиту организма в целом. При острых и хронических гемобластозах наблюдаются нарушения в системе клеточно-гуморального иммунитета [4,5,6,7,8,9], способствующие возникновению и развитию инфекционных осложнений. При МБ инфекционные осложнения встречаются у большинства больных, в ряде случаев становятся причиной гибели пациентов. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение особенностей функциональной (хемилюминесцентной) активности нейтрофильных гранулоцитов крови больных МБG-варианта, в зависимости от стадии развития заболевания.

Материал и методы

В группу изучения были включены 100 больных МБ G-вариантом, поступившие в гематологическое отделение Краевой клинической больницы № 1 г. Красноярска. В качестве контрольной группы обследовано 100 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с изучаемой группой. Обследование больных и практически здоровых лиц проводилось с разрешения этического комитета ФГБУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, при этом каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование.

Больных МБ разграничивали по стадиям заболевания, согласно системы стадирования Durie-Salmon. Данная классификация основана на линейной зависимости между содержанием М-белка и клеточной опухолевой массой у больных. При этом у больных МБ на I стадии наблюдался низкий уровень продукции М-протеина: IgG менее 50 г/л, IgA менее

30 г/л, IgU (протеинурия Бенс-Джонса) менее 4 г/сут, на II стадии – промежуточные показатели между стадиями I и III, на III стадии – уровень М-протеина: IgG – более 70 г/л, IgA – более 50 г/л, IgU – более 12 г/сут.

Среди 100 обследованных больных ММ – мужчин 38 %, женщин 62 %. Средний возраст мужчин составлял – 60 лет \pm 2,3 года (от 47 до 73 лет), женщин – 61 год \pm 3,7 года (от 43 до 76 лет). У 85 % человек регистрировались те или иные инфекционные осложнения при поступлении.

Всем больным венозная кровь бралась утром, натощак, из локтевой вены, в пробирки с гепарином, при поступлении в стационар, до назначения патогенетической терапии.

В качестве метода изучения использовался хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции активных форм кислорода (АФК) нейтрофильными гранулоцитами больных МБ в зависимости от стадии заболевания (Desole p.et al.; 1983). Оценка спонтанной и индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе “CL 3606” (Россия). Регистрация результатов и управление анализатором осуществлялись через персональный компьютер. Определялись следующие характеристики: время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции (T_{max}), максимальное значение интенсивности хемилюминесценции (I_{max}), площадь кривой хемилюминесценции (S). В качестве усилителя хемилюминесценции использовали люминол. Индуктором респираторного взрыва служил опсонизированный зимозан. Усиление хемилюминесценции, индуцированной опсонизированным зимозаном, оценивали по соотношению площади индуцированной ($S_{инд}$) к площади спонтанной ($S_{спонт}$) хемилюминесценции и обозначали индексом активации. По результатам проведенных исследований в пакете электронных таблиц MSExcel была сформирована база данных, на основе которой с помощью прикладных программ Statistica 8,0 производился статистический анализ. Вычислялись медиана (Me) и перцентили (C_{25} - C_{75}). Статистическая достоверность выборок производили с помощью критериев Манна – Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [5]. Результаты статистической обработки сведены в таблице № 1.

Результаты и их обсуждение

Люминол-зависимая хемилюминесценция формируется в системе миелопероксидазы и отражает суммарную активность кислородных и других радикалов.

Хемилюминесцентный анализ функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов показал, что на II и III стадии у больных МБ отмечается увеличение интенсивности хемилюминесценции приблизительно в 3,01 раза на II стадии и в 3,43 раза при III стадии заболевания, по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица № 1

Показатели активности нейтрофильных гранулоцитов у больных МБ в зависимости от стадии заболевания

Показатели	Контроль, N=100 (1)		Стадия II, N=65 (2)		Стадия III, N=35 (3)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Tmax спонтанная (с)	975	211-1510	884	564-1366	752	444-1374
I _{max} спонтанная	7720	3000-19000	23270	7630-53232	26500	1572-51480
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,021	
S _{qig} спонтанная(*10 ⁶)	0,22	0,15-0,54	3,2	0,37-6,1	2,3	0,14-3,7
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
Tmax индуцированная (с)	1102,5	872-1800	1060	733-1819	1020	769-1407
I _{max} индуцированная	17270	8000-42840	56584	23973-99928	49312	915-102201
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
S _{qig} индуцированная (*10 ⁶)	0,4	0,15-0,95	7,17	1,2-10,6	5,4	0,11-8,09
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,003	
Индекс активации	1,3	0,9-2,0	2	3 - 1	2	1,2 - 2
			p ₁ <0,007			

Примечание: Примечание: p₁ – статистически достоверные различия с величиной контрольных показателей; p₂ – с величиной показателей больных МБ на II стадии.

