

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(22)

2019 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 27.09.19
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 200 экз.
Усл. печ. л. 16,75. Уч.-изд. л. 9,54.
Зак. 331.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент),
А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.),
В.В. Евсеенко (к.п.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь),
А.В. Жарикова (к.м.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор),
И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент),
А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент),
С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Я.Л. Навменова (к.м.н.),
Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор),
Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.),
А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент),
И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент),
А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент),
А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.),
Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

Редакционный совет

В.И. Жарко (Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск),
О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск),
С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва),
Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва),
А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва),
М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва),
К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург),
Н.Г. Кручинский (д.м.н., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск),
Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск),
В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск),
В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2019

№ 2(22)

2019

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

**Н.В. Холупко, Т.В. Мохорт, Я.Л. Навменова,
М.Г. Русаленко, А.Б. Малков**

Особенности проявлений диабетической кардиальной нейропатии и синдромом обструктивного апноэ сна

6

Медико-биологические проблемы

В.С. Аверин, А.Л. Чеховский

Структура дозы облучения населения Брагинского, Хойникского и Наровлянского районов Гомельской области от основных источников радиационного воздействия

13

**Г.Я. Брук, А.Б. Базюкин, А.А. Братилова,
В.А. Яковлев**

Закономерности формирования и прогноз доз внутреннего облучения населения Брянской области в отдаленный период после аварии на Чернобыльской АЭС

17

К.Н. Буздалькин, Н.Г. Власова

Уточнённые карты загрязнения трансураниевыми элементами Белорусского сектора зоны отчуждения Чернобыльской АЭС

24

**Д.А. Евсеенко, З.А. Дундаров, Э.А. Надиров,
Н.Е. Фомченко, А.В. Величко**

Блеббинг плазмолеммы лимфоцитов периферической крови как маркер окислительного стресса

30

**М.В. Кадука, Л.Н. Басалаева, Т.А. Бекяшева,
С.А. Иванов, Н.В. Салазкина, В.В. Ступина**

Содержание изотопов радия в основных дозообразующих продуктах на территориях, загрязненных вследствие аварии на ЧАЭС. Оптимизация метода определения

36

Е.Р. Ляпунова, Л.Н. Комарова

Воздействие доxorубина и фракционированного облучения на мезенхимальные стволовые клетки человека

44

Reviews and problem articles

**N.V. Holupko, T.V. Mohort, Ya.L. Navmenova,
M.G. Rusalenko, A.B. Malkov**

Peculiarities of manifestations of diabetic cardiac neuropathy and obstructive sleep apnea syndrome

Medical-biological problems

V.S. Averin, A.L. Chekhovskiy

Structure of dose of radiation appearance of Braginsky, Khoyniksky and Narovlain-sky districts of Gomel region from basic sources of radiation exposure

**G.Ya. Bruk, A.B. Bazjukin, A.A. Bratilova,
V.A. Yakovlev**

Peculiarities of internal exposure doses forming and their prognosis for the population of Bryansk region in the remote period after the Chernobyl accident

K.N. Bouzdalkin, N.G. Vlasova

Updated maps of transuranium elements contamination of the Belarusian sector of the exclusion zone of the Chernobyl NPP

D. Evseenko, Z. Dundarov, E. Nadyrov, N. Fomchenko, A. Velichko

Blebbing of plasmolemma of peripheral blood lymphocytes as a marker of oxidative stress

**M.V. Kaduka, L.N. Basalajeva, T.A. Bekjasheva,
S.A. Ivanov, N.V. Salaskjina, V.V. Stupina**

Potential population exposure doses due to natural radionuclides content in the foodstuffs

E.R. Lyapunova, L.N. Komarova

Effect of doxorubicin and fractionated irradiation on human mesenchymal stem cells

