

Определение парапротеина при плазмоклеточных опухолях

И.Г. Рехтина^{✉1}, Л.П. Менделеева¹, Н.П. Соболева¹, И.А. Дубина², М.Ю. Первакова², С.В. Лапин²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Парапротеин – лабораторный биомаркер плазмоклеточных опухолей и других лимфопролиферативных заболеваний, определение которого необходимо для диагностики, оценки эффективности проводимой терапии и мониторинга. В данной лекции приведены основные методы качественного и количественного анализа моноклональных белков: изложены особенности, возможности и ограничения геле-электрофореза, капиллярного электрофореза, иммунофиксации и нефелометрии. Рассмотрены основные источники ошибок и артефактов при выполнении этих исследований. Обращено внимание на трудности в диагностике и интерпретации результатов исследования сыворотки и мочи.

Ключевые слова: парапротеин, множественная миелома, плазмоклеточное заболевание

Для цитирования: Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Соболева Н.П., Дубина И.А., Первакова М.Ю., Лапин С.В. Определение парапротеина при плазмоклеточных опухолях. Терапевтический архив. 2022;94(1):135–144. DOI: 10.26442/00403660.2022.01.201326

LECTURE

Detection of paraprotein in plasma cell tumors

Irina G. Rekhtina^{✉1}, Larisa P. Mendeleeva¹, Natalia P. Soboleva¹, Irina A. Dubina², Margarita Iu. Pervakova², Sergey V. Lapin²

¹National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russia;

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Paraprotein is a laboratory biomarker of plasma cell tumors and other lymphoproliferative diseases. Its determination is necessary for diagnosing, monitoring and assessment of therapy effectiveness. The lecture presents the main methods of qualitative and quantitative analysis of monoclonal proteins: gel electrophoresis, capillary electrophoresis, immunofixation and nephelometry features, possibilities and limitations are reviewed. The main sources of errors and artifacts during these studies are considered. Also the difficulties in the diagnosis and interpretation of the results of serum and urine tests are highlighted.

Keywords: paraprotein, multiple myeloma, plasma cell disease

For citation: Rekhtina IG, Mendeleeva LP, Soboleva NP, Dubina IA, Pervakova MIu, Lapin SV. Detection of paraprotein in plasma cell tumors. Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.). 2022;94(1):135–144. DOI: 10.26442/00403660.2022.01.201326

Парапротеин как биомаркер ПО

Согласно классификации опухолей гемопоэтической и лимфоидной ткани, принятой Всемирной организацией здравоохранения в 2017 г., к плазмоклеточным опухолям (ПО) относят множественную миелому (ММ), плазмодитому, не иммуноглобулин (Ig)М моноклональную гаммапатию (МГ) неясного генеза, болезни отложения мо-

ноклональных Ig (в том числе AL-амилоидоз), POEMS- и TEMPI-синдромы (табл. 1) [1].

По данным Mayo Clinic, из 39 929 пациентов с МГ в 58% случаев диагностирована МГ неясного генеза, в 17,5% – ММ, в 9,5% – первичный AL-амилоидоз, реже – плазмодитомы, POEMS-синдром, болезнь депозитов легких цепей, плазмоклеточный лейкоз и др. [2]. Характерной

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]**Рехтина Ирина Германовна** – д-р мед. наук, зав. отд.-нием химиотерапии плазмоклеточных дискразий ФГБУ «НМИЦ гематологии». Тел.: +7(495)612-49-66; e-mail: rekhtina.i@blood.ru; ORCID: 0000-0001-5440-4340

Менделеева Лариса Павловна – д-р мед. наук, проф., рук. управления по научной и образовательной работе, зав. отд. химиотерапии парапротеинемических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-4966-8146

Соболева Наталья Павловна – врач клинической лабораторной диагностики централизованной клинико-диагностической лаб. ФГБУ «НМИЦ гематологии». ORCID: 0000-0002-1903-2446

Дубина Ирина Александровна – врач клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0001-5256-7066

Первакова Маргарита Юрьевна – врач клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0001-9630-257X

Лапин Сергей Владимирович – канд. мед. наук, зав. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова». ORCID: 0000-0002-4998-3699

[✉]**Irina G. Rekhtina.** E-mail: rekhtina.i@blood.ru; ORCID: 0000-0001-5440-4340

Larisa P. Mendeleeva. ORCID: 0000-0002-4966-8146

Natalia P. Soboleva. ORCID: 0000-0002-1903-2446

Irina A. Dubina. ORCID: 0000-0001-5256-7066

Margarita Iu. Pervakova. ORCID: 0000-0001-9630-257X

Sergey V. Lapin. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Таблица 1. Классификация ПО**Table 1. Classification of plasma cell tumor**

Не IgM (плазмноклеточная) МГ неясного генеза

Плазмноклеточная (множественная) миелома

Клинические варианты:

- тлеющая ММ
- несекретирующая ММ
- плазмноклеточный лейкоз

Плазмоцитома:

- солитарная плазмоцитома кости
- внекостная (экстрamedулярная) плазмоцитома

Болезнь отложения моноклональных Ig:

- первичный AL-амилоидоз
- болезнь отложения легких и/или тяжелых цепей Ig

ПО с ассоциированным паранеопластическим синдромом:

- РОEMS-синдром
- TEMPI-синдром

особенностью ПО является секреция моноклонального белка (парапротеина), все молекулы которого идентичны по структуре и физико-химическим свойствам. Парапротеин рассматривают как опухолевый биомаркер, определение которого необходимо для диагностики, оценки эффективности терапии и мониторинга плазмноклеточных заболеваний.

Парапротеин может состоять из интактного моноклонального IgG, A, M, реже D или (очень редко) E, а также его фрагментов: тяжелых (α , γ , μ , δ , ϵ) или легких (κ или λ) цепей. Легких цепей синтезируется на 40% больше, чем тяжелых цепей, их избыток (т.е. те, которые не связаны с тяжелыми цепями) циркулирует в крови в виде свободных легких цепей (СЛЦ) [3]. Моноклональные СЛЦ Ig, выявляемые в сыворотке и/или моче методом электрофореза или иммунофиссации, принято называть белком Бенс-Джонса. Период полужизни IgA и IgM составляет 5–6 дней, IgG – 23 дня, IgD, E – 2–3 дня, а легких цепей – всего 2–6 ч [3]. Период полужизни парапротеина следует учитывать для определения периодичности его мониторинга. В частности, динамику концентрации СЛЦ Ig, а также парапротеина A, M, D, E можно оценивать после одного курса, а парапротеина G – после 2 курсов циторедуктивной терапии. Но решение о частоте мониторинга (контроль после каждого цикла или после каждых 2–3 циклов) принимает лечащий врач с учетом агрессивности заболевания, нарушения функции органов (например, почек) и других факторов.

Примерно в 3% случаев выявляют биклональную гаммапатию (БГ), т.е. секрецию двух парапротеинов, состоящих из разных изотипов тяжелых и легких цепей (например, парапротеин G κ и парапротеин A λ или белок Бенс-Джонса κ и белок Бенс-Джонса λ) [4]. Секреция моноклонального Ig и СЛЦ, одноименной той, которая входит в состав Ig, не является БГ (например, парапротеин G λ и белок Бенс-Джонса λ).

