

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В КРОВИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ СЕЛЕКТИВНОГО ПЛАЗМООБМЕНА

Зудерман Н.Е.¹, Горошинская И.А.¹, Шихлярова А.И.¹, Франциянц Е.М.¹,
Немашкалова Л.А.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: iagor17@mail.ru

При относительно невысокой заболеваемости, составляющей в Российской Федерации 2–3 заболевших на 100 тыс. населения (в 2018 г. – 2,86), летальность при множественной миеломе приближается к 1% от всех умерших от онкологической патологии. Это обуславливает необходимость совершенствования методов лечения данной патологии. Нами сопоставлены биохимические и морфологические изменения в крови больных множественной миеломой при включении в схему лечения селективного плазмообмена с применением новой технологии плазмосепарации «Eсvalio™». Обследованы 25 пациентов (17 мужчин и 8 женщин) с впервые выявленной секретирующей множественной миеломой до начала лечения и после 1 курса химиотерапевтического лечения по стандартной схеме VCD с предшествующим селективным плазмообменом. Были изучены показатели эндогенной интоксикации, свободнорадикального окисления и морфологическая картина твердотельных образцов плазмы крови, полученная методами клиновидной и краевой дегидратации. Установлено, что при применении селективного плазмообмена в лечении больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой наблюдаются тенденция к снижению содержания продуктов перекисного окисления липидов и увеличение детоксикационного потенциала альбумина, способствующее более чем двукратному снижению уровня эндогенной интоксикации. Сокращение встречаемости патологических морфотипов фаций (циркулярного и типа «двойной фации», появление которых характерно для формирования синдрома эндогенной интоксикации), и морфологических маркеров патологических процессов подтверждает снижение выраженности эндотоксикоза после комплексного лечения больных. Таким образом, исследованные морфологические маркеры эндогенной интоксикации наглядно подтверждают изменения в крови, выявленные биохимическими методами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение селективного плазмообмена способствует мощной детоксикации организма, при этом происходит значительное снижение морфологических маркеров воспаления, эндогенной интоксикации, ишемии, которое коррелирует с показателями биохимической картины плазмы крови.

Ключевые слова: селективный плазмообмен, множественная миелома, окислительный статус крови, эндогенная интоксикация, морфотипы фаций плазмы крови.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN BLOOD OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA DURING CHEMOTHERAPY INCLUDING SELECTIVE PLASMA EXCHANGE

Zuderman N.E.¹, Goroshinskaya I.A.¹, Shikhlyarova A.I.¹, Frantsiyants E.M.¹,
Nemashkalova L.A.¹

¹National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: iagor17@mail.ru

Although the incidence of multiple myeloma in Russia is 2–3 cases per 100 000 population (in 2018 – 2.86), the mortality rate is close to 1% of all cancer deaths. This makes it necessary to improve the treatment of this pathology. We compared biochemical and morphological changes in the blood of patients with multiple myeloma when selective plasma exchange was included in the treatment regimen using new the «Eсvalio™» plasma separation technology. The study involved 25 patients (17 men and 8 women) with newly diagnosed secreting multiple myeloma before treatment and after 1 course of standard chemotherapy according to the VCD scheme with prior selective plasma exchange. The indices of endogenous intoxication, free radical oxidation and the morphological picture of solid-state blood plasma samples obtained by wedge-shaped and marginal dehydration methods were studied. When selective plasma exchange was included in the complex of accompanying treatment of patients with multiple myeloma, the intensity of lipid hyperperoxidation processes decreased and detoxification potential of albumin increased, which contributed to more than a twofold decrease in the level of endogenous intoxication. Reduced occurrence of pathological morphotypes of facies (circular and «double facies» typical of the formation of endogenous intoxication syndrome) and morphological markers of pathological processes confirmed a decrease in endotoxiosis severity after combination treatment of patients. Thus, the studied

morphological markers of endogenous intoxication visually confirm the changes in blood revealed by biochemical methods. A decrease in the frequency of morphological markers of endogenous intoxication, inflammation and hypoxia, along with biochemical data, confirm the detoxification effectiveness of selective plasma exchange.

Keywords: selective plasma exchange, multiple myeloma, endogenous intoxication, blood oxidative status, morphotypes of blood plasma facies.