Е.С. Пашинская, В.В. Поляржин Способ воспроизведения экспериментальной крысиной глиомы C6 <i>in situ</i>	50	V.V. Pabiarzhyn, E.S. Pashinskaya Method of reproduction of experimental rat glioma C6 <i>in situ</i>	
В.В. Поляржин Изменение экспрессии иммуногистохимических маркёров GFAP, S 100, Ki 67 в тканях крысиной глиомы C6 <i>in situ</i> при экспериментальном аскаридозе	55	V.V. Pabiarzhyn Changes in the expression of immunohistochemical markers GFAP, S 100, Ki 67 in tissues of rat C6 glioma <i>in situ</i> during experimental ascariasis	
Клиническая медицина		Clinical medicine	
Т.В. Бобр Анализ результатов различных видов лечения посттромботической ретинопатии	61	T.V. Bobr Analysis of the results of different treatments for post-thrombotic retinopathy	
А.В. Величко, М.Ю. Жандаров, С.Л. Зыблев, А.Д. Борсук Конфокальная лазерная микроскопия в диагностике патологии паращитовидных желез	66	A.V. Velichko, M.Y. Zhandarov, S.L. Zyblev, A.D. Borsuk Confocal laser microscopy in the diagnosis of parathyroid gland pathology	
С.В. Зыблева Субпопуляции моноцитов CD14 ^{+mid/high} и CD14 ^{+low} , экспрессирующие рецептор CD86 у пациентов после трансплантации почки	74	S.V. Zybleva CD14 ^{+mid/high} and CD14 ^{+low} monocyte subpopulations, expressing cd86 receptor in patients after kidney transplantation	
А.Г. Карапетян, Н.М. Оганесян, В.С. Григорян Влияние гипоксии и стрессовых факторов на физиологические изменения у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС	82	A.G. Karapetyan, N.M. Hovhannisyan, V.S. Grigoryan Influence of hypoxia and stress factors on physiological changes in liquidators of the emergency of the Chernobyl NPP	
Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, Д.А. Зиновкин, А.Е. Силин, М.Ю. Жандаров, Ж.Н. Пугачева, Л.Е. Коротаева, Л.А. Смирнова Лабораторные и клинические признаки прогрессии моноклональной гаммапатии неуточненного генеза и множественной миеломы	90	Zh. Kozich, V. Martinkov, D. Zinovkin, A. Silin, M. Zhandarov, Zh. Pugacheva, L. Korotaeva, L. Smirnova Laboratory and clinical signs of progression monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in patients	
Е.В. Кушнерова Опыт применения дистанционной лучевой терапии рака предстательной железы в режиме гипофракционирования дозы излучения	99	E.V. Kushnerova The experience of using remote radiation therapy of prostate cancer in the hypofractionation dose mode	

- | | | | |
|---|------------|---|------------|
| <p>А.Е. Филюстин, Г.Д. Панасюк, С.Н. Никонович
 Пороговые значения минеральной плотности кости при компьютерно-томографической диагностике постменопаузального остеопороза</p> | <p>105</p> | <p>A.E. Filiustin, G.D. Panasiuk, S.N. Nikanovich
 Threshold values of bone mineral density at the computer-tomographic diagnosis of postmenopausal osteoporosis</p> | <p>105</p> |
| <p>С.А. Ходулева, И.П. Ромашевская, А.Н. Демиденко, Е.Ф. Мицура
 Оценка гепатотоксичности этапа индукционной терапии острого лимфобластного лейкоза у детей</p> | <p>112</p> | <p>S.A. Khoduleva, I.P. Romashevskaya, A.N. Demidenko, E.F. Mitsura
 Assessment of hepatotoxicity of the induction therapy stage of acute lymphoblastic leukemia in children</p> | <p>112</p> |

Обмен опытом

- | | |
|---|------------|
| <p>А.В. Макарчик, А.А. Чешик
 Восстановление здоровья населения, пострадавшего от последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС</p> | <p>117</p> |
| <p>Д.К. Новик, А.В. Денисов, Е.М. Репченко, Д.В. Кравченко, С.Г. Кузнецов, С.А. Хаданович
 Клинический случай приобретенной формы тромботической тромбоцитопенической пурпуры: диагностический поиск и лечение</p> | <p>124</p> |
| <p>А.П. Саливончик, О.А. Романива, М.Ф. Квика
 Клинический случай синдрома Джоба</p> | <p>129</p> |

Experience exchange

- | | |
|--|------------|
| <p>A.V. Makarchik, A.A. Cheshik
 Recovery of population health, affected by the consequences of the Chernobyl accident</p> | <p>117</p> |
| <p>D.K. Novik, A.V. Denisov, E.M. Repchenko, D.V. Kravchenko, S.G. Kuzniatsou, S.A. Khadanovich
 A clinical case of acquired form of thrombotic thrombocytopenic purpura. Description and treatment</p> | <p>124</p> |
| <p>A.P. Salivonchik, O.A. Romaniva, Kvika
 Clinical case report of Job syndrome</p> | <p>129</p> |

ЛАБОРАТОРНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПРОГРЕССИИ МОНОКЛОНАЛЬНОЙ ГАММАПАТИИ НЕУТОЧНЕННОГО ГЕНЕЗА И МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

¹ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь;

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь;

³УО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» г. Минск, Беларусь

Множественная миелома (ММ) относится к опухолям лимфоидного происхождения, характеризуется моноклональной пролиферацией плазматических клеток в костном мозге. В своем развитии ММ проходит стадию моноклональной гаммапатии неуточненного генеза (МГНГ). Одной из важных целей исследования ММ является ее диагностика на ранних этапах с возможным выявлением факторов прогноза прогрессии. Определение прогностических факторов на основе исследования иммунофенотипических маркеров, микроокружения клеток костного мозга будет способствовать распределению пациентов по группам риска и своевременному началу специфической терапии.

В данной статье мы проанализировали результаты клинико-лабораторного, иммунофенотипического, цитогенетического, молекулярно-генетического и гистологического методов исследования пациентов на ранних этапах развития заболевания.

Ключевые слова: моноклональная гаммапатия неуточненного генеза, множественная миелома, методы диагностики, факторы риска прогрессии

Введение

Множественная миелома – заболевание кроветворной ткани, характеризующееся опухолевой пролиферацией плазматических клеток. Во всех или почти во всех случаях ММ предшествует моноклональная гаммапатия неуточненного генеза [1].

