

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Прогностическое значение иммунофенотипических особенностей плазматических клеток у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой, получавших лечение на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба

The Prognostic Value of Immunophenotypic Characteristics of Plasma Cells in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients Treated with First-Generation Proteasome Inhibitor Bortezomib

Г.Н. Салогуб¹, Е.Б. Русанова², М.В. Горчакова²,
Е.А. Белякова³

GN Salogub¹, EB Rusanova², MV Gorchakova²,
EA Belyakova³

¹ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Акkuratova, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

¹ VA Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

² IP Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

³ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, ул. Кирочная, д. 41, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191015

³ II Mechnikov North-Western State Medical University, 41 Kirochnaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191015

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Цель. Оценить с помощью методов проточной цитометрии (ПЦ) и световой микроскопии количество плазматических клеток (ПК) в костном мозге и их иммунофенотип. Проанализировать клиническое и прогностическое значение полученных данных у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой (ММ), получавших лечение на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба.

Aim. To assess the number of plasma cells (PC) in the bone marrow and their immunophenotype using flow cytometry (FC) and light microscopy. To analyze clinical and prognostic value of the data obtained in newly diagnosed multiple myeloma (MM) patients treated with first-generation proteasome inhibitor bortezomib.

Материалы и методы. В исследование включено 153 пациента с впервые диагностированной ММ, проходивших лечение с последующим наблюдением в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова в период с 2007 по 2017 г. Медиана возраста пациентов 69 лет. В качестве индукционной терапии у 115 пациентов применялись схемы на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба. Для определения иммунофенотипического профиля ПК использовались моноклональные антитела CD19, CD20, CD27, CD38, CD45, CD56, CD138, CD117. Иммунофенотипирование ПК в костном мозге проводили методом ПЦ на приборе Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США).

Materials & Methods. The study enrolled 153 newly diagnosed MM patients treated and followed-up at the IP Pavlov First Saint Petersburg State Medical University in the period from 2007 to 2017. The median age of patients was 69 years. In 115 patients, the regimens based on first-generation proteasome inhibitor bortezomib were used as induction therapy. To determine the immunophenotypic profile of PC, the CD19, CD20, CD27, CD38, CD45, CD56, CD138, and CD117 monoclonal antibodies were used. PC immunophenotyping in the bone marrow was performed by FC using Cytomics FC500 (Beckman Coulter, USA).

Результаты. Значительных различий в моноклональной продукции отдельных классов и типов тяжелых и/или легких цепей иммуноглобулинов у больных с различным фенотипом не выявлено. При иммунофенотипическом профиле миеломных клеток CD20+CD27– преобладала секреция моноклональной цепи κ над λ. В целом

Results. Patients with different phenotypes did not show any considerable differences in monoclonal production of certain classes and types of immunoglobulin heavy and/or light chains. In case of immunophenotypic profile of CD20+CD27– myeloma cells, the secretion of the monoclonal κ-chain predominated over that of λ-chain. By and large, the secretion of light chains was observed more often in MM CD20+ and more seldom in MM CD56+. In case of CD56 expression, IgAλ secretion was more often reported; IgAκ

секреция легких цепей чаще отмечалась при ММ CD20+, реже — при ММ CD56+. При экспрессии CD56 чаще наблюдалась секреция IgAλ, а при экспрессии CD117 — IgAκ. Наихудшие показатели выживаемости оказались у пациентов с иммунофенотипом ПК CD27–CD56–. Поздние стадии заболевания по системе ISS на этапе первичной диагностики ММ чаще характеризовались фенотипом CD45–CD27–CD56+.

Заключение. Особенности иммунофенотипа ПК, выявленные по результатам ПЦ, могут использоваться у пациентов с ММ для определения прогноза и оптимизации терапии.

Ключевые слова: множественная миелома, проточная цитометрия, бортезомиб, иммунофенотипический профиль, плазматические клетки, общая выживаемость, выживаемость без прогрессирования.

Получено: 22 мая 2022 г.

Принято в печать: 28 августа 2022 г.

Для переписки: Галина Николаевна Салогуб, д-р мед. наук, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; e-mail: salogub@bk.ru

Для цитирования: Салогуб Г.Н., Русанова Е.Б., Горчакова М.В., Белякова Е.А. Прогностическое значение иммунофенотипических особенностей плазматических клеток у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой, получавших лечение на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба. Клиническая онкогематология. 2022;15(4):377–87.

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-4-377-387

secretion was more common in case of CD117 expression. Worst survival scores were shown by patients with PC immunophenotype CD27–CD56–. At the primary MM diagnosis, the advanced stages of the disease, according to the ISS, were more commonly characterized by phenotype CD45–CD27–CD56+.

Conclusion. The flow cytometry characteristics of PC immunophenotype can be applied to evaluate the prognosis of MM and to optimize the therapy.

Keywords: multiple myeloma, flow cytometry, bortezomib, immunophenotypic profile, plasma cells, overall survival, progression-free survival.

Received: May 22, 2022

Accepted: August 28, 2022

For correspondence: Galina Nikolaevna Salogub, MD, PhD, 2 Akkuratova ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; e-mail: salogub@bk.ru

For citation: Salogub GN, Rusanova EB, Gorchakova MV, Belyakova EA. The Prognostic Value of Immunophenotypic Characteristics of Plasma Cells in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients Treated with First-Generation Proteasome Inhibitor Bortezomib. Clinical oncohematology. 2022;15(4):377–87. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-4-377-387

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) — злокачественное новообразование, характеризующееся пролиферацией клональных плазматических клеток в костном мозге. Пролiferация этих клеток, а также способность опухоли влиять на метаболизм костной ткани и продуцировать моноклональный белок приводят к развитию характерных проявлений заболевания, включающих гиперкальцемию, повреждение почек и костей, анемию, а также иммуносупрессию. Несмотря на успехи в разработке лечебных подходов и широкое использование таких препаратов, как бортезомиб и леналидомид, болезнь в большинстве случаев остается неизлечимой. Текущие направления исследований ММ в значительной степени сосредоточены на поиске прогностических маркеров, позволяющих стратифицировать пациентов по группам риска, и выборе лекарственной терапии с учетом не только эффективности, но и безопасности используемых противоопухолевых препаратов.

Хотя специфические цитогенетические нарушения высокого риска и считаются наиболее важными предикторами прогноза у пациентов, получавших противоопухолевые препараты, в нескольких исследованиях показано, что схемы лечения на основе бортезомиба позволяют преодолеть негативное влияние некоторых из них на прогноз [1]. Наиболее широко используемая

в настоящее время Международная система стадирования (ISS) и ее пересмотренная версия (R-ISS) не учитывают некоторые дополнительные характеристики опухолевой популяции, такие как пролиферативный потенциал и иммунофенотипические особенности, и незначительно влияют на выбор терапии. Таким образом, прогностические факторы у пациентов с ММ остаются неясными, а данных о клиническом и прогностическом значении особенностей иммунофенотипа миеломных клеток у пациентов, получавших лечение на основе бортезомиба, недостаточно. В настоящем исследовании оценивается иммунофенотип плазматических клеток (ПК) методом проточной цитометрии (ПЦ) у пациентов, получавших бортезомиб, и обсуждается возможное использование полученных результатов в качестве дополнительных прогностических факторов.

