

Агилова Юлия Николаевна

**РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ И КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ В  
ПРОГРЕССИРОВАНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ**

14.03.03 – патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Иркутск - 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт медицинских Проблем Севера» (г. Красноярск).

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук,

член-корреспондент РАН, профессор

доктор медицинский наук

**Манчук Валерий Тимофеевич**

**Смирнова Ольга Валентиновна**

**Официальные оппоненты: Лепехова Светлана Александровна** - доктор биологических наук (ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, научный отдел экспериментальной хирургии с вивариумом, заведующая).

**Корытов Леонид Иннокентьевич** - доктор медицинских наук, профессор (ФГБУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной физиологии, профессор).

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Томск).

Защита состоится «29» января 2015 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д **001.038.02** при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г.Иркутск, ул.Тимирязева, д. 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте [www.nzmedek.ru](http://www.nzmedek.ru) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_2014г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук,

профессор

**Шолохов Леонид Федорович**

## Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы.** Множественная миелома (ММ) - заболевание системы крови, обусловленное злокачественной пролиферацией плазматических клеток, с последующей инфильтрацией ими костного мозга, наличием моноклонального иммуноглобулина (М-протеина), остеолитическими поражениями костей и развитием почечной недостаточности (Kastritis, E., 2014).

По данным классификации REAL (1994г.) – болезнь относится к периферическим В-клеточным лимфоидным опухолям низкой степени злокачественности. В среднем частота заболеваемости составляет 3 на 100000 населения в год, при этом отчетливо прослеживается связь с возрастом. У больных старше 60 лет заболеваемость регистрируется у 37 на 100000 населения (Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В. и др., 1997). Каждый год в России регистрируется около 20000 новых случаев заболевания ММ. Средний возраст больных составляет 62 года (Воробьева А. И., 2003). В последнее время увеличилось число больных моложе 40 лет, так по данным Воробьева А.И. (2003г) до 5% от всех случаев заболеваний приходится в этой возрастной группе. В целом за последние годы отмечается увеличение общего числа случаев заболеваний ММ.

Согласно классификации выделяют 5 иммунохимических вариантов ММ в зависимости от продуцируемого иммуноглобулина: G, A, D, E, а также несекретирующая миелома, при которой иммуноглобулины не выделяются (Вотякова, О.М., 2010). Наиболее прогностически благоприятным вариантом считается ММ G-иммунохимического варианта.

На сегодняшний день современные способы лечения, безусловно, способствуют увеличению продолжительности и повышению качества жизни больных ММ, все-таки успехи в терапии этого заболевания отстают от уровня, достигнутого в отношении других злокачественных опухолей кроветворной системы (Корман Д.Б., 2010). Общая продолжительность жизни больного от момента постановки диагноза до гибели не превышает 8 лет, при этом медиана выживаемости составляет 4,5 года. На первом месте среди причин смертности стоят инфекционные осложнения (Волкова М.А., 2001). Инфекционно-воспалительные процессы способствуют прогрессированию онкологического заболевания, значительно утяжеляя состояние больного. Даже адекватная антибактериальная терапия не всегда

способствует купированию этих осложнений. Таким образом, инфекционные осложнения являются неблагоприятным прогностическим фактором в прогрессировании ММ.

Несмотря на ряд проведенных исследований, многое в патогенезе ММ не изучено. До конца не определены взаимосвязи между злокачественной опухолью и особенностями реагирования иммунной системы. Отсутствуют исследования, в которых изучались комплексно особенности врожденного, адаптивного иммунитета, не проводилось одномоментное исследование неспецифического, регуляторного, клеточного, гуморального звеньев иммунной системы в зависимости от стадий заболевания и наличия осложнений.

**Цель работы.** Выявить молекулярные и клеточные механизмы прогрессирования множественной миеломы и разработать метод прогнозирования развития инфекционных осложнений у больных множественной миеломой.

**Задачи исследования:**

1. Изучить особенности взаимосвязей показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных множественной миеломой в зависимости от стадии заболевания и поражения почек.

2. Дать характеристику спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных множественной миеломой в зависимости от стадии заболевания и поражения почек.

3. Оценить роль и значимость изменения концентраций ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-альфа, гамма-интерферона в зависимости от стадии заболевания у больных множественной миеломой.

4. Разработать инновационные патогенетически обоснованные способы прогнозирования инфекционных осложнений у больных множественной миеломой.

**Научная новизна.** Впервые, на современном методическом уровне показана важная роль иммунной системы в развитии и прогрессировании множественной миеломы в зависимости от стадии заболевания. У больных множественной миеломой вне зависимости от стадии заболевания выявляется угнетение клеточного и гуморального звеньев иммунитета. У больных множественной миеломой развивается комбинированный, вторичный Т, В – клеточный иммунодефицит. Нарастают признаки недостаточности В-лимфоцитарного звена. Уровень НК-клеток снижается

на всех стадиях заболевания. На II стадии заболевания характерен дисбаланс в клеточном звене иммунитета и однонаправленная активация нейтрофильных гранулоцитов. На III стадии – увеличение спонтанной при снижении индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов. При поражении почек функциональные свойства нейтрофильных гранулоцитов значительно снижаются.

Приоритетными являются сведения о том, что одним из механизмов способствующих развитию инфекционных осложнений является цитокинопосредованная иммуносупрессия, с преобладанием провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-8, ФНО-альфа, гамма интерферон) над противовоспалительными (ИЛ-4) и девиацией клеточного иммунного ответа по Th-1-типу.

На основании выявленных механизмов развития инфекционных осложнений разработан и обоснован способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных множественной миеломой (заявка на патент №2014124794 от 17.06.2014).

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты исследования, выводы являются способом для оптимизации диагностики и лечения больных ММ и выступают в качестве дополнительных критериев полученные, в результате исследования, данные углубляют теоретическое представление о патогенезе ММ. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в рабочий процесс Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинских Проблем Севера» (г. Красноярск) в лабораторию клинической патофизиологии и аллергологии, для обучения клинических ординаторов и использованы при обучении студентов, магистров Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского Федерального Университета (г. Красноярск).

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Важную роль в прогрессировании множественной миеломы играют молекулярные и клеточные изменения в клеточном, гуморальном и неспецифическом звеньях иммунитета. Молекулярные и клеточные нарушения характеризуются дисбалансом, проявляющимся во всех звеньях иммунитета. Угнетение клеточного,

гуморального иммунитета и изменение хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов зависят от стадии заболевания и поражения почек.

2. Одним из ведущих механизмов, способствующих возникновению инфекционных осложнений при ММ является цитокинопосредованная иммуносупрессия, обусловленная нарушением соотношения концентраций про- и противовоспалительных цитокинов.

