

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ У БОЛЬНЫХ С ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ АНОМАЛИЯМИ В УСЛОВИЯХ СОВРЕМЕННОЙ ТЕРАПИИ

З.В. Масляк, О.Н. Цяпка, О.В. Лещук, Л.М. Лукавецкий,
И.Е. Дзись, М.С. Грицив, О.И. Даныш, А.С. Лукьянова

ГУ «Институт патологии крови и трансфузионной медицины НАМН Украины»,
Львов

Резюме. В работе представлен анализ эффективности лечения больных множественной миеломой с неблагоприятными хромосомными аномалиями и у пациентов с нормальным кариотипом. На основании данных литературы и собственного клинического опыта обоснована целесообразность цитогенетического и молекулярно-генетического (FISH) обследования больных для выбора у них оптимальной лечебной тактики.

Ключевые слова: множественная миелома, хромосомные aberrации, лечебная тактика.

THE FEATURES OF MULTIPLE MYELOMA IN PATIENTS WITH CYTOGENETIC ANOMALY IN MODERN THERAPY CONDITIONS

Z. Maslyak, O. Tsiapka, O. Leshchuk, L. Lukavetsky,
I. Dzis, M. Hriziv, O. Danysh, A. Lukyanova

SI «Institute of blood pathology and transfusion medicine of national academy
of medical sciences of Ukraine», Lviv

Summary. Analysis of the treatment efficacy in multiple myeloma patients with unfavorable chromosomal aberrations and with normal karyotype is presented in the paper. Appropriateness of cytogenetic and molecular genetic (FISH) examination in patients in order to determine appropriate treatment regimen was substantiated in the article on the basis of literature data and our own clinical experience.

Key words: multiple myeloma, chromosomal aberrations, therapeutic tactics.

Поглиблене вивчення різних аспектів патогенезу множинної мієломи (ММ) дозволяє розглядати дане захворювання як гетерогенний парапротеїнемічний гемобластоз з багатьма підтипами хвороби, що відрізняються між собою клінічними проявами, швидкістю прогресування, відповіддю на лікування і, як наслідок, різними показниками виживання пацієнтів. У зв'язку з цим постійних змін та доповнень зазнають критерії оцінки поширеності ММ (від класичної системи стадіювання за Дюрі – Салмон до міжнародної прогностичної шкали ISS), а також фактори прогнозування перебігу хвороби – від загальноклінічних до цитогене-

тичних та молекулярно-генетичних [2,3,4,7]. Пухлинна прогресія при ММ у своїй основі має первинне пошкодження генів, що кодують синтез важких ланцюгів імуноглобулінів, та хромосомну нестабільність каріотипу (гіпер- або гіподиплоїдія, мутації системи RAS генів, вторинні хромосомні аберації). Найчастіше пошкоджуються локуси 14q23, 11q13, 4p16.3, 16q23, 20q11 та 6p21. В залежності від типу хромосомних аберацій пацієнтів з ММ можна розподіляти на підгрупи, яким властива різна відповідь на лікування і прогноз перебігу захворювання. За даними різних авторів у 15-20% первинних пацієнтів зустрічаються такі несприятливі хромосомні аберації, як del(13)/del(13q); del(17p); t(4;14); t(4;16). Окрім того, у пацієнтів з нормальним на момент діагностики каріотипом з часом розвиваються описані несприятливі хромосомні аномалії, які найімовірніше є причиною рецидиву, прогресії або рефрактерності до лікування [1,5,6]. Це зобов'язує клініцистів перекваліфіковувати пацієнтів у групу вищого ризику з несприятливим прогнозом. Останнім часом дослідження каріотипу плазматичних клітин у хворих на ММ за допомогою методів класичного каріотипування та флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) займають чільне місце в прогнозуванні перебігу ММ та виборі лікувальної тактики [3, 4, 8]. Причому, йдеться навіть про доповнення класичної прогностичної шкали стадіювання ММ – ISS.