Моноклональные СЛЦ Ig – независимый опухолевый биомаркер и основной фактор, вызывающий повреждения почек при ПО. Концентрацию СЛЦ в сыворотке, а также их соотношение учитывают для диагностики, мониторинга и оценки гематологического ответа при ММ, соотношение и разницу СЛЦ – при AL-амилоидозе, МГ с клиническим значением [5, 6].

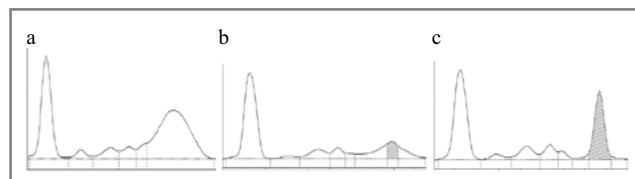


Рис. 1. Денситограммы электрофореза сыворотки крови при нормальном поликлональном иммунном ответе (а), моноклональном синтезе Ig без иммунопареза (b) и с иммунопарезом (с).

Fig. 1. Serum electrophoresis densitograms with normal polyclonal immune response (a), monoclonal Ig synthesis without immunoparesis (b) and with immunoparesis (c).

Методы диагностики парапротеина

Электрофорез белков сыворотки

Метод электрофореза представляет собой разделение белков по их размеру и заряду в электрическом поле. Выделяют 6 фракций белков сыворотки крови: альбумин, α 1-, α 2-, β 1-, β 2- и γ -фракции. В некоторых вариантах электрофореза происходит разделение сыворотки только на 5 фракций: β 1- и β 2-фракции образуют общую β -фракцию. Однако, по мнению большинства экспертов, точность подобного метода недостаточна. В частности, Американская коллегия патологов не рекомендует для детекции моноклонального компонента использовать гели низкого разрешения (разделять сыворотку на 5 фракций) [7]. В норме поликлональные (нормальные) Ig и СЛЦ мигрируют широкой диффузной зоной, в основном в составе γ -фракции, которая при денситометрии имеет вид нормального распределения (рис. 1, а).

Среди электрофоретических методов фракционирования белков сыворотки крови наиболее распространены гель-электрофорез и капиллярный электрофорез. Разделение на фракции в гель-электрофорезе и капиллярном электрофорезе основано на разных принципах, при этом в гель-электрофорезе лучше разделяется γ -фракция, а в капиллярном – α -фракция. Однако в целом эти 2 метода сопоставимы, и их чувствительность для первоначального скрининга парапротеинемий практически одинакова [8, 9].

При электрофоретическом разделении сыворотки или мочи моноклональные Ig мигрируют узкой полосой и формируют зону с четко очерченными краями (см. рис. 1, b, c). Эта дополнительная фракция является патологической, для ее обозначения используют термин «М-градиент». В зависимости от класса парапротеин может мигрировать в составе разных белковых фракций: как правило, IgG остается в γ -фракции, IgA является основным компонентом β -фракции, а IgM мигрирует между β - и γ -фракцией. Иногда IgD и IgE, и гораздо чаще СЛЦ Ig, мигрируют в составе β - или даже α -фракции [10]. Поэтому признаком наличия парапротеина может быть как появление дополнительной полосы, так и значительное увеличение содержания какой-либо фракции на денситограмме.

Опухолевый клон плазматических клеток может сопровождаться подавлением продукции поликлональных Ig (феномен иммунопареза) [11]. На денситограмме иммунопарез проявляется снижением остаточной γ -фракции вне парапротеина (вторичной гипогаммаглобулинемией) (см. рис. 1, c).

Иногда на денситограмме белков сыворотки крови обнаруживают 3 и более узких дискретных полосы в γ -фракции, свидетельствующие об олигоклональном иммунном ответе. Причиной олигоклональной секреции может быть длитель-

ная антигенная стимуляция, особенности антигена, вызвавшего иммунную реакцию, а также ограничение количества пролиферирующих клонов в условиях иммуносупрессии. При ММ олигоклональный синтез может наблюдаться после трансплантации аутологичных стволовых клеток крови, в этом случае он является транзиторным и рассматривается как благоприятный прогностический фактор [12].

Таким образом, электрофорез – доступный скрининговый метод для выявления парапротеина как в сыворотке, так и в моче. Но метод электрофореза не позволяет установить тип секретируемого белка и имеет ограничения в детекции небольшого количества парапротеина (менее 10 г/л) [13].

При применении электрофореза с целью диагностики парапротеинемии возможны как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. Следует понимать, что на основании выявления дополнительной фракции или значительного расширения какой-либо зоны на денситограмме нельзя диагностировать парапротеинемию. Например, присутствие в образце фибриногена ведет к появлению дополнительной полосы с четко очерченными краями между β 2- и γ -фракциями при гелевом электрофорезе и в β 2-фракции – при капиллярном. Другой причиной ложноположительного результата может быть внутрисосудистый гемолиз. Высвобождение свободного гемоглобина и образование гемоглобин-гаптоглобинового комплекса вызывает расширение α 2-фракции, что ошибочно может быть принято за парапротеин. Высокая концентрация трансферрина (например, при железодефицитной анемии) приводит к значительному увеличению β 1-фракции, а нефротический синдром – к увеличению α 2- и β -фракций. Другой причиной ложноположительного результата может быть высокое содержание С-реактивного белка (дискретная полоса в середине γ -фракции) или наличие гетерозиготных форм белков (гаптоглобин, трансферрин), приводящих к удвоению пика соответствующей фракции.

Также следует учитывать ситуации, приводящие к ложноотрицательному заключению. Например, незначительное количество парапротеина, мигрирующего в составе α - или β -фракций, может не влиять на увеличение соответствующей фракции. Другой причиной ошибок диагностики может быть полимеризация молекул парапротеина или образование комплексов с другими компонентами плазмы, что приводит к изменению внешнего вида моноклонального пика: он приобретает вид широкой зоны с расплывшимися границами.

Возможны также различные артефакты, затрудняющие интерпретацию результатов. Появление дополнительных полос на нескольких расположенных рядом образцах в одном и том же месте свидетельствует, вероятнее всего, об артефакте.

При наличии М-градиента следующим этапом диагностики является определение его концентрации. Для этого применяют денситометрическое сканирование результатов электрофоретического разделения белков сыворотки крови. Однако следует учитывать, что результат складывается из моноклонального и поликлональных Ig, которые мигрируют в той же зоне. Помимо этого результаты денситометрии могут быть неточными при концентрации парапротеина G более 30 г/л из-за насыщения геля белковым красителем, а также при концентрации моноклонального IgA более 40 г/л [14, 15].

Для оценки степени сопутствующего гуморального иммунодефицита применяют другие методы, чаще всего нефелометрию или турбидиметрию.

Важно понимать, что описанные выше методы позволяют определить суммарное количество Ig (моноклональных и поликлональных). В этой связи их не рекомендуют использовать для измерения содержания парапротеина. Но вместе с тем полученные результаты можно использовать как ориентировочные, особенно при низкой концентрации парапротеина, когда невозможно выделение пика на денситограмме.