3. Разработан и обоснован новый способ диагностики инфекционных осложнений у больных ММ, основанный на оценки соотношений про- (ИЛ-2, ФНО-альфа) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4).

**Личный вклад автора.** Автором сформулирована рабочая гипотеза, осуществлялся отбор больных и практически здоровых лиц для исследования, проведены иммунологические исследования, выполнена статистическая обработка данных, их интерпретация, подготовка публикаций, диссертации и заявки на изобретение.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации представлены на заседаниях лаборатории патологической физиологии и аллергологии ФГБНУ «НИИ медицинских Проблем Севера», г. Красноярск (2012, 2013, 2014г.), на межлабораторном заседании ФГБНУ «НИИ медицинских Проблем Севера» (Красноярск, 2014г.). Основные положения изложены на X научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (Красноярск, 2012 г.), на XI научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (Красноярск, 2013 г.), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы долголетия» (Красноярск, 2014 г.), на XII научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (г. Красноярск, 2014 г.), на итоговой конференции «Вопросы сохранения и развития здоровья населения севера и Сибири» (г. Красноярск, 2014 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук. Оформлена заявка на изобретение «Прогнозирование течения инфекционных осложнений при ММ на разных стадиях заболевания» (№ 2014124794 от 17.06.2014).

**Структура и объем диссертации.** Материал диссертации изложен на 137 страницах машинописного текста, иллюстрирован 15 рисунками, 19 таблицами. Работа состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы. Список литературы состоит из 219 источников, в том числе 132 отечественных и 87 зарубежных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

#### **1. Материал исследования**

Работа производилась в гематологическом отделении Красноярской Краевой клинической больницы №1 (главный врач, Корчагин Е.Е.) и лаборатории клинической патофизиологии и аллергологии ФГБНУ НИИ «Медицинских проблем Севера» (зав. лабораторией, д.м.н. Смирнова О.В.). Контрольная группа, состоящая из 125 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных больных была отобрана при профилактических осмотрах в ЛПУ города Красноярска. Обследование больных и практически здоровых людей проводилось с разрешения этического ФГБНУ НИИ «Медицинских проблем Севера», при этом каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование.

Объектом исследования явились 101 больной ММ G- иммунохимического варианта. Диагноз верифицировался по результатам клинического и лабораторного исследования. Идентификацию G-варианта ММ проводили методом иммунофенотипирования (г. Новосибирск). Диагноз подтвержден сочетанием диагностических критериев. Степень поражения костей подтверждалась рентгенологическими исследованиями и МРТ. Объектом исследования была венозная кровь, которая бралась утром с 8 до 9 часов, натошак из локтевой вены в пробирки с гепарином при поступлении в стационар, до назначения патогенетической терапии.

#### **2. Общая характеристика обследованных пациентов**

В клиничко-лабораторное исследование включались больные диффузно-очаговой ММ G- иммунохимического варианта от 40 до 76 лет, поступившие в отделение впервые. Отбор больных производился методом случайной выборки по мере поступления в гематологическое отделение Краевой клинической больницы № 1 г.Красноярска с 2011-2013г. При поступлении врачами гематологами у больных собирался анамнез, и анализировались данные объективного осмотра, отражающие их

общее состояние. Все больные согласно классификации Durie, Salmon (1975 г.) были разделены на стадии. Больные ММ на II стадии характеризовались уровнем гемоглобина (Hb) — 85–100 г/л, IgG — 50–70 г/л., средним размером опухолевой массы от 0,6 кг до 1,2 кг, уровнем кальция в сыворотке менее 12 мг/100 мл, наблюдался остеолитический или солитарный костный очаг. Для больных на III стадии - максимально высокая опухолевая масса (1,2 кг), гемоглобин ниже 85 г/л, уровень кальция в сыворотке более 12 мг/100 мл, выраженный остеодеструктивный процесс, высокий уровень М-компонента (IgG менее 70 г/л, IgA менее 50 г/л, ВJ в моче менее 12 г/сут). На каждой стадии было выделено дополнительно две подгруппы: А- без поражения почек, В- с поражением почек. Деление на А или В варианты в зависимости от функции почек проводилось в зависимости от содержания креатинина в сыворотке крови. Если функции почек снижены, то больных относили в В стадию. I А, II А, III А — содержание креатинина в сыворотке крови < 177 ммоль/л. I В, II В, III В — содержание креатинина в сыворотке крови > 177 ммоль/л. Почечные осложнения являются наиболее серьезными и частыми проявлениями на стадиях и являются одной из причин смерти пациентов.

Средний возраст больных ММ составил  $60,53 \pm 6,78$  лет. Среди 101 обследованных больных ММ - мужчин 39 %, 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) (рис.2). При поступлении у 16 (16,16%) выявлялись поражения почек, на II стадии 8 больных, на III так же 8 больных [153]. У 93 человек (93,93%) – имелись очаги деструкции в костях. За период клинического наблюдения в гематологическом отделении у 46% развились инфекционные осложнения.

Соотношение мужчин и женщин по стадиям составило: IIА стадия – 58 больных из них 42 женщины и 16 мужчин, на IIIА стадии – 27 больных, из них 14 женщины и 13 мужчин. С поражениями почек на IIВ стадии – 8 больных, из которых 4 женщины и 4 мужчины, на IIIВ стадии – 8 больных, из них 2 женщины и 6 мужчин.

Больные в возрасте 40-50 лет составили – 10 человек, 51-60 лет – 37 человек, 61-70 лет – 41 человек, 71-76 лет – 13 человек. Распределение больных по возрасту показало, что на II стадии заболевания находились 65,65% исследуемых больных, а на III стадии 35,35%. Возрастные данные соответствуют литературным описаниям и подтверждает, что ММ относится к болезням пожилого возраста. Иммунологические

исследования проводились на базе лаборатории клинической патологической физиологии и аллергологии ФГБНУ НИИ «Медицинских проблем Севера» (зав. лабораторией, д.м.н. Смирнова О.В.). Анализ полученных результатов проводился по группам в зависимости от стадии и осложнений течения заболевания. Характеристика групп дается по ходу изложения материала.

### **3. Иммунологические методы исследования**

Метод иммунофенотипирования (ИФТ) широко применяется для диагностики заболеваний, оценки эффективности терапии и выявления минимальной остаточной болезни. При исследовании иммунного статуса применялся метод непрямой иммунофлуоресценции с помощью моноклональных антител к CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>. (ООО «Сорбент» г.Москва). Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли соотношение (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>), лейко-Т-клеточный (Лейкоциты /CD3<sup>+</sup>), лейко-В-клеточный (Лейкоциты/CD19<sup>+</sup>) индексы, а также индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>) (Земсков А.М., Земсков В.М., 1994).