Обычно заболевание обнаруживается случайно при обследовании или при наличии симптомов поражения почек или нервной системы. Обнаружение моноклонального парапротеина в сыворотке крови служит поводом для более углубленного обследования таких пациентов.

Количество случаев МГНГ увеличивается с возрастом. Наиболее часто МГНГ встречается в возрасте более 50 лет и только в 0,3% случаев в возрасте менее 50 лет [2]. Риск трансформации во ММ составляет 1% в год [3, 4]. Причина трансформации

не вполне ясна. Диагноз МГНГ основан на наличии четырех критериев [4]:

- Моноклональный протеин <30 г/л;
- В костном мозге менее 10% кло-нальных плазматических клеток;
- Нет признаков поражения, связанных с парапротеинемией (анемия, гиперкальциемия, поражение почек, наличие очагов деструкции);
- Нет признаков других лимфопро-лиферативных заболеваний.

Согласно определяемым иммуноглобу-линам выделяют 3 типа МГНГ [3, 4]:

1. Не-IgM МГНГ – составляет большинство случаев и представлена IgG, IgA, IgD, может прогрессировать во множественную миелому.
2. IgM МГНГ – согласно классификации WHO 2017 может прогрессировать в макроглобулинемию Waldenstrom.

3. МГНГ с легкими цепями, которая может трансформироваться в множественную миелому с легкими цепями или амилоидоз в 0,3% случаев.

Но в настоящее время нет четких данных о факторах, влияющих на прогрессию МГНГ и на выживаемость пациентов с ММ, что является предметом поиска многих исследовательских групп в разных странах.

В нашем исследовании мы проанализировали клиничко-лабораторные данные, в том числе результаты иммунофенотипического, цитогенетического, молекулярно-генетического, гистологического и иммуногистохимического исследования на ранних этапах развития заболевания – МГНГ и при впервые выявленной ММ у пациентов Гомельского региона.

Цель исследования: выявить возможные факторы риска прогрессии моноклональной гаммапатии неуточненного генеза и множественной миеломы, используя данные различных методов исследования у пациентов Гомельского региона.

Материалы и методы исследования

В исследование включались пациенты с наличием моноклонального протеина, представленного IgG, IgA, IgM или легкими цепями иммуноглобулинов (каппа, лямбда). Лабораторные показатели оценивались на момент постановки диагноза.

Материалом послужили образцы цельной венозной крови, аспирационный и биопсийный материал костного мозга 141 человека, находившихся под наблюдением в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» с марта 2018 г, в том числе – 102 (72,4%) пациента с МГНГ и 39 (27,6%) пациентов с ММ.

Диагноз МГНГ основывался на интернациональных критериях: выявлении моноклонального белка <30 г/л, менее 10% клональных плазматических клеток в костном мозге, отсутствии анемии, гиперкальциемии, поражения почек, деструктивных поражений костей. Диагноз ММ выставлен согласно критериям: плазматических клеток 10% и более, моноклональный белок в

сыворотке крови и/или моче (за исключением пациентов с несекретирующей формой ММ), наличие одного или более признаков поражения органов или тканей, связанных с плазмоклеточной пролиферацией (CRAB-критерии) [5].

Из дальнейшего анализа были исключены пациенты с МГНГ, у которых в процессе гистологического исследования выявлены метастазы опухоли в костный мозг (аденокарциномы) – 3 пациента, саркоидоз – 1 пациент, моноклональная гаммапатия почечного значения (MGRS) – 2 пациента.

Медиана возраста пациентов в группе с МГНГ составила 60,5 лет, в группе с

Таблица 1 – Возрастные характеристики групп исследования, лет

	Me	Мин	Макс	Q ₁	Q ₃
МГ, n=102	60,5	22,0	81,0	53,0	68,0
ММ, n=39	65,0	41,0	82,0	58,0	74,0

ММ – 65 лет (таблица 1).

Всем пациентам был выполнен общий анализ крови, анализ сыворотки крови на иммуноглобулины, исследование легких цепей каппа и лямбда, определение уровня β_2 -микроглобулина. Также для всех пациентов выполнен анализ интерлейкинов – 2 (IL-2), 6 (IL-6), 8 (IL-8), фактора некроза опухоли ФНО- α (TNF- α).

Имунофенотипирование клеток костного мозга проведено методом проточной цитометрии. Позитивной экспрессию считали при наличии антигена на поверхности более, чем 20% опухолевых клеток. Оценка интенсивности экспрессии антигенов проводилась по параметру средней интенсивности флюоресценции – Mean Fluorescence Intensity (MFI).

Имуногистохимическое исследование проводилось трехшаговым авидин-биотин-пероксидазным методом в срезах с парафиновых блоков толщиной 5 мкм. Иммуногистохимически оценивались CD138⁺ клетки, CD56⁺, CD34⁺, каппа, лямбда цепи, количество МКЦ, наличие фиброза костного мозга и костномозгового кроветворения.

