

СОВРЕМЕННЫЙ ИММУНОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ ГАММАПАТИЯМИ

Нина Васильевна ЛЮБИМОВА¹, Иветта Николаевна КОГАРКО², Ольга Михайловна ВОТЯКОВА¹,
Бронислав Станиславович КОГАРКО², Татьяна Александровна ТУРКО¹, Игорь Ирэкович ГАНЕЕВ²

¹Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН
115478, г. Москва, Каширское ш., 24

²Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
119991, г. Москва, ул. Косыгина, 4

Представлены данные сравнительного анализа концентраций свободных легких цепей иммуноглобулинов к и λ (СЛЦ) и их соотношения в сыворотке крови 74 больных моноклональными гаммапатиями и 60 практически здоровых людей. Наиболее часто повышение концентрации СЛЦ наблюдалось в сыворотке крови пациентов со множественной миеломой, множественной миеломой Бенс-Джонса и моноклональной гаммапатией неясного генеза, преимущественно за счет увеличения содержания к-СЛЦ. Концентрации к-СЛЦ и λ -СЛЦ в крови больных существенно снижались после достижения частичной или полной ремиссии, вновь увеличивались после рецидива основного заболевания или оставались практически на исходном уровне у неэффективно леченых пациентов. Иммунотурбидиметрический метод определения содержания СЛЦ в сыворотке крови по сравнению со стандартными электрофоретическими методами отличался большей аналитической чувствительностью с порогом обнаружения к-СЛЦ 1,5 мг/л и λ -СЛЦ – 3 мг/л. Диагностическая чувствительность определения концентрации СЛЦ в сыворотке крови пациентов иммунотурбидиметрическим методом достигала 91,7 %. Сочетание используемого нами метода и электрофоретического исследования белков сыворотки крови с последующей иммунофиксацией позволяло выявить моноклональную гаммапатию в 100 % случаев. Полученные результаты продемонстрировали высокую аналитическую и диагностическую чувствительность иммунохимического метода определения содержания СЛЦ в сыворотке крови, а также возможность проведения с его помощью мониторинга лечения больных моноклональными гаммапатиями.

Ключевые слова: к-СЛЦ, λ -СЛЦ, сыворотка крови, моноклональные гаммапатии.

Введение

Множественная миелома (ММ) – вторая по частоте встречаемости форма гемобластозов после неходжкинских лимфом. Злокачественные плазматические клетки ММ секретируют молекулы иммуноглобулинов, и в большинстве случаев это происходит параллельно с продукцией СЛЦ [1]. Молекулы иммуноглобулинов состоят из двух тяжелых цепей, определяющих их класс (G, A, M, D или E), и двух легких цепей. Каждая легкая цепь соединена дисульфидными связями с тяжелыми цепями, а тяжелые цепи ковалентно соединены между собой в области шарнира. В норме СЛЦ по сравнению с тяжелыми цепями продуцируются и секретируются в циркуляторное русло в избытке (до 40 %), что позволяет обеспечить соответствующую конформацию молекул интактных иммуноглобулинов в процессе их синтеза. Плазматические клетки синтезируют два

изотипа легких цепей – к- и λ -СЛЦ, при этом клеток, продуцирующих к-СЛЦ, в два раза больше. В отличие от λ -СЛЦ, представляющих собой димеры с молекулярной массой 50 кДа, молекулы к-СЛЦ являются мономерами (25 кДа), что позволяет им проходить через гломерулярный фильтр почек со значительно большей скоростью. Оба типа СЛЦ способны образовывать высокополимеризованные формы, скорость клубочковой фильтрации которых меньше, чем для молекул к- и λ -СЛЦ [2]. Циркулирующие в сыворотке крови СЛЦ часто формируют гомодимеры, известные как белок Бенс-Джонса, который является маркером ММ Бенс-Джонса. Очень редко секрета моноклонального парапротеина может отсутствовать (несекретирующая ММ).