Цель исследования — оценить с помощью методов ПЦ и световой микроскопии количество ПК в костном мозге и их иммунофенотип. Проанализировать клиническое и прогностическое значение полученных данных у пациентов с впервые диагностированной ММ, получавших лечение на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 153 пациента с впервые диагностированной ММ, проходивших лечение с после-

дующим наблюдением в ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в период с 2007 по 2017 г. Медиана возраста пациентов составила 69 лет. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова (протокол № 127/7 от 17 ноября 2011 г.). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. В качестве индукционной терапии у 115 пациентов использовались схемы на основе ингибитора протеасомы первого поколения бортезомиба. Медиана общей выживаемости (ОВ) составила 69,7 мес., а выживаемости без прогрессирования (ВБП) — 25,3 мес. Эффективность различных режимов противоопухолевой терапии оказалась сопоставимой, что позволило оценить результаты лечения во всей группе в целом.

Имунофенотипирование ПК в костном мозге проводили методом ПЦ на приборе Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). С целью консервации аспирата костного мозга и предотвращения образования сгустков применяли вакутейнеры с антикоагулянтом K₂ EDTA. Ежедневную настройку и мониторинг стабильности работы прибора осуществляли с помощью частиц контроля качества цитометра Flow Check™ (Beckman Coulter, США). Подбор коэффициентов компенсации проводили с использованием периферической донорской крови в автоматическом режиме с помощью калибровочных частиц Flow Set™ и одно-

цветных моноклональных антител (Beckman Coulter, США) к пяти используемым каналам флуоресценции. Для определения иммунофенотипического профиля ПК использовались следующие моноклональные антитела: CD19 (клон J3-119), CD20 (клон B9E9), CD27 (клон 1A4CD27), CD38 (клон T16), CD45 (клон J33), CD56 (клон N901), CD117 (клон 104D2D1), CD138 (клон B-A38) (все производства Beckman Coulter, США). Для фильтрации образцов костного мозга применяли нейлоновые фильтры 70 мкм (Sarstedt, Германия). Результаты были обработаны в программном обеспечении Kaluza 2.1 (Beckman Coulter, США).

Для идентификации ПК была создана стратегия гейтирования. Гейтирование ПК начинали с двухпараметрической гистограммы целевого маркера ПК CD38 на параметр «время» для исключения возможных пузырьков воздуха в ходе сбора пробы и оценки стабильности работы прибора. Для выбора в зону анализа только одиночных клеток (синглетов) на двухпараметрической гистограмме пикового (PEAK) и интегрального (INT) сигналов прямого светорассеяния (FS) исключали дуплеты. Далее на гистограмме прямого и бокового светорассеяния (SS) удаляли из анализа дебрис. Целевой регион без дебриса использовали для выделения ПК. Классическая гистограмма для идентификации ПК CD38/CD138 показана на рис. 1 (выделены черным цветом).

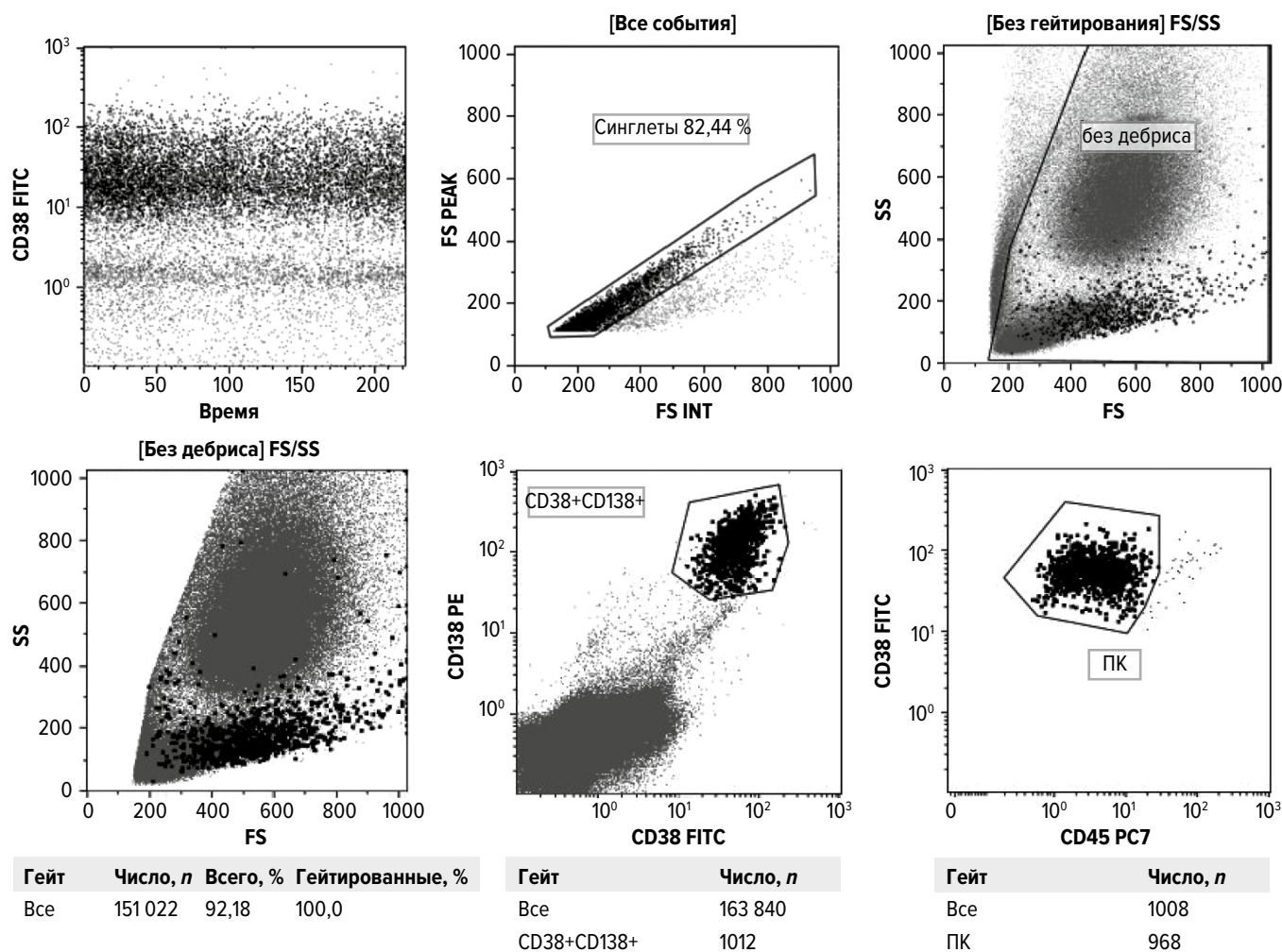


Рис. 1. Стратегия гейтирования плазматических клеток (ПК) костного мозга

Fig. 1. Gating strategy for bone marrow plasma cells (ПК)