Цитогенетическое исследование костного мозга проводилось методом флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Молекулярно-генетическое исследование костного мозга на наличие мутации T1799A гена BRAF и мутаций гена k-RAS осуществлялось методом ПЦР, специфической к мутантному аллелю. Детекция мутации проводилась посредством агарозного гель-электрофореза с окраской бромистым этидием.

Характеристика пациентов представлена в таблице 2.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1. При описании количественных признаков указывали медиану, 1 и 3 квартили. Статистическую значимость различий между группами определяли с помощью критерия Манна-Уитни и точного критерия Фишера. Критическим значением уровня значимости считали $p=0,05$.

Результаты исследования

При анализе групп исследования установлено, что среди пациентов с МГНГ и ММ преобладали лица женского пола – 75 (73,5%) и 22 (56,4%) пациента соответственно.

Количество клональных плазматических клеток в костном мозге у пациентов с МГНГ в среднем составило 3,5 (0,6-10,2)%, у пациентов с ММ – 42,2 (12,2-72,6)%.

При анализе клинико-лабораторных показателей пациентов с МГНГ установлено, что в группе преобладали пациенты с секрецией IgG и легких цепей иммуноглобулинов.

Имунофенотипирование клеток костного мозга до настоящего времени остается одним из определяющих методов диагностики МГНГ и ММ. В недавних исследованиях [6] показано, что фенотип плазматических клеток (экспрессия CD138⁺, CD38⁺, CD45⁺) и соотношение легких цепей иммуноглобулинов могут рассматриваться в качестве независимых дополнительных прогностических факторов при оценке риска прогрессирования.

В настоящее время не существует четких биологических маркеров, которые бы

Таблица 2 – Клинико-лабораторные характеристики групп исследования

	Группа	
	МГНГ (n=102)	ММ (n=39)
Пол женский	75 (74,0%)	23 (59,0%)
Нб <120 г/л	33 (32,0%)	26 (67,0%)
Тр <150 10 ⁹ /л	7 (7,0%)	3 (8,0%)
Белок общ. >80 г/л	58 (57,0%)	18 (46,0%)
Плазм. клетки КМ ≥20%	0 (0,0%)	24 (62,0%)
IgG >18,2 г/л	46 (46,0%)	19 (49,0%)
IgA >4,84 г/л	14 (14,0%)	5 (13,0%)
IgM >2,4 г/л	7 (7,0%)	1 (3,0%)
М-гр ≥30 г/л	3 (3,0%)	7 (18,0%)
Каппа >1,8 г/л	89 (93,0%)	33 (85,0%)
Лямбда >2,45 г/л	58 (61,0%)	22 (56,0%)
Каппа / лямбда >1,65	55 (57,0%)	24 (62,0%)
Каппа / лямбда >10	6 (6,0%)	6 (15,0%)
β ₂ -микроглобул. > 3 мг/л	36 (40,0%)	17 (50,0%)

позволили нам прогнозировать прогрессию МГНГ. Однако известно, что для нормального костного мозга не характерна экспрессия CD138⁺. Появление aberrантных клеток с положительной экспрессией CD56 и CD38 может быть признаком малигнизации процесса [7].

При иммунофенотипировании плазматических клеток костного мозга у пациентов с МГНГ в нашем исследовании выявлена повышенная экспрессия CD56 (29,0%), CD27 (81,0%), CD44 (95,0%), CD81 (37,2%), CD117 (10,8%) и CD33 (5,0% случаев, таблица 3). За время наблюдения у двух пациентов с наличием превышения уровня экспрессии CD56 и CD117 заболевание трансформировалось во ММ, что может рассматриваться как один из факторов риска прогрессии.

Согласно данным литературы [8], наличие указанных маркеров у пациентов с МГНГ может рассматриваться как фактор риска прогрессии.

Миелоидно-ассоциированный маркер CD33 был выявлен в 23% случаев при ММ и в 5% случаев при МГНГ. Наличие позитивного антигена зрелых В-лимфоцитов CD20 было выявлено в 18% случаев среди пациентов с ММ и 12% случаев у пациентов с МГНГ. Наличие повышенной экспрессии CD20 со-

Таблица 3 – Иммунофенотипические характеристики групп исследования

	Группа	
	МГНГ (n=102)	ММ (n=39)
CD45+	87 (85,3%)	21 (54,0%)
CD56+	29 (28,4%)	29 (74,0%)
CD27+	81 (79,4%)	12 (30,8%)
CD138+	55 (54,0%)	39 (100%)
CD19+	80 (78,4%)	8 (21,0%)
CD38+	76 (74,5%)	35 (90,0%)
CD117+	11 (10,8%)	5 (13,0%)
CD81+	33 (37,2%)	4 (10,0%)
CD33+	5 (5,0%)	9 (23,0%)
CD20+	12 (12,0%)	7 (18,0%)
CD95+	61 (59,8%)	6 (15,0%)
CD200+	4 (3,9%)	0 (0,0%)
CD44+	40 (39,0%)	7 (18,0%)
CD40+	4 (3,9%)	2 (5,0%)

проводилось значительным превышением уровня ФНО в сыворотке крови у пациентов ММ, наличием мягкотканых компонентов и, в итоге, неблагоприятным прогнозом.