Множественная миелома (ММ) – злокачественное лимфопролиферативное заболевание, которое характеризуется пролиферацией клональных плазматических клеток вследствие хромосомных нарушений, патологических изменений стромального микроокружения, продукцией моноклонального белка в крови и/или моче [1]. Среди гемобластозов множественная миелома является одной из самых распространенных и находится на втором месте, что составляет 10–13%. ММ преимущественно заболевают пожилые люди (около 70 лет), в России встречаемость заболевания составляет 2–3 случая на 100 тыс. населения, а летальность приближается к 1% среди всех онкологических заболеваний [2].

Развитие заболевания множественной миеломой всегда сопряжено с различными осложнениями, успешное лечение ММ заключается как в выборе оптимальной схемы противоопухолевой терапии, так и в борьбе с множественными осложнениями, которые сопровождают заболевание [1, 3, 4]. Течение множественной миеломы сопровождается повышенным образованием моноклональных иммуноглобулинов, что влечет за собой развитие органных и системных нарушений, формирование синдрома эндогенной интоксикации на фоне поражения почек. В последние годы идет разработка новых подходов к лечению больных множественной миеломой, которые включают в себя сочетание методов экстракорпоральной детоксикации с различными схемами химиотерапевтического лечения. При этом уделяется большое значение удалению свободных легких цепей иммуноглобулинов из кровеносного русла методами экстракорпоральной детоксикации [5, 6]. Разработаны схемы применения при онкопатологии разных видов плазмафереза, в том числе селективного плазмообмена в комплексе специфического лечения больных с впервые выявленной секретирующей множественной миеломой [7, 8].

Ранее нами была изучена динамика биохимических показателей эндогенной интоксикации и свободнорадикального окисления в крови больных множественной миеломой, в сопроводительное лечение которых был включен селективный плазмообмен [9, 10]. В связи с этим представляет значительный интерес проведение скрининговых исследований самого субстрата детоксикации с помощью современных методов визуализации твердотельных образцов биологической жидкости (В.Н. Шабалин, С.Н. Шатохина, 2001–2018 гг.). Основу метода составляет регистрация фазового перехода биологической жидкости из динамического жидкого в статистическое твердое состояние при различных условиях дегидратации – в

открытой капле и под покровным стеклом. При этом поведение сложной системы меняется в силу разных условий высыхания, позволяя оценивать степень порядка или хаоса самоорганизации надмолекулярной структуры белков опухоли и организма, трансформированной в ходе опухолевой прогрессии или эффективного лечения [11-13].

Целью данной работы явилось сопоставление биохимических и морфологических изменений в крови больных множественной миеломой при включении в схему лечения селективного плазмообмена.

Материалы и методы исследования

В сравнительный анализ были включены биохимические и морфологические данные исследования крови 25 пациентов с первично выявленной секретирующей множественной миеломой (17 мужчин и 8 женщин) в возрасте от 45 до 70 лет (средний возраст $62,7 \pm 2,2$ года). До начала проведения лекарственного противоопухолевого лечения (всего было проведено 6 курсов стандартной химиотерапии по схеме VCD) всем пациентам выполняли селективную плазмофильтрацию с использованием технологии плазмосепарации «Eсvalio™» [8].

При оценке уровня эндогенной интоксикации определяли общую (ОКА) и эффективную (ЭКА) концентрации альбумина, что позволяло учитывать его транспортные возможности путем расчета связывающей способности альбумина ($\text{ЭКА/ОКА} \cdot 100\%$) и индекса токсичности ($\text{ИТ} = \text{ОКА/ЭКА} - 1$), а также содержание молекул средней массы (МСМ) для расчета коэффициента интоксикации ($\text{КИ} = (\text{МСМ}_{254}/\text{ЭКА}) \cdot 1000$). Общепринятым спектрофотометрическим методом с тиобарбитуровой кислотой оценивали накопление в плазме и эритроцитах крови малонового диальдегида (МДА) – молекулярного продукта, по содержанию которого наиболее часто судят об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Характер изменений твердотельных образцов плазмы крови идентифицировали по системным, подсистемным и локальным критериям самоорганизации в условиях клиновидной (в открытой капле) и краевой (под покровным стеклом) дегидратации [11] до и после первого курса стандартной химиотерапии с предшествующим проведением селективного плазмообмена. Объективизация показателей морфологического исследования фаций плазмы крови проводилась на основе алгоритма визуальной идентификации основных структурных критериев с использованием аналитической программы «Морфотест» в комплексе с микроскопом «Leica DM LS2» со встроенной видеокамерой.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ «Statistika 6.0» по t-критерию Стьюдента для двух независимых выборок, предварительно проверив данные в группах на соответствие нормальному распределению по критерию Колмогорова–Смирнова и по W-критерию Шапиро–Уилка для малых выборок. В таблице