Диагностика, мониторинг и оценка прогноза моноклональных гаммапатий до последнего времени основывалась на количественном определе-

Любимова Н.В. – д.б.н., вед.н.с., e-mail: post_gem@mail.ru

Когарко И.Н. – д.м.н., вед.н.с., e-mail: post_gem@mail.ru

Вотякова О.М. – к.м.н., ст.н.с., e-mail: post_gem@mail.ru

Когарко Б.С. – д.ф.-м.н., ст.н.с., e-mail: post_gem@mail.ru

Турко Т.А. – врач клинко-лабораторной диагностики, e-mail: post_gem@mail.ru

Ганеев И.И. – инженер-исследователь, e-mail: post_gem@mail.ru

нии циркулирующих моноклональных иммуноглобулинов. До 90-х гг. XX в. спектр тестов для их исследования включал нефелометрическое определение тяжелых цепей иммуноглобулинов сыворотки крови, иммуноэлектрофорез, электрофорез (ЭФ) и электрофорез с последующей иммунофиксацией (ИФ) белков сыворотки крови и суточной концентрированной мочи [3]. Однако данные методы являются трудоемкими, полуколичественными, результаты исследования зависят от точности сбора суточной мочи пациентом, квалификации персонала и поэтому могут не воспроизводиться в различных лабораториях. Кроме того, эти методы имеют ограниченные возможности при обследовании пациентов с несекретирующей или олигосекретирующей ММ.

СЛЦ продуцируются при всех типах ММ, в том числе у большинства больных с несекретирующей ММ, что обусловило поиск методов определения их содержания в сыворотке крови. Первоначальные методы были основаны на детекции разницы молекулярных масс СЛЦ и легких цепей, входящих в состав интактного иммуноглобулина. Однако они не нашли широкого применения в клинической практике из-за технической сложности и недостаточной точности.

В начале 2000-х гг. появился новый автоматизированный иммунотурбидиметрический метод определения содержания СЛЦ в сыворотке крови. В отличие от приемов, позволяющих оценивать общую концентрацию легких цепей (СЛЦ и легких цепей в составе иммуноглобулинов), новый метод основан на использовании моноклональных антител, высокоспецифичных к СЛЦ [4, 5], что достигается взаимодействием антител с эпитопами легких цепей, непосредственно взаимодействующих с тяжелыми цепями при построении интактного иммуноглобулина. Эти эпитопы скрыты в молекуле иммуноглобулина, тогда как в молекуле СЛЦ доступны для иммунохимической реакции, что позволяет проводить детекцию СЛЦ с высокой точностью в образцах с широким диапазоном концентраций.

Одним из главных преимуществ определения содержания СЛЦ является возможность их использования в качестве раннего маркера терапевтического ответа, что обусловлено более коротким периодом полураспада (несколько часов) СЛЦ по сравнению с молекулами интактных иммуноглобулинов, которые находятся в циркуляторном русле от 6 до 25 дней [6]. До настоящего времени исследование СЛЦ проводилось в суточной моче, однако это плохо отражает скорость опухолевого синтеза, особенно при небольшой массе опухоли или небольшой продукции СЛЦ (олигосекретирующая ММ). Это связано с тем, что белок Бенс-Джонса появляется в моче лишь при протеинурии переполнения. Известно, что проксимальные почечные каналцы обладают выраженной способ-

ностью метаболизировать СЛЦ (до 30 г/сутки), тогда как плазматическими клетками они синтезируются в количестве до 1 г/сутки [7]. В то же время определение содержания СЛЦ в сыворотке крови напрямую отражает их секрецию плазматическими клетками и не зависит от сохранности почечной функции.

Цель настоящей работы состояла в оценке аналитических характеристик иммунотурбидиметрического метода определения СЛЦ и сравнительном анализе концентраций κ -СЛЦ и λ -СЛЦ в сыворотке крови больных моноклональными гаммапатиями и здоровых доноров.

Материал и методы

Обследовано 74 больных с моноклональными гаммапатиями в возрасте 23–75 лет, поступивших в отделение химиотерапии гемобластозов Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН за период с июня 2008 г. по январь 2010 г. В группы больных вошли: 51 пациент с ММ, 10 – с ММ Бенс-Джонса, 4 – с несекретирующей ММ, 5 – с плазмцитомой, 5 – с моноклональной гаммапатией неясного генеза (МГНГ). Диагноз заболевания выставлялся на основании данных миелограммы с иммуноцитохимической верификацией опухоли с использованием стандартной панели моноклональных антител против дифференцировочных антигенов гемопоэтических клеток, электрофореза белков сыворотки и мочи с иммунофиксацией, а также данных рентгенологического и общеклинического обследования [8]. Пациенты были обследованы до лечения и после проведения 4–6 курсов полихимиотерапии (ПХТ). Контрольная группа состояла из 60 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте 25–82 лет.

Помимо обязательного комплекса обследований, больным проводилось определение в сыворотке крови концентрации κ -СЛЦ и λ -СЛЦ (мг/л) иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi 911 наборами реактивов Freelite Human Lambda и Freelite Human Kappa («Binding Site», Великобритания). Результаты, выходящие за технические пределы метода, были получены путем многократных последовательных разведений в соответствии с программами для каждого типа цепей.

Концентрацию и тип парапротеина в сыворотке крови и моче исследовали стандартизованными протоколами с помощью аппаратной линейки, включающей метод капиллярного электрофореза на аппаратах Minicar и Hydrasys («Sebia», Франция), разрешенных для клинического использования.

Статистический анализ данных проводили при помощи метода Крускала – Уоллиса. Корреляционные зависимости оценивали с использованием непараметрического критерия Спримена. Пороговые значения были рассчитаны на основе ROC-анализа, а также 95 % доверительного интервала.

Различия частот в группах считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При определении содержания СЛЦ иммуно-турбидиметрическим методом было выявлено, что концентрации к-СЛЦ и λ-СЛЦ в сыворотке крови практически здоровых людей соответствовали референсным значениям, рекомендованным производителем наборов реактивов (к-СЛЦ: 3,3–19,4 мг/л; λ-СЛЦ: 5,7–26,3 мг/л; к/λ: 0,25–1,65). Преимуществом используемого метода является его высокая аналитическая чувствительность: порог обнаружения к-СЛЦ составляет 1,5 мг/л, λ-СЛЦ – 3 мг/л, что значительно превышает пороги определения ЭФ суточной мочи (10–20 мг/л), ЭФ (500–2000 мг/л) и ИФ (150–500 мг/л) сыворотки крови.

Для оценки точности метода нами был проведен анализ внутри- и межсерийной вариабельности определения концентрации к-СЛЦ и λ-СЛЦ, результаты которого представлены в **таблице 1**. Обнаружено, что внутрисерийная вариабельность определения содержания к-СЛЦ (3,0–7,8 %) выше, чем λ-СЛЦ (2,6–4,9 %), тогда как межсерийная вариабельность оценки концентрации к-СЛЦ ниже (4,5–7,6 %), чем λ-СЛЦ (6,3–9,8 %). Величина коэффициента вариации как внутри, так и между сериями увеличивалась от образца с меньшей к образцу с большей концентрацией СЛЦ. Таким образом, вариабельность метода не превышает допустимой для этого типа анализа величины коэффициента вариации (10 %).

Как указывалось выше, у вошедших в контрольную группу здоровых доноров вариабельность концентраций к-СЛЦ (7,3–20,8 мг/л), λ-СЛЦ (5,7–22,0 мг/л) и соотношения к/λ (0,74–1,64) соответствовала рекомендованным референсным интервалам (**табл. 2**). Зависимости от пола и возраста выявлено не было. Несмотря на то, что к-СЛЦ

продуцируется в два раза больше, в сыворотке крови несколько большей оказалась концентрация λ-СЛЦ. Это противоречие объясняется тем, что молекулы к-СЛЦ, которые являются мономерами, ввиду меньшего размера быстрее проходят через гломерулярный фильтр почек по сравнению с димерными молекулами λ-СЛЦ.

Как следует из **таблицы 2**, наибольшая вариабельность концентраций к-СЛЦ, λ-СЛЦ и соотношения к/λ была обнаружена у пациентов с ММ и ММ Бенс-Джонса. Этот факт можно объяснить тем, что у пациентов с моноклональными гаммапатиями плазматические клетки секретируют чаще всего один тип СЛЦ (так называемые вовлеченные в патологический процесс СЛЦ – вСЛЦ). При этом секреция невовлеченных в патологический процесс СЛЦ (нвСЛЦ – это λ-СЛЦ для миеломы к-типа и к-СЛЦ для миеломы λ-типа) нормальными плазматическими клетками подавляется или остается на том же уровне. Уровни к-СЛЦ для пациентов с ММ и ММ Бенс-Джонса достоверно отличались от соответствующих значений контрольной группы ($p = 0,001$ и $p = 0,03$ соответственно). При этом содержание вСЛЦ в сыворотке крови больных на порядок превышало нормальные значения, достигая 12 315 мг/л в группе ММ и 4392 мг/л – в группе ММ Бенс-Джонса. Необходимо отметить, что концентрация к-СЛЦ была выше у больных ММ с секрецией парапротеина IgGκ (медиана – 236 мг/л), чем у пациентов с секрецией IgAκ (162 мг/л). Однако содержание λ-СЛЦ было больше у больных ММ с моноклональной секрецией IgAλ (медиана – 868 мг/л), чем у лиц с секрецией IgGλ (169 мг/л).

У пациентов с несекретирующей ММ концентрации СЛЦ не выходили за пределы референсных значений, однако соотношение к/λ в большинстве случаев было повышено (медиана – 1,84) и в целом достоверно превышало показатель контроль-

Таблица 1

Оценка вариабельности определения содержания к-СЛЦ и λ-СЛЦ в сыворотке крови

		Образец 1	Образец 2	Образец 3
Внутрисерийная вариабельность				
к-цепи	Среднее значение, мг/л	8,0	27,2	46,9
	Коэффициент вариации, %	7,8	7,3	3,0
λ-цепи	Среднее значение, мг/л	11,8	24,6	40,4
	Коэффициент вариации, %	4,9	4,6	2,6
Вариабельность между сериями				
к-цепи	Среднее значение, мг/л	8,4	27,8	41,7
	Коэффициент вариации, %	7,6	7,2	4,5
λ-цепи	Среднее значение, мг/л	12,5	25,3	38,5
	Коэффициент вариации, %	9,8	7,8	6,3

Таблица 2

Концентрации κ-СЛЦ и λ-СЛЦ (мг/л) и соотношения κ/λ
в группах больных моноклональными гаммапатиями и у практически здоровых доноров

Группа	Концентрация κ-СЛЦ	Концентрация λ-СЛЦ	Соотношение κ/λ
Контроль	14,7 (7,3–20,8)	12,0 (5,7–22)	1,25 (0,75–1,64)
ММ	27 (3,8–12315)	11 (2,4–9879)	4 (0,001–1100)
ММ Бенс-Джонса	327 (6,4–4392)	10 (2,0–543)	83 (0,02–1365)
Несекретирующая ММ	13 (12–21)	7,0 (6,3–8,3)	1,84 (1,5–3,3)
Плазмочитома	15 (13–148)	10 (7,9–61)	1,7 (0,23–15)
МГНГ	27 (12–190)	31 (8,3–137)	2,3 (0,13–18)

Примечание: результаты представлены в виде медианы и интервалов значений.

ной группы ($p = 0,002$). У больных МГНГ достоверные отличия содержания СЛЦ от показателей контрольной группы были установлены только для κ-СЛЦ ($p = 0,004$). У пациентов с плазмочитомой статистически значимых отличий исследуемых показателей от контроля выявлено не было, что можно объяснить небольшим размером группы.

Для оценки диагностической значимости изучаемых СЛЦ нами были рассчитаны их пороговые значения на основе данных, полученных в контрольной группе. В соответствии со стандартными требованиями, предъявляемыми к статистическому анализу, пороговые значения рассчитывали с учетом среднего значения и двух стандартных отклонений, что соответствует 95% доверительному референсному интервалу. Для κ-СЛЦ пороговое значение составило 21,5 мг/л, для λ-СЛЦ – 27 мг/л. Наиболее часто в группах больных наблюдалось повышение концентрации κ-СЛЦ – у 80 % (8/10) пациентов с ММ Бенс-Джонса, 57 % (29/51) – с ММ, 40 % (2/5) – с плазмочитомой и МГНГ, тогда как усиление секреции λ-СЛЦ наблюдалось в 20, 23, 20 и 60 % случаев соответственно. Необходимо отметить, что у 20 из 29 больных ММ с повышенным уровнем κ-СЛЦ в сыворотке крови секреция λ-СЛЦ была нормальной, а у 9 – сниженной, что свидетельствовало о подавлении синтеза λ-СЛЦ нормальными плазматическими клетками. В то же время у 5 (63 %) больных ММ Бенс-Джонса уровень циркулирующих в крови λ-СЛЦ был нормальным, а у 3 (37 %) – сниженным. Необходимо отметить, что у 18 % (9/51) больных ММ содержание λ-СЛЦ, так же, как и κ-СЛЦ, было нормальным, что указывало на изолированную секрецию у них только молекул интактных иммуноглобулинов и было подтверждено электрофоретическим исследованием белков сыворотки крови и суточной мочи. Полученные нами данные по частоте повышения концентрации СЛЦ у обследованных больных согласуются с представлением о том, что в процессе В-лимфоцитопоза

вначале происходит перестройка участков генов, ответственных за построение молекулы κ-СЛЦ, в результате чего создается численное преимущество плазматических клеток, продуцирующих κ-СЛЦ [9].

Следует отметить, что по данным различных авторов соотношение κ/λ является количественным показателем клоальности и представляет собой более чувствительный маркер моноклональной секреции, чем простое повышение уровня СЛЦ [10].

Оно увеличивается при секреции κ-СЛЦ и уменьшается при секреции λ-СЛЦ, однако остается неизменным в случаях продукции поликлональных иммуноглобулинов и/или нарушения почечной функции, когда концентрации двух видов СЛЦ могут повышаться в 30–40 раз. Это нашло подтверждение и в полученных нами данных. В группе ММ соотношение κ/λ было повышенным у 67 % больных, пониженным – у 23 % пациентов, нормальным – в 10 % случаев. У подавляющего числа (90 %) обследованных пациентов с ММ Бенс-Джонса оно было высоким и в 10 % наблюдений низким, таким образом, у всех больных соотношение κ/λ выходило за пределы нормы, что свидетельствовало о моноклональной секреции СЛЦ. У пациентов с несекретирующей ММ и плазмочитомой соотношение κ/λ повышалось и при нормальном уровне СЛЦ. Как следует из таблицы 2, соотношение κ/λ у больных ММ и ММ Бенс-Джонса было достоверно больше (4,14 и 83,02 соответственно), чем у лиц контрольной группы ($p = 0,00001$), а у пациентов с ММ Бенс-Джонса оно было достоверно выше, чем у больных других групп ($p < 0,05$).

При корреляционном анализе результатов определения содержания СЛЦ у здоровых доноров была выявлена прямая высокодостоверная линейная зависимость между концентрацией κ- и λ-СЛЦ ($r_s = 0,765$, $p < 0,0001$). В то же время у больных ММ и ММ Бенс-Джонса корреляционная взаимосвязь носила обратный характер и была

также высокодостоверной ($r_s = -0,55$, $p < 0,0001$ и $r_s = -0,6$, $p < 0,05$ соответственно), что свидетельствовало о нарушении процессов синтеза и секреции СЛЦ плазматическими клетками у этих больных.

Для оценки диагностической чувствительности метода определения содержания СЛЦ в сыворотке крови в качестве методов сравнения использовали стандартные электрофоретические методы анализа моноклонального парапротеина в сыворотке крови и моче. Как следует из рисунка, с помощью ЭФ и ИФ белков сыворотки крови моноклональный парапротеин удалось обнаружить у 86,7 % первичных больных, при ЭФ и ИФ белков суточной мочи — лишь в 71,7 % случаев, а при использовании четырех электрофоретических методов исследования — в 98,3 % случаев. Иммунотурбидиметрическим методом моноклональную секрецию удалось выявить у 91,7 % обследованных пациентов. Используя соотношение κ/λ и электрофоретические методы исследования сыворотки и мочи на скрининге, удавалось достичь 100 % диагностической чувствительности. Более того, сочетание соотношения κ/λ лишь с ЭФ и ИФ сыворотки крови позволяло достичь такого же результата. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что диагностика моноклональных гаммапатий возможна без исследования суточной мочи, что позволяет исключить трудности и ошибки сбора мочи в течение 24 часов пациентом, а также зависимость положительного результата исследования от протениурии переполнения.

По литературным данным, медиана сывороточной концентрации СЛЦ, вызывающая протениурию переполнения и появление белка Бенс-Джонса в моче, составляет для κ -СЛЦ 113 мг/л, а

для λ -СЛЦ — 278 мг/л [8]. Необходимо отметить, что среди обследованных нами первичных пациентов, у которых в моче обнаруживались следовые количества белка Бенс-Джонса, содержание κ -СЛЦ в сыворотке крови было высоким и составило 26,9–945,0 мг/л (медиана — 219,8 мг/л). В то же время у больных, в моче которых не удалось выявить СЛЦ стандартными методами, κ -СЛЦ в сыворотке крови обнаруживали в сопоставимо высоких концентрациях (от 38,2 до 884, медиана — 266,7 мг/л). Таким образом, диапазон концентраций κ -СЛЦ в сыворотке крови пациентов с экскрецией белка Бенс-Джонса и ее отсутствием практически совпадает, что свидетельствует о более высокой диагностической чувствительности иммунотурбидиметрического метода определения содержания СЛЦ по сравнению с электрофоретическим анализом. СЛЦ не всегда удавалось обнаружить в суточной моче, поскольку молекулы СЛЦ (в большей степени κ -СЛЦ), особенно в больших концентрациях, могут подвергаться полимеризации с образованием высокополимеризованных форм, при электрофоретическом исследовании выглядящих размытой полосой, детекция которой не позволяет охарактеризовать ее как моноклональную фракцию.

С помощью иммунотурбидиметрического метода определения содержания СЛЦ можно также проводить мониторинг лечения больных моноклональными гаммапатиями. Ввиду большей аналитической чувствительности метода это особенно важно для пациентов с несекретирующей ММ, олигосекретирующей ММ и ММ Бенс-Джонса. Так, у эффективно леченых больных ММ Бенс-Джонса концентрация в СЛЦ после двух-трех курсов химиотерапии существенно уменьшалась (медианы до и после лечения составили 1133 и