Выделение лимфоцитов производили центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографин ( $\rho=1,077$ ) по методу А.Войум (1968). Концентрацию Ig классов А, М, Е и G в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом (ИФА). Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по уровням относительного синтеза IgA (IgA/CD19<sup>+</sup>), IgE (IgE/CD19<sup>+</sup>), IgG (IgG/CD19<sup>+</sup>), IgM (Ig M/CD19<sup>+</sup>) (Земсков А.М., Земсков В.М., 1994). Уровни ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-альфа, гамма интерферон в сыворотке крови больных и здоровых лиц определяли так же ИФА с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Используемый твердофазный метод иммуноанализа основан на принципе «сэндвича». Концентрацию Ig (А,М,G) в пробах определяют по калибровочному графику. Уровни содержания цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-альфа, интерферона гамма) изучались ИФА с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

### **4. Хемилюминесцентный анализ нейтрофильных гранулоцитов**

В качестве метода изучения активности НГ использовался ХЛА спонтанной и индуцированной продукции АФК НГ больных ММ 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 была сформирована база данных.

#### **5. Статистические методы исследования**

По результатам исследования на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MSExcel 2010 была сформирована база данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и MicrosoftExcel, 2007 (Microsoft, США) Для всех данных, определяли среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку средней арифметической ( $m$ ). Оценка достоверности различий средних осуществляли с использованием Т-критерия Стьюдента. Обработка полученных данных включала подсчет непараметрических данных: медианы ( $Me$ ) и персентилей ( $C_{25}-C_{75}$ ). Статистическую значимость различий определяли с использованием критериев Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверки статистических гипотез принимался равным  $p < 0,05$ . Дискриминантный анализ проводился с использованием пошагового метода (F-критерий Фишера). Анализировали группы, сформированные классификатором при дискриминантном анализе, по непараметрическим показателям.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

В ходе нашего исследования было выявлено, что большинство больных находились в возрастном диапазоне от 51 до 70 лет, при том количество женщин превалировало над количеством мужчин (62%). Возрастные данные соответствуют

литературным описаниям и подтверждают, что ММ относится к болезням пожилого возраста. На II стадии заболевания ММ находилось 57 больных, при этом страдали поражениями почек – 8 человек. На III стадии находилось 27 больных ММ, из которых поражения почек отягощало заболевание у 8 больных (8,08%).

В клеточном звене иммунитета на II стадии ММ наблюдается достоверное снижение относительного и абсолютного числа  $CD3^+$ -клеток, достоверное увеличение относительного числа  $CD4^+$ -клеток, достоверное увеличение относительного количества  $CD8^+$ -клеток, абсолютного количества  $CD16^+$ -клеток, относительного количества  $CD19^+$ - клеток и статистически значимое снижения соотношения  $CD4/CD8$ . Наблюдается достоверное снижение зрелых Т-лимфоцитов, снижение  $CD4^+$ - клеток, увеличение цитотоксических лимфоцитов, снижение NK клеток при повышении В-лимфоцитов, и снижение соотношения  $CD4/CD8$  лимфоцитов за счет увеличения последних. На III стадии наблюдается статистически значимое снижение относительного и абсолютного числа  $CD3^+$ -клеток, статистически значимое увеличение относительного значения  $CD8^+$ -клеток, абсолютного значения  $CD16^+$ -клеток, относительного и абсолютного значения  $CD19^+$ - клеток и статистически значимое снижение соотношения  $CD4/CD8$  (табл.1).

При стадиях с поражением почек у больных регистрировались на II стадии следующие молекулярно-клеточные изменения - наблюдается статистически значимое снижение относительного и абсолютного числа  $CD3^+$ -клеток, статистически значимое увеличение относительного числа  $CD4^+$ -клеток, статистически значимое увеличение относительного значения  $CD8^+$ -клеток, абсолютного значения  $CD16^+$ -клеток, относительного значения  $CD19^+$ - клеток и статистически значимое снижение соотношения  $CD4/CD8$  (табл.1).

Таблица №1

**Состояние клеточного звена иммунитета у больных ММ в зависимости от стадии заболевания  
(Me, C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>, p<sub>m-u</sub>)**

Показатели	Контроль, N=125 (1)		Стадия II, N=65 (2)		Стадия III, N=35 (3)	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
Лейкоциты, (10 <sup>9</sup> /л)	5,7	4,82 – 7,47	4,4	3,7 - 5,1	4,5	3,9 – 5,5
Лимфоциты, (%)	38,2	32,2-44,9	28,0	23,00 – 34,00	29,00	25,00– 45,00
Лимфоциты, (10 <sup>9</sup> /л)	2,05	1,52-3,44	1,30	1,00 – 1,75	1,3	1,13 – 2,10
CD3 <sup>+</sup> , (%)	66	60,0 – 72,0	36	30 – 46	48	25 – 57
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
CD3 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	1,19	0,94-2,46	0,43	0,31 – 0,68	0,51	0,60 – 0,33
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
CD4 <sup>+</sup> , (%)	45,0	34,0 – 48,75	65	54-69	56	40-65
			p <sub>1</sub> <0,001			
CD4 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,70	0,50– 1,76	0,85	0,56-1,14	0,61	0,41-1,26
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1,2</sub> <0,001	
CD8 <sup>+</sup> , (%)	27,0	20,0 – 33,75	41	31 – 55	47	21 – 67
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
CD8 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,50	0,30 – 1,11	0,48	0,33 – 0,73	0,75	0,78 – 0,27
CD16 <sup>+</sup> , (%)	20,0	17,0 – 23,0	21	15,0– 37,0	20	11,0 – 31,0
CD16 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,38	0,26 – 0,85	0,27	0,17 – 0,49	0,25	0,13 – 0,58
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,017	
CD19 <sup>+</sup> , (%)	13,5	9,0 – 15,75	24	14 – 31	30	20 – 41
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,001	
CD19 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,25	0,15-0,57	0,24	0,16 – 0,55	0,40	0,27 – 0,88
					p <sub>1</sub> <0,023; p <sub>2</sub> <0,004	
HLA-DR <sup>+</sup> , (%)	15,00	12,00 - 20,00	14,00	11-17	14,00	12-22
HLA-DR <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,26	0,17-0,68	0,19	0,1-0,28	0,23	0,15-0,4

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub>--/- с показателями больных на II стадии

На III стадии с поражением почек наблюдается статистически значимое снижение относительного и абсолютного числа CD3<sup>+</sup>-клеток, статистически значимое увеличение относительного значения CD8<sup>+</sup>-клеток, абсолютного значения CD16<sup>+</sup>-клеток, относительного и абсолютного значения CD19<sup>+</sup>-клеток и статистически значимое снижение соотношения CD4/CD8 (табл.1).