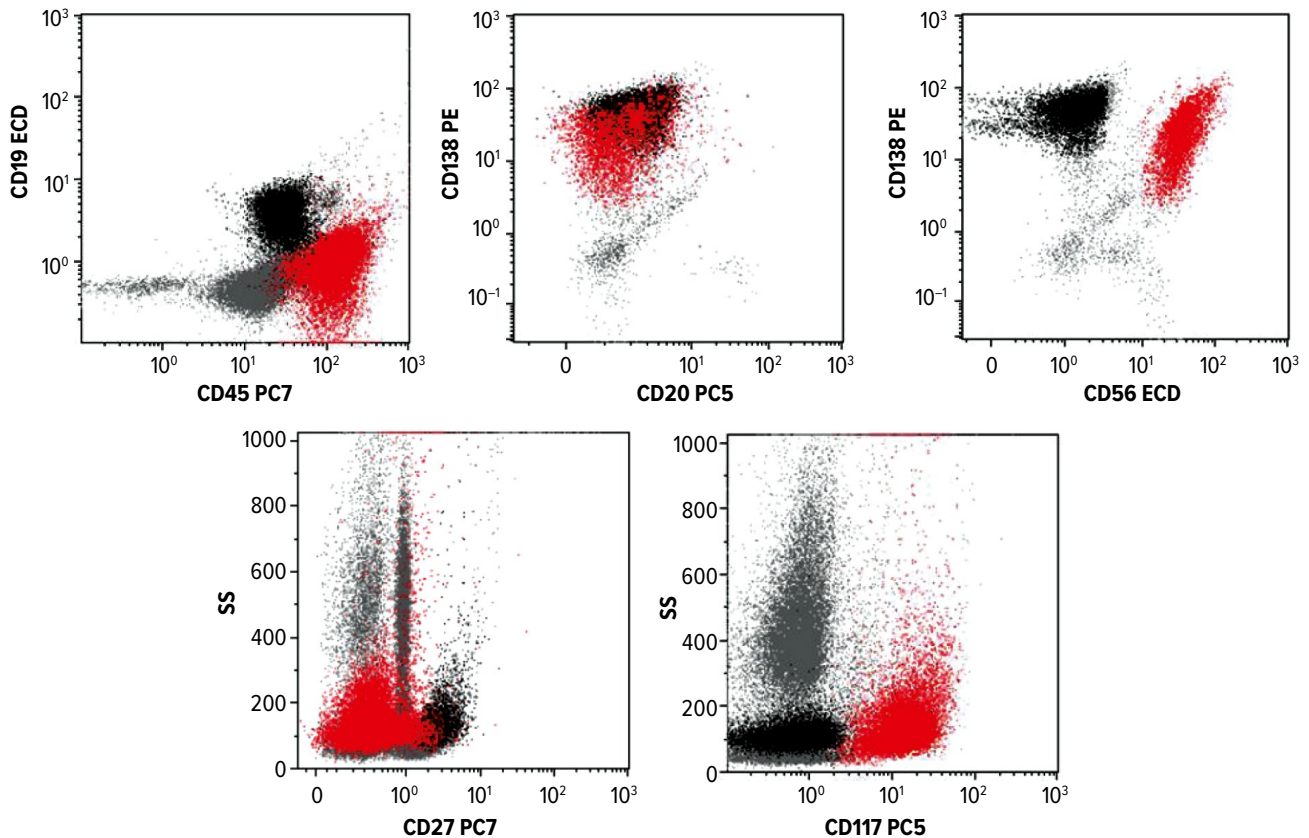


Рис. 2. Иммунофенотипический профиль по антигенам CD19, CD20, CD27, CD56, CD117 нормальных (черный цвет) и опухолевых (красный цвет) плазматических клеток костного мозга

Fig. 2. The CD19, CD20, CD27, CD56, CD117 antigen immunophenotypic profile of normal (black) and tumor (red) bone marrow plasma cells

За порог позитивности маркера принимали экспрессию на более 20 % ПК. Иммунофенотипический профиль по антигенам CD19, CD20, CD27, CD56, CD117 нормальных и опухолевых ПК показан на рис. 2, различные варианты экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 — на рис. 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среднее число ПК в аспирате костного мозга ко времени первичной диагностики составило 12,3 % (диапазон 0–75,8 %) и было ниже, чем число ПК по данным световой микроскопии (среднее число 24,3 %, диапазон 0–96,8 %), что, вероятно, обусловлено примесью периферической крови в пробе костного мозга, взятой для ПЦ. Между числом ПК, полученных методом световой микроскопии и методом ПЦ, отмечается выраженная корреляция (ранговая корреляция Спирмена, $R = +0,62$).

Использование технологии построения классификационных деревьев позволило получить пороги пограничных значений для числа ПК в костном мозге по данным ПЦ, соответствующие менее 17 ($n = 62$), 17–35 ($n = 14$) и более 35 % ($n = 7$). Сравнение медианы ОВ в трех сформированных группах показало статистически значимые различия с наилучшими результатами в группе с числом ПК в костном мозге на этапе верификации диагноза менее 17 % (медиана не достигнута). В группе с количеством ПК 17–35 %

медиана ОВ составила 36,7 мес., в группе с более 35 % ПК — 18,9 мес. ($p < 0,05$) (рис. 4). Риск летального исхода по мере увеличения количества ПК в костном мозге, оцененного методом ПЦ, увеличивался в 3,9 раза при уровне 17–35 % и в 31,2 раза при уровне более 35 % ($R = +0,75$).

В дебюте заболевания у 137 пациентов оценивалась экспрессия антигенов на поверхности ПК. У всех обследованных больных ПК экспрессировали антигены CD38 и CD138. Наличие экспрессии CD45 отмечалось в 43,1 % случаев (46/102), CD20 — в 8,9 % (18/90), CD56 — в 61 % (71/105), CD117 — в 34,4 % (50/104). Отсутствие экспрессии CD27 имело место в 62,7 % (54/86) случаев, CD19 — в 90,6 % (96/106).

Все изучаемые поверхностные маркеры оценены в дебюте заболевания у 79 из 153 пациентов с верифицированным диагнозом ММ. Наиболее часто отмечалась комбинация трех aberrантных маркеров на поверхности ПК (27,8 %). Далее в порядке убывания имела место экспрессия 5 (22,8 % случаев), 2 (20,3 %), 4 (19 %), 1 (7,6 %) и, реже всего, 6 антигенов (2,5 %). Таким образом, у подавляющего числа пациентов отмечалась aberrантная экспрессия 3 маркеров и более. Aberrантность по двум антигенам включала следующие комбинации: CD45/CD19, CD45/CD20, CD45/CD27, CD19/CD27, CD19/CD56, CD19/CD20, CD56/CD117, CD20/CD27, CD56/CD20 (рис. 5).

Сочетанная оценка экспрессии изучаемых антигенов на поверхности ПК костного мозга в дебюте заболевания и клинико-лабораторных характеристик

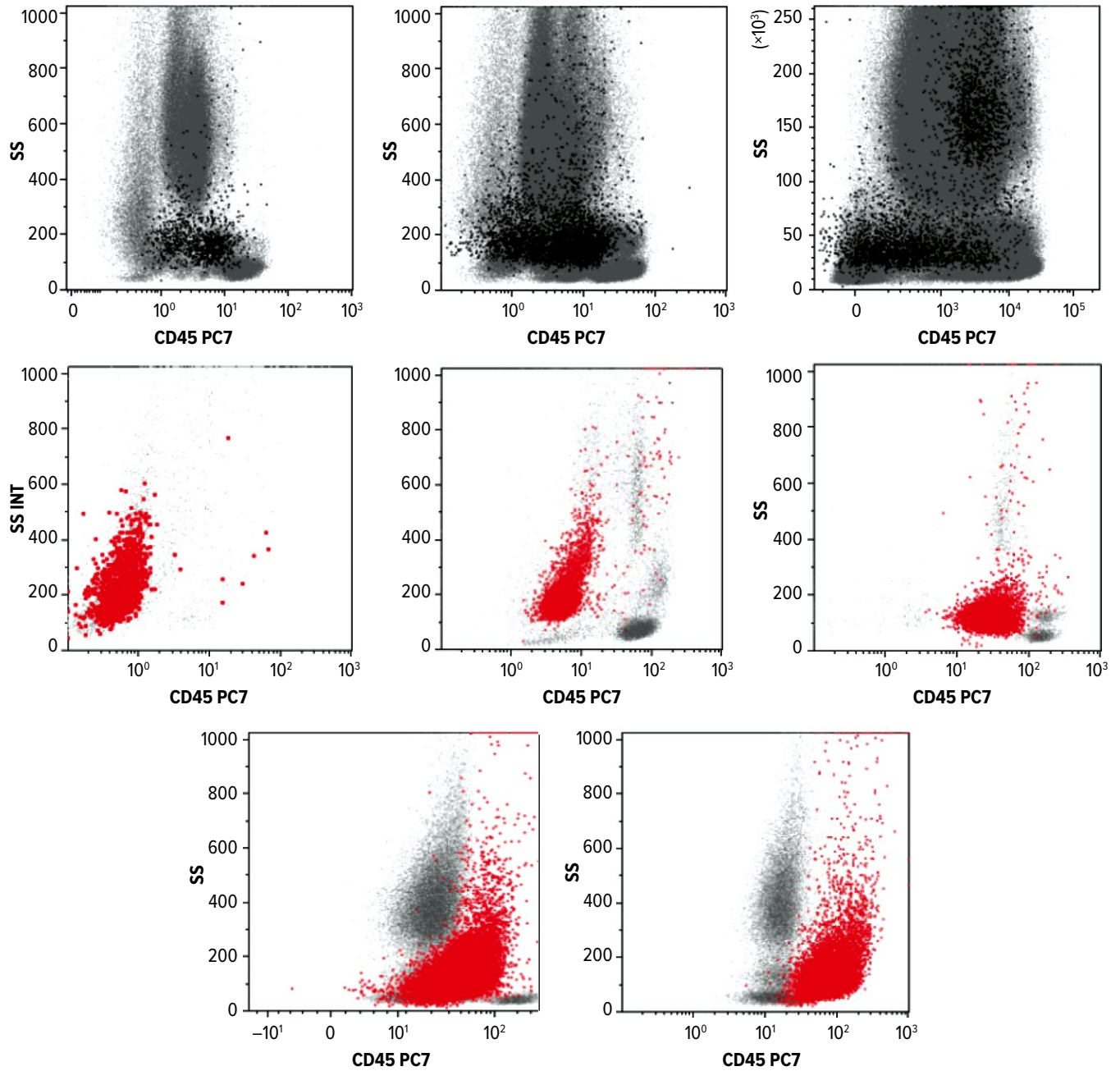


Рис. 3. Варианты экспрессии CD45 нормальными (черный цвет) и опухолевыми (красный цвет) плазматическими клетками костного мозга

Fig. 3. CD45 expression variants by normal (black) and tumor (red) bone marrow plasma cells

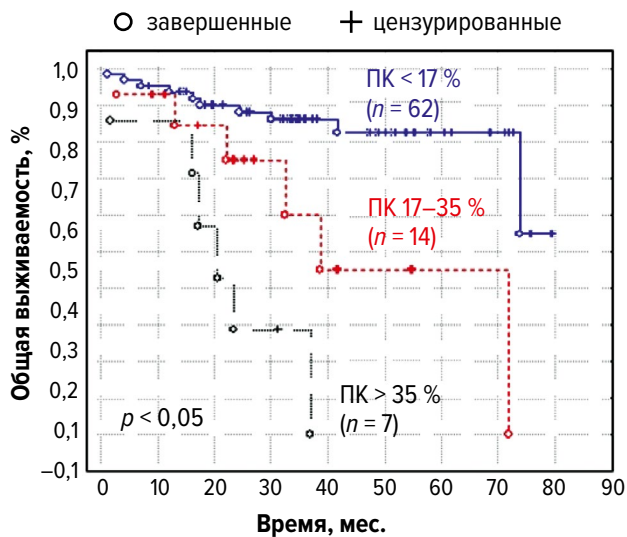


Рис. 4. Общая выживаемость пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой в группах с различным числом плазматических клеток (ПК) в костном мозге по данным проточной цитометрии ($p < 0,05$)

Fig. 4. Overall survival of newly diagnosed multiple myeloma patients depending on the number of plasma cells (ПК) in bone marrow according to the flow cytometry data ($p < 0.05$)

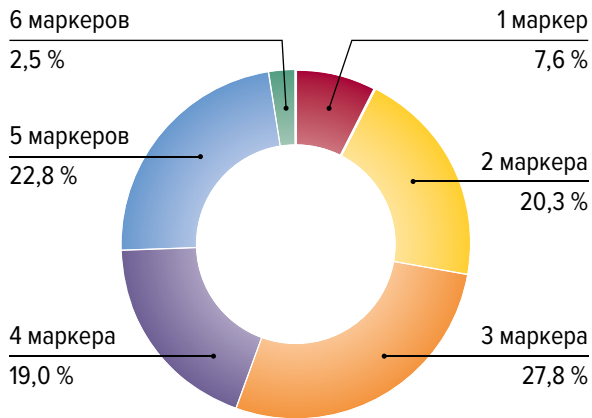


Рис. 5. Распределение больных по количеству aberrантных маркеров на поверхности плазматических клеток костного мозга у больных множественной миеломой

Fig. 5. Distribution of patients according to the number of aberrant markers on the surface of bone marrow plasma cells in multiple myeloma patients

пациентов позволила выявить ряд закономерностей. Так, при наличии экспрессии CD20 на ПК у пациентов с ММ отмечались более высокие показатели лактатдегидрогеназы и уровень вовлеченных свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки и низкие — парапротеина по сравнению с пациентами без экспрессии данного антигена. Для пациентов, на ПК которых отсутствовала экспрессия CD27, был характерен более высокий уровень гемоглобина и тромбоцитов, низкий — парапротеина сыворотки по сравнению с пациентами, ПК которых экспрессировали данный антиген. Наличие экспрессии CD56 на ПК сопровождалось более низким числом лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови по сравнению с отсутствием экспрессии этого антигена. Высокая концентрация гемоглобина в сочетании с низким уровнем $\beta 2$ -микроглобулина и креатинина была

более характерна для пациентов с экспрессией CD117 по сравнению с пациентами, не несущими этот маркер на поверхности ПК клеток костного мозга (табл. 1).

Значительных различий в моноклональной продукции тяжелых и/или легких цепей иммуноглобулинов ПК у больных с различным фенотипом не выявлено. Однако при экспрессии CD20 и отсутствии экспрессии CD27 превалировала секреция моноклональной цепи к над λ . В целом секреция легких цепей чаще наблюдалась при ММ CD20+ (33,3 %) и реже — при ММ CD56+ (14,5 %). При экспрессии CD56+ чаще отмечалась секреция IgA λ , а при экспрессии CD117+ — IgA κ . У пациентов, ПК которых экспрессировали CD27+, не было ни одного случая секреции легкой цепи к и IgA κ .

Плазмобластная морфология клеток костного мозга статистически значимо чаще отмечалась в группе пациентов, ПК которых экспрессировали CD117+ ($n = 27, 61,4 \%$ и $n = 17, 38,6 \%$ соответственно; $p < 0,05$).

Поражение костей оценено у 114 пациентов с помощью стандартного рентгенологического исследования и подразделено на диффузный остеопороз, поражение плоских и трубчатых костей с определением максимальной величины костных дефектов, наличия плазмоцитом и «вздутия». Размеры костных дефектов в плоских костях при всех вариантах aberrантных фенотипов были больше, чем в трубчатых. Выявлена тенденция к большему размеру дефектов в плоских костях у пациентов с экспрессией CD56+ (13,8 vs 7,5 мм без экспрессии соответственно; $p = 0,08$) и CD20+ (14,0 и 4,5 мм соответственно; $p > 0,05$). У больных ММ с экспрессией антигена CD117+ на поверхности трансформированных (опухолевых) плазматических клеток (ТПК) размеры дефектов в плоских костях были больше, чем в трубчатых (15,9 и 7,6 мм соответственно; $p < 0,05$).

Не выявлено влияния на показатели ВБП у пациентов с ММ, получавших индукционные режимы на основе бортезомиба, с различной экспрессией антигенов CD45, CD20, CD27, CD56 и CD117 (рис. 6). Однако отмечалась тенденция к улучшению показателей ВБП

Таблица 1. Лабораторные показатели у больных множественной миеломой с отсутствием или наличием экспрессии антигенов на поверхности плазматических клеток костного мозга

Показатель	Наличие экспрессии			Отсутствие экспрессии			p		
	n	Медиана	НК	ВК	n	Медиана		НК	ВК
		CD20				CD20			
ЛДГ, ед./л	11	488	300	686	41	425	321	467	0,07
M-градиент, г/л	15	20,25	3,75	44,04	61	31,83	8,71	54,57	0,08
Вовлеченные СЛЦ, мг/л	8	180	162	180	27	160	37,4	176	0,08
		CD27				CD27			
Гемоглобин, г/л	25	111	99	127	44	105,5	80,5	118,5	0,05
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	25	228	191	303	43	203	145	256	0,01
Парапротеин, г/л	25	20,49	0	41,2	45	37,8	0	62,36	0,04
		CD56				CD56			
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	78	5,6	4,3	6,7	37	6,6	5,7	7,9	0,01
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	64	2,77	1,96	3,92	28	4,42	3,22	5,19	0,02
		CD117				CD117			
Креатинин, мкмоль/л	54	0,089	0,074	0,112	52	0,096	0,076	0,223	0,02
Гемоглобин, г/л	55	112	91	122	54	98	80	118	0,04
$\beta 2$ -микроглобулин, мг/л	52	3,98	3	5,75	48	5,78	3,57	13	0,003

ВК — верхний квартиль; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; НК — нижний квартиль; СЛЦ — свободные легкие цепи.

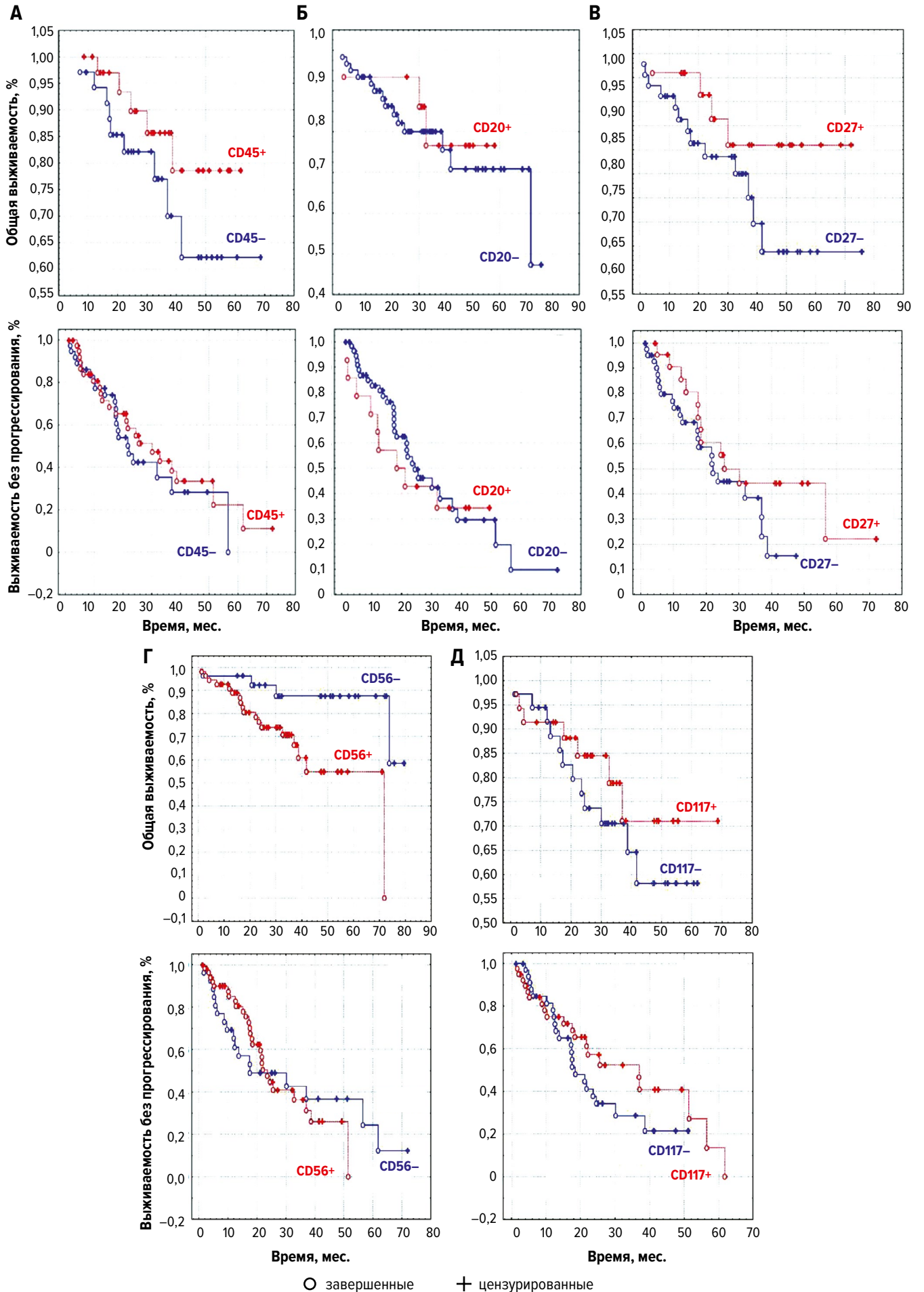


Рис. 6. Общая и выживаемость без прогрессирования в группах с различной экспрессией антигенов (А) CD45, (Б) CD20, (В) CD27, (Г) CD56 и (Д) CD117

Fig. 6. Overall and progression-free survivals depending on the expression of (A) CD45, (Б) CD20, (В) CD27, (Г) CD56, and (Д) CD117 antigens

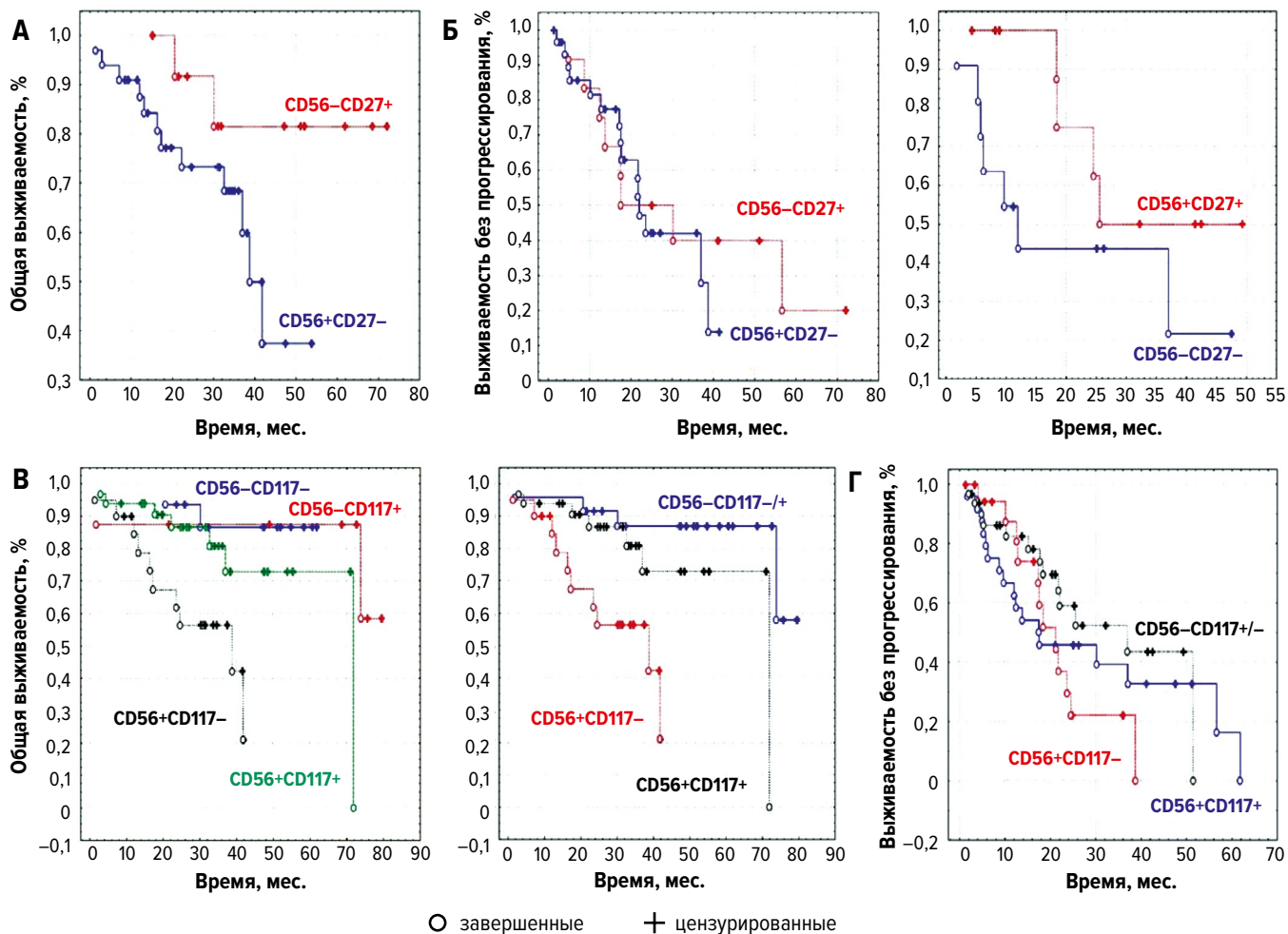


Рис. 7. (А–Г) Общая и выживаемость без прогрессирования при комбинации различных вариантов экспрессии маркеров плазматических клеток

Fig. 7. (А–Г) Overall and progression-free survivals with different expression variants of plasma cell markers

у пациентов с наличием экспрессии CD27 и CD117 (см. рис. 6, В, Д). При этом наихудшие показатели ВВП были у пациентов с фенотипом ПК CD27–CD56– (медиана ВВП 12,2 мес.) и CD27–CD56+ (медиана ВВП 23,1 мес.) ($p = 0,06$) (рис. 7, Б).

Отмечалась тенденция к улучшению ОВ пациентов при наличии экспрессии CD45+, CD20+, CD27+ ($p = 0,20$) в сравнении с ОВ больных с отсутствием экспрессии данных маркеров на поверхности ПК. Медиана ОВ оказалась статистически значимо ниже у пациентов с CD56– по сравнению с CD56+ (медиана не достигнута и 44,4 мес. соответственно; $p = 0,04$), а также CD117– по сравнению с CD117+ ($p < 0,05$).

Медиана ОВ при комбинации антигенов CD27+CD56– (соответствует фенотипу нормальных ПК) не достигнута, в то время как медиана ОВ при aberrантной экспрессии CD27–CD56+ составила 38,7 мес. ($p = 0,12$). ОВ при комбинации различных вариантов экспрессии CD56 и CD117 статистически значимо отличалась в целом по группе ($p < 0,05$), при этом отличия были незначительными в группах с отсутствием экспрессии CD56 (CD56–CD117+ и CD56–CD117–). ОВ статистически значимо отличалась между группами CD56+ вне зависимости от отсутствия или наличия экспрессии CD117 (медиана не достигнута и 37,4 мес. соответственно; $p < 0,01$), а также группами

CD56+CD117– и CD56+CD117+ (медиана 72,1 и 37,4 мес. соответственно; $p < 0,05$) (см. рис. 7, В, Г).

Следует отметить, что ОВ при комбинированной экспрессии aberrантных маркеров отличалась от таковой при оценке экспрессии каждого маркера по отдельности. Так, отсутствие экспрессии CD27 отрицательно влияло на ОВ пациентов вне зависимости от отсутствия или наличия экспрессии CD56, а ОВ при наличии или отсутствии экспрессии CD117 значительно ухудшалась за счет приобретения маркера CD56 на поверхности ПК.

Для оценки прогностического значения иммунофенотипа ПК костного мозга больных ММ может использоваться балльная шкала, включающая оценку комбинированной экспрессии на поверхности ПК маркеров, позитивно и негативно влияющих на показатели ОВ.

Принимая во внимание влияние фенотипических особенностей ТПК на ОВ обследованных пациентов с ММ, были выбраны комбинации позитивных (П) и негативных (Н) прогностических маркеров. К позитивным маркерам относилась экспрессия CD45, CD27 и CD117, к негативным — CD19, CD20 и CD56. Всего проанализировано 105 комбинаций, каждому из маркеров присуждался 1 балл (табл. 2).

По мере увеличения количества позитивных маркеров с 1 до 3 снижалась летальность пациентов с 55,6 до 33,3 и 7,7 % соответственно ($R = -0,58$; $p < 0,05$).

В зависимости от количества баллов, относящихся к позитивной группе, и количества баллов, относящихся к негативной группе, была оценена ОВ. В комбинации П2-3/ПЗН2 медиана ОВ, а также нижний квартиль не достигнуты. В комбинации П1Н1/П2Н2/ПЗН3 медиана ОВ составила 104,9 мес. (верхний квартиль [ВК] 139,2 мес., нижний квартиль [НК] 35,5 мес.), при наличии П1Н1-2/П2Н2 медиана ОВ составила 42,7 мес. (ВК 59,2 мес., НК 13 мес.) ($p < 0,05$) (рис. 8).

На основании данной шкалы можно предсказать ОВ пациентов с ММ. Так, даже при наличии экспрессии 2 негативных и одновременно 2-3 позитивных маркеров показатели ОВ будут лучше, чем при других комбинациях позитивных и негативных иммунофенотипических маркеров.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сегодня трудно себе представить диагностику онкогематологических заболеваний без использования помимо стандартного цитологического и гистологического исследований методов оценки экспрессии маркеров на поверхности опухолевых клеток методами ПЦ и/или иммуногистохимии. Они нашли свое место в диагностике, оценке прогноза и контроле над терапией у больных ММ [2]. Предлагаемые критерии диагностики плазмочелочных дискразий предполагают использование главным образом результатов оценки числа ПК костного мозга методом световой микроскопии, которые учитываются в прогнозировании риска трансформации тлеющей ММ в симптоматическую активную ММ [3], а также входят в понятие злокачественности наряду с критериями CRAB для определения показаний к началу терапии [4]. Критерии CRAB объединяют такие симптомы, как гиперкальциемия, почечная недостаточность, анемия и поражения костей.

Проведенное нами исследование подтвердило данные о прогностическом значении числа ПК в аспирате костного мозга. Количество ПК на этапе диагностики ММ по данным световой микроскопии и ПЦ различается при высоком уровне корреляции. Уровень ПК отражается на ОВ пациентов и позволяет использовать данный показатель в качестве одного из важных прогностических факторов.

Имунофенотипические особенности опухолевых ПК могут использоваться для подтверждения их клональности [5]. Оценка поверхностных маркеров опухолевых ПК показала, что наиболее часто в качестве aberrантных маркеров может рассматриваться отсутствие экспрессии CD27 (62,7 % случаев), наличие экспрессии CD56 (67,6 % случаев) и CD117 (51,5 % случаев), что согласуется с литературными данными [6, 7]. Важно отметить, что более 72 % пациентов имели aberrантную экспрессию 3 маркеров и более.

Результаты, полученные при оценке выживаемости пациентов на фоне индукционной терапии на основе бортезомиба, позволяют рассматривать иммунофенотипические особенности миеломных клеток в качестве дополнительных прогностических факторов при выборе индукционных режимов наряду с общепринятыми моделями. У исследователей встречаются

Таблица 2. Иммунофенотипическая шкала комплексной оценки прогностического риска. Комбинации негативных и позитивных маркеров на поверхности ТПК у больных множественной миеломой

Число негативных маркеров (CD19, CD20, CD56)	Число позитивных маркеров (CD45, CD27, CD117)			Всего больных, n
	П1, n	П2, n	П3, n	
Н1, n	9	21	2	32
Н2, n	24	31	8	63
Н3, n	1	5	4	10
Всего больных, n	34	57	14	105

Н — негативный; П — позитивный; ТПК — трансформированные (опухолевые) плазматические клетки.

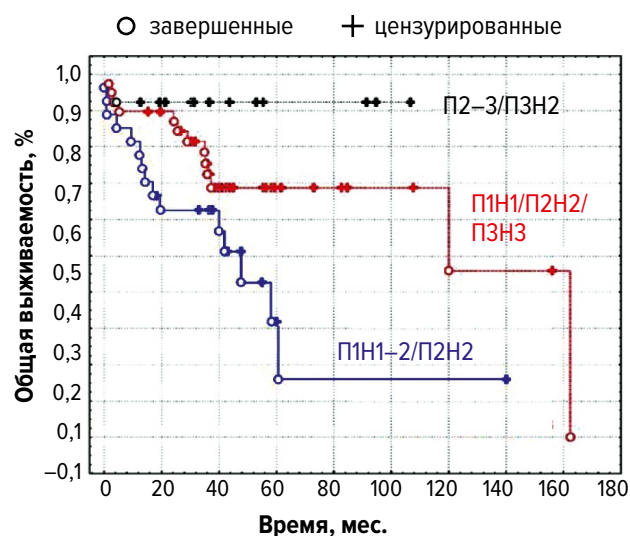


Рис. 8. Общая выживаемость пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой в зависимости от представленности в фенотипе трансформированных плазматических клеток позитивно (П) и негативно (Н) влияющих маркеров

Fig. 8. Overall survival of newly diagnosed multiple myeloma patients depending on the presence of positive (П) and negative (Н) markers in the phenotype of transformed plasma cells

противоречивые данные о наличии корреляционной связи между ОВ и экспрессией ТПК CD45. В данном исследовании отсутствие CD45 связано с худшими показателями ОВ, что объясняется нарушением взаимодействия между CD45 и киназами, принимающими участие в передаче сигналов основных факторов роста клеток ММ [8, 9]. Однако ряд других авторов не подтверждают эти данные. Более того, позитивность по данному маркеру рассматривается как отрицательный прогностический фактор у пациентов с ММ, получавших лечение на основе бортезомиба [10].

В настоящем исследовании экспрессия CD20 реже всего сопровождалась плазмобластной морфологией опухолевой популяции и положительно сказывалась на ОВ пациентов с ММ, получавших терапию на основе бортезомиба, хотя в работах других авторов имеются противоположные данные [11-13].

Потеря CD27, играющего ключевую роль в регуляции активации В-клеток и синтезе иммуноглобулинов [14], связана с худшими показателями ВВП и ОВ при использовании протоколов без ингибиторов

протеасом [15], что имеет подтверждение и при применении индукционных режимов с включением бортезомиба.

Отсутствие экспрессии CD56 часто встречается у пациентов со вторичным плазмоклеточным лейкозом, а также при экстрамедуллярных поражениях, что может быть связано с нарушением взаимодействия ПК со стромой костного мозга [16, 17]. По данным ряда авторов, наличие экспрессии CD56 является независимым прогностическим фактором улучшения показателей ОВ и ответа при проведении терапии с использованием ингибитора протеасом первого поколения [18, 19]. Эти данные противоречат полученным нами: экспрессия CD56 отрицательно влияла на ОВ и ВВП пациентов с ММ. У больных, ПК которых экспрессировали CD56+, чаще отмечалась секреция IgG [20], что подтверждается не всеми исследователями [21].

Рецептор тирозинкиназы CD117 в норме экспрессируется на гемопоэтических предшественниках, но исчезает по мере созревания В-клеток от ранних предшественников до зрелых ПК [22]. Экспрессия данного антигена связана с лучшими результатами лечения, показателями ОВ и ВВП [21, 22], что было подтверждено и в нашем исследовании. Противоположные данные получены в работе Н. Wang и соавт., однако при использовании сочетанной терапии бортезомибом и талидомидом без трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток [23]. Обращает на себя внимание более высокий уровень креатинина при отсутствии экспрессии CD117, что совпадает с ранее опубликованными данными [24].

ОВ при комбинированной экспрессии аберрантных маркеров отличалась от таковой при оценке экспрессии одного маркера. Так, больные ММ с фенотипом ТПК и нормальной комбинацией CD56–CD27+ характеризовались худшей ОВ, чем с фенотипом CD56–CD27– за счет потери CD27, а приобретение маркера CD56 на поверхности ТПК вне зависимости от наличия или отсутствия экспрессии CD117 значительно ухудшало ОВ. Не отмечено значительных различий в выживаемости пациентов с фенотипом CD56–CD117– или CD56–CD117+, что не противоречит литературным данным [23]. Наихудшие показатели выживаемости оказались у пациентов с фенотипом ПК CD27–CD56–, что, вероятно, объясняется потерей молекулы адгезии и резистентностью к бортезомибу [20, 25].

Поздние стадии заболевания по ISS на этапе диагностики чаще характеризовались фенотипом ТПК CD45–CD27–CD56+.

