

ОЦЕНКА ОСТАТОЧНОЙ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ

**Т.А. Митина¹, А.К. Голенков¹, А.Ю. Барышников², А.В. Караулов³,
Е.В. Трифонова¹, Ю.Б. Черных¹, Е.В. Катаева¹, Т.Д. Луцкая¹, Л.Л. Высоцкая¹,
Г.А. Дудина¹, С.Г. Захаров¹, А.М. Фомин¹, Н.В. Любимова², И.Н. Когарко⁴**

¹ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

²ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН РФ, Москва

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

⁴ГУ Научно-исследовательский институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

Оценена эффективность бортезомибсодержащей химиотерапии множественной миеломы на основании определения концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови. Метод дает возможность оценить изменение кинетических параметров остаточной опухоли, определить прогноз течения болезни и выбрать оптимальный подход к лечению заболевания.

Ключевые слова: множественная миелома, свободные легкие цепи, бортезомиб.

ASSESSMENT OF THE RESIDUAL TUMOR IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA BASED ON THE ANALYSIS OF THE FREE LIGHT CHAINS OF IMMUNOGLOBULINS IN BLOOD SERUM

**T.A. Mitina¹, A.K. Golenkov¹, A.Yu. Baryshnikov², A.V. Karaulov³,
E.V. Trifonova¹, Yu.B. Chernykh¹, E.V. Katayeva¹, T.D. Lutskeya¹, L.L. Vysotskaya¹,
G.A. Dudina¹, S.G. Zacharov¹, A.M. Fomin¹, N.V. Lyubimova², I.N. Kogarko⁴**

¹ M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

² Russian Oncologic Research Center n.a. N.N. Blokhin, RAMS RF, Moscow

³ First Moscow State Medical University n.a. I.M. Sechenov

⁴ Research Institute of Chemical Physics n.a. N.N. Semionov, RAS, Moscow

Efficiency of the multiple myeloma treatment with chemotherapy including bortezomib was assessed based on determination of the level of immunoglobulin free light chains in blood serum. The method enables estimation of changes in kinetic parameters of the residual tumor, detection of the disease course prognosis, and the choice of the optimal approach to the disease therapy.

Key words: multiple myeloma, free light chains, bortezomib.

Внедрение в широкую клиническую практику метода анализа свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов сыворотки при множественной миеломе (ММ) обусловлено их биологическими особенностями и возможностью определения на автоматических анализаторах. Особенности СЛЦ являются: короткое время полураспада, точность определения за счет специфичности диагностических антител к их скрытым детерминантам, стабильная воспроизводимость

определения их концентраций в сыворотке, связь с фильтрационно-реабсорбционной функцией почек.

Способность СЛЦ-λ образовывать димеры уменьшает их клиренс в почках и увеличивает концентрацию в крови, что отличает нормальное κ/λ-отношение СЛЦ от общего κ/λ-отношения [8]. Синтез СЛЦ при ММ с интактной молекулой патологического иммуноглобулина (Iplg) послужил основанием для использования этого метода при диагностике строгого полного ответа

при лечении ММ, независимо от иммунохимического варианта болезни, и при диагностике доклинического рецидива [3, 7, 9]. Большое значение имеет применение метода анализа СЛЦ при множественной миеломе Бенс-Джонса (ВJ ММ), когда почки еще могут реабсорбировать избыток опухолевого ВJ-белка и нет массивной протеинурии. Это очень важно в связи с нефротоксичностью СЛЦ. По существу в этот период течения ММ можно оценить предпочтительную перегрузку и, чтобы уменьшить риск поражения почек, начать противоопухолевое лечение для снижения продукции опухолевых СЛЦ.