На всех стадиях заболевания MM достоверно снижается абсолютный уровень CD16<sup>+</sup> клеток относительно контроля, что подтверждает уменьшение активности NK-клеток в противоопухолевом иммунитете при данном состоянии. Лейко-Т-клеточный показатель достоверно увеличивается на всех стадиях заболевания, а индекс активации Т-лимфоцитов достоверно снижается также на всех стадиях MM относительно контроля, что еще раз подтверждает развитие Т-клеточного иммунодефицита, обусловленного снижением CD3<sup>+</sup>-клеток у больных. Лейко-В-клеточный показатель наоборот достоверно снижается на всех стадиях MM относительно контроля, особенно значительно на III стадии заболевания, что свидетельствует об активации В-клеточного звена иммунитета при прогрессировании процесса. Проводя комплексные исследования мы выявили разнообразные молекулярно-клеточные аспекты в прогрессировании MM. У больных MM наблюдается Т, В-клеточное угнетение. Наиболее значимыми факторами при MM является снижение зрелых Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), CD4<sup>+</sup>-клеток, NK клеток при повышении В-лимфоцитов, снижение соотношения CD4/CD8 лимфоцитов за счет увеличения последних и увеличение цитотоксических лимфоцитов.

При изучении гуморального звена иммунитета выявили следующие молекулярно-клеточные изменения в соотношении продуцируемых иммуноглобулинов Ig. По мере прогрессирования заболевания у больных наблюдаются изменения в продуцировании Ig основных классов относительно контрольного диапазона, что в свою очередь подтверждает нарушение гуморального звена иммунитета при MM и может приводить к прогрессированию заболевания. Увеличение сывороточной концентрации IgG на всех стадиях заболевания независимо от степени поражения почек относительно контроля, является диагностическим критерием MM – G иммунохимического варианта. Наиболее значимыми факторами в прогрессировании MM на II стадии заболевания

ММ регистрировались статистически значимые изменения Ig - увеличивались концентрации IgG, уровня относительного синтеза IgG/CD19<sup>+</sup>, и статистически значимо уменьшались концентрации IgE и соотношение IgA/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup>. На III стадии заболевания ММ регистрировались статистически значимые изменения иммуноглобулинов - увеличивались концентрации IgG, уровня относительного синтеза IgG/CD19<sup>+</sup>, и статистически значимо уменьшались концентрации IgE и соотношение IgA/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup>. При стадиях с поражением почек наблюдается аналогичная ситуация (табл.5, 6). На IIВ стадии заболевания регистрируются статистически значимые повышения концентрации IgG, уровней относительного синтеза IgG/CD19<sup>+</sup>. Статистически значимо снижается IgE, уровни относительного синтеза IgA/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup>. На IIIВ стадии регистрировалось статистически значимое повышение синтеза IgG и уровней относительного синтеза IgG/CD19<sup>+</sup>. Выявлено статистически значимое снижение IgE, уровней относительного синтеза IgA/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup>, IgE/CD19<sup>+</sup> (табл.2).

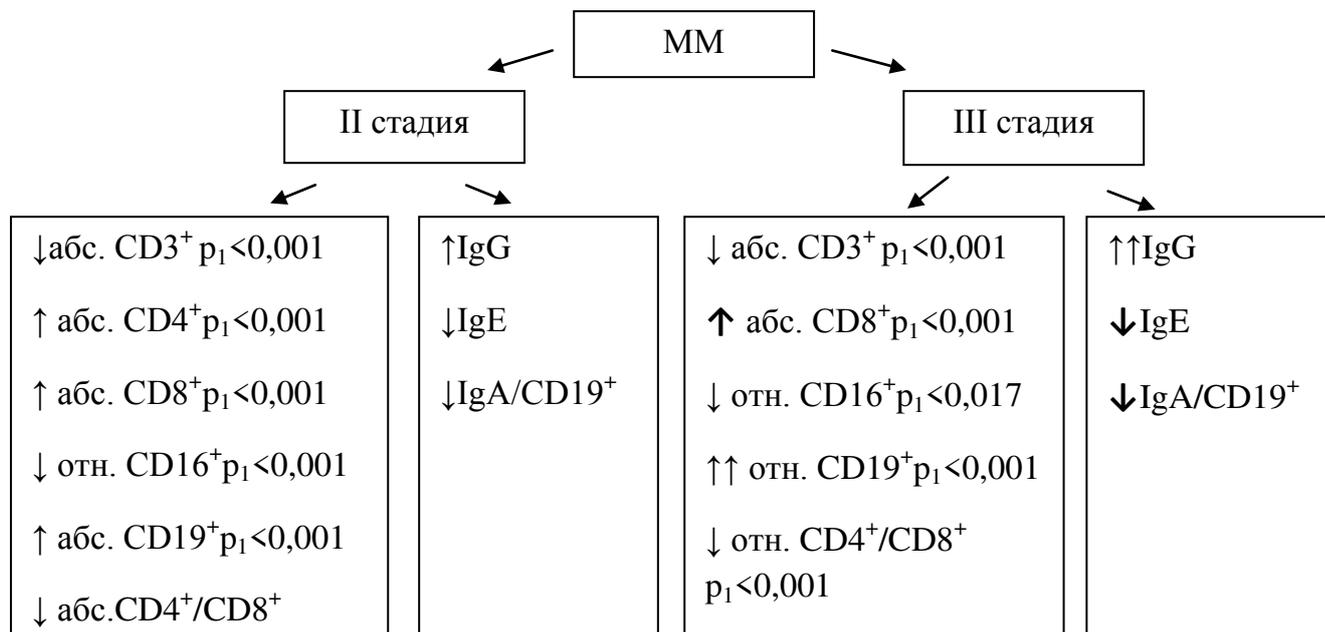
**Таблица №2**

**Состояние гуморального звена иммунитета у больных ММ в зависимости от стадии заболевания (Me, C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>, p<sub>m-u</sub>)**

Показатели	Контроль, N=125(1)		Стадия II, N=65(2)		Стадия III, N=35(3)	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
IgA, (г/л)	1,9	1,25 – 3,17	1,8	1-2,5	2,0	0,5-2,5
IgM, (г/л)	1,2	0,50 – 1,80	1,0	0,5-2,0	1,0	0,5-1,5
IgG, (г/л)	10,0	8,0 – 14,0	24,5	6,0-26,0	72,0	58,0-109,0
			p <sub>1</sub> <0,007		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,001	
IgE, (МЕ/мл)	50,0	10,0-70,0	12,0	6,0-40,0	10,0	4,0-30,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
IgA/CD19 <sup>+</sup> , (нг/клетку)	6,88	4,41-9,76	1,72	0,92-2,68	1,5	0,8-2,39
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
IgM/CD19 <sup>+</sup> , (нг/клетку)	3,62	2,72-6,05	3,63	1,23-9,44	2,20	0,88-3,72
					p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,019	
IgE/CD19 <sup>+</sup> , (нг/клетку)	135,68	91,18-181,22	14,04	6,50-39,47	12,8	4,27-31,33
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
IgG/CD19 <sup>+</sup> , (нг/клетку)	36,73	25,56-54,48	21,11	4,27-33,68	88,76	48,1-230,4
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,001	

Примечание: аналогично таблице №1

Выявленные нами молекулярно-клеточные механизмы в прогрессировании ММ по изменениям клеточного и гуморального звеньев иммунитета представлены на рис. 1.