На основании анализа данных по влиянию иммунофенотипа ПК на выживаемость пациентов с впервые диагностированной ММ составлены комбинации позитивных (П) и негативных (Н) иммунологических маркеров. При их анализе были обнаружены следующие закономерности. В зависимости от количества баллов, относящихся к позитивной или негативной группе, была оценена ОВ. При комбинации П2–3/ПЗН2 медиана ОВ, а также НК не достигнуты. При комбинации П1Н1/П2Н2/ПЗН3 медиана ОВ составила 104,9 мес. (ВК 139,2 мес., НК 35,5 мес.), при П1Н1–2/П2Н2 — 42,7 мес. (ВК 59,2 мес., НК 13 мес.). Наилучшие показатели ОВ соответствовали комбинации П2–3/

ПЗН2 (ВК и медиана ОВ при наблюдении > 100 мес. не достигнуты) ($p < 0,05$).

Плазмобластный фенотип чаще определялся в виде комбинации CD27–CD56+117+.

Выявлена тенденция к большему размеру костных дефектов в плоских костях у пациентов с экспрессией CD56 и CD20, а также CD117 ($p < 0,05$). В работах других авторов было показано, что экспрессия CD56 более характерна для пациентов с крупными остеолитическими очагами, вероятно, за счет супрессии остеобластов, которые также экспрессируют CD56 [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты ПЦ могут использоваться у пациентов с ММ в соответствии с особенностями иммунофенотипа для определения прогноза и оптимизации терапии.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Г.Н. Салогуб.

Сбор и обработка данных: Г.Н. Салогуб, М.В. Горчакова, Е.Б. Русанова.

Предоставление материалов исследования: Г.Н. Салогуб, М.В. Горчакова, Е.Б. Русанова.

Анализ и интерпретация данных: Г.Н. Салогуб, Е.Б. Русанова, Е.А. Белякова.

Подготовка рукописи: Г.Н. Салогуб, Е.Б. Русанова, Е.А. Белякова.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность д-ру мед. наук В.Л. Эмануэлю за административную поддержку исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Saxe D, Seo E-J, Bergeron MB, Han J-Y. Recent advances in cytogenetic characterization of multiple myeloma. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(1):5–14. doi: 10.1111/ijlh.12882.
2. Johnsen HE, Bogsted M, Klausen TW, et al. Multiparametric flow cytometry profiling of neoplastic plasma cells in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78(5):338–47. doi: 10.1002/cyto.b.20523.
3. Dispenzieri A, Kumar S. Treatment for high-risk smoldering myeloma. *N Engl J Med*. 2013;369(18):1762–5. doi: 10.1056/NEJMc1310911#SA1.
4. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):538–48. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.

5. Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol*. 2016;34(13):1544–57. doi: 10.1200/JCO.2015.65.0044.
 6. Flores-Montero J, de Tute R, Paiva B, et al. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom*. 2016;90(1):61–72. doi: 10.1002/cyto.b.21265.
 7. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017;31(10):2094–103. doi: 10.1038/leu.2017.29.
 8. Kumar SK, Kimlinger T, Morice W. Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010;23(3):433–51. doi: 10.1016/j.beha.2010.09.002.
 9. Kumar S, Rajkumar SV, Kimlinger T, et al. CD45 expression by bone marrow plasma cells in multiple myeloma: clinical and biological correlations. *Leukemia*. 2005;19(8):1466–70. doi: 10.1038/sj.leu.2403823.
 10. Iriyama N, Miura K, Hatta Y, et al. Clinical effect of immunophenotyping on the prognosis of multiple myeloma patients treated with bortezomib. *Oncol Lett*. 2017;13(5):3803–8. doi: 10.3892/ol.2017.5920.
 11. Grigoriadis G, Gilbertson M, Came N, et al. Is CD20 positive plasma cell myeloma a unique clinicopathological entity? A study of 40 cases and review of the literature. *Pathology*. 2012;44(6):552–6. doi: 10.1097/PAT.0b013e3283583f5d.
 12. Arana P, Paiva B, Cedena MT, et al. Prognostic value of antigen expression in multiple myeloma: a PETHEMA/GEM study on 1265 patients enrolled in four consecutive clinical trials. *Leukemia*. 2018;32(4):971–8. doi: 10.1038/leu.2017.320.
 13. Li Z, Xu Y, An G, et al. The characteristics of 62 cases of CD20-positive multiple myeloma. 2015;36(1):44–8. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.01.011.
 14. Shen C, Xu H, Alvarez X, et al. Reduced expression of CD27 by collagenase treatment: implications for interpreting B cell data in tissue. *PLoS One*. 2015;10(3):213–20. doi: 10.1371/journal.pone.0116667.
 15. Moreau P, Robillard N, Jego G, et al. Lack of CD27 in myeloma delineates different presentation and outcome. *Br J Haematol*. 2006;132(2):168–70. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05849.x.
 16. Lok R, Golovyan D, Smith J. Multiple myeloma causing interstitial pulmonary infiltrates and soft-tissue plasmacytoma. *Respir Med Case Rep*. 2018;24:155–7. doi: 10.1016/j.rmcr.2018.05.023.
 17. Klimiene I, Radzevicius M, Matuzeviciene R, et al. Adhesion molecule immunophenotype of bone marrow multiple myeloma plasma cells impacts the presence of malignant circulating plasma cells in peripheral blood. *Int J Lab Hematol*. 2021;43(3):403–8. doi: 10.1111/ijlh.13387.
 18. Khallaf SM, Yousof EA, Ahmed EH, et al. Prognostic value of CD56 expression in multiple myeloma. *Res Oncol*. 2020;16(1):6–1. doi: 10.21608/resoncol.2020.24758.1091.
 19. Yoshida T, Ri M, Kinoshita S, et al. Low expression of neural cell adhesion molecule, CD56, is associated with low efficacy of bortezomib plus dexamethasone therapy in multiple myeloma. *PLoS One*. 2018;13(5):e0196780. doi: 10.1371/journal.pone.0196780.
 20. Baughn LB, Sachs Z, Noble-Orcutt KE, et al. Phenotypic and functional characterization of a bortezomib resistant multiple myeloma cell line by flow and mass cytometry. *Leuk Lymphoma*. 2017;58(8):1931–40. doi: 10.1080/10428194.2016.1266621.
 21. Pan Y, Wang H, Tao Q, et al. Absence of both CD56 and CD117 expression on malignant plasma cells is related with a poor prognosis in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk Res*. 2016;40:77–82. doi: 10.1016/j.leukres.2015.11.003.
 22. Chen F, Hu Y, Wang X, et al. Expression of CD81 and CD117 in plasma cell myeloma and the relationship to prognosis. *Cancer Med*. 2018;7(12):5920–7. doi: 10.1002/cam4.1840.
 23. Wang H, Zhou X, Zhu JW. Association of CD117 and HLA-DR expression with shorter overall survival and/or progression-free survival in patients with multiple myeloma treated with bortezomib and thalidomide combination treatment without transplantation. *Oncol Lett*. 2018;16(5):5655–66. doi: 10.3892/ol.2018.9365.
 24. Skerget M, Skopec B, Zadnik V, et al. CD56 Expression is an important prognostic factor in multiple myeloma even with bortezomib induction. *Acta Haematol*. 2018;139(4):228–34. doi: 10.1159/000489483.
 25. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol*. 2010;149(3):334–51. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08121.x.
 26. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2002;117(4):882–5. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03513.x.
-