

И. О. Стома^{1,2}, В. В. Смольникова², И. А. Искров², И. А. Карпов¹,
В. Ю. Гриневич², И. Ю. Лендина², Е. А. Дерех¹, О. В. Герасимович²

ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СРОКОВ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии
и гематологии»²

В статье приведены результаты клинко-экспериментального исследования о сроках восстановления иммунного ответа на введение конъюгированной пневмококковой вакцины у пациентов гематологического профиля с множественной миеломой после выполнения аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. В контексте значимых успехов в лечении множественной миеломы инфекционные осложнения являются одной из основной причин ранней летальности, при этом 1 из 10 пациентов погибает от инфекций в течение 10 недель от момента установления диагноза. Целью данного исследования было определить клиническую эффективность и оптимальные сроки начала вакцинации у пациентов с множественной миеломой после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Расширенное иммунологическое исследование методом проточной цитофлуориметрии выполнялось у пациентов, включенных в исследование ($n = 37$), до процедуры трансплантации, а также в дни +30, +60, +90, +180 после трансплантации. Далее в клиническом этапе исследования в сопряжённых по возрасту, полу и характеристикам заболевания группах ($n = 18$ иссл., $n = 18$ контр.) оценивался эффект вакцинации конъюгированной пневмококковой вакцины на частоту эпизодов фебрильной нейтропении и пневмоний. Полученные в исследовании иммунологические данные позволяют планировать введение первой дозы конъюгированной пневмококковой вакцины уже через 60 дней после аутологичной ТГСК, при этом вакцинация снижает частоту эпизодов фебрильной нейтропении и пневмоний у пациентов с множественной миеломой.

Ключевые слова: инфекции в гематологии, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, пневмококковая инфекция, вакцинопрофилактика, множественная миелома.

**I. O. Stoma, V. V. Smolnikova, I. A. Iskrov, I. A. Karpov,
V. Yu. Grinevich, I. Yu. Lendina, E. A. Derekh, O. V. Gerasimovich**

IMMUNOLOGICAL BASIS FOR THE TIMING OF PNEUMOCOCCAL VACCINATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA AFTER AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

The article presents the results of a clinical experimental study on the timing of recovery of the immune response to the introduction of conjugated pneumococcal vaccine in patients with a hematological profile with multiple myeloma after performing autologous hematopoietic stem cells transplantation. In the context of significant advances in the treatment of multiple myeloma, infectious complications

are one of the main causes of early mortality, with 1 in 10 patients dying from infections within 10 weeks from the time of diagnosis. The purpose of this study was to determine the clinical efficacy and optimal timing of the start of vaccination in patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic stem cells transplantation. An extended immunological study using flow cytofluorometry was performed in patients included in the study ($n = 37$) before the transplantation procedure, as well as on days +30, +60, +90, +180 after transplantation. Further, in the clinical stage of the study, the effect of vaccination with conjugated pneumococcal vaccine on the incidence rate of febrile neutropenia and pneumonia was evaluated in a multiple myeloma patients cohorts matched by age, sex and disease characteristics of the groups ($n = 18$ cases, $n = 18$ controls). The immunological data obtained in the study allow planning the first dose of the conjugated pneumococcal vaccine 60 days after autologous HSCT, while vaccination reduces the incidence of febrile neutropenia and pneumonia in patients with multiple myeloma.

Key words: infections in hematology, hematopoietic stem cell transplantation, pneumococcal infection, vaccination, multiple myeloma.