**Рис.1 Особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета при множественной миеломе**

У больных на II стадии ММ уровни цитокинов ИЛ-2, ИЛ-8, были статистически значимо выше, а уровень ИЛ-4 ниже по сравнению с контрольной группой. В группе больных на III стадии ММ уровни ИЛ-2, ИЛ -8, ФНО-альфа, гамма-интерферона были статистически значимо выше по сравнению с контролем, а уровень ИЛ-4 статистически значимо ниже.

При повреждении почек у больных ММ наблюдаются значительные молекулярно-клеточные изменения в содержании цитокинов. При IIВ стадии ММ статистически значимо увеличиваются уровни ФНО-альфа, ИЛ-2 и гамма-интерферона, и статистически значимо уменьшается уровень ИЛ-4. При IIIВ стадии аналогично увеличиваются значения цитокинов ФНО-альфа, ИЛ-2, ИЛ-8 и гамма-интерферона, и статистически значимо уменьшается значения ИЛ-4 (табл.3).

Разработан способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных множественной миеломой (заявка на патент №2014124794 от 17.06.2014).

Для определения наиболее значимых показателей гуморального, клеточного и неспецифического звеньев иммунитета при развитии инфекционных осложнений и оценки равномерности распределения исследуемых показателей применен дискриминантный анализ (табл.4).

Таблица 3

**Содержание цитокинов у больных ММ в зависимости от стадии заболевания  
(Me, C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>, p<sub>m-u</sub>)**

Показатели	Контроль, N=125 1		Стадия II, N=65 2		Стадия III, N=35 3	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
ФНО (пг/мл)	0,54	0,38-0,87	0,45	0,4 – 3,0	1,0	0,4 – 4,0
					p <sub>1</sub> <0,025	
ИЛ-2 (пг/мл)	1,1	0,5-3,05	8,0	6,0 – 13,0	10,0	7,0 – 15,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	
ИЛ-8 (пг/мл)	2,1	0,5-4,0	3,0	2,0 – 4,0	6,0	3,0 – 20,0
					p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,011	
ИЛ-4 (пг/мл)	7,0	5,6-7,8	1,0	0,5-2,0	0,6	0,2-1,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,016	
Интерферон- гамма (пг/мл)	0,6	0,22-4,0	4,0	3,0 – 15,0	7,0	6,0 – 15,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,001	

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub>--/- с показателями больных на II стадии

Таблица 4

**Величины и статистическая достоверность F-критерий Фишера для  
иммунологических параметров дискриминантной модели больных ММ с  
наличием инфекционных осложнений и без инфекционных осложнения**

Показатели N=101	p-уровень	F-критерий Фишера
ИЛ-4 (пг/мл) – X1	0,027321	3,271142
CD4+, (абс) – X2	0,010175	4,117081
CD19+, (абс) – X3	0,040295	2,942521
ФНО-альфа (пг/мл) – X4	0,019587	3,554302
ИЛ-2(пг/мл) – X5	0,001563	5,776505
IgG(г/л) – X6	0,002297	5,429018

При использовании дискриминантного анализа из 40 вероятных маркеров инфекционных осложнений при ММ отобраны 6 наиболее информативных (содержание ИЛ-2, IgG, ИЛ-4, ФНО-альфа, абсолютное количество CD4+-клеток, абсолютное количество CD19+-клеток.), которые в дальнейшем могут использоваться во врачебной практике. Полученное уравнение канонической величины для больных ММ с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений имеет следующий вид ( $\lambda$  Уилкса=0,062, p<0,005):

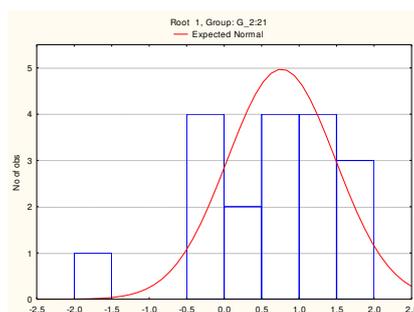
$$F1=-26,58+0,01 \times X1+0,19 \times X2-1,17 \times X3+0,15 \times X4+0,36 \times X5-0,03 \times X6,$$

$$F2=-29,82+0,01 \times X1+0,26 \times X2+0,01 \times X3+0,15 \times X4+0,3 \times X5-0,025 \times X6,$$

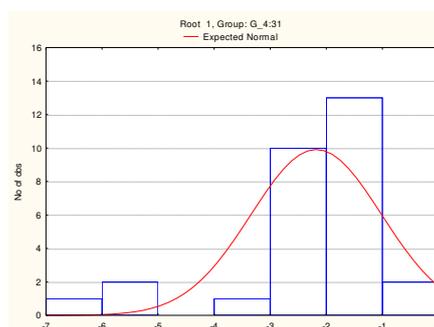
$$F3 = -29,27 + 0,01 \times X1 + 0,27 \times X2 + 0,25 \times X3 + 0,19 \times X4 + 0,2 \times X5 + 0,08 \times X6,$$

$$F4 = -27,53 + 0,01 \times X1 + 0,23 \times X2 + 3,98 \times X3 + 0,08 \times X4 + 0,28 \times X5 + 0,09 \times X6,$$

где  $X1-X6$  – список наиболее информативных составляющих для дискриминации больных ММ с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений (Табд.15). Значения переменных  $X1-X6$  стандартизированы. Больные ММ на II стадии будет относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при  $F2 > F1$ , при  $F1 > F2$  будет относиться к группе больных ММ на II стадии без инфекционных осложнений, соответственно больные ММ на III стадии будет относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при  $F4 > F3$ , при  $F3 > F4$  будет относиться к группе больных ММ на III стадии без инфекционных осложнений. Расстояние Махаланобиса составило 5,01 ( $p > 0,0001$ ), свидетельствующие о значимом различии между группами. Точность диагностики в среднем имеет достоверность 89,1%. Графическое распределение пациентов по каноническим величинам представлены на рис. 2,3.