Короткий период полураспада СЛЦ позволяет оценить ответ на лечение в реальном времени и при диагностировании резистентности, применить более эффективную терапию. Этот же метод стали использовать, выполняя фармакодинамический анализ комбинаций противоопухолевых препаратов для последующего клинического анализа их эффективности [2]. Учитывая изложенное, мы предприняли настоящее исследование, направленное на изучение клинического значения анализа СЛЦ при различных вариантах течения ММ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 11 больных с ММ, среди которых секрета интактной I ρ lg установлена у троих, изолированная ВJ ММ – также у троих, смешанная (ВJ+ ρ lg) – у пяти. Больные составили две группы в зависимости от наличия (n=6) или отсутствия (n=5) ХПН. Всем им проводили стандартные гематологические и иммунохимические исследования. Концентра-

цию СЛЦ определяли в сыворотке крови с помощью антител к их скрытым детерминантам (Binding Site, Англия) на нефелометре (Hitachi-911, Япония).

Взятие образцов крови осуществляли сразу после курса лечения или трехкратно в течение поддерживающего лечения. Образцы замораживали при -40 °C и хранили до проведения исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все больные, прошедшие фазу индукционного химиолечения и достигшие плато на различных объемах остаточной опухоли, получали поддерживающую химиотерапию. Кинетическая характеристика остаточной опухоли осуществлялась на основании определения концентрации СЛЦ каждые 3 месяца в течение 9 месяцев. В каждом временном интервале использовали отношение концентраций СЛЦ опухолевого клона (оСЛЦ) к исходному значению (к/л). Важной характеристикой персистирующего опухолевого клона и функции почек являются показатели к/л-отношения, которые определяли в качестве исходных значений и в конечной точке исследования.

В клинических примерах лечения больных с ММ III ст. и сохраненной функцией почек было достигнуто плато опухоли, удерживаемое с помощью определенной химиотерапии (табл. 1).

Так, у больной, описанной в табл. 1 под клиническим примером №1 и получавшей химиотерапию VM, через 3 месяца отмечено нарастание концентрации оСЛЦ λ -типа в 2,4 раза, через 6 месяцев дальнейшего роста не было (концентрация увеличена в 2,3 раза), через 9 месяцев их концентрация повысилась в 3,4

Таблица 1

Кинетика остаточной опухоли при ММ на основании анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови в течение 9 месяцев лечения (больные с сохраненной функцией почек)

№ наблюдения	Диагноз	Срок болезни до исследования, мес.	Кинетическая фаза болезни до исследования	Кратность роста отношения концентраций оСЛЦ по сравнению с исходными в интервалах			Динамика к/л-отношения	Химиотерапия
				3 мес.	6 мес.	9 мес.		
1	ММ III ст. G λ +ВJ λ	90	плато	2,4	2,3	3,4	0,27→0,25	VM
2	ММ III ст. G κ	48	плато	0,92	0,92	0,92	33,6→26,4	VMP
3	ММ III ст. G κ +ВJ κ	30	плато	0,98	0,99	0,97	8,5→8,2	VM
4	ММ III ст. G κ	24	плато	2,1	2,6	3,0	29,8→92,4	VT→RVP
5	ММ III ст. G κ	48	плато	1,3	1,8	17,8	0,55→3,6	VMP

Примечание: VM – велкейд, мелфалан; VMP – велкейд, мелфалан, преднизолон; VT – велкейд, талидомид; RVP – ревлимид, велкейд, преднизолон.

паза от исходных значений. Анализ к/л-отношения показал, что оно не изменялось в течение всего периода наблюдения и оставалось в пределах нормальных значений. Неселективное нарастание оСЛЦ в этом случае без изменения к/л-отношения в динамике свидетельствовало о формировании ХПН за 5 месяцев до клинических проявлений и стандартных лабораторных показателей азотемии (креатинин сыворотки крови увеличился с 97 до 700 мкмоль/л).

В клинических наблюдениях №2 и 3 проводили поддерживающее лечение курсами VMP с трехмесячными интервалами, что сохраняло плато на достаточно высоком объеме остаточной опухоли. В четвертом и пятом наблюдениях у обеих больных вариант плато поддерживали курсами VT и VMP соответственно. Через 3 месяца отмечено нарастание концентрации оСЛЦ в обоих случаях, а к 9-му зафиксировано прогрессирование заболевания как по избирательному нарастанию опухолевых СЛЦ, так и по к/л-отношению с 29,8 до 92,4 в одном наблюдении и с 0,55 до 3,6 в другом. При этом в четвертом наблюдении за период исследования отмечено увеличение опухолевого парапротеина в 1,03 раза, и за это же время произошел рост концентрации оСЛЦ более чем в 3 раза.