Антиген CD95 принимает участие в реакции индукции апоптоза. Снижение его экспрессии наблюдается при многих пролиферативных процессах. В нашем исследовании выявлено статистически значимое снижение экспрессии антигена CD95 при ММ по отношению к МГНГ ($p=0,002$).

Низкая пролиферативная активность плазматических клеток затрудняет кариотипический анализ при ММ и, особенно, при МГНГ. Тем не менее, в группе ММ у 5 пациентов выявлены хромосомные изменения плазматических клеток костного мозга, которые включали $t(4;16)$ – у 2-х пациентов, по одному пациенту имели $t(4;14)$, делецию 13q, полиплоидию. У одного пациента выявлены нарушения, связанные с 4, 14 и 16 хромосомой, что возможно явилось неблагоприятным фактором в дальнейшем течении заболевания. Прогрессия ММ у данного пациента наступила спустя 4 месяца после проведенной аутологичной трансплантации периферической стволовой клетки и двух курсов поддерживающей терапии леналидомидом.

У пациентки из группы ММ с выявленной делецией 13q заболевание сопровождалось наличием множественных мягкоткан-

ных компонентов различной локализации с инфильтрацией мышц спины и ягодичных мышц опухолевыми плазматическими клетками. За период наблюдения и лечения у пациентки развилась резистентность к полихимиотерапии (отсутствие ремиссии после 3 курсов VCD (бортезомиб, дексаметазон, циклофосфан), 1 курса PAD (доксорубин дексаметазон, бортезомиб)). В течение 3 месяцев заболевание прогрессировало в острый плазмоклеточный лейкоз с последующей гибелью пациентки на фоне острого тромбоза легочной артерии. Это еще раз подтверждает возможное участие генетических мутаций в прогрессии патологического процесса.

Что касается пациентов с МГНГ, то только у 2 из них выявлены хромосомные изменения в виде полиплоидии.

Согласно данным литературы, пациенты МГНГ, имеющие хромосомные изменения, могут быть отнесены к группе высокого риска с вероятной трансформацией в опухолевое заболевание, что требует более тщательного наблюдения за этой группой [9].

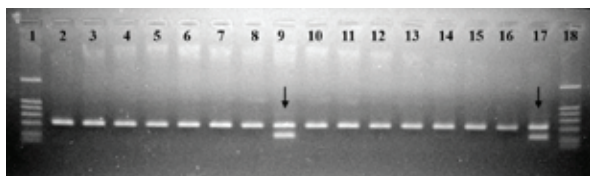
Большое разнообразие мутаций генов, выявляемых при ММ, дает основание считать, что они не всегда являются определяющими в развитии патологического процесса [10]. К наиболее часто встречаемым мутациям при ММ относят мутации генов RAS, мутацию гена BRAF и p53 [11].

В результате проведенного анализа в группе с ММ мутация V600E гена BRAF была выявлена у одной пациентки, заболевание у нее сопровождалось выраженным деструктивным синдромом с наличием множественных мягкотканых компонентов.

Пример электрофоретической детекции соматической мутации T1799A гена BRAF представлен на рисунке 1.

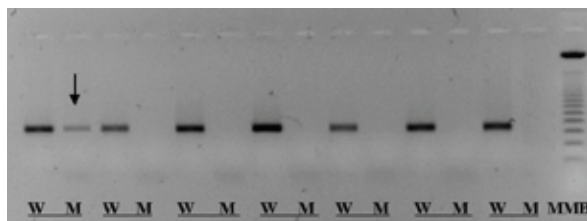
Мутации гена k-RAS выявлены у 3-х пациентов с ММ, из которых у 2-х заболевание оказалась резистентным к терапии бортезомибом (не достигнута ремиссия после 4 курсов VCD (бортезомиб, дексаметазон, циклофосфан)).

Результаты электрофоретической детекции соматической мутации, локализо-



Дорожки 9 и 17 – образцы с мутацией, дорожки 2-8 и 10-16 – образцы без мутации, дорожки 1 и 18 – маркер молекулярного веса

Рисунок 1 – Электрофоретическая детекция соматической мутации T1799A гена BRAF



W – результат амплификации нормальной последовательности ДНК, М – результат амплификации мутантной последовательности ДНК, ММВ – маркер молекулярного веса. Образец с мутацией обозначен стрелкой

Рисунок 2 – Электрофоретическая детекция соматической мутации, локализованной в первом положении 12 кодона k-RAS

ванной в первом положении 12 кодона гена k-RAS, представлены на рисунке 2.

При тестировании мутаций BRAF и k-RAS в группе МГНГ у пациентов определен нормальный генотип, возможно мутации не были выявлены по причине относительно небольшого количества плазматических клеток в исследуемых образцах.