данные приведены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего. Для сравнения бинарных данных использовали двусторонний точный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$, а также имеющими тенденцию к значимости при $0,05 < p < 0,1$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результатах ранее проведенного нами исследования окислительного статуса крови больных [10] отмечалось снижение исходно высокого уровня МДА у больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой при сочетанном применении в их лечении селективного плазмообмена (СПО) и стандартной схемы химиотерапии с последующей полной нормализацией уровня этого продукта перекисного окисления в эритроцитах после 6 циклов химиотерапии. Нормализация оксидативного статуса крови у больных множественной миеломой при многокурсовом химиотерапевтическом лечении на фоне селективного плазмообмена сопровождалась снижением уровня всех показателей эндогенной интоксикации в сравнении с исходными значениями до проведения лечения [9]. Уже после 1-го курса химиотерапии отмечалось статистически значимое увеличение способности альбумина связывать эндотоксины, что обусловило более чем двукратное снижение индекса токсичности и коэффициента интоксикации в сравнении с их исходным уровнем (табл. 1). При проведении последующих циклов химиотерапии показатели существенно не изменялись, оставаясь на более благоприятном уровне по сравнению с показателями до лечения.

Установив положительное влияние селективного плазмообмена на уровень эндогенной интоксикации и интенсивность окислительных процессов крови, мы изучили особенности структурной организации твердотельных пленок – фаций плазмы крови – у пациентов с множественной миеломой для идентификации морфотипов, параспецифических и специфических маркеров опухолевого процесса при проведении селективного плазмообмена с последующей химиотерапией.

В таблице 1 представлены показатели, характеризующие интенсивность ПОЛ, уровень эндотоксикоза и встречаемость различных морфотипов фаций (физиологических и патологических) до начала и после проведения химиотерапии с предшествующим селективным плазмообменом (СПО).

Таблица 1

Уровень малонового диальдегида, показатели эндогенной интоксикации и морфотипы фаций крови у пациентов с множественной миеломой до и после селективного плазмообмена и химиотерапии (n=25)

Показатели	До СПО		После СПО и химиотерапии		P
МДА эритроцитов нмоль/мл 1% гемолизата	2,159±0,161		1,71±0,183		0,0705
Связывающая способность альбумина, %	45,47±4,98		66,04±5,93		0,014
Индекс токсичности	1,652±0,304		0,637±0,081		0,0013
Коэффициент интоксикации	23,4±3,03		11,46±2,06		0,0002
<i>Физиологические типы фаций</i>					
	абс. число	%	абс. число	%	
Радиальный	–	–	–	–	–
Частично-радиальный	–	–	10	40	<0,001
<i>Патологические типы фаций</i>					
	абс. число	%	абс. число	%	
Иррадиальный	9	36	12	48	0,57
Циркулярный	12	48	4	16	0,032
Двойная фация	19	76	6	24	<0,001

Примечание: p – значимость различий в сравнении с исходными показателями.

Исходно у всех пациентов были идентифицированы только патологические типы фаций. В отличие от физиологических типов фаций со свойственными системными признаками радиальной симметрии трещин и секторальной упорядоченности расположения отдельностей и конкреций, у больных множественной миеломой до проведения селективного плазмообмена доминировали патологические типы структурной самоорганизации плазмы крови. Эти нарушения структуры были обусловлены значительной концентрацией в крови патологических форм белковых соединений, токсинов, продуктов незавершенного метаболизма. Сбой радикальной симметрии был продемонстрирован в виде наиболее часто встречающегося образования примитивных форм фаций циркулярного типа, с заполнением трещин скоплениями продуктов деградации тканей. Встречаемость иррадиального типа фаций плазмы крови при множественной миеломе на этапе до начала лечения была снижена в 1,3 раза по сравнению с фациями циркулярного типа. У каждого четвертого пациента идентифицированы патологические типы «двойной фации», что демонстрировало присутствие в плазме высокого уровня токсических элементов незавершенного метаболизма и продуктов распада опухоли. Именно этот патологический тип «двойной фации»

подтверждал формирование синдрома эндогенной интоксикации и служил ориентиром при оценке эффективности детоксикационной терапии в виде селективного плазмообмена в комплексе лечения больных множественной миеломой.