Таким образом, оказалось, что с помощью метода определения СЛЦ иммуноглобулинов сыворотки можно получить важную для клинки информацию о кинетике опухолевого роста при ММ. В двух представленных наблюдениях была зафиксирована стабилизация кинетического плато на разных объемах опухоли, что свидетельствует о хорошем терапевтическом эффекте VMP-программы, применявшейся в режиме поддерживающего лечения. Это позволило предотвратить прогрессирование резистентной ММ. В двух других наблюдениях зафиксировано прогрессирование болезни, что послужило основанием для изменения программы лечения.

Что касается больных с выраженной миеломной нефропатией (табл. 2), то из шести больных с ХПН в трех наблюдениях диагностирована изолированная Влк-протеинурия, у остальных отмечено сочетание Влк+рIgGκ (n=2) и Вλ+рIgDλ (n=1). Во всех наблюдениях степень нефропатии была тяжелой, что в 5 случаях потребовало проведения гемодиализа, а в одном был применен перитонеальный диализ (ПД).

В первом наблюдении (см. табл. 2) 11-дневные курсы VMP проводили в сочетании с ПД. Анализ кинетики СЛЦ иммуноглобулинов сыворотки показал снижение концентрации опухолевой СЛЦ-κ на 78%

Таблица 2

Кинетическая характеристика остаточной опухоли у больных ММ, осложненной ХПН, на основании анализа СЛЦ в процессе лечения (больные с миеломной нефропатией)

№ наблюдения	Диагноз	Осложнения	Диализ	Количество курсов		Отношение конечного оСЛЦ к исходному	к/л-отношение*		Длительность наблюдения, месяцы
				всего	оцененные		до лечения	после лечения	
1	ММ III ст. Влк	ХПН	ПД, продолжение	4 VMP	1 VMP	0,22	2,35	1,9	6→
2	ММ III ст. Гк+Влк	ОПН, ХПН	ГД, начало	8 VMP	1 VMP	0,95	1,2	1,2	70→
3	ММ III ст. Дλ+Вλ	ХПН	ГД, продолжение	2 PAD	2 PAD	1,06→0,83	0,08	0,23	2→
4	ММ III ст. Гк+Влк	ОПН	ГД, начало	8 V	2 V	0,67→0,63	11,2	7,0	2→
5	ММ III ст. Влк	ХПН	ГД, продолжение	8 VMP → V	2 V	0,55→0,65	13,7	5,5	60↓
6	ММ III ст. Влк	ХПН	ГД, продолжение	4 VMP → V + ОПТ	1 ОП + 2 VMP	0,38→0,18	7,8	1,7	6→

Примечание: ГД – гемодиализ; ПД – перитонеальный диализ; ОП – обменный плазмаферез, V – монотерапия велкейдом; PAD – велкейд, доксорубицин, дексаметазон; *нормальное к/л-отношение – 0,6 (от 0,31 до 1,2).

сразу после завершения курса. Это означает наличие эффективной противоопухолевой фармакодинамики программы VMP, определенной практически в реальном времени. Важным показателем является кинетика неопухолевой СЛЦ-λ, указывающая на ее снижение на 73% при изначально высоком уровне. Опираясь на наши предыдущие исследования [2], можно говорить о высокой противоопухолевой избирательности велкейдсодержащих программ. Снижение концентрации СЛЦ-λ в данном наблюдении может указывать на тенденцию к восстановлению функции почек по возросшему клиренсу СЛЦ-λ.

У второй больной заболевание дебютировало с ОПН, что потребовало проведения ГД. В дальнейшем сохранялась компенсированная ХПН без ГД. Лечение по протоколу VMP позволило получить полную ремиссию, подтвержденную иммунохимическими исследованиями с отрицательной иммунофиксацией, что сопровождалось нормальной концентрацией СЛЦ. Проведенное исследование позволило подтвердить кинетическое плато остаточной опухоли на уровне минимального объема.