На сегодняшний день показатели инфекционной заболеваемости и летальности у пациентов с множественной миеломой (ММ) продолжают впечатлять. Например, в объёмной когорте исследуемых из Великобритании было показано, что 1 из 10 пациентов погибает от инфекционных осложнений в течение 10 недель от момента установления диагноза множественной миеломы [1]. Более того, в шведской когорте из 9253 пациентов с ММ было установлено, что 22 % пациентов погибает от инфекционных осложнений в течение первого года от установления диагноза [2]. Революция в иммунотерапии ММ в настоящее время привело к переписыванию клинической истории этого заболевания. Жизнь пациентов продолжается ощутимо дольше на фоне контроля болезни, будучи основой для функционального излечения ММ, что оценивается как реалистичная и захватывающая перспектива на ближайшие годы. Однако эти захватывающие события не будут полезны фактически для 1 из 10 пациентов, которые продолжают погибать от инфекций в ранние сроки лечения, и по мере того, как улучшаются показатели ответа на терапию ММ, относительный вклад ранних инфекционных осложнений ранних в структуру летальности будет возрастать. Одно из наиболее интересных исследований в отношении профилактики инфекций на фоне терапии ММ новыми агентами посвящено рутинной антибиотикопрофилактике левофлоксацином. Авторы клинического исследования TEAMM, выполняемого в Великобритании, оценивали эффективность однократного приёма 500 мг левофлоксацина ежедневно на протяжении 12 недель интенсивной терапии ММ новыми агентами. При этом качестве точек исхода в анализе были приняты эпизоды фебрильной нейтропении и выживаемость пациентов, при этом к 12 неделям была достигнута статистически значимая разница в выживаемости в пользу группы с антибиотикопрофилактикой в сравнении с группой контроля [3]. Однако, в связи повышенным числом побочных эффектов столь длительного применения антибиотиков и рисков антибиотикорезистентности, вакцинация может быть наиболее безопасной и эффективной мерой профилактики пневмоний у гематологических пациентов, тем более что именно пневмококк занимает ведущее место в структуре инфекционной заболеваемости в гематологии. Нерешённым вопросом является то, когда именно начинать

вакцинацию у пациентов с множественной миеломой после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК), так как значительное число фатальных инфекционных эпизодов (в основном, пневмоний) происходит именно в течение первых 6 месяцев от выполнения трансплантации, а иммуногенность вакцин в этот период может быть снижена. Выше обозначенные вопросы и послужили основой данного клинико-иммунологического исследования.

Материалы и методы

Слабая иммуногенность полисахаридной пневмококковой вакцины у младенцев и короткая продолжительность наличия достаточных уровней защитных антител связана с Т-независимым характером вакцины. Состав рецепторов антител и Т-клеток у взрослых и детей младшего возраста существенно отличается и антипневмококковые антитела ассоциированы с конкретными иммунными субъединицами В-клеток определённых зон селезенки, развитие которых происходит по достижении 2-х летнего возраста. Данная потребность в наличии созревшей селезенки объясняет как повышенную восприимчивость к пневмококковой инфекции детей, так и аспленичных пациентов всех возрастов и пациентов гематологического профиля с иммуносупрессией. Усилия по устранению проблем полисахаридной вакцины привели к разработке пневмококковой конъюгированной вакцины. Ковалентное связывание полисахарида с белковым носителем эффективно превращает Т-независимый тип полисахарида в Т-зависимый антиген, что имеет долгосрочные преимущества в профилактике [4].

Пневмококковая конъюгированная вакцина связывает капсульные полисахариды пневмококка с белком-носителем, что и вызывает включение в иммунный ответ Т-клеток и приводит к улучшению образования В-клеток, созреванию аффинности, а также переключению классов антител и повышению уровней IgG. На сегодняшний день лицензированы два вида антигенного состава конъюгированных вакцин, содержащие 10 или 13 серотипов пневмококка. На мышинной модели исследователи продемонстрировали роль CD4+ клеток (Th2 и Th17) в контроле носительства и инфекции, вызванной пневмококком; Th2-клетки и Th17 – субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов хелперов [5, 6].