**Рис. 2. Распределение больных ММ на II стадии с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной каждого больного**

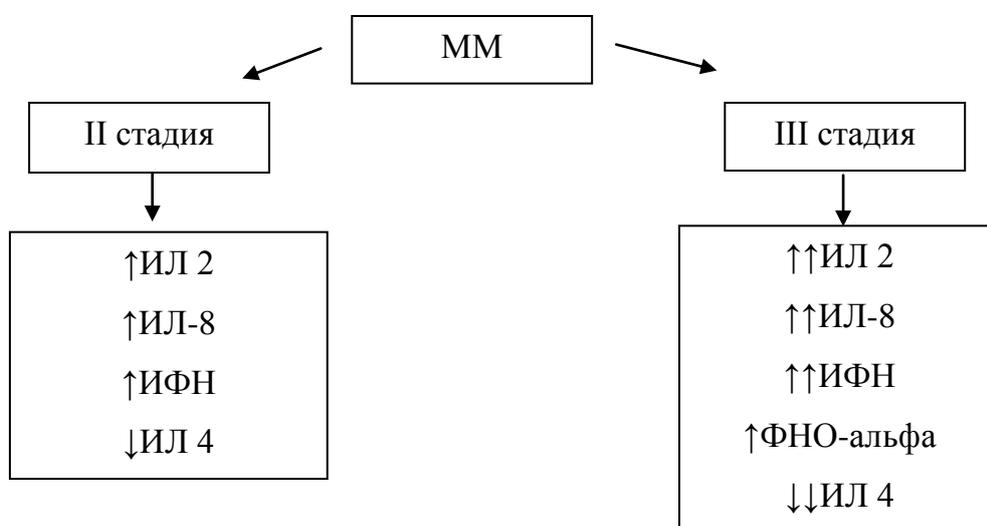


**Рис. 3 Распределение больных ММ на III стадии с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной каждого больного**

Уровень значимости  $F(48,244) = 4,6378$   $p < 0,00001$  позволяет делать вывод об адекватности построенной модели реальному процессу, показателя являются основой для разработки способа прогнозирования инфекционных осложнений у

больных ММ на разных стадиях заболевания, и является экономически выгодной. Способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных ММ путем исследования крови, отличающийся тем, что в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяют уровни провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа) и интерлейкина-2 (ИЛ-2) и уровень противовоспалительного цитокина — интерлейкина-4 (ИЛ-4), и при уровне ФНО-альфа выше 0,5пг/мл, ИЛ-2 выше 10пг/мл и ИЛ-4 ниже 0,55пг/мл прогнозируют развитие инфекционных осложнений у больных ММ.

Выявленные нами молекулярно-клеточные механизмы в прогрессировании ММ по особенностям содержания цитокинов представлены на рис. 4.



**Рис. 4 Особенности содержания цитокинов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания**

Предложен новый способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных ММ после химиотерапии (заявка на патент №2014124794 от 17.06.2014).

При исследовании хемилюминесцентной активности НГ выявили, что развитие опухоли в организме больных ММ сопровождается последовательным молекулярно-клеточным изменением и нарушением функциональной активности НГ. Таким образом, на II стадии ММ происходят однонаправленные механизмы активации НГ. Статистически значимо повышались показатели хемилюминесцентной активности, как при спонтанной, так и при индуцированной хемилюминесценции - интенсивность хемилюминесценции, площадь кривой, а также индекс активации и показатели при III стадии заболевания, по сравнению с контрольной группой. Увеличенная индуцированная хемилюминесцентная активность обусловлена активным участием фагоцитов в противоопухолевой

защите организма. На III стадии ММ происходят разноправленные механизмы активации НГ. Статистически значимо повышались показатели, как при спонтанной, так и при индуцированной хемилюминесценции - интенсивность хемилюминесценции, площадь кривой, а также индекс активации, по сравнению с контрольной группой (Табл.5).

**Таблица 5**

**Показатели активности НГ у больных ММ в зависимости от стадии заболевания (Me, C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>, p<sub>m-u</sub>)**

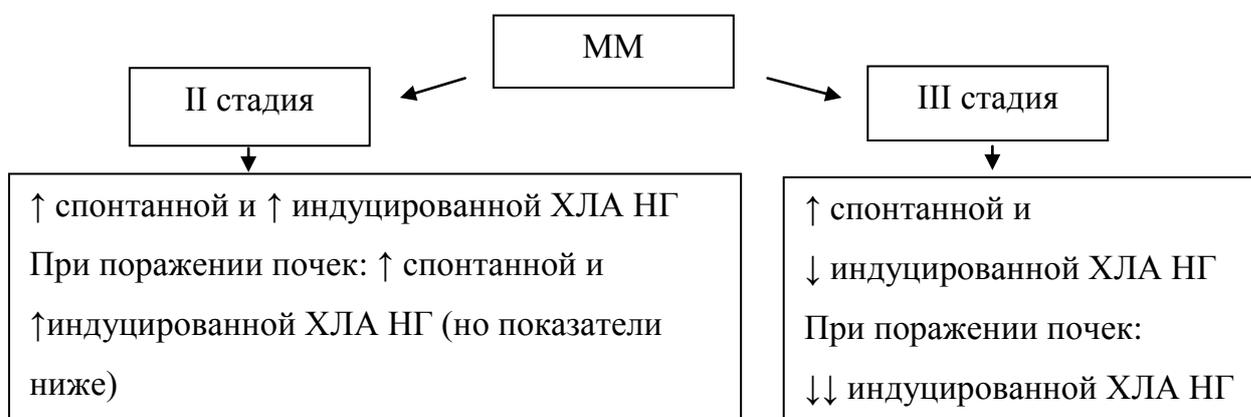
Показатели	Контроль, N=125 1		Стадия II, N=65 2		Стадия III, N=35 3	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
T <sub>max</sub> спонтанная (сек.)	975,0	211,0-1510,0	943,0	564,0-1603,0	790,0	502,0-1374,0
I <sub>max</sub> спонтанная (y.e.)	7720,0	3000,0-19000,0	20135,0	10088,0-52555,0	28213,0	18715,0-51385,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
S <sub>cur</sub> спонтанная(*10 <sup>6</sup> )	0,22	0,15-0,54	3,21	1,15-6,19	2,34	0,14-2,71
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
T <sub>max</sub> индуцированная (сек.)	1102,5	872,0-1800,0	1164,0	765,0-1851,0	1023,0	866,0-1355,0
I <sub>max</sub> индуцированная (y.e.)	17270,0	8000,0-42840,0	47203,0	31200,0-99928,0	31999	16542,0-102201,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>2</sub> <0,001	
S <sub>cur</sub> индуцированная (*10 <sup>6</sup> )	0,4	0,15-0,95	7,24	1,39-10,6	5,01	0,11-8,09
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
Индекс активации	1,3	0,9-2,0	1,9	1,0-3,0	1,72	1,2-2,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p<sub>2</sub>--/– с показателями больных на II стадии