Ключевые положения

1. Для первоначального скрининга парапротеинемий используют капиллярный электрофорез белков сыворотки крови или гель-электрофорез высокого разрешения.
2. Изолированное использование электрофореза без иммунофиксации для выявления парапротеина является недостаточным, так как:
 - дополнительная белковая полоса или изменение формы фракции глобулинов, как и значительное увеличение фракции на электрофореграмме, не являются доказательством наличия парапротеина;
 - малое количество парапротеина, мигрирующего в составе α - или β -фракций, может не вызывать его увеличения.
3. Для определения концентрации парапротеина необходимо денситометрическое сканирование электрофореграммы в сочетании с биохимическим определением общего белка сыворотки крови. Необходимо учитывать, что такой подход имеет ограничения в точности измерения в области низких и очень высоких концентраций.
4. Количественная оценка отдельных классов Ig методом нефелометрии/турбидиметрии не может быть использована для определения концентрации парапротеина. Эти методы являются дополняющими и служат для оценки сопутствующего иммунодефицита.
5. Электрофорез не позволяет определить тип парапротеина.

Иммунофиксация белков сыворотки

При характеристике парапротеина принято указывать класс (IgG, A, M, D, E), который определяется изотипом тяжелой цепи, и тип (κ или λ) в соответствии с изотипом легкой цепи, например IgG λ . Для иммунохимической идентификации парапротеина чаще всего используется метод иммунофиксации.

Принцип метода заключается в выполнении электрофореза одного образца на 5 дорожках с последующим нанесением моновалентных антисывороток: анти-IgG (для детекции γ -цепи), анти-IgM (для детекции μ -цепи), анти-IgA (для детекции α -цепи), анти- κ (для детекции κ -цепи), анти- λ (для детекции λ -цепи). Использование моновалентных антисывороток позволяет идентифицировать состав парапротеина: диффузное окрашивание полосы свидетельствует о поликлональном синтезе данной цепи, а четко очерченная полоса – о моноклональном синтезе (рис. 2). Если на денситограмме моноклональный белок визуализируется без соответствующей тяжелой цепи, то необходимо выполнить дополнительную иммунофиксацию с антисыворотками к δ - и ϵ -цепям (анти-IgD и анти-IgE соответственно) [16]. Использование антисывороток повышает чувствительность метода и позволяет выявлять очень маленькие пики, которые не определяются при электрофорезе.

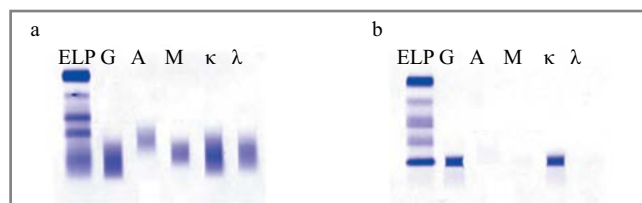


Рис. 2. Пример иммунофиксации сыворотки крови:
a – поливалентный синтез всех типов цепей;
b – моновалентный синтез γ - и κ -цепей.

Fig. 2. An example of immunofixation of blood serum:
a – polyvalent synthesis of all types of chains;
b – monovalent synthesis of γ - and κ -chains.

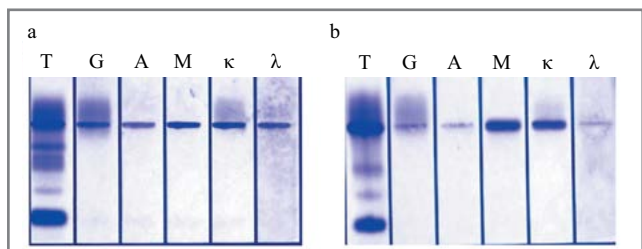


Рис. 3. Сорбция парапротеина на геле: **a** – идентификация состава парапротеина невозможна, полосы преципитации наблюдаются со всеми антисыворотками; **b** – благодаря предварительной обработке сыворотки крови 2-меркаптоэтанолом установлен состав парапротеина IgM/κ.

Fig. 3. Sorption of the paraprotein on the gel:
a – identification of the paraprotein composition is impossible, precipitation bands are observed with all antisera; **b** – thanks to the preliminary treatment of blood serum with 2-mercaptoethanol, the composition of the IgM/κ paraprotein was determined.

Обычно помимо 5 дорожек, на которые наносят антисыворотки, есть еще одна: на нее наносят фиксирующий раствор (дорожка ELP на рис. 2). Она служит только для определения локализации парапротеина. Проводить количественную оценку фракций и парапротеина по ней нельзя, так как многочисленные этапы удаления несвязавшихся антисывороток сопровождаются неизбежной потерей части белков самого образца.

Помимо моновалентных антисывороток допускается использовать пентавалентную антисыворотку, направленную против всех (γ , μ , α , κ , λ) цепей. Такой подход значительно снижает себестоимость исследования и позволяет избежать ложноположительных и ложноотрицательных результатов электрофореза [17]. Данный вариант иммунофиксации не позволяет установить состав моноклонального компонента, поэтому его рекомендуют использовать лишь для скрининга при подозрении на МГ и мониторинга (когда уже известен состав парапротеина). Однако в случае положительного результата необходимо выполнить иммунофиксацию с моновалентными антисыворотками. В ряде случаев иммунофиксацию с моновалентными сыворотками проводят и при отрицательном результате с пентавалентной антисывороткой (например, при наличии клинических данных, указывающих на ПО). Для мониторинга достаточно использовать антисыворотку к классу и/или типу ранее подтвержденного парапротеина или пентавалентную антисыворотку. Однако такой подход нельзя использовать при изменении электрофоретической картины, например изменении зоны миграции М-градиента, или появлении на электрофореграмме дополнительной полосы.

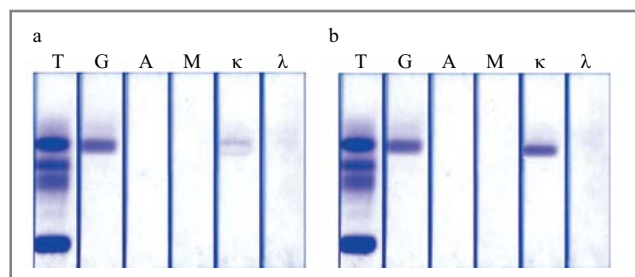


Рис. 4. Артефакт при иммунофиксации сыворотки крови: **a** – идентификация легкой цепи затруднена, так как при используемом разведении образца (1:5) центр κ -преципитата вымывается, что обусловлено избытком антигена; **b** – более сильное разведение образца (1:10) позволяет устранить артефакт и идентифицировать легкую цепь.

Fig. 4. Artifact during immunofixation of blood serum:
a – identification of the light chain is difficult, since with the dilution of the sample used (1:5), the center of the κ -precipitate is washed out, which is due to an excess of antigen; **b** – a stronger dilution of the sample (1:10) allows eliminating the artifact and identifying the light chain.

Другим методом идентификации парапротеина является иммунотипирование. В этом случае после предварительной инкубации образца с антисыворотками выполняют капиллярный электрофорез. Состав парапротеина определяют по снижению/исчезновению фракции на денситограмме при добавлении соответствующей антисыворотки. Показано, что иммунотипирование – более субъективный метод, имеющий меньшую чувствительность, по сравнению с иммунофиксацией [18]. Иммунотипирование, как и иммунофиксация, относятся к качественным методам и не позволяют измерять количество парапротеина.