Мета. З'ясувати особливості перебігу ММ у хворих з цитогенетичними аномаліями і без них в умовах застосування нових методів лікування.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження каріотипу проведено у 17 хворих на множинну мієлому та 1 хворої з первинною плазмоцитарною лейкемією, з яких у 9 діагноз було встановлено вперше, а у решти дослідження проводились на різних етапах лікування хвороби. У 16 пацієнтів після дослідження каріотипу застосовувався інгібітор протеасом бортезоміб, у 2 хворих – курси СТД. Цитогенетичні дослідження проводились методами класичної цитогенетики (каріотипування) та флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) із використанням проб для ідентифікації del(17)(p13.1); del(13)(q14) та del(13)(q34); ампліфікації гена *CCND1* та перебудов з залученням локусу 11q13; виявлення t(4;14) і t(14;16). Каріотипування здійснювалось у лабораторії імуноцитології та генетики пухлин крові ДУ ШКТМ НАМН України. Дослідження FISH проводились у молекулярно-генетичній лабораторії діагностики та прогнозу радіоіндукованої онкогематологічної патології ДУ «ННЦРМ НАМН України» та у цитогенетичній лабораторії Центру онкології – Інституту ім. Марії Складовської-Кюрі (Польща).

Результати та їх обговорення. Проведений молекулярно-цитогенетичний аналіз субстратних клітин у досліджуваній групі виявив 5

випадків аномалій каріотипу, при цьому в однієї пацієнтки аберантний каріотип діагностували тричі протягом 3,5 років лікування. Чотири випадки цитогенетичних аномалій зафіксовано у вперше діагностованих пацієнтів. В одному випадку цитогенетичні аномалії встановлено через 7 місяців від часу діагностики ММ після безуспішного застосування терапії за схемою TAD. Таким чином, частота виявлення хромосомних аберацій у всій групі хворих на ММ становила 27,8%, в той час як серед первинних пацієнтів вона була вищою (44,4%). Серед хворих з нормальним каріотипом на фоні лікування бортезомібом або СТД у 4 випадках досягнуто повну ремісію (30,8%), у 7 випадках (53,8%) – часткову відповідь, а у 2 пацієнтів (15,4%) досягнуто лише стабілізацію процесу з наступною прогресією хвороби.

Перебіг хвороби та відповідь на терапію у хворих з хромосомними аномаліями патологічного клону заслуговує більш детального опису.

У пацієнтки № 1 віком 53 роки, з типом ММ IgA-каппа на момент діагностики за допомогою FISH у 56% мієломних клітин було виявлено $del(13)(q34)$. На цей час інші прогностичні параметри відповідали низькій групі ризику і давали підставу для позитивного прогнозу перебігу хвороби. Хворій було розпочато лікування з застосуванням талідоміду, однак після короткотривалого покращення показників протеїнограми констатовано прогресію хвороби і застосовано ВДХТ з автотрансплантацією стовбурових гемопоетичних клітин. Прогресію хвороби зафіксовано через 3 міс. після авто-ТСГК і хворій призначено лікування бортезомібом. Повну відповідь отримано після 3 курсів VDC, однак лікування було перервано через герпетичну інфекцію. Прогресія хвороби настала через 9 міс. після припинення хворою лікування, а при повторному молекулярно-цитогенетичному дослідженні у неї виявлено вже 2 патологічні клони: з $del(13)(q34)$ та з $t(4;14)(p16;q32)$. Лікування бортезомібом було відновлено через 1,5 року, причому після 4 курсів терапії повторно вдалося досягти повної ремісії, яка тривала ~ 6 місяців. При повторному цитогенетичному дослідженні у пацієнтки залишалась $del(13)(q34)$, однак елімінувався клон з $t(4;14)(p16;q32)$.

У хворої № 2, віком 34 роки, з типом ММ IgG- лямбда, в процесі діагностики було виявлено $del(13)(q14)$ (30% клітин), $del(13)(q34)$ (14% клітин) і $t(14;16)$ у 15% клітин. Після невдачі із застосуванням протягом 3 міс. схеми ThalDex пацієнтці було призначено бортезоміб у схемі PAD. Через 3 міс. лікування у хворої досягнуто повну відповідь, однак розвиток гострого гепатиту В не дозволив продовжувати лікування. Втрату ремісії відмічено через 5 місяців, а повторне застосування бортезомібу в схемі PAD дозволило лише стабілізувати процес. Прогресування хвороби призвело до смерті пацієнтки через 18 міс. з часу діагностики хвороби.