При поражении почек на ПВ стадии заболевания статистически значимо повышались показатели хемилюминесцентной активности, как при спонтанной, так и при индуцированной хемилюминесценции - интенсивность хемилюминесценции, площадь кривой, а также индекс активации, по сравнению с контрольной группой и показателями на ПА стадии заболевания. На ППВ статистически значимо повышались показатели интенсивности спонтанной хемилюминесценции, площадь кривой хемилюминесценции, а также индекс активации, и статистически значимо снижались показатели площади спонтанной хемилюминесценции, интенсивности

индуцированной хемилюминесценции и площади индуцированной хемилюминесценции по сравнению с IIIA стадией заболевания. При поражении почек у больных MM наблюдается увеличение спонтанной и индуцированной хемилюминесценции НГ, но показатели активации НГ ниже, чем у больных MM без поражения почек. Увеличение спонтанной хемилюминесцентной активности НГ при снижении индуцированной хемилюминесцентной активности НГ. При поражении почек регистрируется резкое снижение индуцированной хемилюминесцентной активности НГ, возможно обусловленное длительным воздействием опухоли на НГ и истощением их внутренних резервов (табл.4).

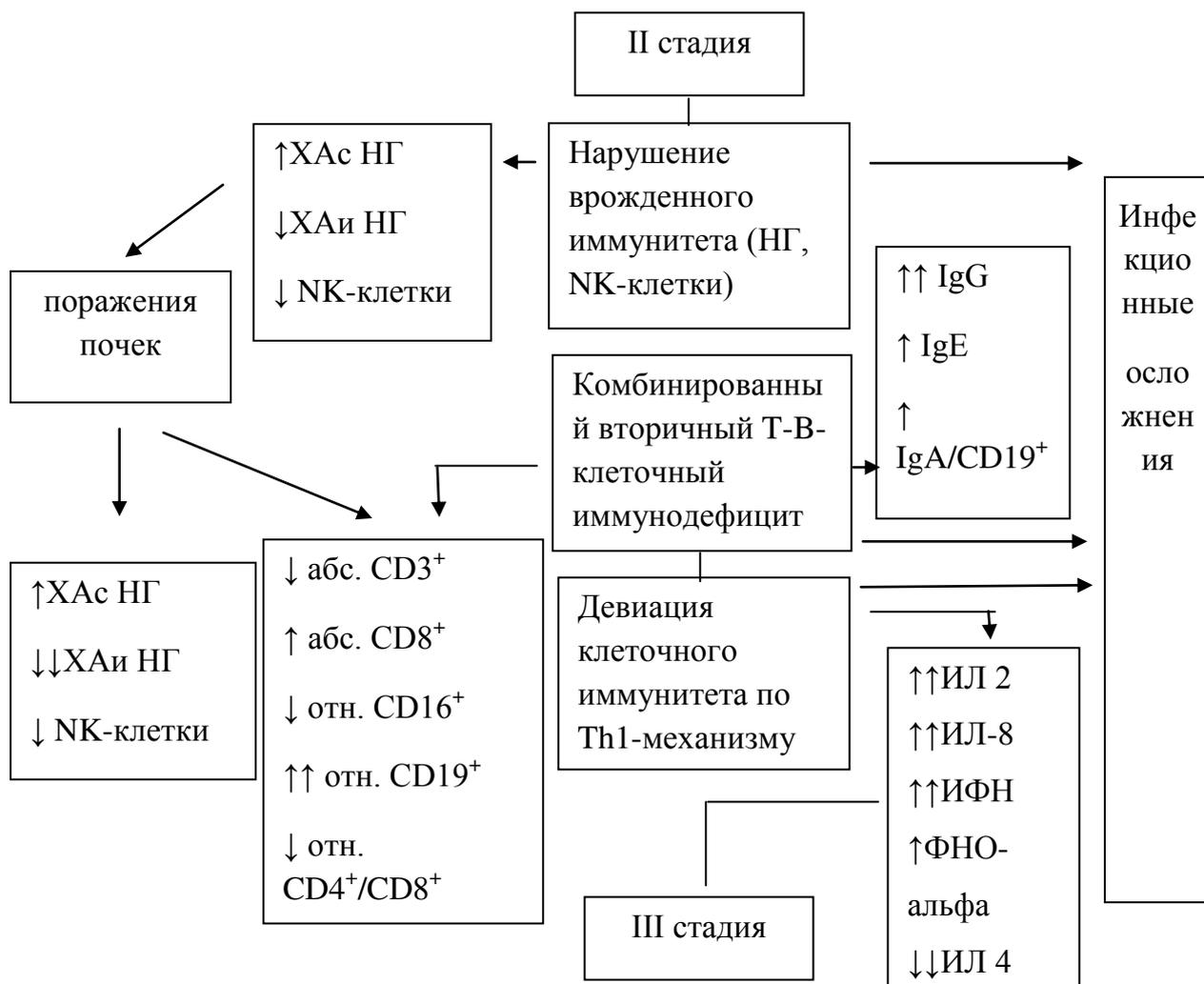
Выявленные нами молекулярно-клеточные механизмы в прогрессировании MM по особенностям хемилюминесцентной активности представлены на рис. 5.



**Рис. 5 Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе**

В целом, по результатам нашего исследования мы определили наиболее значимые молекулярно-клеточные механизмы прогрессирования MM (рис.6):

1. Нарушение врожденного иммунитета – снижение активности НГ и НК- клеток.
2. Развивающийся вторичный комбинированный Т-В – клеточный иммунодефицит.
3. Преобладание провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-8, ФНО-альфа, интерферона-гамма) над противовоспалительными (ИЛ-4).
4. Девиация клеточного иммунного ответа по Th-1 – типу.



**Рис. 6 Молекулярно-клеточные механизмы прогрессирования множественной миеломы**

### ВЫВОДЫ

1. У больных множественной миеломой развивается комбинированный, вторичный Т,В – клеточный иммунодефицит. По мере прогрессирования заболевания снижается уровень CD4<sup>+</sup>-клеток к цитотоксическим лимфоцитам (0,85[0,56-1,14] против 0,61 [0,41-1,26],  $p_{u-m}=0,001$ ). Нарастают признаки недостаточности В-лимфоцитарного звена (0,75 [0,27-0,78] против 0,48 [0,33-0,73],  $p_{u-m}=0,001$ ). Уровень НК-клеток снижается на всех стадиях заболевания (0,27 [0,17-0,49] и 0,25 [0,13-0,58] против 0,38 [0,26-0,85],  $p_{u-m}=0,001$ ).