В третьем наблюдении по анализу кинетики СЛЦ видна эффективность программы PAD. В результате проведенного курса лечения концентрация опухолевых СЛЦ-λ снизилась на 17%. При этом концентрация неопухолевой СЛЦ-κ увеличилась вдвое, что, вероятно, связано с нарушенным клиренсом в почках под влиянием токсического действия цитостатиков.

В четвертом наблюдении заболевание проявилось ОПН, которая была купирована ГД. Анализ двух курсов лечения велкейдом показал селективное снижение концентрации оСЛЦ-κ в сыворотке на 37%. При этом κ/λ-отношение имело существенную тенденцию к нормализации. Концентрация неопухолевых СЛЦ находилась в пределах нормальных значений, что указывало на сохраненную функцию почек. В дальнейшем после трех курсов лечения велкейдом у больного был получен очень хороший частичный ответ [7].

В пятом наблюдении в дебюте заболевания диагностирована терминальная стадия ХПН, требовавшая возобновления заместительной почечной терапии. В результате противоопухолевого лечения и ГД функция почек была частично восстановлена и стабилизирована. ГД был прекращен на 1,5 года, однако впоследствии возобновлен. Анализ концентрации СЛЦ в процессе монотерапии велкейдом показал селективное снижение опухолевой СЛЦ-κ после курса на 45%. При этом концентрация неопухолевых СЛЦ-λ была на уровне средних значений нормы. Учитывая тяжелую степень ХПН с уровнем клубочковой фильтрации от 2 до 4 мл/мин и массивную суточную протеинурию до 5 г, следует рассматривать нормальную концентрацию неопухолевых антител-продуктов как ложноположительную, связанную

с накоплением СЛЦ-λ в сыворотке за счет нарушенного их метаболизма в почках и скрывающую иммунодефицит.

В шестом наблюдении заболевание началось с тяжелой ХПН, потребовавшей постоянного ГД и применения плазмообмена (5 процедур за 12 дней). За каждую процедуру удаляли около одного объема циркулирующей плазмы с соответствующим замещением донорской. В дальнейшем проводили противоопухолевую терапию (монотерапия велкейдом и VMP) в сочетании с ГД. В результате плазмообмена концентрация опухолевой СЛЦ-κ была снижена на 62%, а после одного курса VMP, проведенного сразу после обменного плазмафереза, концентрация опухолевой СЛЦ-κ была снижена еще на 20%. Значения неопухолевых СЛЦ-λ были несколько выше верхней границы нормы. Это свидетельствовало о сохраняющемся нарушении метаболизма СЛЦ в почках, связанном с их поражением, а снижение уровня опухолевой СЛЦ-κ под влиянием лечения может уменьшать риск их дальнейшего повреждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные показали, что клинический анализ концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки может в реальном времени давать фармакодинамическую характеристику химиотерапевтического лечения, определять прогрессию или рецидив заболевания раньше стандартной диагностики, оценивать влияние на функцию почек химиотерапии и экстракорпоральной элиминации свободных легких цепей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барышников А.Ю., Иншаков А.Н., Трифонова Е.В. и др. Фармакодинамическое моделирование *in vitro* клинической эффективности флударабина при резистентных формах хронического лимфолейкоза // Рос. биотерапевт. журн. 2009. №4. С.25-28.
2. Голенков А.К., Митина Т.А., Козарко И.Н. и др. Фармакодинамическая характеристика эффективности велкейда при резистентной и рецидивной множественной миеломе на основе анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови // Тер. арх. 2009. №7. С.37-41.
3. Голенков А.К., Митина Т.А., Луцкая Т.Д. и др. Клиническое значение анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки при множественной миеломе с различным ответом на химиотерапию // Рос. биотерапевт. журн. 2007. №3. С.71-75.
4. Митина Т.А., Голенков А.К., Луцкая Т.Д. и др. Эффективность лечения больных множественной миеломой, осложненной почечной недостаточностью, бортезомибсодержащими программами в сочетании с гемодиализом // Гематол. трансфузиол. 2011. №4. С.12-16.
5. Bradwell A.R., Carr-Smith H.D., Mead T.P. et al. Serum test for assessment of patients with Bence-Jones myeloma // Lancet. 2003. V.361. P.489-491.