Площадь кривой спонтанной хемилюминесценции у больных МБ увеличивалась в 14,54 раза на II стадии и в 10,45 раза на III стадии, относительно контроля. При этом не было достоверных изменений в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов на II и III стадии заболевания. Особенности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при МБ, вероятно, обусловлены наличием злокачественного онкологического заболевания и инфекционными осложнениями, которые регистрировались у большинства больных.

После индукции хемилюминесцентного ответа опсонизированным зимозаном у больных МБ отмечалось увеличение интенсивности хемилюминесценции в 3,28 раз на II стадии, в 2,85 раз на III стадии относительно контроля, при этом в сравнении со спонтанной хемилюминесценцией регистрировалось усиление «свечения» в 2,43 раз на II стадии и в 1,86 раз на III стадии. Площадь кривой индуцированной хемилюминесценции увеличивалась в 17,95 раза на II стадии и в 13,5 раза на III стадии, по сравнению с контрольной группой. При этом в сравнении со спонтанной хемилюминесценцией площадь кривой индуцированной хемилюминесценции увеличивалась в 2,24 раз на II стадии и в 2,34 раз на III стадии.

Индекс активации у больных МБ на II стадии заболевания увеличивался в 1,54 раза относительно контрольной группы, что свидетельствует о несбалансированной работе нейтрофильных гранулоцитов.

Тем не менее хемилюминесцентный анализ функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов, характеризующий уровень продукции первичных и вторичных АФК у больных МБ, не показал достоверного изменения времени выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции на II и III стадии заболевания, относительно контроля.

Таким образом, на II стадии заболевания достоверно повышались показатели времени выхода кривой на максимум интенсивности и площади кривой при спонтанной и индуцированной хемилюминесценции, и индекс активации, по сравнению с контролем.

На III стадии заболевания выявляемые изменения были аналогичны, за исключением особенностей индекса активации.

Заключение. Проведенные исследования показали, что развитие МБ в организме человека сопровождается изменением функциональных свойств периферических нейтрофильных гранулоцитов. По мере прогрессирования заболевания наблюдается увеличение спонтанной продукции АФК нейтрофилами, так показатели спонтанной продукции АФК у больных МБ на II и III стадии достоверно выше показателей контрольной группы. Индуцируемая продукция АФК нейтрофилами повышается во всех исследуемых группах, относительно спонтанной продукции, и контрольных параметров, что доказывает роль нейтрофильных гранулоцитов, не только как клеток первой линии неспецифической противомикробной защиты, но и как цитотоксических эффекторов на опухолевые клетки.

Список литературы

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. – Невский Диалект, 2004. – 448 с.
2. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. – М.: Медицина, 2001. – 576 с.
3. Воробьев, А.И. Руководство по гематологии. – М.: Ньюдиамед, 2003. – Т.2. – 280 с.
4. Смирнова О.В. Хронический миелолейкоз – клинические и иммунологические особенности у взрослых больных // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2012. – № 3-2. – С. 185-189.
5. Манчук В.Т., Смирнова О.В. Особенности прогнозирования возникновения инфекционных осложнений после проведения химиотерапии у больных острыми лейкозами // Медицинская иммунология. – 2012. – Т.14, № 4-5. – С. 403-408.
6. Манчук В.Т., Смирнова О.В. Использование методов нейросетевого моделирования и дискриминантного анализа для оценки состояния иммунного статуса у больных острым нелимфобластным лейкозом // Якутский медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 77-79.

7. Савченко А.А., Смирнова О.В., Манчук В.Т., Москов В.И. Способ прогнозирования инфекционных осложнений после химиотерапии у больных острыми лейкозами. – Патент на изобретение RUS 2315305, 08.11.2005.
8. Савченко А.А., Смирнова О.В., Манчук В.Т., Москов В.И. Способ прогнозирования геморрагических осложнений после химиотерапии у больных острыми лейкозами. – Патент на изобретение RUS2324190, 15.02.2006.
9. 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 Journal of Medical Research. – 2011. – Т.133, № 3. – pp. 280-286.

Рецензенты:

Зайцева О.И., д.м.н., руководитель лаборатории клинической мембранологии и иммунохимических исследований, НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск.

Игнатова И.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии и аллергологии, НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск.