

УДК 616-006.448-07-08

DOI: 10.58708/2074-2088.2024-2(32)-23-28

Ж.М. Козич¹, В.Н. Мартинков¹,
Н.Н. Климкович², Т.В. Руденкова²,
С.А. Костюк², Н.В. Сердюкова³

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь;

²Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения
УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь;

³ГУ «Минский НПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии» г. Минск, Беларусь

Множественная миелома — злокачественное новообразование, вызванное неконтролируемой пролиферацией опухолевых плазматических клеток. С внедрением новых препаратов и методов лечения в последнее десятилетие увеличилась глубина ответа и общая выживаемость пациентов с ММ. Однако ММ остается неизлечимым заболеванием с развитием рецидивов или рефрактерности к лечению. Поэтому поиск факторов прогноза является постоянной темой изучения многих исследований. Благодаря применению современных технологий в диагностике появилась возможность уже на начальном этапе выявлять группу пациентов с высоким риском прогрессии. Это позволяет разрабатывать новые стратегии в лечении. В данном обзоре представлены новые достижения в диагностике и лечении ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, проточная цитометрия, NGS, CAR-T клеточная терапия

Введение

Множественная миелома (ММ) — злокачественное новообразование из дифференцированных В-лимфоцитов, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток (ПК) в костном мозге (КМ), продуцирующих моноклональный белок, и сопровождающееся повреждением органов-мишеней [1].

Проходя в своем развитии доброкачественные бессимптомные состояния — моноклональную гаммапатию не уточненного значения (МГНЗ), тлеющую миелому (ТМ), — ММ в конечном итоге может прогрессировать до плазмоклеточного лейкоза с появлением экстрамедуллярных поражений. Течение МГНЗ более стабильно — в среднем она прогрессирует около 1% в год; ТМ имеет более высокий риск трансформации — до 10% в год [2]. Время до прогрессии опухолевого процесса зависит от множества факторов, включающих нали-

чие различных молекулярно-генетических аномалий, которые могут быть обнаружены еще до трансформации МГНЗ и ТМ во ММ, опухолевого микроокружения, а также различных хемокинов и цитокинов, вырабатываемых как самой опухолью, так и микроокружением. Частота выявляемых аномалий нарастает при прогрессировании заболевания, приобретая агрессивный фенотип.

Большинство факторов прогрессии собраны в различные стратификации риска. Первая стратификация пациентов ММ по группам риска была основана на общедоступных клинико-морфологических параметрах. Эта классификация известна как Durie-Salmon (D&S) [3]. С 2005 года D&S заменена Международной системой стадирования (ISS), которая представляет собой прогностическую модель, основанную на концентрации β_2 -микроглобулина и уровне альбумина [4]. Параметры, использованные в данной системе стадирования,

позволили выделить три группы риска, влияющие на общую выживаемость. Однако система не учитывала роли цитогенетических аномалий в развитии ММ.

На следующем этапе прогностические факторы риска были стратифицированы в 2014 году Международной рабочей группой по миеломе (IMWG) на основе международной системы стадирования (ISS). В новую систему стадирования, кроме данных уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентрации $\beta 2$ -микроглобулина, уровня альбумина, включены данные о неблагоприятных цитогенетических транслокациях [5]. В 2016 году Международная рабочая группа по миеломе (IMWG) сообщила о новых консенсусных критериях, которые включили результаты выявленной минимальной остаточной болезни (МОБ) [6].

Однако, несмотря на достижения последних лет, когда после внедрения в клиническую практику высокоактивных агентов и таргетной терапии с применением ауто-ТГСК увеличилась глубина полного ответа и повысились показатели общей выживаемости, ММ продолжает оставаться неизлечимым заболеванием с развитием рецидивов и рефрактерности. Все это ведет к поиску новых терапевтических стратегий в диагностике и лечении.

В данном обзоре представлены достижения последних лет в диагностике и мониторинге ММ, а также современные подходы к лечению.

Проточная цитометрия

Многopараметрическая проточная цитометрия (ПЦ) — это метод, предназначенный для определения клональности опухолевых клеток и используемый в клинической практике для характеристики, диагностики и мониторинга гематологических злокачественных новообразований [7]. Несмотря на то, что оценка опухолевых ПК в КМ проводится с 1990-х годов, эта технология только недавно получила широкое признание в качестве рутинного клинического теста при ММ [8]. Благо-

даря применению данного метода можно идентифицировать и охарактеризовать различные иммунофенотипические профили опухолевых ПК и отличить их от реактивных состояний или В-клеточных лимфом с плазмочитарной дифференцировкой, а также проводить мониторинг заболевания, определяя МОБ.

Особенности фенотипа и неоднородность распределения опухолевых ПК в КМ при плазмочелочных пролиферациях (ПП) вызывают некоторые технические трудности. Согласно рекомендации European Myeloma Network для диагностики ММ с помощью ПЦ предложено использовать CD138, CD38, CD33, CD19, CD56, CD45, CD117, CD20 и CD28 антигены, а также легкие цепи цитоплазматического иммуноглобулина. При этом CD45, CD56, CD117 и CD28 антигены идентифицированы как прогностические маркеры ММ [9]. EuroFlow и IMWG в 2021 году определили наиболее информативные маркеры для характеристики ММ [13] и предложили включать в панель идентификации ПК альтернативные маркеры, такие как мультиэпитопные CD38, VS38с, CD319, CD200 и некоторые другие [14, 15, 16]. При этом использование экспрессии легких цепей иммуноглобулинов и их соотношения (каппа/лямбда) в субпопуляциях ПК остается одним из наиболее важных показателей для получения различий между клональными и нормальными ПК [17]. Результаты ПЦ дополняют данные цитогенетического исследования.

Цитогенетическое исследование FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

К одному из важных прогностических факторов, влияющих на течение и прогноз плазмочелочных пролифераций (ПП), относят цитогенетические нарушения. Однако из-за низкой пролиферативной активности опухолевых ПК *in vitro* цитогенетическое исследование методом кариотипирования ограничено [18]. Наиболее информативным и чувствительным методом для

диагностики цитогенетических аномалий при ПП является межфазная флуоресцентная гибридизация *in situ* (iFISH). Обнаружение цитогенетических нарушений, с которыми связана прогрессия ПП, имеет прогностическое клиническое значение и определяет стратификацию риска при ММ. Стандартные цитогенетические аномалии риска включают t(11;14), t(6;14) и гипердиплоидию (генов 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 и/или 21). К аномалиям высокого риска относят t(4;14), t(14;16), t(14;20), делецию короткого плеча хромосомы 17 (del 17p), удвоение или амплификацию длинного плеча хромосомы 1 (1q gain/amp), делецию короткого плеча хромосомы 1 (del 1p), перестройку гена MYC и делецию длинного плеча хромосомы 13 (del 13q) [19].

Пересмотренная международная система стадирования ММ, установленная Международной рабочей группой по ММ, включила цитогенетические аномалии высокого риска t(4;14), t(14;16), делецию 17p, TP53 в систему стратификации риска. Вторая редакция R-ISS исключила t(14;16) и включила амплификацию 1q в систему оценки риска [20].

Во многих исследованиях последних лет в качестве прогностического фактора стали рассматривать данные МОБ. Однако выявление МОБ методом iFISH имеет свои ограничения в связи с небольшим количеством клональных ПК после проведенной химиотерапии. IMWG в качестве дополнительной оценки ответа на терапию рекомендует также оценивать МОБ в КМ с помощью количественной полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными олигонуклеотидами (ASO-qPCR), многопараметрической проточной цитометрией (MFC), секвенированием нового поколения (NGS) [21].

Минимальная остаточная болезнь (МОБ) и секвенирование нового поколения (NGS)

МОБ считается основным прогностическим фактором, способным заменить анализ выживаемости при ряде гематологи-

ческих заболеваний [10]. Опубликованные в последнее десятилетие исследования, посвященные клинической значимости МОБ, определяемой с помощью ПЦ при ММ, показали, что достижение отрицательного результата является важным предиктором ответа на лечение [11, 12]. Так, сохранение МОБ после лечения указывает на то, что опухолевые клетки не полностью уничтожены и в ближайшем будущем ожидается развитие рецидива. Достижение в результате лечения отрицательной МОБ является благоприятным прогностическим фактором. Пациенты с отрицательной МОБ имеют лучшую общую выживаемость и выживаемость без прогрессии [22].

Оценка МОБ с помощью ПЦ, молекулярных методов обеспечивает дополнительную прогностическую информацию о долгосрочных результатах пациентов.

К новым технологиям, способным обнаруживать редкие остаточные опухолевые клетки при ММ, относят секвенирование нового поколения (NGS). Данный метод в 10 раз чувствительнее ПЦ и ASO-qPCR и может предоставить гораздо более полную информацию о генных мутациях, анеуплоидиях, аномалиях и транслокациях, чем данные FISH-исследования или карiotипирования [23]. ММ считается клонально гетерогенным заболеванием, подразумевающим пролиферацию опухоли за счет видоизменения опухолевых клеток в результате приобретения новых различных генетических повреждений, способствующих их выживанию. Использование NGS в клинической практике позволит более точно определить прогностические факторы.

В настоящее время разработана целевая панель NGS для выявления генетических aberrаций для прогностической стратификации ММ, которая охватывает кодирующие области 26 генов, участвующих в развитии и прогрессировании опухолей (ATM, ATR, ATRIP, BCL7A, BRAF, CCND1, CYLD, DIS3, EGR1, FAM46C, FGFR3, HIST1H1E, IRF4, KRAS, LTB, MAX, NRAS, NRM, PRDM1, PRKD2, RB1, TRAF3, ZFH4, CRBN и NFKB2). Кроме этого, в генетиче-

скую панель включены TP53 и гены, считающиеся мишенями для лечения или кандидатами на лекарственную устойчивость при ММ (PSMD1, XBP1, PSMB5, PSMC2, PSMC6, DDB1, IKZF1 и IKZF3), а также гены, связанные с новыми методами иммунотерапии (CD38, CD19 и SLAMF7). Кроме того, включены определенные области локуса IGH (14q32) для фиксации перестроек IGH [24]. И хотя еще не разработаны методы индивидуального лечения, использование данных NGS в диагностике позволяет уже на начальном этапе выявить пациентов с неблагоприятным прогнозом. Это дает возможность адаптировать лечение с учетом наличия факторов высокого риска.

CAR-T-клеточная терапия

Благодаря внедрению новых препаратов и комбинаций, а также использованию аутологичной трансплантации стволовых клеток (ауто ТГСК), лечение ММ и её ответы на терапию, а также исходы меняются с каждым годом. Однако в результате перестройки опухолевых клеток под воздействием лечения и появления новых генетических аномалий в большинстве случаев развивается прогрессирование заболевания с отсутствием эффекта на проводимую стандартную химиотерапию. Все это приводит к поиску новых подходов и применению новых технологий в лечении ММ.

Многообещающим методом терапии ММ в последнее десятилетие стала CAR-T-клеточная терапия с использованием химерного антигенного рецептора Т-клеток.

Т-клетки пациентов генетически модифицируются с помощью специфического рецептора, нацеленного на опухоль, который известен как химерный антигенный рецептор (CAR). CAR-T-клетки способны уничтожению опухоли несколькими способами, включающими секрецию цитотоксических гранул, содержащих перфорин и гранзимы, выработку провоспалительных цитокинов, таких как IFN- γ и TNF- α , и активацию Fas/Fas лигандного пути [25]. Антиген созревания В-клеток

(BCMA) в настоящее время является наиболее целевой мишенью, используемой для терапии CAR-T-клеток при ММ. Использование терапии CAR-T-клетками против BCMA у пациентов с рецидивами и рефрактерной формой помогло достичь положительных результатов в большинстве случаев [26]. Однако после проведения CAR-T-клеточной терапии также возможно развитие рецидивов.

Пути преодоления резистентности и устойчивости к терапии CAR-T-клетками изучаются исследователями многих стран. Существует несколько концепций преодоления устойчивости к терапии CAR-T-клетками, включая использование CAR-T-клеток двойного назначения, ингибирование внутриклеточных сигналов, связанных с истощением, а также использование промежуточной терапии и отбор Т-клеток, собранных на ранних стадиях заболевания, для производства CAR-T-клеток [26]. Ауто-ТГСК, являющаяся стандартной терапией для пациентов с ММ, также может служить эффективной промежуточной терапией перед терапией CAR-T-клетками [27].

Несмотря на существующие проблемы, связанные с проведением CAR-T-клеточной терапии (развитие тяжелых инфекционных осложнений на фоне цитопении, синдром энцефалопатии и синдром высвобождения цитокинов), а также недолгосрочность эффекта у небольшой группы пациентов, данный метод является в настоящее время наиболее эффективным для лечения рефрактерных и рецидивирующих форм ММ.

Заключение

Изучение механизмов преодоления резистентности, поиск новых подходов к лечению пациентов ММ с прогрессированием заболевания, использование новых методов диагностики в поиске прогностических факторов являются основными темами исследований последних лет. Приобретенный опыт поможет в дальнейшем разработать терапевтические стратегии по

ведению пациентов ММ, особенно — относящихся к группе высоким риском.

Библиографический список

1. Palumbo, A. Multiple myeloma / A. Palumbo, K.N. Anderson // *Engl J Med.* – 2011. – Т. 1046. – P. 10.
2. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells / E. Pérez-Persona [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* – 2007. – Т. 110. – №. 7. – P. 2586-2592.
3. Durie, B.G.M. A clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival / B.G.M. Durie, S.E. Salmon // *Cancer.* – 1975. – Т. 36. – №. 3. – P. 842-854.
4. International staging system for multiple myeloma / P.R. Greipp [et al.] // *Journal of clinical oncology.* – 2005. – Т. 23. – №. 15. – P. 3412-3420.
5. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma / S.V. Rajkumar [et al.] // *The lancet oncology.* – 2014. – Т. 15. – №. 12. – P. e538-e548.
6. Rajkumar, S.V. Multiple myeloma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management / S.V. Rajkumar // *American journal of hematology.* – 2016. – Т. 91. – №. 7. – P. 719-734.
7. Flow cytometric disease monitoring in multiple myeloma: the relationship between normal and neoplastic plasma cells predicts outcome after transplantation / A.C. Rawstron [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* – 2002. – Т. 100. – №. 9. – P. 3095-3100.
8. Multiparameter immunophenotyping by flow cytometry in multiple myeloma: The diagnostic utility of defining ranges of normal antigenic expression in comparison to histology / E. Cannizzo [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry.* – 2010. – Т. 78, №4. – P. 231-238.
9. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders / A.C. Rawstron [et al.] // *Haematologica.* – 2008. – Т. 93, №3. – P. 431-438.
10. Reference values to assess hemodilution and warn of potential false-negative minimal residual disease results in myeloma / N. Puig [et al.] // *Cancers.* – 2021. – Т. 13, №19. – P. 4924.
11. VS38c and CD38-multiepitope antibodies provide highly comparable minimal residual disease data in patients with multiple myeloma / A. Broijl [et al.] // *American Journal of Clinical Pathology.* – 2022. – Т. 157, №4. – P. 494-497.
12. CD319 (SLAMF7) an alternative marker for detecting plasma cells in the presence of daratumumab or elotuzumab / K.T. Soh [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry.* – 2021. – Т. 100, №4. – P. 497-508.
13. Standardization of flow cytometric minimal residual disease assessment in international clinical trials. A feasibility study from the European Myeloma Network / D.H. Bruinink [et al.] // *Haematologica.* – 2021. – Т. 106, №5. – P. 1496.
14. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma / J. Flores-Montero [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry.* – 2016. – Т. 90, №1. – P. 61-72.
15. Chromosomal abnormalities are major prognostic factors in elderly patients with multiple myeloma: the intergroupe francophone du myélome experience / H. Avet-Loiseau [et al.] // *Journal of clinical oncology.* – 2013. – Т. 31, №22. – P. 2806.
16. Hanamura, I. Multiple myeloma with high-risk cytogenetics and its treatment approach / I. Hanamura // *International Journal of Hematology.* – 2022. – Т. 115, №6. – P. 762-777.
17. A. Dhabe, Role of Conventional Cytogenetics and FISH in the Laboratory Work Up of Plasma Cell Dyscrasias / A. Dhabe, S. Das, M. Parihar // *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology.* – 2023.
18. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma / S. Kumar [et al.] // *The lancet oncology.* – 2016. – Т. 17, №8. – P. e328-e346.
19. Multiparametric flow cytometry for MRD monitoring in hematologic malignancies: clinical applications and new challenges / G. Riva [et al.] // *Cancers.* – 2021. – Т. 13, №18. – P. 4582.
20. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma / J. Flores-Montero [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry.* – 2016. – Т. 90, №1. – P. 61-72.
21. Minimal residual disease in multiple myeloma: State of the art and applications in clinical practice / A. Gozzetti [et al.] // *Journal of Personalized Medicine.* – 2020. – Т. 10, №3. – P. 120.
22. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation / B. Paiva [et al.] // *Blood.* – 2008. – Vol. 112(10). – P. 4017-4023. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-159624>.
23. Reuter, J.A. High-throughput sequencing technologies / J.A. Reuter, D.V. Spacek, M.P. Snyder // *Molecular cell.* – 2015. – Т. 58, №4. – P. 586-597. doi: 10.1016/j.molcel.2015.05.004
24. NGS-based molecular karyotyping of multiple myeloma: results from the GEM12 clinical trial / J.M. Rosa-Rosa [et al.] // *Cancers.* – 2022. – Т. 14, №20. – P. 5169. doi: 10.3390/cancers14205169
25. Exploratory trial of a biepitopic CAR T-targeting B cell maturation antigen in relapsed/refractory multiple myeloma / J. Xu [et al.] // *Proceedings*

of the National Academy of Sciences. – 2019. – Т. 116, №19. – P. 9543-9551. doi: 10.1073/pnas.1819745116.

26. A phase 1 study of a novel fully human BC-MA-targeting CAR (CT103A) in patients with relapsed/

refractory multiple myeloma / D. Wang [et al.] // Blood, The Journal of the American Society of Hematology. –

2021. – Т. 137, №21. – P. 2890-2901. doi: 10.1182/blood.2020008936

**Zh.M. Kozich, V.N. Martinkov, N.N. Klimkovich,
T.V. Rudenkova, S.A. Kostyuk, N.V. Serdyukova**

**NEW APPROACHES IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT
OF MULTIPLE MYELOMA (REVIEW)**

Multiple myeloma is a malignant neoplasm caused by the uncontrolled proliferation of tumor plasma cells. With the introduction of new drugs and treatments in the last decade, the response rate and overall survival rate of MM patients have increased. However, MM remains an incurable disease with relapses or refractoriness to treatment. Therefore, the search for prognostic factors is a constant topic of study in many researches. Due to the application of modern technologies in diagnostics, it has become possible to identify a group of patients at high risk at an early stage. This allows the development of new treatment strategies. This review presents new achievements in the diagnosis and treatment of MM.

Key words: *multiple myeloma, flow cytometry, NGS, CAR-T cell therapy*

Поступила 12.06.2024