Моноклональная гаммапатия неуточненного генеза характеризуется наличием менее 10% опухолевых плазматических клеток в костном мозге. Диагноз ММ подтверждается при обнаружении 10 и более процентов плазматических клеток в костном мозге. Однако у 3-5% пациентов с ММ при аспирационном исследовании костного мозга выявляется менее 10% плазматических клеток, что не противоречит диагнозу ММ при наличии других признаков заболевания [12]. Но при очаговом или диффузно-очаговом поражении костного мозга при ММ величина опухолевого клона при аспирационной биопсии может значительно варьировать, особенно у лиц пожилого возраста (составляют основную массу пациентов с ММ и МГНГ), что требует проведения дополнительных исследований, таких как гистологическое исследование костного мозга с выполнением иммуногистохимического исследования. Применение иммуногистохимического метода (ИГХ) с использованием специфических моноклональных антител улучшает выявление клональных плазматических клеток не только при ММ, но и при МГНГ, когда в костном мозге при аспирационной биопсии они отсутствуют. Благодаря этому можно дать оценку степени опухолевой нагрузки при данных заболеваниях.

В нашей группе исследования всем пациентам было проведено гистологическое исследование трепанобиоптата, выполнены иммуногистохимические реакции с антителами CD138, CD56 CD34 с исследованием легких цепей иммуноглобулинов – каппа и лямбда.

При морфологическом исследовании трепанобиоптата у пациентов с ММ объем поражения костного мозга опухолевыми плазматическими клетками соответствовал клинической стадии развития. Количество незрелых опухолевых плазматических клеток увеличивалось со стадией процесса. При начальных проявлениях ММ преобладал интерстициальный тип поражения костного мозга, множественные скопления плазматических клеток в виде паратрабекулярных пластов, узелков или тотального поражения были выявлены у пациентов во II и III стадии. Что касается МГНГ, то у 50% пациентов с выявленными при гистологическом исследовании костного мозга aberrantными или клональными плазматическими клетками они располагались по отдельности или в виде небольших скоплений и имели признаки повышенной васкуляризации (CD34+).

При микроскопическом исследовании препаратов костного мозга после иммуногистохимической реакции с антителами к CD138 в позитивных клетках отмечалось появление интенсивного окрашивания цитоплазмы и ядра в темно коричневый цвет

(рисунок 3). Интенсивность окрашивания варьировала в зависимости от степени инфильтрации костного мозга плазмочитами.

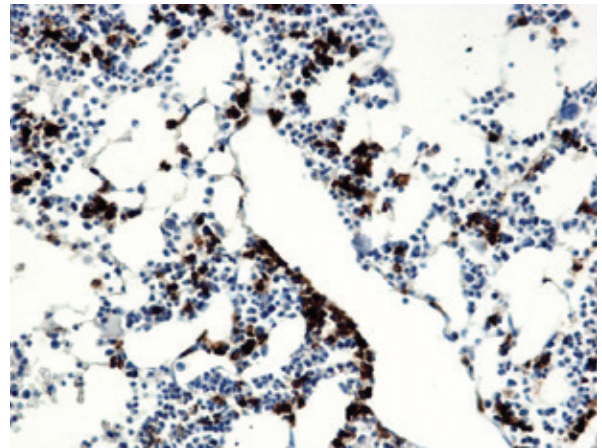
После иммуногистохимической реакции с антителами к kappa-цепям при МГНГ наблюдалось диффузное окрашивание цитоплазмы клеток, напоминающих своей морфологией атипические плазматические клетки, кроме того, отмечено, что некоторые участки мембран стромальных клеток также имели позитивную реакцию с данным антителом (рисунок 4), что может рассматриваться в качестве раннего признака опухолевого процесса.

Иммуногистохимическая реакция с антителами к lambda-цепям вызывала диффузное окрашивание цитоплазмы единичных клеток различной интенсивности, в этом случае также отмечалось наличие позитивной реакции в участках мембран стромальных клеток (рисунок 5).

При прогрессировании ММ и МГНГ отмечался рост стромы и повышение васкуляризации костного мозга ($CD34^+$), особенно в очагах скопления плазматических клеток. Так же при диффузном поражении костного мозга опухолевыми плазматическими клетками отмечалось нарушение костномозгового гемопоэза (появление фиброза и снижение миелоидного гемопоэза).

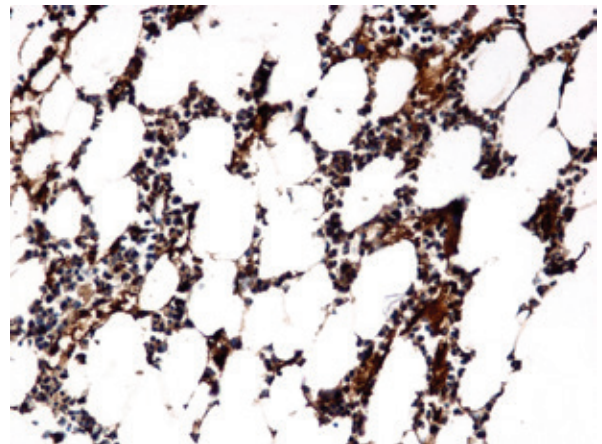
Было установлено, что у части пациентов МГНГ (12%), несмотря на отсутствие аберантных или клональных клеток при аспирационной биопсии, определялась инфильтрация опухолевыми плазматическими клетками ($CD138^+$) при иммуногистохимическом исследовании. Это может иметь существенное значение для первичной диагностики, поскольку количество плазматических клеток в миелограмме у пациентов с ММ не всегда превышает 20%, а при МГНГ составляет менее 10%.