Интерпретация результатов иммунофиксации может быть затруднена из-за сорбции парапротеина на матрице геля: полосы преципитации появляются на всех 5 дорожках с каждой из антисывороток в месте нанесения образца или около нее. В этом случае результат исследования может быть ошибочно интерпретирован как БГ. Феномен сорбции характерен для мультимерных парапротеинов, особенно IgM и криоглобулинов. В таких случаях следует выполнить повторный анализ образца, предварительно обработав его восстанавливающим агентом (обычно 2-меркаптоэтанолом). Он разрушает сульфгидрильные мостики, благодаря чему восстанавливается пространственная структура Ig и устраняется неспецифическая сорбция (рис. 3).

Трудность в интерпретации результатов иммунофиксации также возникает при отсутствии эквивалентности количества антигенов и антител на этапе иммунопреципитации. Избыток антигена приводит к усилению диффузии и расширению полосы. В крайних случаях этот феномен проявляется неокрашенной областью в центре полосы иммунопреципитата, видимой как «центральное чистое пятно», «дырка» или «пончик». Для устранения этого артефакта требуется повторный анализ образца при более высоком его разведении (т.е. снижении концентрации антигена) [10] (рис. 4).

Одновременное выявление нескольких моноклональных пиков на денситограмме может быть обусловлено наличием мономерной и димерной форм парапротеина, посттрансляционными модификациями или же истинной БГ (рис. 5).

Терапия моноклональными антителами также может сопровождаться появлением дополнительного пика [8].

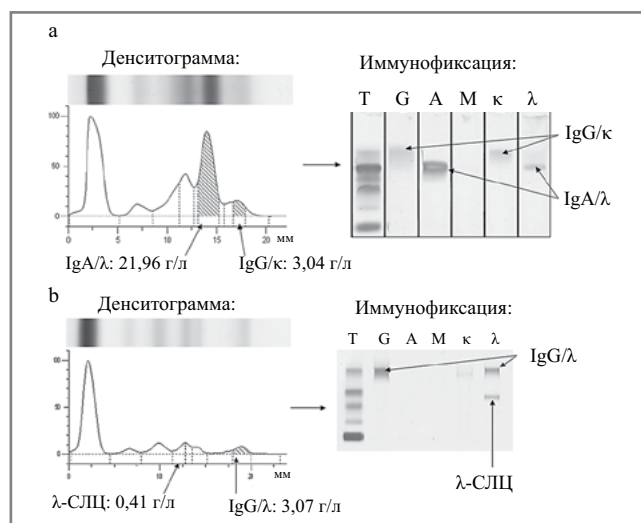


Рис. 5. Наличие нескольких М-пиков на денситограмме: *a* – БГ: выявлено 2 моноклональных пика (слева), методом иммунофиксации (справа) показано, что они имеют различный состав; *b* – интраклональная гетерогенность: выявлено 2 моноклональных пика (слева), методом иммунофиксации (справа) показано, что они представлены целым Ig и одноименной СЛЦ.

Fig. 5. The presence of several M-peaks on the densitogram: *a* – biclonal gammopathy: 2 monoclonal peaks were detected (left), immunofixation (right) showed that they have a different composition; *b* – intraclonal heterogeneity: 2 monoclonal peaks were detected (left), immunofixation (right) showed that they are represented by whole Ig and free light chains.

При наличии нескольких моноклональных пиков на денситограмме рекомендуется выполнить иммунофиксацию с моновалентными антисыворотками.

Сочетание электрофореза и иммунофиксации является «золотым стандартом» диагностики и мониторинга МГ [18]. Только совместное применение этих двух методов позволяет получить достоверную информацию о наличии/отсутствии парапротеина и его количестве. Сначала выполняется электрофорез сыворотки крови, на основании результатов которого подбирается разведение образца для последующей иммунофиксации. Интерпретация результатов также проводится совместно: на основании данных иммунофиксации определяется наличие/отсутствие парапротеина и его состав, а на основании данных электрофореза – его концентрация.

Ключевые положения

1. Метод иммунофиксации – качественный метод, позволяющий выявлять парапротеин в концентрации до 0,1 г/л.
2. Метод иммунофиксации с использованием моновалентных антисывороток позволяет установить тип парапротеина. Обязательным является использование анти-IgD и анти-IgE антисывороток в случае выявления подозрительной фракции при отсутствии преципитации с анти-IgG, анти-IgA, анти-IgM антисыворотками и наличии преципитации с анти-κ или анти-λ антисывороткой.
3. Метод иммунофиксации с использованием поливалентной антисыворотки не позволяет установить тип парапротеина, но исключает ложноположительные и ложноотрицательные результаты электрофореза белков сыворотки крови и значительно снижает себестоимость. Поливалентную антисыворотку рекомендуется использовать для мониторинга лечения пациента (когда уже известен состав парапротеина), а также скрининга при подозрении на МГ.

4. Сочетание электрофореза и метода иммунофиксации является «золотым стандартом» диагностики и мониторинга МГ.

Определение СЛЦ Ig в сыворотке

В норме в сутки продуцируется около 500 мг поликлональных СЛЦ, которые реабсорбируются в проксимальном отделе почечных канальцев, и лишь 10 мг экскретируются с мочой [19, 20]. Хотя κ-СЛЦ и λ-СЛЦ синтезируются примерно в соотношении 1,8:1, из-за более быстрого клиренса κ-СЛЦ нормальное отношение κ/λ СЛЦ в сыворотке крови находится в диапазоне 0,26–1,65 [21]. Изменение концентрации СЛЦ наблюдают при иммуносупрессии, снижении скорости клубочковой фильтрации, поликлональной гиперглобулинемии (при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях), однако отношение κ/λ СЛЦ находится, как правило, в пределах нормальных значений [2]. Нарушение отношения κ/λ СЛЦ происходит вследствие высокого синтеза одного из изотипов СЛЦ и является признаком лимфопролиферативного заболевания.

При ММ СЛЦ – независимый биомаркер, имеющий диагностическое и прогностическое значение. Помимо этого моноклональные СЛЦ при ММ – основная причина повреждения почек. При высокой концентрации СЛЦ миеломная каст-нефропатия формируется чаще, чем при нормальной концентрации СЛЦ [22]. Моноклональные СЛЦ могут быть причиной формирования и других вариантов поражения почек, в том числе болезни отложения легких цепей, тубулоинтерстициального нефрита, синдрома Фанкони. Моноклональные СЛЦ – основной патогенетический фактор развития системного AL-амилоидоза.

Количественное исследование СЛЦ в сыворотке – это дополнительное дорогостоящее исследование, которое выполняют при наличии определенных показаний. При направлении на иммунохимическое исследование рекомендуется указывать, с какой целью необходимо определить количество СЛЦ.