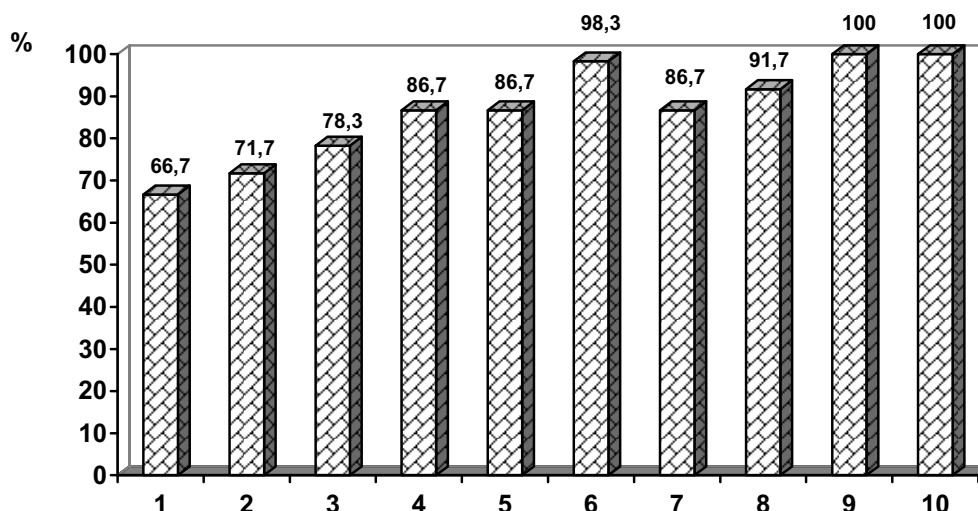


Рис. Диагностическая чувствительность методов определения моноклонального парапротеина при ММ
 1 – ЭФ мочи, 2 – ЭФ мочи + ИФ, 3 – ЭФ сыворотки, 4 – ЭФ сыворотки + ИФ, 5 – ЭФ сыворотки + ЭФ мочи,
 6 – ЭФ сыворотки + ЭФ мочи + ИФ, 7 – в СЛЦ, 8 – соотношение κ/λ , 9 – соотношение κ/λ + ЭФ сыворотки + ИФ,
 10 – соотношение κ/λ + ЭФ сыворотки + ЭФ мочи + ИФ

35 мг/л, им соответствовали диапазоны значений 364–2743 и 14–174 мг/л). При этом в моче экскреция белка Бенс-Джонса на скрининге составила 0,19–2,05 г/сутки с последующим снижением до следовых количеств или полного ее отсутствия. В то же время у больных ММ с достигнутой полной или частичной ремиссией после прогрессирования заболевания содержание в СЛЦ в сыворотке крови вновь увеличивалось с 13,4 (8,6–231) до 304 (38,2–4257) мг/л, так же, как и уровни парапротеина в сыворотке крови и белка Бенс-Джонса в моче. У неэффективно леченых больных все показатели оставались практически на исходном уровне.

Следует отметить, что исследование СЛЦ сопряжено с определенными трудностями их детекции. В некоторых случаях при последовательных разведениях сыворотки крови больных наблюдалась высокая вариабельность концентраций СЛЦ с диапазоном значений, различающихся между собой в 10–100 раз. Нарушение линейности при выполнении анализа может быть связано с избыточным количеством антигена, в результате чего из-за недостаточного количества антител может быть получен заниженный результат. Как уже описывалось ранее, СЛЦ существуют в виде мономеров или димеров, однако могут образовывать и высокополимеризованные формы. Такие формы в реакции иммунопреципитации проявляют себя как мультиантиген, что может приводить к завышению концентрации СЛЦ. Реакция «антиген – антитело» может также нарушаться в результате точковых мутаций и изменения конформации белковой молекулы СЛЦ, в результате чего антитела не будут взаимодействовать с таким антигеном и результат исследования СЛЦ может быть занижен [11, 12]. Однако заложенные в программах используемого метода автоматические и ручные разведения, а также серийные исследования образцов позволяют снизить риск получения недостоверных результатов.

Заключение

Таким образом, полученные нами данные продемонстрировали высокую специфичность, аналитическую и диагностическую чувствительность иммунотурбидиметрического метода определения содержания СЛЦ в сыворотке крови. Исследование СЛЦ в сыворотке крови на скрининге позволяет увеличить диагностическую чувствительность имеющихся методов определения концентрации моноклональных иммуноглобулинов, проводить мониторинг больных с несекретирующей ММ, исключить необходимость анализа суточной мочи. Более короткий период полураспада молекул СЛЦ, чем интактных иммуноглобулинов, использование автоматизированного метода и сыворотки крови в качестве исследуемого материала способствуют получению более точных и воспроизводимых результатов, а

также проведению мониторинга с максимально быстрой оценкой ответа на лечение, его эффективности и наличия «остаточной болезни».