Поскольку у большей части пациентов со злокачественными новообразованиями имеются клинически значимые сопутствующие заболевания (коморбидные состояния), нами были изучены морфологические маркеры патологических процессов, которые включали в себя и системные, и параспецифические маркеры различных состояний. Структурное проявление патологических процессов, характерных для таких заболеваний, отражало измененные свойства белков, липидов, солей и пигментов, находящихся в крови при развитии патологии и являющихся субстратами процессов, фиксируемых на биохимическом уровне [12, 14]. Это маркеры воспаления, интоксикации, ангиоспазма и артериальной гипертензии, ишемии, гипоксии, системного атеросклероза, застойных явлений, кандидозной септицемии и других патологий. Кроме системного признака хронической интоксикации – «двойной фации», нами были выявлены и специфические маркеры интоксикации, которые проявлялись в виде «токсических бляшек», «морщин», «натеков» токсических белков, визуально расположенных в краевой и промежуточной зоне фации (табл. 2).

Таблица 2

Локальные маркеры коморбидных состояний в фациях плазмы крови у пациентов с множественной миеломой до и после селективного плазмообмена и химиотерапии (n=25)

Маркеры	Частота встречаемости			
	До СПО		После СПО и химиотерапии	
	абс. число	%	абс. число	%
Эндогенная интоксикация <i>Токсические бляшки, «морщины» и складки токсических белков</i>	25	100	14 <i>p<0,001</i>	56
Воспаление <i>(«языки Арнольда», «ковры (Серпинского)»)</i>	17	68	5 <i>p=0,001</i>	20
Ишемия <i>(структуры жгута)</i>	25	100	10 <i>p<0,001</i>	40

Примечание: *p* – значимость различий в сравнении с исходными показателями.

Морфологическая картина твердых фаций меняется после проведения селективного плазмообмена (табл. 1). Частично-радиальный тип фаций, относящийся к физиологическому типу структурной самоорганизации, появился у 10 из 25 пациентов, тогда как изначально он отсутствовал у всех обследованных больных (*p<0,05*). Частота встречаемости иррадиального типа фаций осталась высокой в сравнении с исходом. Сразу после проведения селективного плазмообмена и последующей химиотерапии встречаемость циркуляторного морфотипа и

типа «двойной фации» существенно снизилась по сравнению с данными до начала лечения – в 3 и 3,2 раза соответственно ($p < 0,05$). Выявлено также статистически значимое снижение маркеров эндогенной интоксикации, а также воспаления и ишемии (табл. 2).

Сопоставление результатов биохимических и морфологических исследований свидетельствовало о несомненном наличии эндогенной интоксикации у больных ММ. Включение СПО в схему химиотерапевтического лечения больных приводило к снижению выраженности клинических проявлений эндотоксикоза, что подтверждалось как динамикой восстановления детоксикационной способности альбумина, так и морфологически – появлением преимущественно физиологических типов фаций взамен патологических. Также была отмечена нормализация исходно высокого уровня МДА, сопряженная работа основных ферментов антиоксидантной защиты восстанавливалась, в то время как у больных, которым была проведена многокурсовая химиотерапия без СПО, отмечалась дальнейшая значительная интенсификация процессов ПОЛ [10], что приводило к еще большему усилению проявлений эндотоксикоза.

Закономерное объяснение имеет 3-кратное снижение встречаемости только циркуляторного типа и типа «двойной фации» после проведения СПО. Известно, что от тяжести развития опухолевого процесса зависит формирование иррадиального морфотипа фации, а вот циркулярный и в большей степени тип «двойной фации» твердотельных образцов плазмы крови зависит от степени выраженности эндотоксикоза и наличия эндогенных токсических субстанций в плазме крови [12, 15]. Оценка морфологических маркеров крови дала возможность установить функционально-структурные параллели между биохимической картиной развития эндогенной интоксикации и морфологическим отражением состояния плазмы крови. Таким образом, детоксикационная эффективность воздействия СПО была подтверждена не только биохимическими методами, но и снижением встречаемости морфологических маркеров эндогенной интоксикации.