Для определения концентрации СЛЦ используют различные методы: нефелометрию, турбидиметрию и иммуноферментный анализ. Нефелометрия является методом выбора количественной оценки СЛЦ. При нефелометрии используют антитела, которые в 10 тыс. раз сильнее связываются с эпитопами легких цепей, находящихся в плазме в свободном состоянии, чем со связанными легкими цепями (т.е. входящими в состав Ig). В этой связи даже высокая концентрация поликлональных Ig не влияет на результаты исследования [23]. Важно отметить, что определять концентрацию целесообразно лишь в сыворотке. Определение и мониторинг СЛЦ в моче не рекомендуют [24].

Ключевые положения

1. Для диагностики и мониторинга ПО может быть необходимо исследование СЛЦ Ig сыворотки и определение их отношения. Определение СЛЦ мочи не рекомендовано.
2. Нефелометрия – метод выбора для определения концентрации СЛЦ Ig, однако при ее недоступности возможно использование других методов.

3. Определение СЛЦ Ig сыворотки необходимо для дифференциальной диагностики тлеющей и симптоматической ММ, диагностики и мониторинга низкосекретирующей ММ, AL-амилоидоза, а также болезни депозитов легких цепей.
4. Исследование СЛЦ Ig необходимо при остром повреждении почек неясного генеза для исключения нефропатий вследствие ПО.
5. Концентрацию СЛЦ Ig следует учитывать при оценке гематологического ответа и для мониторинга ММ у пациентов с почечной недостаточностью с потребностью в диализе.
6. Определение концентрации СЛЦ Ig показано во всех случаях впервые диагностированного плазмноклеточного заболевания при отсутствии белка Бенс-Джонса в моче или его количестве менее 0,2 г/сут.

Определение белка Бенс-Джонса в моче (электрофорез и иммунофиксация)

Исследование мочи (а не только сыворотки) является обязательным при подозрении на МГ. Электрофорез белков мочи в сочетании с иммунофиксацией позволяет не только выявить белок Бенс-Джонса, но определить белки-маркеры сопутствующей протеинурии. На этапе скрининга проводят электрофорез концентрированной мочи. Целесообразнее использовать тест-системы гель-электрофореза, так как тест-системы для капиллярного электрофореза не обеспечивают необходимое качество разрешения. Приборы для проведения электрофореза мочи, как правило, оснащены специальными программами для концентрации мочи, поскольку в большинстве случаев в моче низкое содержание белков. Для этого применяют либо более длительную экспозицию при нанесении образцов нативной мочи, либо повторное многократное нанесение. Концентрирование мочи можно также осуществить с помощью специальных концентраторов. После проведения электрофореза полученная электрофореграмма оценивается визуально и с помощью денситометрии с выделением белковых пиков.

При наличии парапротеина в моче на электрофореграмме видны дополнительные белковые фракции – гомогенные полосы разной степени интенсивности, подвижность которых может варьировать от зоны миграции α 1-глобулинов до зоны γ -глобулинов. Как правило, визуальная детекция М-градиента возможна начиная с концентрации белка 0,1 г/л, при условии, что белок Бенс-Джонса не совпадает по подвижности с другими белками мочи при наличии сопутствующей протеинурии. Если белок Бенс-Джонса на электрофореграмме мочи образует компактный градиент на прозрачном фоне, то пик на денситограмме выявляется при минимальной концентрации белка 0,2 г/л. При более низком уровне парапротеина соответствующий ему пик на денситограмме, как правило, выделить не удастся, в этом случае необходимо в текстовом комментарии отметить наличие М-градиента и указать зону его миграции. Количественно содержание белка в зоне градиента в этом случае не оценивают.

В связи с неравномерным выделением белка в течение суток для более точной оценки его экскреции проводится пересчет в г/сут с учетом суточного диуреза. Выделение белка Бенс-Джонса менее 0,2 г/сут считают следовым.

При обнаружении при электрофорезе мочи дополнительной белковой полосы выполняют иммунофиксацию для доказательства иммуноглобулиновой природы белка и типирования. Для этого используют антисыворотки к



Рис. 6. Пример денситограммы (а) сыворотки крови больного нефротическим синдромом с расчетом количественного содержания отдельных фракций и указанием наблюдаемых изменений (b).

Fig. 6. An example of a densitogram (a) of the blood serum of a patient with nephrotic syndrome with the calculation of the quantitative content of individual fractions and an indication of the observed changes (b).

соответствующим тяжелым цепям Ig (анти-IgG, анти-IgA, анти-IgM, можно использовать трехвалентную сыворотку анти-IgG, IgA, IgM) для того, чтобы выявить выход в мочу полного парапротеина (обычно наблюдается при клубочковой протеинурии, но в следовом количестве может наблюдаться и в других случаях) и антисыворотки к СЛЦ Ig (анти- κ -free, анти- λ -free). Если в сыворотке выявлен парапротеин IgD- или IgE-классов, то необходимо использование соответствующих антисывороток (анти-IgD или анти-IgE).

Даже при отсутствии на электрофореграмме мочи дополнительных белковых полос необходимо выполнение иммунофиксации, позволяющей ввиду более высокой чувствительности выявить следовую секрецию белка Бенс-Джонса (рис. 6).

Определение белков сопутствующей протеинурии важно для определения характера поражения почек (гломерулярное, тубулярное или смешанное). В некоторых случаях определение типа протеинурии бывает затруднительным, здесь может помочь иммунофиксация со специфическими антисыворотками к белкам-маркерам клубочковой и канальцевой протеинурии или проведение разделения белков мочи по молекулярной массе (разделение макро- и микроглобулинов).

Ключевые положения

1. Исследование мочи на наличие белка Бенс-Джонса необходимо всем пациентам с подозрением на парапротеинемиию.
2. Протеинурия, выявленная с помощью тест-полосок или биохимическими методами, не является доказательством наличия белка Бенс-Джонса. Только сочетание электрофореза с методом иммунофиксации позволяет сделать заключение о наличии или отсутствии белка Бенс-Джонса.
3. Электрофорез мочи позволяет определить наличие/отсутствие протеинурии и ее тип. Протеинурия переполнения, связанная с белком Бенс-Джонса, характеризуется появлением дискретной полосы на электрофореграмме, локализация которой может варьировать от α 1- до γ -фракции.
4. Для электрофореза мочи предпочтительнее использовать суточную мочу, допускается использование разовой утренней порции мочи. В обоих случаях требуется предварительное концентрирование образца.

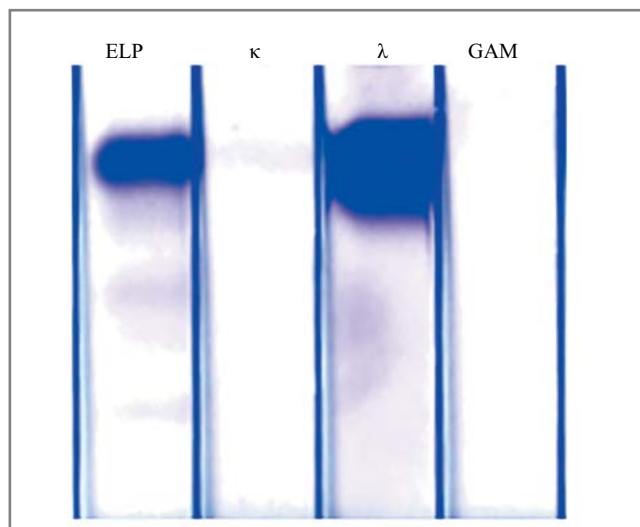


Рис. 7. Пример иммунофиксации мочи. В образце выявлен белок Бенс-Джонса, представленный легкими цепями λ .