Список литературы

1. Kuhnemund A., Liebisch P., Bauchmuller K. et al. «Light-chain escape-multiple myeloma» – an escape phenomenon from plateau phase: report of the largest patient series using LC-monitoring // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2009. 135. (3). 477–484.
2. Serum free light chain analysis / Ed. A.R. Bradwell. Birmingham, 2006. 285 p.
3. Dispenzieri A., Kyle R., Merlini G. et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders // Leukemia. 2008. 23. 215–224.
4. Bradwell A.R., Carr-Smith H.D., Mead G.P. et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine // Clin. Chem. 2001. 47. 673–680.
5. Козарко И.Н., Барышников А.Ю., Голеников А.К. и др. Гаммапатии: применение молекулярного иммунохимического метода определения свободных легких цепей иммуноглобулинов в сыворотке крови больных (часть 1) // Рос. биотерапевтич. журн. 2009. (1). 75–80.
6. Kogarko I.N., Baryshnikov A.Yu., Golenkov A.K. et al. Gammopathies: use of molecular immunochemical method of immunoglobulin free light chain measurement in patient serum (part 1) // Ros. bioterapevtich. zhurn. 2009. (1). 75–80.
7. Bradwell A.R., Carr-Smith H.D., Mead G.P. et al. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma // Lancet. 2003. 361. 489–491.
8. Nowrousian M.R., Brandhorst D., Sammet C. et al. Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma // Clin. Cancer Res. 2005. 11. (24). 8706–8714.
9. Волкова М.А. Клиническая онкогематология / Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007. 1120 с.
10. Volkova M.A. Clinical oncohaematology / Ed. M.A. Volkova. M.: Meditsina, 2007. 1120 p.
11. Katzmann J.A., Clark R.J., Abpahan R.S. et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains // Clin. Chem. 2002. 48. 1437–1444.
12. Daval S., Tridon A., Mazon N. et al. Risk of antigen excess in serum free light chain measurements // Clin. Chem. 2007. 53. 1985–1986.
13. Tate J.R., Mollee P., Dimeski G. et al. Analytical performance of serum free light-chain assay during monitoring of patients with monoclonal light-chain diseases // Clin. Chem. Acta. 2007. 376. 30–36.

MODERN IMMUNOCHEMISTRY METHOD OF DETERMINATION OF CONTENTS OF FREE LIGHT-CHAINS OF IMMUNOGLOBULINES IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH MONOCLONAL GAMMAPATHIES

Nina Vasilevna LYUBIMOVA¹, Ivetta Nikolaevna KOGARKO², Olga Mikhailovna VOTYAKOVA¹, Bronislav Stanislavovich KOGARKO², Tatyana Aleksandrovna TURKO¹, Igor Irekovich GANEEV²

¹*Russian Scientific Oncology Centre n. a. N.N. Blokhin RAMS
115478, Moscow, Kashirsky highway, 24*

²*Institute of Chemical Physics n. a. N.N. Semenov RAS
119991, Moscow, Kosygin st., 4*

Data on comparative analysis of concentration of κ - and λ -free light chains (FLC) of immunoglobulines and their ratios in blood serum of 74 patients with monoclonal gammopathy and practically healthy 60 people have been presented. The increase in serum FLC concentration is most frequent for patients with multiple myeloma, plural myeloma Bens-Johns and monoclonal gammopathy of unclear genesis, mainly at the expense of increased κ -FLC concentration. Concentration of κ -FLC and λ -FLC in blood of patients essentially decreased after the reaching of partial or full remission, and again increased after the relapse of the basic disease or remained practically at initial level at inefficiently treated patients. The immunoturbidimetry method of FLC determination in blood serum in comparison with standard electrophoresis methods differed by more analytical sensitivity with a detection threshold of κ -FLC 1,5 mg/l and λ -FLC – 3 mg/l. Diagnostic sensitivity of FLC determination in patients blood serum by immunoturbidimetric method reached 91,7 %. The combination of the method used by the authors and method of electrophoresis with the subsequent immunofixation of blood serum proteins allowed revealing monoclonal gammopathy in 100 % cases. The received results have shown high analytical and diagnostic sensitivity of the method of FLC determination in blood serum, and also the possibility of carrying out the monitoring of treatment of patients with monoclonal gammopathy.

Key words: κ -FLC, λ -FLC, blood serum, monoclonal gammopathies.

Lyubimova N.V. – doctor of biological sciences, leading researcher, e-mail: post_gem@mail.ru

Kogarko I.N. – doctor of medical sciences, leading researcher, e-mail: post_gem@mail.ru

Votyakova O.M. – candidate of medical sciences, senior researcher, e-mail: post_gem@mail.ru

Kogarko B.S. – doctor of physical-mathematical sciences, senior researcher, e-mail: post_gem@mail.ru

Turko T.A. – physician of clinical-laboratory diagnostics, e-mail: post_gem@mail.ru

Ganeev I.I. – engineer-researcher, e-mail: post_gem@mail.ru