У хворої № 3, 55 років, гостра плазмочитарна лейкемія ускладнилась нирковою недостатністю IVст., анемією та тромбоцитопенією. На момент діагностики у сироватці крові рівень парапротеїну класу каппа становив 9,78 г/л, у сечі виявлено ВJ-протеїн класу каппа в концентрації 20,42 г/л. У мієлограмі 40% клітин віднесено до плазмочитів, абсолютне число плазмочитів у периферичній крові коливалось в межах 3,7-4,4 Г/л. Цитогенетичне дослідження виявило транслокацію між хромосомами 11 і 14, а також моносомію хромосоми X. На фоні гемодіалізу пацієнтці розпочато лікування бортезомібом в схемі VCD. Після 3-х курсів терапії досягнуто нормалізацію гематологічних показників, зниження рівня креатиніну, який утримувався без проведення гемодіалізу, повністю елімінувався із сироватки моноклональний парапротеїн, у сечі визначались лише його сліди. Пацієнтка продовжує лікування.

Неоднозначні хромосомні зміни плазматичних клітин спостерігали у хворого № 4, віком 53 роки, з ММ IgG-каппа. У нього не виявлено жодної з несприятливих цитогенетичних аномалій (делецій хромосом 13 та 17, а також транслокацій t(11;14), t(4;14) та t(14;16)). Однак до 91% інтерфазних ядер показали збільшення кількості сигналів від гена *IGH* (від 3 до 5 сигналів), що може свідчити або про його ампліфікацію, або про транслокацію хромосоми 14 з іншою партнерською хромосомою, визначити яку не вдалось через відсутність метафаз. Окрім того, виявлено 3 сигнали від гена *CCND1*. Сукупність виявлених змін може свідчити про наявність поліплоїдії, але це вимагає підтвердження за допомогою аналізу каріотипу. Хворому було призначено курс лікування талідомідом за схемою STD, отримано повну ремісію, що утримується протягом 2 років.

У пацієнтки № 5, 33 років, підтип ММ IgG лямбда, на момент діагностики у кістковому мозку виявлено 41% плазматичних клітин з ознаками анаплазії, парапротеїн у сироватці крові становив 23,1 г/л, у сечі виявлено ВJ протеїн. Лікування протягом 6 місяців талідомідом за схемою STD виявилось неефективним, тому пацієнтці було проведено FISH-дослідження. У 76% клітин виявлено del(13)(q34) та t(4;14). Неповне обстеження цієї хворої на момент діагностики ММ не дає можливості встановити, чи були у неї зміни каріотипу на початку хвороби. Після 5 курсів з бортезомібом отримано часткову відповідь, на фоні якої проведено ВДТ з автотрансплантацією СГК. Зафіксовано дуже добру часткову відповідь, однак прогресія хвороби через 2 роки після операції призвела до смерті пацієнтки.

Підвищена увага до аномалій каріотипу пухлинного субстрату при ММ пов'язана з розробкою нових препаратів, що діють у місці пошкодження. Зокрема, багатоцентровими клінічними дослідженнями ефективності бортезомібу APEX та SUMMIT було доведено, що препарат

здатний нівелювати прогностично несприятливий вплив del(13q) та t(4;14), оскільки відповідь на його застосування не відрізнялась у хворих зі стандартним і високим ризиком. З часом цю властивість бортезомібу підтверджено й іншими дослідженнями [9,10].

У зв'язку з цим міжнародні робочі групи з діагностики та лікування ММ [4,7,8] вказують на обов'язковість цитогенетичного дослідження кісткового мозку при ММ з метою виявлення хворих з несприятливою відповіддю на рутинну хіміотерапію, у т.ч. на імуномодулятори типу талідоміду. Слід відзначити, що у хворих з t(14;16), t(4;14), del(17p) незадовільними є результати високодозової ПХТ з автотрансплантацією стовбурових гемопоетичних клітин, у тому числі й тандемної ТСГК. У таких пацієнтів оптимальною опцією лікування є застосування бортезомібу, для якого доведено позитивний вплив на перебіг хвороби навіть при наявності несприятливого каріотипу. У нашій групі хворих ми також відмітили значну протипухлинну активність бортезомібу як у хворих з нормальним каріотипом, так і у пацієнтів з прогностично несприятливими хромосомними аномаліями, однак у останніх досягнута ремісія була значно коротшою.