Fig. 7. An example of urine immunofixation. The sample revealed Bence-Jones protein represented by light chains λ .

5. Иммунофиксация мочи является качественным методом и позволяет установить изотип белка Бенс-Джонса.
6. Количество белка Бенс-Джонса определяют по результатам денситометрии и количеству общего белка, определенного биохимическим методом.

Определение парапротеина в ликворе

Исследование ликвора на наличие парапротеина проводят аналогично анализу мочи на белок Бенс-Джонса: предварительная концентрация образца с последующим электрофоретическим разделением. Основным белком ликвора в норме является альбумин, полоса которого четко визуализируется на электрофореграмме. Менее интенсивно окрашенные полосы в β - и γ -фракциях представлены трансферрином и Ig соответственно. После выявления сомнительной полосы на электрофореграмме обязательно подтверждение ее моноклональности методом иммунофиксации. Для количественной оценки парапротеина в ликворе можно использовать денситометрическое сканирование электрофореграммы в сочетании с биохимическим определением общего белка.

Оформление иммунохимического заключения

Мониторинг состояния пациентов с ПО проводится на протяжении многих лет, и образцы одного и того же пациента могут отправляться в разные лаборатории, заключения из которых могут значительно отличаться друг от друга. Для удобства интерпретации клиницистом и повышения качества оказания медицинской помощи рекомендуется стандартизация формы выдачи ответа. Для адекватной оценки динамики необходимо использовать тот же самый способ выделения при дальнейших исследованиях. Наиболее целесообразно выполнение исследования в одной и той же лаборатории, имеющей архив.

При оформлении результатов электрофореза белков сыворотки крови необходимо указывать динамику их содержания (повышение/понижение) и предоставлять референсные интервалы (**рис. 7**). В тех случаях, когда фракции

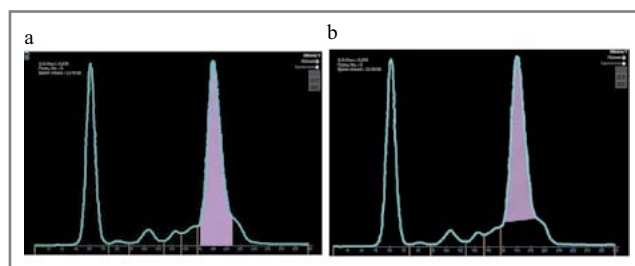


Рис. 8. Зависимость концентрации моноклонального компонента от способа его выделения на денситометрической кривой: *a* – количество парапротеина, измеренного методом «полного» пика, составляет 42,92 г/л; *b* – при использовании метода «усеченного» пика концентрация составляет 30,92 г/л.

Fig. 8. The dependence of the concentration of the monoclonal component on the method of its isolation on the densitometric curve: *a* – the amount of paraprotein measured by the "full" peak method is 42.92 g/l; *b* – when using the "truncated" peak method, the concentration is 30.92 g/l.

не могут быть разделены на денситометрической кривой, указывают на их слияние, например «выявлено слияние β - и γ -фракций» [8, 18].

При выявлении МГ результат исследования рекомендуется дополнить графиком с выделенным пиком, так как количество парапротеина зависит от способа его выделения. Современное программное обеспечение позволяет обозначить М-градиент на денситометрической кривой двумя способами: с выделением «полного» или «усеченного» пика (**рис. 8**). При измерении концентрации парапротеина первым способом в выделенный пик неизбежно попадают поликлональные Ig. Метод «усеченного» пика позволяет отсечь поликлональные Ig, и таким способом получают более точные концентрации парапротеина в γ -фракции по сравнению с «полным» пиком [25]. Однако в случае парапротеина, мигрирующего в α - или β -фракциях, мигрирующими белками являются не Ig, а другие протеины, поэтому использование «усеченного» пика дает неточные результаты [9]. Учитывая ограниченность метода «усеченного» пика для α - или β -фракции, а также частый иммунопарез при ММ, в лабораторной практике чаще используют метод «полного» пика. В связи с наличием возможности выделения пика разными способами в заключении всегда необходимо указывать, что на денситограмме был выделен «усеченный» пик, и для адекватной оценки динамики необходимо при дальнейших исследованиях использовать тот же самый способ выделения.

При концентрации моноклонального компонента менее 1 г/л в сыворотке или менее 0,2 г/л в моче количественное измерение не выполняется и в заключении указывают «следы» или «ниже нижнего предела детекции» [18]. Если концентрация парапротеина настолько мала, что он выявляется только методом иммунофиксации (не обнаруживается методом электрофореза), количественная оценка также не проводится. Формулировка заключения может выглядеть, как «IgG/ κ , выявляемый только методом иммунофиксации» [8].

При наличии нескольких моноклональных пиков на денситограмме следует охарактеризовать каждый пик в отдельности, а также рекомендовать выполнение иммунофиксации для типирования каждого пика.

Таким образом, результаты электрофоретического определения парапротеина содержат много различной

информации. Для упрощения ориентации в заключении и облегчения интерпретации клиницистом рекомендуется разделить заключение на несколько полей. Основными полями должны быть графы «Парапротеин выявлен/не выявлен» и «Количество парапротеина, г/л». В поле для указания концентрации допускается указывать класс парапротеина (например, IgA/κ). В случае выявления парапротеина без установления его состава необходимо рекомендовать выполнение иммунофиксации. Отдельную область заключения должна занимать денситограмма с выделенным парапротеином, результатами количественного содержания отдельных фракций с их референсными интервалами. Вариант возможного заключения лаборатории приведен на рис. 9.

Особенности клинической интерпретации результатов лабораторных анализов

Критерии гематологического ответа и прогрессии при ММ и AL-амилоидозе хорошо известны. Однако в ряде случаев интерпретация результатов исследования парапротеина вызывает определенные трудности.

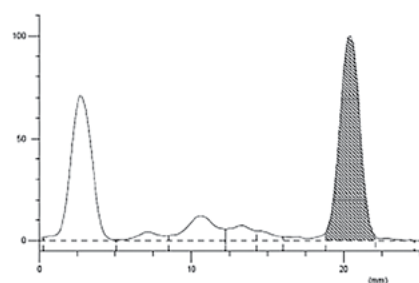
«Неизмеряемая» ММ. ММ считают «неизмеряемой», если содержание интактного парапротеина в сыворотке менее 10 г/л, И количество белка Бенс-Джонса в моче менее 200 мг/сут, И концентрация СЛЦ Ig сыворотки менее 100 мг/л [24]. В этих случаях по динамике содержания парапротеина возможна констатация только полной ремиссии или прогрессии. Степень гематологического ответа не оценивают.