2. При ММ наблюдаются нарушения в гуморальном звене иммунитета, характеризующиеся изменениями концентраций Ig. Увеличение сывороточной концентрации IgG на всех стадиях болезни относительно контроля является идентифицирующей и подтверждает диагноз ММ-G иммунохимического варианта (24,5 [6,0-26,0] и 72,0 [58,0-109,0] против 10 [8,0-14,0],  $p_{u-m}=0,001$ ).

3. Развитие множественной миеломы сопровождается изменением функциональных свойств периферических НГ, зависящее от стадии заболевания и поражения почек. На II стадии заболевания имеется однонаправленное увеличение спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности НГ (20135,0 [10088,0-52555,0] и 47203,0 [31200,0-99928,0] против 7720,0 [3000,0-19000,0] и 17270,0 [8000,0-42840,0],  $p_{u-m}=0,001$ ) на III стадии – увеличение спонтанной при снижении индуцированной хемилюминесцентной активности НГ (28213,0 [18715,0-51385,0] и 31999 [16542,0-102201,0] против 20135,0 [10088,0-52555,0] и 47203,0 [31200,0-99928,0],  $p_{u-m}=0,001$ ). При поражении почек – показатели активности НГ снижены, особенно индуцированной на IIIВ стадии ( $p<0,001$ ).

4. При множественной миеломе наблюдается дисбаланс провоспалительных ИЛ-2 (8,0 [6,0-13,0] и 10,0 [7,0-15,0] против 1,1 [0,5-3,05],  $p_{u-m}=0,001$ ), ИЛ-8 (3,0 [2,0-4,0] и 6,0 [3,0-20,0] против 2,1 [0,5-4,0],  $p_{u-m}=0,001$ ), ФНО-альфа (0,45 [0,4-3,0] и 1,0 [0,4-4,0] против 0,54 [0,38-0,87],  $p_{u-m}=0,001$ ), гамма-интерферон (4,0 [3,0-15,0] и 7,0 [6,0-15,0] против 0,6 [0,22-4,0],  $p_{u-m}=0,001$ ) и противовоспалительных ИЛ-4 (1,0 [0,5-2,0] и 0,6 [0,2-1,0] против 7,0 [5,6-7,8],  $p_{u-m}=0,001$ ) цитокинов, с преобладанием провоспалительных. Имеется девиация клеточного иммунного ответа по Th1-типу.

5. В ходе дискриминантного анализа были определены наиболее информативные показатели у больных ММ с инфекционными осложнениями: содержание ИЛ-2, IgG, ИЛ-4, ФНО-альфа, абсолютные количества CD4<sup>+</sup>-клеток, CD19<sup>+</sup>-клеток. (% правильной классификации – 82%). Уровень значимости  $F(48,244) = 4,6378$   $p<0,00001$  позволяет делать вывод об адекватности построенной модели реальному процессу.

6. Разработан способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных множественной миеломой: при сочетании уровней содержания цитокинов: ФНО-альфа выше 0,5 пг/мл, ИЛ-2 выше 10 пг/мл, ИЛ-4 ниже 0,55 пг/мл прогнозируется развитие инфекционных осложнений у больных множественной миеломой, специфичность данного метода составила 100%, а чувствительность 98% (заявка на патент №2014124794 от 17.06.2014).

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Статьи в ведущих научных рецензируемых журналах, определенных ВАК Минобрнауки РФ:**

1. Агилова, Ю.Н. Роль цитокинов в прогрессировании миеломной болезни / Агилова Ю.Н., Смирнова О.В., Манчук В.Т. // Врач-аспирант. - 2014.- №1,3 (62). – С. 404-407.

2. Манчук, В.Т. Роль неспецифического иммунитета при прогрессировании миеломной болезни / В.Т. Манчук, О.В. Смирнова, Ю.Н. Агилова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №2. – С. 515.

3. Манчук, В.Т. Состояние иммунного статуса и особенности цитокиновой регуляции у больных на разных стадиях миеломной болезни / В.Т. Манчук, О.В. Смирнова, Ю.Н. Агилова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 1 (часть1). – С. 78-82.

4. Смирнова, О.В. Роль клеточного иммунитета в прогрессировании миеломной болезни / О.В. Смирнова, В.Т. Манчук, Ю.Н. Агилова // Клиническая медицина. – 2014. - № 92(11): -С. 48-52.

### **Публикации в прочих изданиях:**

1. Особенности клеточного иммунитета у больных миеломной болезнью в зависимости от стадия заболевания / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов, Е.В. Васильев // Материалы 10-й Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г. Красноярск, 5-6 июня 2012. – Красноярск. – 2012. - С. 3-4.

2. Особенности функциональной активности нейтрофилов у больных миеломной болезнью в зависимости от стадия заболевания / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов, Е.В. Васильев // Материалы 10-й Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г. Красноярск, 5-6 июня 2012. – Красноярск. - 2012. – С .4-6.

3. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных миеломной болезнью / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов, Е.В. Васильев // Материалы 11-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г.Красноярск, 10-11 июня 2013. – Красноярск. - 2013. - С. 3.

4. Особенности функциональной активности нейтрофилов у больных миеломной болезнью / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов, Е.В. Васильев // Материалы 11-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г.Красноярск, 10-11 июня 2013. – Красноярск. - 2013. - С. 4.

5. Особенности цитокинового профиля у больных миеломной болезнью / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов, Е.В. Васильев // Материалы 11-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г.Красноярск, 10-11 июня 2013. – Красноярск. - 2013. - С. 5.

6. Агилова, Ю.Н. Миеломная болезнь G-вариант: особенности клеточного иммунитета / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов // Материалы 12-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г. Красноярск, 4-5 июня 2014. - Красноярск.– 2014. - С. 40-41.

7. Агилова, Ю.Н. Миеломная болезнь G-варианта: особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов / Ю.Н. Агилова, О.В. Смирнова, В.И. Москов // Материалы 12-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири», г. Красноярск, 4-5 июня 2014. – Красноярск. – 2014, - С. 58-60.

#### **Патенты:**

1. Заявка на изобретение № 2014124794/15 РФ Способ прогнозирования инфекционных осложнений у больных миеломной болезнью / О.В. Смирнова, В.Т. Манчук, Ю.Н. Агилова; заявитель ФГБУ «Научно-исслед. ин-т мед. проблем Севера» СО РАМН. Заявл. 17.06.2014

### **Список условных сокращений**

ИФА – иммуноферментный анализ

ИЛ-1 - интерлейкин 1

ИЛ-6 - интерлейкин 6

ММ – множественная миелома

НГ - нейтрофильные гранулоциты

ХЛА - хемилюминесцентный анализ

ХЛ- хемилюминесценция

Tmax – время выхода на максимум хемилюминесценции

Ig – иммуноглобулин

I<sub>max</sub> - интенсивность хемилюминесценции

Синд - площадь индуцированной кривой хемилюминесценции