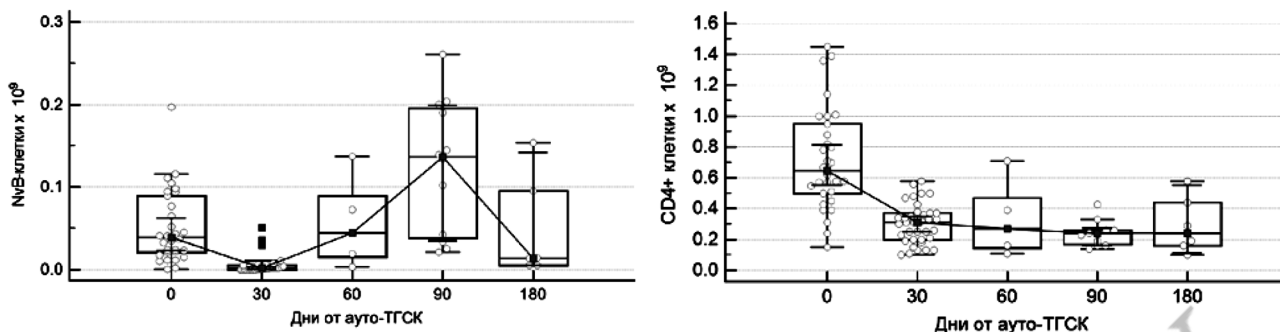


Рис. 1. Динамика восстановления NvB (наивных В-клеток) и CD4+ клеток после ауто-ТГСК

Итак, иммунный ответ на вакцинацию полисахаридной пневмококковой вакциной опосредуется Т-независимым В-клеточным путём. Напротив, иммунный ответ на конъюгированную пневмококковую вакцину основан на Т-зависимой (CD4+) активации В-клеток, что следует учитывать при оценке сроков восстановления иммунитета после ауто-ТГСК у кандидатов на вакцинацию [7]. Основываясь на этих данных, обоснование сроков вакцинации конъюгированной вакциной следует проводить с учётом восстановления уровней следующих В-клеток: NvB (наивных В-клеток) CD19+CD27-IgD+IgM+, MnSw-клетки (memory non-switched В-клеток) CD19+CD27-IgD+IgM+, MSw-клетки (memory switched В-клеток) CD19+CD27-IgD-IgM-. Также планируется определение динамики возврата к норме уровня дендритных клеток моноцитоидной и плазматоидной линий (DC1 и DC2) и их соотношения, как факторов инициации иммунного ответа на вакцинацию (антиген-презентирующих клеток).

Абсолютное количество CD4+ клеток, необходимое для минимального иммунного ответа на конъюгированные вакцины, длительное время обсуждалось, однако на сегодняшний день на основании данных, полученных у пациентов с ВИЧ, показано, что пневмококковая вакцина менее эффективна у пациентов с числом CD4+ клеток до 200 кл/мкл, при этом даже в этой когорте пациентов эффективность вакцинации составила 74 % в случае 7-валентной конъюгированной вакцины. Тем не менее, иммунный ответ на пневмококковую вакцинацию является оптимальным у пациентов с числом CD4+ клеток более 200 кл/мкл, и в случае скорого запланированного восстановления иммунитета вакцинация может быть перенесена [8, 9].

Имунофенотип клеток периферической крови определяли методом восьмичетной проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Vecton Dickinson, США), оснащённом тремя лазерами (488 нм, 633 нм, 405 нм). Данные анализировали в программе FACSDiva версии 6.1.3. Имунофенотипирование выполнялось для всех пациентов включенных в этап исследования: базовый уровень (до трансплантации и кондиционирования), день +30, день +60, день +90, день +180.

Для статистического анализа динамического состава клеточных линий, необходимых для иммунного ответа на вакцинацию применялись методы графического анализа и критерий Краскела-Уоллиса (ANOVA), как непараметрическая альтернатива одномерному (межгрупповому) дисперсионному анализу. Для подробного уточне-

ния характеристик выполнялся апостериорный анализ (англ. post-hoc analysis) по Коноверу.

По результатам динамического анализа иммунологических параметров у 37 пациентов с ММ после ауто-ТГСК было установлено ряд закономерностей (таблица 1, рис. 1–3).

Восстановление NvB-клеток происходит у большинства пациентов с ММ к 60-дню после трансплантации (рис. 1 и таблица 1).