Висновки

Прогностично несприятливі хромосомні аберації у нашому дослідженні зустрічались у хворих на ММ молодших вікових категорій – від 33 до 53 років. Застосування у них імуномодуляторів в якості першої лінії терапії, а в одному випадку і високодозової хіміотерапії з авто-ТСГК, виявилось неефективним. Ремісію різної глибини і тривалості у цих пацієнтів вдалося досягнути при використанні інгібітора протеасом бортезоміба. У хворих з нормальним каріотипом також спостерігався високий відсоток відповіді на бортезоміб (84,6%), але ремісія була значно тривалішою. Для вибору оптимальних варіантів лікування хворих на ММ необхідним є впровадження системного цитогенетичного та молекулярно-цитогенетичного дослідження пухлинних клонів за допомогою класичного каріотипування та методу FISH.

Література

1. The t(4;14) is associated with poor prognosis in myeloma patients undergoing autologous stem cell transplant / H. Chang, S. Sloan, Li D., L. Zhuang [et al.] // Br. J. Haematol. – 2004. – 125. – P. 64–68.
2. Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy (mSMART): consensus statement / A. Dispenzieri, S.V. Rajkumar, M.A. Gertz [et al.] // Mayo Clin. Proc. – 2007. – 82. – P. 323–341.

3. Zalicenia Polskiej Grupy Szpiczakowej dotyczace rozpoznawania in leczenia szpiczaka plazmocytoowego na rok 2012 / A. Dmoszynska, A. Walter-Croneck, J. Manko [et al.] // Akta Haematol. Pol. – 2012. – 43. – P. 7–47.
4. European Myeloma NETWORK recommendationson the evaluation and treatment of newly diagnosed patients of multiple myeloma / M. Engelhardt, E. Terpos, M. Kleber [et al.] // Haematologica. – 2014. – 99(2). – P. 232–242.
5. Prognostic and biologic significance of chromosomal imbalances assessed by comparative genomic hybridization in multiple myeloma / N.C. Gutierrez, J.L. Garcia, J.M. Hernandez [et al.] // Blood 2004. – 104. – P. 2661–2666.
6. Heterogeneity of t(4;14) in multiple myeloma. Long term follow-up of 100 cases treated with tandem transplantation in IFM99 trials / P. Moreau, M. Attal, F. Garban [et al.] // Leukemia 2007. – 21. – P. 2020–2024.
7. Multiple myeloma: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management / S.V. Rajkumar // Am. J. Hematol. – 2012. – 87. – P. 78–88.
8. European myeloma network recommendations for FISH in myeloma / F.M. Ross, H. Avet-Loiseau, J. Drach [et al.] // Haematol. 2007. – 92(suppl. 2). – PO. 114.
9. Bortezomib in relapsed multiple myeloma: response rates and duration of response are independent of a chromosome 13q-deletion / F.M. Ross, H. Ludwig, H. Kaufmann [et al.] // Leukemia 2007. – 21. – P. 164–168.
10. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma / J.F. San Miguel, R. Schlag, N.K. Khuageva [et al.] // N. Engl. J. Med. 2008. – 359. – P. 906–917.

УДК 612.118.221.3+ 612.118.24

ВМІСТ ОЛІГОПЕПТИДІВ СЕРЕДНЬОЇ МОЛЕКУЛЯРНОЇ МАСИ ЯК ПОКАЗНИК МЕТАБОЛІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ АВТОІМУННІЙ ГЕМОЛІТИЧНІЙ АНЕМІЇ

Г.А. Мироненко

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

Резюме. Мета. Провести визначення рівня молекул середньої маси (МСМ) у сироватці хворих на автоімунну гемолітичну анемію (АІГА), враховуючи походження захворювання, гостроту перебігу та вміст непрямого білірубину як показника екстраваскулярного гемолізу.

Матеріали і методи. Досліджено 36 зразків сироватки крові хворих на АІГА скринінговим методом визначення МСМ за Н.І. Габріелян, В.І. Ліпатовою.

Результати. Встановлено, що автоімунні гемолітичні реакції супроводжуються зміною метаболічного статусу, який сприяє наростанню явищ ендогенної інтоксикації. У сироватці хворих на АІГА спостерігається підвищення вмісту пептидної фракції МСМ₂₅₄ та зменшення коефіцієнту розподілу $K_{280/254}$.