До настоящего времени выявляемый процент плазматических клеток в миелограмме используется как один из основных или абсолютных критериев диагноза ММ. Но использование гистологического исследования трепанобиоптата с выпол-



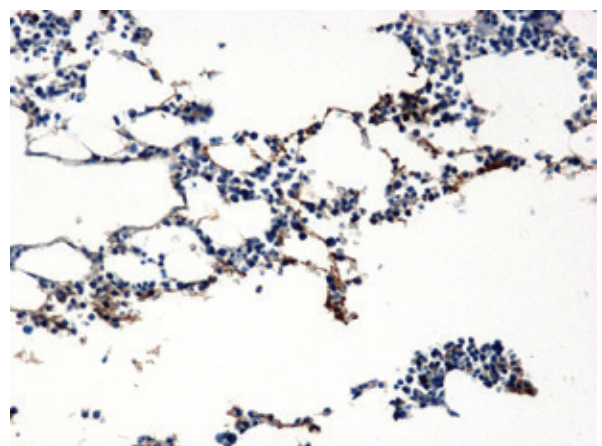
Иммуногистохимическая реакция с CD138. Контр-окрашивание: гематоксилин Майера

Рисунок 3 – Инфильтрация стромы костного мозга $CD138^+$ клетками



Иммуногистохимическая реакция с kappa антителом. Контр-окрашивание: гематоксилин Майера

Рисунок 4 – Инфильтрация стромы костного мозга $kappa^+$ клетками



Иммуногистохимическая реакция с lambda антителом. Контр-окрашивание: гематоксилин Майера

Рисунок 5 – Инфильтрация стромы костного мозга $lambda^+$ клетками

нением иммуногистохимии позволит выявлять уже на ранних этапах опухолевую инфильтрацию. Благодаря проведенным гистологическим исследованиям была выявлена группа пациентов с ранними признаками опухолевой прогрессии (при их отсутствии в костном мозге при цитологическом исследовании), что позволило их отнести в группу высокого риска с более частым наблюдением.

В последние годы одним из объектов изучения является исследование участия цитокинов в опухолевой прогрессии. В нашем исследовании у всех пациентов ММ с выраженной экспрессией CD138 при иммуногистохимическом исследовании отмечалось значимое превышение показателей ФНО, интерлейкина-6, интерлейкина-8 и чаще определялась секреция легких цепей лямбда ($p < 0,001$). В группе МГНГ выявлена сильная положительная корреляция между повышенной продукцией легких цепей каппа в крови и их экспрессией в костном мозге ($p < 0,001$; $R = 0,790$), а так же между уровнями IL-6 и IL-8 в периферической крови ($p < 0,001$; $R = 0,785$), что может объясняться наличием опухолевого клона, секретирующего цитокины. За время наблюдения у двоих пациентов МГНГ с данными характеристиками заболевание трансформировалось во ММ.

Фактор некроза опухоли (ФНО- α) по мнению различных авторов влияет на систему остеокластогенеза, приводя к активации остеокластов. В нашем исследовании наблюдалось значительное превышение этого показателя относительно нормального значения у пациентов с ММ (59,5%) и МГНГ (39,1%), что подтверждает данные литературы об участии этого цитокина в повышенной резорбции костной ткани. Сравнительные данные представлены в таблице 4.

Секретируемый моноклональный белок в основном был представлен IgG как при ММ, так при МГНГ (в 49% и 45% случаев соответственно). Среди пациентов с МГНГ уровень М-протеина >15 г/л выяв-

Таблица 4 – Уровни цитокинов в сыворотке крови (Ме (Q₁; Q₃)), пг/мл

	МГ	ММ	Уровень p
IL-2	38,7 (33,7; 45,6)	38,7 (31,8; 43,4)	0,715
IL-6	4,7 (3,0; 8,0)	7,0 (3,6; 9,1)	0,299
IL-8	39,1 (25,3; 59,5)	43,7 (9,2; 62,9)	0,855
TNF	54,9 (41,7; 59,3)	60,7 (30,5; 72,7)	0,384

лен у 80%, >20 г/л – у 14%. Лишь у 3% пациентов его содержание превышало 30 г/л, при этом за период наблюдения у всех этих пациентов заболевание трансформировалось в ММ.

Заключение

МГНГ, имея в своем начале неопухолевую природу, но являясь предраковым состоянием, по данным литературы может при определенных условиях трансформироваться во ММ или другие опухолевые заболевания лимфоидного происхождения. В нашем исследовании мы выявили, что пациенты МГНГ с наличием моноклонального М-протеина >30 г/л за период наблюдения спродигировали во ММ. У пациентов, у которых МГНГ трансформировалась в ММ, отмечалась так же повышенная экспрессия CD56 и CD117, что может рассматриваться как один из признаков прогрессии при МГНГ. Выявленное увеличение ФНО- α у пациентов с ММ было связано с наличием множественных очагов деструкций, а в сочетании с повышенной экспрессией CD20 – с наличием множественных мягкотканых компонентов.