Таблица 1. Динамика восстановления иммунного ответа после ауто-ТГСК по поводу ММ

День	Абс. число пациентов (n)	Ср. значение, [$\times 10^9/\lambda$]	Медиана, [$\times 10^9/\lambda$]
Динамика восстановления NvB (наивных В-клеток)			
0	30	0,0519	0,0390
+30	30	0,0061	0,0019
+60	5	0,0556	0,0447
+90	12	0,1250	0,1368
+180	6	0,0479	0,0139
Динамика восстановления MnSw-клеток (memory non-switched В-клеток)			
0	30	0,0110	0,0070
+30	31	0,0001	0,0001
+60	5	0,0003	0,0002
+90	12	0,0008	0,0005
+180	6	0,0007	0,0003
Динамика восстановления MSw-клеток (memory switched В-клеток)			
0	30	0,0213	0,0145
+30	31	0,0013	0,0004
+60	5	0,0028	0,0034
+90	12	0,0025	0,0016
+180	6	0,0027	0,0012
Динамика восстановления CD4+ клеток			
0	30	0,7167	0,6450
+30	37	0,3041	0,3100
+60	5	0,3280	0,2700
+90	11	0,2418	0,2400
+180	6	0,2933	0,2400
Динамика восстановления дендритных (DC1) клеток			
0	30	0,0511	0,0445
+30	37	0,1087	0,0920
+60	5	0,0882	0,0590
+90	11	0,0507	0,0530
+180	6	0,0860	0,0815

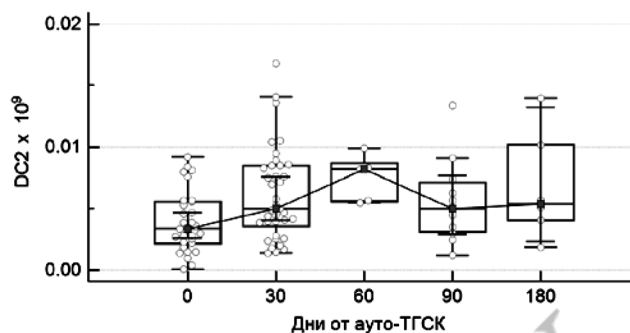
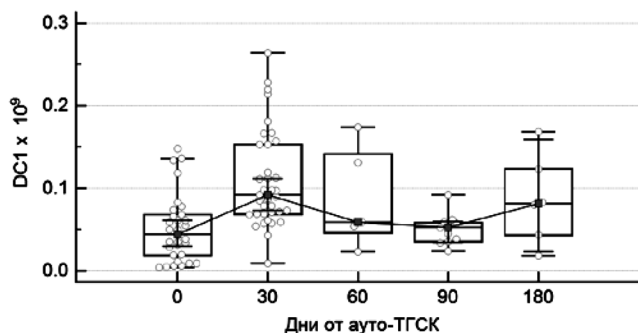


Рис. 2. Динамика восстановления дендритных (DC1 и DC2) клеток после ауто-ТГСК

Окончание таблицы 1

День	Абс. число пациентов (n)	Ср. значение, [*10 ⁹ /л]	Медиана, [*10 ⁹ /л]
Динамика восстановления дендритных (DC2) клеток			
0	30	0,0039	0,0034
+30	37	0,0062	0,0050
+60	5	0,0075	0,0082
+90	11	0,0056	0,0050
+180	6	0,0068	0,0054

Для уточнения достоверности различий выполнялся анализ с помощью критерия Краскела-Уоллиса (ANOVA), с апостериорным анализом (англ. post-hoc analysis) по Коноверу, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты анализа различий в уровнях NvB-клеток после ауто-ТГСК с помощью критерия Краскела-Уоллиса

Критерий	41,9739		
Корр. критерий	41,9898		
Степени свободы	4		
Значение p	< 0,000001		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	n	Среднее значение ранга	Отличия от (P < 0,05) фактора №
(1) 0	27	49,41	(2)(4)
(2) 30	29	18,97	(1)(3)(4)(5)
(3) 60	5	48,80	(2)
(4) 90	11	63,18	(1)(2)(5)
(5) 180	6	43,00	(2)(4)

Таким образом, к 60-му дню уровень наивных В-клеток возвращается к исходному значению (Критерий Краскела-Уоллиса 41,97; 4 степени свободы; P < 0,001), что позволяет планировать пневмококковую вакцинацию после 2-х месяцев от ауто-ТГСК у пациентов с ММ.