Заключение

Анализ полученных нами данных свидетельствует о характерной для больных множественной миеломой интенсификации свободнорадикальных окислительных процессов, сопровождаемой развитием эндогенной интоксикации. Применение селективного плазмообмена в комплексе специфического сопроводительного лечения больных впервые выявленной секретирующей множественной миеломой способствует снижению интенсивности процессов гиперпероксидации липидов и увеличению детоксикационного потенциала альбумина, что снижает уровень эндогенной интоксикации, подтвержденный сокращением встречаемости патологических морфотипов фаций и морфологических маркеров патологических процессов. Представленные биохимические и морфологические

изменения, происходящие в крови больных при включении СПО в схему химиотерапевтического лечения, являются лабораторным подтверждением клинической эффективности такого подхода к специфическому сопроводительному лечению больных впервые выявленной секретирующей множественной миеломой.

Список литературы

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома: руководство для врачей. М.: Специальное изд-во мед. кн., 2016. 493 с.
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / Под. ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петрова Г.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2019. 250 с.
3. Kumar S.K., Rajkumar S.V., Dispenzieri A., Lacy M.Q., Hayman S.R., Buadi F.K, Zeldenrust S.R, Dingli D., Russell S.J, Lust J.A, Greipp P.R., Kyle R.A., Gertz M.A. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood. 2008. vol. 111. no. 5. P. 2516-2520.
4. Jung S.H., Jo J.C., Song G.Y., Ahn S.Y., Yang D.H., Ahn J.S., Kim H.J., Lee J.J. Frontline therapy for newly diagnosed patients with multiple myeloma. Blood Res. 2020. vol. 55. no. S.1. P. 37-42. DOI: 10.5045/br.2020.S007.
5. Громова Е.Г., Зейналова П.А., Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Кушлинский Н.Е., Семенова А.А., Лунин В.В., Ключагина Ю.И. Опыт селективной элиминации свободных легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с моноклональными гаммапатиями // Онкогематология. 2019. Т. 14. № 2. С. 8-12. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-8-12.
6. Сагакянц А.Б. Объединенный иммунологический форум: современные направления развития фундаментальной и прикладной онкоиммунологии (Новосибирск, 2019) // Южно-российский онкологический журнал. 2020. № 1 (2). С. 36-45. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-2-5.
7. Кит О.И., Франциянц Е.М., Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Ушакова Н.Д., Попова Н.Н., Якушин А.В. Роль плазмафереза и ксенонтерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 117. С. 472-486.
8. Зудерман Н.Е., Ушакова Н.Д., Лысенко И.Б., Николаева Н.В., Капуза Е.А. Применение селективного плазмообмена у больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой // Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова. 2019. № 2. С. 98-104. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-2-98-104.

9. Кит О.И., Горошинская И.А., Зудерман Н.Е., Ушакова Н.Д., Лысенко И.Б., Немашкалова Л.А., Нескубина И.В., Николаева Н.В., Капуза Е.А., Шатохина О.Н. Показатели эндогенной интоксикации у больных Множественной миеломой в динамике комплексного лечения // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017. № 4-1 (196-1). С. 75-81. DOI: 10.23683/0321-3005-2017-4-1-75-81.
10. Горошинская И.А., Зудерман Н.Е., Ушакова Н.Д., Немашкалова Л.А., Лысенко И.Б., Петров Д.С., Николаева Н.В., Капуза Е.А., Шатохина О.Н., Тен И.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность в крови больных множественной миеломой в процессе химиотерапевтического лечения с предшествующим селективным плазмообменом // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 5. [Электронный ресурс]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=26955> (дата обращения: 11.04.2021).
11. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. Маркеры злокачественного роста в морфологической картине биологических жидкостей человека // Вопросы онкологии. 2010. Т. 56. № 3. С. 293-300.
12. Шатохина С.Н., Захарова Н.М., Дедова М.Г., Самбулов В.И., Шабалин В.Н. Морфологический маркер прогрессии при раке гортани // Вопросы онкологии. 2013. Т. 59. № 2. С. 66-70.
13. Булойчик Ж.И., Зажогин А.П., Нечипуренко Н.И., Патапович М.П., Пашковская И.Д. Морфологическое и спектрометрическое исследование плазмы крови пациентов с аневризмой сосудов головного мозга // Журнал Белорусского государственного университета. Физика. 2018. № 1. С. 9-17.
14. Шатохина С.Н., Александрин В.В., Шатохина И.С., Кубатиев А.А., Шабалин В.Н. Маркер ишемии головного мозга в твердофазных структурах сыворотки крови // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 164. № 9. С. 351-355.
15. Шихлярова А.И., Шейко Е.А., Куркина Т.А., Розенко Л.Я., Крохмаль Ю.Н. Морфологические маркеры патологических процессов сыворотки крови больных раком полости рта // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 9-3. С. 409-413.