Кроме того, риск трансформации у пациентов МГНГ увеличивался с увеличением количества CD138 позитивных клеток в костном мозге при иммуногистохимическом исследовании, особенно при наличии значительного превышения уровней IL-6 и IL-8 в сыворотке крови. При прогрессировании ММ и МГНГ отмечался рост стромы и повышение васкуляризации костного мозга (CD34⁺), преимущественно в очагах скопления плазматических клеток. Так же при диффузном поражении костного мозга опухолевыми плазматическими клетками

отмечалось нарушение костномозгового гемопоэза – появление фиброза и снижение миелоидного гемопоэза.

Наличие дополнительных критериев – мутаций генов и хромосомных изменений при ММ у наших пациентов было связано с неблагоприятным прогнозом течения заболевания, что подтверждает данные литературы.

Несмотря на относительно небольшой период наблюдения за пациентами, установлена целесообразность совместного выполнения аспирационной биопсии костного мозга и трепанобиопсии крыла подвздошной кости с целью определения объема поражения костного мозга опухолевыми плазматическими клетками при диагностике ММ на раннем этапе развития – стадии МГНГ, особенно при наличии в костном мозге менее 20% плазматических клеток. Полученные нами данные помогут выделить среди пациентов с МГНГ группы риска для более частого наблюдения с целью своевременного начала лечения и предупреждения развития осложнений.

Работа выполнена при финансировании Инновационным фондом Гомельского областного исполнительного комитета.

Библиографический список

1. Agarwal, A. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Smoldering Multiple Myeloma: A Review of the Current Understanding of Epidemiology, Biology, Risk Stratification, and Management of Myeloma Precursor Disease / A. Agarwal, I.M. Ghobrial // Clin. Cancer Res. – 2013. – Vol. 19, № 5. – P. 985-994.
2. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance / R.A. Kyle [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2006. – Vol. 354, № 13. – P. 1362-1369.
3. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management / R.A. Kyle [et al.] // Leukemia. – 2010. – Vol. 24, № 6. – P. 1121-1127.
4. Zingone, A. Pathogenesis of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Progression to Multiple Myeloma / A. Zingone, W.M. Kuehl // Semin. Hematol. – 2011. – Vol. 48, № 1. – P. 4-12.
5. Rajkumar, S.V. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment / S.V. Rajkumar, S. Kumar // Mayo Clin. Proc. – 2016. – Vol. 91, № 1. – P. 101-119.
6. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders / B. Paiva [et al.] // Cytometry B. Clin. Cytom. – 2010. – Vol. 78, № 4. – P. 239-252.
7. The Assessment of CD56 and CD117 Expressions at the Time of the Diagnosis in Multiple Myeloma Patients / F. Ceran [et al.] // Turkish J. Hematol. – 2017. – Vol. 34, № 3. – P. 226.
8. Prevalence of myeloma precursor state monoclonal gammopathy of undetermined significance in 12372 individuals 10-49 years old: a population-based study from the National Health and Nutrition Examination Survey / O. Landgren [et al.] // Blood Cancer J. – 2017. – Vol. 7, № 10. – P. e618-e618.
9. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells / E. Pérez-Persona [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 110, № 7. – P. 2586-2592.
10. Widespread Genetic Heterogeneity in Multiple Myeloma: Implications for Targeted Therapy / J.G. Lohr [et al.] // Cancer Cell. – 2014. – Vol. 25, № 1. – P. 91-101.
11. High incidence of N and K-Ras activating mutations in multiple myeloma and primary plasma cell leukemia at diagnosis / S. Bezieau [et al.] // Hum. Mutat. – 2001. – Vol. 18, № 3. – P. 212-224.
12. Conventional diagnostics in multiple myeloma / J.F. San Miguel [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2006. – Vol. 42, № 11. – P. 1510-1519.

**Zh. Kozich, V. Martinkov, D. Zinovkin, A. Silin, M. Zhandarov,
Zh. Pugacheva, L. Korotaeva, L. Smirnova**

**LABORATORY AND CLINICAL SIGNS OF PROGRESSION
MONOCLONAL GAMMAPATHY OF UNDETERMINED
SIGNIFICANCE AND MULTIPLE MYELOMA IN PATIENTS**

Multiple myeloma (MM) is one of the dyscrasia of lymphoid origin, the terminal differentiation of B-lymphocytes – plasma cells. In its development, MM undergoes a stage of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering or asymptomatic myeloma. One of the important aims of the diagnosis of multiple myeloma (MM) is its diagnosis in the early stages, with the possible determination of prognostic factors of progression. Determination of prognostic factors based on a study of immunophenotypic markers of progression, the microenvironment of bone marrow cells, may help to initially identify patients of risk groups for progression, which is important in terms of time of starting specific therapy.

In this article, we have analyzed clinical and laboratory data, data on immunophenotypic, cytogenetic, molecular genetic and histological methods for examining patients in the early stages of development – MGUS and at newly diagnosed MM.

Key words: *monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, risk factors for progression*

Поступила 20.08.2019