Известно, что иммунный ответ на пневмококковую вакцинацию является оптимальным у пациентов с числом CD4+ клеток более 200 кл/мкл [8, 9]. В исследуемой выборке, начиная от 30-ого дня уровень CD4+ ниже 200 кл/мкл не опускался, что говорит об эффективности вакцинации Т-зависимыми вакцинами у пациентов после ауто-ТГСК.

Первичное восстановление MnSw-клеток и MSw-клеток также происходило к 60-му дню, однако статистической значимости в данном исследовании различия не имели, так как данные клетки являются одними из последних в ряду дифференциации В-клеток и будут формироваться уже при введении вакцинного препарата.

Что немаловажно, дендритные клетки восстанавливаются уже к 30-му дню от аутологичной трансплантации, как DC1, так и DC2, что ещё раз подтверждает обоснованность ранней вакцинации конъюгированной пневмококковой вакциной уже через 2 месяца после

Таблица 3. Результаты анализа различий в уровнях дендритных (DC1 и DC2) клеток после ауто-ТГСК с помощью критерия Краскела-Уоллиса

Критерий	25,7817		
Корр. критерий	25,7900		
Степени свободы	4		
Значение p	0,000035		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	n	Среднее значение ранга	Отличия от (P < 0,05) фактора №
(1) 0	27	29,57	(2)
(2) 30	36	57,58	(1)(4)
(3) 60	5	43,40	
(4) 90	11	26,18	(2)
(5) 180	6	46,42	
Динамика уровня дендритных (DC2) клеток: различия между днями:			
Критерий	11.1742		
Корр. критерий	11.1793		
Степени свободы	4		
Значение p	0.024621		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	n	Среднее значение ранга	Отличия от (P < 0,05) фактора №
(1) 0	27	31,13	(2)(3)
(2) 30	36	47,62	(1)
(3) 60	5	62,10	(1)
(4) 90	11	43,86	
(5) 180	6	51,17	

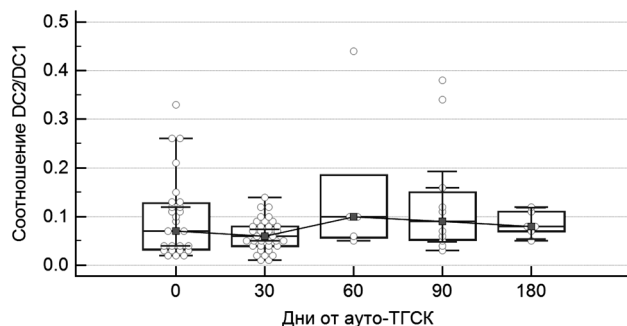


Рис. 3. Динамика соотношения DC2/DC1 у пациентов с ММ после ауто-ТГСК

трансплантации. При этом стоит помнить, что инактивированные вакцины и пневмококковая вакцина безопасны для пациентов после пересадки органов и тканей. Более того, возможна одномоментная вакцинация против гриппа и пневмококковой инфекции (в один день, внутримышечно в дельтовидные мышцы с разных сторон).

Достоверность различий в уровнях дендритных (DC1 и DC2) клеток в динамике выполнялась ниже с помощью критерия Краскела-Уоллиса (таблица 3).

При анализе графиков интересно отметить, что уровни дендритных клеток на 30-й день были выше, чем даже на 0-й день (т. е. до химиотерапии). Этот феномен объясняется хорошими результатами лечения основного заболевания с помощью ауто-ТГСК, т. е. элиминацией/снижением иммуносупрессивного действия опухолевой массы на дендритные клетки, что и даёт описанный подъём.

Одной из важных находок исследования явилось то, что восстановление двух типов дендритных клеток (DC1 и DC2) у пациентов после ТГСК проходило параллельно, так как соотношение DC2/DC1 не менялось в течение времени (рис. 3).