«Неизмеряемый» AL-амилоидоз. Заболевание считают «неизмеряемым», если содержание интактного парапротеина в сыворотке менее 10 г/л И разница между содержанием вовлеченных и невовлеченных СЛЦ Ig сыворотки менее 50 мг/л [26, 27]. В этих случаях можно констатировать только полную ремиссию или прогрессию, но не степень гематологического ответа. AL-амилоидоз считается «неизмеряемым» по указанным критериям у 20% пациентов. Недавно для пациентов, у которых в дебюте разница между содержанием вовлеченных и невовлеченных СЛЦ сыворотки составила более 20 мг/л, предложен дополнительный критерий гематологического ответа (ответ при низкой разнице СЛЦ – low-dFLC response). Гематологическим ответом в этих случаях считается снижение разницы содержания СЛЦ сыворотки до 10 мг/л [28]. Если исходно разница содержания СЛЦ составляет менее 50 мг/л, но секретируется интактный парапротеин в количестве более 10 г/л, то ответ оценивается по содержанию интактного парапротеина.

Вариабельность иммунохимических параметров. Вариабельность значений парапротеина исследована у пациентов с ММ со стойкой частичной ремиссией. Содержание парапротеина варьировало в пределах 8%, количество нормальных Ig – 12%, СЛЦ Ig сыворотки – 28%, М-градиента мочи – 36%. Таким образом, наибольшие различия результатов наблюдаются при измерении СЛЦ сыворотки и белка Бенс-Джонса в моче [29]. Возможность вариабельности иммунохимических параметров следует учитывать при констатации ремиссии или диагностике прогрессии. Согласно рекомендациям Международной рабочей группы по изучению миеломы (IMWG) все категории ответов требуют двух последовательных измерений и будут считаться неподтвержденными до проведения повторного исследования [5].

Ошибочная констатация гематологического ответа. Следует помнить, что при прогрессии ММ плазматические клетки могут утрачивать способность секретировать пара-

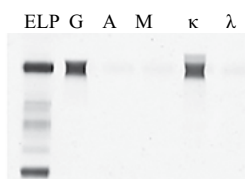
Денситограмма электрофореза белков сыворотки крови



Анализ белковых фракций

Фракция	%	Концентрация, г/л	Референсный диапазон, г/л
Альбумин	35,18	39,0	35,0–50,0
α1	2,42	2,68	2,0–4,0
α2	8,33	9,24↑	4,0–8,0
β1	3,93	4,63	3,0–6,0
β2	1,88	2,08	2,0–4,0
γ	48,27	53,51↑	6,0–12,0
Общий белок	100,0	110,87	60,0–80,0
γ М-пик	46,45	51,50↑	

Иммунофиксация с моновалентными антисыворотками



Заключение. Выявлен парапротеин IgG/κ, содержание 51,50 г/л.

Рис. 9. Пример диагностического заключения парапротеинемии методом электрофореза и иммунофиксации.

Fig. 9. An example of a diagnostic conclusion of paraproteinemia by electrophoresis and immunofixation.

протеин, что будет представлено в исследованиях сыворотки и мочи в виде снижения/исчезновения патологической секреции [30]. Таким образом, возможна ошибочная констатация ремиссии при прогрессии заболевания. Следовательно, изменение содержания парапротеина должно учитываться в совокупности с клиническими данными и результатами других методов исследования.

Нарушение соотношения СЛЦ Ig. В ряде случаев при наличии воспаления (ревматологические заболевания, инфекции) вследствие поликлональной активации может нарушаться отношение κ/λ СЛЦ Ig сыворотки. Поэтому результаты исследования следует всегда интерпретировать в контексте клинической ситуации, а тестирование следует повторить в «холодном» периоде.

Содержание СЛЦ Ig сыворотки при нарушении функции почек. Нарушение функции почек приводит к нарушению метаболизма СЛЦ Ig сыворотки. При почечной недостаточности повышается концентрация как вовлеченных, так и невовлеченных СЛЦ. В этих случаях нельзя ориентироваться на абсолютные значения, необходимо учитывать именно отношение содержания СЛЦ, которое при почечной недостаточности несколько изменено и составляет 0,37–3,1 [31]. Нарушение этого отношения – признак повышенного синтеза одной из легких цепей, что свидетельствует в пользу лимфопролиферативного заболевания

(в случаях первичной диагностики) или неполной ремиссии (при оценке гематологического ответа).

При ММ, осложненной тяжелой почечной недостаточностью (особенно в тех случаях, когда больному проводится программный гемодиализ), происходит накопление СЛЦ Ig в сыворотке при снижении экскреции белка Бенс-Джонса в моче. В этой связи оценка гематологического ответа по содержанию белка Бенс-Джонса в моче (без определения СЛЦ в сыворотке) может привести к ошибочной констатации гематологического ответа на терапию [32].

Характер протеинурии в диагностике нефропатий. Электрофорез белков мочи в сочетании с иммунофиксацией позволяет не только выявить белок Бенс-Джонса, но и определить наличие белков-маркеров сопутствующей протеинурии, что важно для диагностики нефропатий.

Выделяют 4 типа протеинурии:

1. Протеинурия перегрузки развивается при высокой концентрации белка Бенс-Джонса, превышающей реабсорбционную способность канальцев. Протеинурия в основном представлена белком Бенс-Джонса, при этом присутствие других белков минимально. Протеинурия перегрузки характерна для ММ без поражения почек.
2. Канальцевая протеинурия развивается при повреждении канальцев почек. Нарушается реабсорбция в канальцах почек низкомолекулярных белков (массой менее 67 кДа): α 1-микроглобулина, β 2-микроглобулина, ретинолсвязывающего протеина. В моче определяют также небольшое количество альбумина. Канальцевая протеинурия характерна для миеломной каст-нефропатии, острого повреждения канальцев.
3. Клубочковая протеинурия развивается при повреждении гломерулярного фильтра. В моче обнаруживают крупномолекулярные белки (массой более 67 кДа), такие как трансферрин, Ig, а также альбумин. При МГ клубочковая протеинурия характерна для AL-амилоидоза, болезни отложения легких и/или тяжелых цепей, парапротеинассоциированных гломерулонефритов.
4. Смешанная протеинурия – наличие в моче как крупномолекулярных, так и низкомолекулярных белков. Может отмечаться при хронической болезни почек, сочетанных вариантах нефропатий.

При неселективной протеинурии или выраженной альбуминурии (клубочковая и смешанная протеинурия) для уточнения характера нефропатии показана биопсия почки [33].

Исследование ликвора на содержание СЛЦ Ig. Необходимость определения содержания СЛЦ Ig в ликворе при ПО, как правило, возникает в случаях вовлечения центральной нервной системы (ЦНС). Несмотря на то, что «золотым стандартом» диагностики вовлечения ЦНС являются визуализирующие методы исследования и цитологическое исследование спинномозговой жидкости, повышение содержания вовлеченной СЛЦ является чувствительным и надежным диагностическим тестом. В норме СЛЦ не проходят менингоэнцефалический барьер, и их концентрация в ликворе не превышает 0,5 мг/л. Значимое (в несколько

раз) повышение их содержания свидетельствует об их интраклеточном синтезе и может указывать на плазмочитому (лимфому) ЦНС. Описаны случаи повышения содержания СЛЦ Ig в ликворе у больных ММ с наличием клинических признаков вовлечения головного мозга при отрицательных результатах магнитно-резонансной томографии и цитологического исследования ликвора [34]. Таким образом, исследование ликвора на содержание СЛЦ является дополнительным уточняющим методом обследования пациентов с ПО и поражением ЦНС.

Закключение

Определение количества и типа парапротеина в сыворотке и моче – обязательный этап диагностики и мониторинга плазмоклеточных заболеваний. Однако каждый отдельно взятый метод исследования моноклональной секрети имеет свои ограничения, и только их сочетание (электрофорез, иммунофиксация и нефелометрия с определением СЛЦ Ig в сыворотке) обеспечивает высокую чувствительность (98,6%) в диагностике МГ [13]. Выполнение полного иммунохимического исследования внесено в Европейские рекомендации по диагностике и мониторингу ММ и имеет высокую степень доказательности (1A) [25]. Врач-клиницист должен понимать возможности и ограничения каждого из методов диагностики парапротеина и в необходимых случаях назначать дополнительные исследования и обосновывать их целесообразность. Следует также помнить, что интерпретация выявленной парапротеинемии может выполняться только в совокупности с клиническими, морфологическими, рентгенологическими и другими результатами во избежание ошибок и для принятия правильного решения.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации – это разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Список сокращений

БГ – биклональная гаммапатия
МГ – моноклональная гаммапатия
ММ – множественная миелома
ПО – плазмоклеточная опухоль

СЛЦ – свободные легкие цепи
ЦНС – центральная нервная система
Ig – иммуноглобулин

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Ed. by Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. Revised 4th ed.
- Bradwell AR. Serum free light chain analysis plus hevylyte. 7th ed. UK (Birmingham): The Binding Site Group, 2015.
- Katzmann JA. Screening panels for monoclonal gammopathies: time to change. *Clin Biochem Rev.* 2009;30:105-11.
- García-García P, Enciso-Alvarez K, Diaz-Espada F, et al. Biclinal gammopathies: Retrospective study of 47 patients. *Rev Clin Esp.* 2015;215(1):18-24. DOI:10.1016/j.rce.2014.07.003
- Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group Consensus Criteria for Response and Minimal Residual Disease Assessment in Multiple Myeloma. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):e328-46. DOI:10.1016/S1470-2045(16)30206-6
- Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol.* 2012;30(36):4541-9. DOI:10.1200/JCO.2011.37.7614
- Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, et al. Guidelines for clinical and laboratory evaluation patients with monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123(2):106-7. DOI:10.5858/1999-123-0106-GFCALE
- Tate J, Caldwell G, Daly J, et al. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem.* 2012;49:242-56. DOI:10.1258/acb.2011.011158
- Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):947-61. DOI:10.1515/cclm-2015-0862
- Keren D. Protein Electrophoresis in Clinical Diagnosis. London, 2003.
- Sørrig R, Klausen TW, Salomo M, et al. Immunoparesis in newly diagnosed Multiple Myeloma patients: Effects on overall survival and progression free survival in the Danish population. *PLoS One.* 2017;12(12):e0188988. DOI:10.1371/journal.pone.0188988
- Fujisawa M, Seike K, Fukumoto K, et al. Oligoclonal bands in patients with multiple myeloma: Its emergence per se could not be translated to improved survival. *Cancer Sci.* 2014;105(11):1442-6. DOI:10.1111/cas.12527
- Willrich MA, Katzmann JA. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):907-19. DOI:10.1515/cclm-2015-0580
- Murray DL, Ryu E, Snyder MR, Katzmann JA. Quantitation of serum monoclonal proteins: relationship between agarose gel electrophoresis and immunonephelometry. *Clin Chem.* 2009;55(8):1523-9. DOI:10.1373/clinchem.2009.124461
- Bergón E, Miravalles E. Estimation of serum M-protein concentration from polyclonal immunoglobulins: an alternative to serum protein electrophoresis and standard immunochemical procedures. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(8):1156-62. DOI:10.1515/CCLM.2008.232
- Ramakrishnan N, Jialal I. Bence-Jones Protein. StatPearls: Treasure Island (FL), 2019.
- Csako G. Immunofixation Electrophoresis for Identification of Proteins and Specific Antibodies. In: Methods in molecular biology (Clifton, NJ). United States, 2019; p. 177-201.
- Booth RA, McCudden CR, Balion CM, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem.* 2018;51:10-20. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2017.10.013
- Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP. The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *J Clin Invest.* 1972;51:2162-74. DOI:10.1172/JCI107023
- Solomon A. Light chains of human immunoglobulins. *Meth Enzymol.* 1985;116:1-121. DOI:10.1016/S0076-6879(85)16008-8
- Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free κ and free λ immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem.* 2002;49(9):1437-44.
- Drayson M, Begum G, Basu S, et al. Effects of paraprotein heavy and light chain types and free light chain load on survival in myeloma: an analysis of patients receiving conventional-dose chemotherapy in Medical Research Council UK multiple myeloma trials. *Blood.* 2006;108(6):2013-9. DOI:10.1182/blood-2006-03-008953
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* 2001;47:673-80.
- 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.* 2009;23:215-24. DOI:10.1038/leu.2008.307
- Schild C, Wermuth B, Trapp-Chiappini D, et al. Reliability of M protein quantification: comparison of two peak integration methods on Capillarys 2. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(6):876-7. DOI:10.1515/CCLM.2008.146
- Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Changes in serum-free light chain rather than intact monoclonal immunoglobulin levels predicts outcome following therapy in primary amyloidosis. *Am J Hematol.* 2011;86(3):251-5. DOI:10.1002/ajh.21948
- Comenzo RL, Reece D, Palladini G, et al. Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic light-chain amyloidosis. *Leukemia.* 2012;26(11):2317-25. DOI:10.1038/leu.2012.100
- Manwani R, Cohen O, Sharpley F, et al. A prospective observational study of 915 patients with systemic AL amyloidosis treated with upfront bortezomib. *Blood.* 2019;134(25):2271-80. DOI:10.1182/blood.2019000834
- Katzmann JA, Snyder MR, Rajkumar SV, et al. Long-term biological variation of serum protein electrophoresis M-spike, urine M-spike, and monoclonal serum free light chain quantification: implications for monitoring monoclonal gammopathies. *Clin Chem.* 2011;57:1687-92. DOI:10.1373/clinchem.2011.171314
- Kühnemund A, Liebisch P, Bauchmüller 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):477-84. DOI:10.1007/s00432-008-0470-7
- Hutchison CA, Harding S, Hewins P, et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:1684-90. DOI:10.2215/CJN.02290508
- Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Соболева Н.П. Трудности в оценке гематологического ответа у больных множественной миеломой с диализзависимой почечной недостаточностью. *Терапевтический архив.* 2019;91(7):70-4 [Rekhtina IG, Mendeleva LP, Soboleva NP. Difficulties evaluating hematological response in patients with multiple myeloma and dialysis-dependent renal impairment. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.).* 2019;91(7):70-4 (in Russian)]. DOI:10.26442/00403660.2019.07.000215
- Dimopoulos M, 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;34:1544-57. DOI:10.1200/JCO.2015.65.0044
- Marron TU, Ramanathan L, Chari A. Diagnostic utility of measuring free light chains in the cerebrospinal fluid of patients with multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;15(6):e127-31. DOI:10.1016/j.clml.2015.02.028

Статья поступила в редакцию / The article received: 08.04.2021



OMNIDOCTOR.RU