Результаты оценки клинического эффекта внедрения конъюгированной пневмококковой вакцины представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты анализа клинического эффекта внедрения пневмококковой вакцинации у пациентов с множественной миеломой

Характеристика	Группа вакцинации (n = 18)	Контрольная группа (n = 18)	Значение P
	Абс. число (%)	Абс. число (%)	
Возраст, мед. (интеркв. инт)	54 (52-66)	55 (50-61)	0,5002
Пол (муж.)	14 (78)	11 (61)	0,6761
Эпизоды ФН	3	9	0,0750
Пневмонии	3	7	0,2642

Таким образом, отмечено влияние вакцинации конъюгированной пневмококковой вакциной на частоту фебрильной нейтропении ($p = 0,0750$). При этом в отношении клинко-рентгенологически подтверждённых пневмоний отмечается тенденция к снижению частоты у пациентов с ММ после вакцинации ($p = 0,2642$).

Выводы

1. У пациентов с ММ после аутологичной-ТГСК уровень наивных В-клеток возвращается к исходному зна-

чению к 60-му дню от трансплантации (критерий Краскела-Уоллиса 41,97; 4 степени свободы; $P < 0,001$).

2. У пациентов с ММ после аутологичной-ТГСК начиная от 30-го дня уровень CD4+ ниже 200 кл/мкл не опускался, что говорит об эффективности ранней вакцинации Т-зависимыми вакцинами у данной категории пациентов с иммуносупрессией.

3. Дендритные клетки (DC1 и DC2) параллельно восстанавливаются уже к 30-му дню от аутологичной трансплантации у пациентов с ММ (критерий Краскела-Уоллиса 25,78; 4 степени свободы; $P < 0,001$ для DC-1 клеток и критерий Краскела-Уоллиса 11,17; 4 степени свободы; $P < 0,025$ соответственно), что подтверждает обоснованность ранней вакцинации конъюгированной пневмококковой вакциной у данной категории пациентов.

4. Полученные данные позволяют планировать введение первой дозы конъюгированной пневмококковой вакцины уже через 60 дней после аутологичной ТГСК, с перспективой внедрения индивидуализированного календаря вакцинации на основе иммунологических параметров.

5. Внедрение конъюгированной пневмококковой вакцины у пациентов с множественной миеломой на фоне терапии новыми агентами позволяет снизить частоту эпизодов фебрильной нейтропении и пневмоний.

Литература

1. Augustson, B. M. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002 – Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party / B. M. Augustson [et al.] // Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2005. – Vol. 23, № 36. – P. 9219–9226.
2. Blimark, C. Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients / C. Blimark [et al.] // Haematologica. – 2015. – Vol. 100, № 1. – P. 107–113.
3. Hallam, S. TEAMM Work Saves Lives in Myeloma / S. Hallam // HemaSphere. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. E24.
4. Westerink, M. A. J. Schroeder H. W., Nahm M. H. Immune Responses to pneumococcal vaccines in children and adults: Rationale for age-specific vaccination / M. A. J. Westerink, H. W. Schroeder, M. H. Nahm // Aging and Disease. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 17.
5. Mccool, T. L. B- and T-Cell Immune Responses to Pneumococcal Conjugate Vaccines: Divergence between Carrier and Polysaccharide-Specific Immunogenicity / T. L. Mccool [et al.] // INFECT. IMMUN. – 1999. – Vol. 67, – P. 8.
6. Pletz, M. W. Pneumococcal vaccines: mechanism of action, impact on epidemiology and adaption of the species / M. W. Pletz [et al.] // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2008. – Vol. 32, № 3. – P. 199–206.
7. Jochems, S. P. The immunological mechanisms that control pneumococcal carriage / S. P. Jochems [et al.] // PLoS pathogens. – 2017. – Vol. 13, № 12. – P. E1006665.
8. Crum-Cianflone, N. F., Wallace M. R. Vaccination in HIV-Infected Adults / N. F. Crum-Cianflone, M. R. Wallace // AIDS Patient Care and STDs. – 2014. – Vol. 28, № 8. – P. 397–410.
9. French, N. A Trial of a 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in HIV-Infected Adults / N. French [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2010. – Vol. 362, № 9. – P. 812–822.

Поступила 26.11.2018 г.