

*На правах рукописи*

МИТИНА ТАТЬЯНА АЛЕКСЕЕВНА

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ И  
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ МНОЖЕСТВЕННОЙ  
МИЕЛОМЫ

14.01.21 – гематология и переливание крови

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Москва 2016 год

Работа выполнена в государственной бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

**Научные консультанты:**

**Голенков Анатолий Константинович** доктор медицинских наук,  
профессор

**Караулов Александр Викторович** член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Официальные оппоненты:**

**Семочкин Сергей Вячеславович** – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии ПФ ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

**Мельниченко Владимир Ярославович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии и клеточной терапии Института усовершенствования врачей ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий отделением

**Лавров Вячеслав Федорович** – доктор медицинских наук, профессор, кафедра эпидемиологии Российской медицинской академии постдипломного образования Минздрава России

**Ведущая организация:** ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

Защита состоится на заседании диссертационного совета Д 208.050.01 при ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

(117198, г.Москва, ул. Саморы Машела, 1)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУФНКЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева Минздрава России и на сайте [www.niidg.ru](http://www.niidg.ru)

Автореферат разослан «\_\_»\_\_\_\_\_2015г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

Д.м.н., профессор

Чернов В.М.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Совершенствование противоопухолевой терапии множественной миеломы (ММ) является актуальной проблемой клинической гематологии. Современный этап этой проблемы определяется несколькими основополагающими факторами. Главным, из которых, является смена химиотерапевтических подходов от программ на основе алкилирующих препаратов на программы, включающие противоопухолевые препараты новой генерации. Наиболее актуальными из них с практической точки зрения являются бортезомиб (ингибитор протеасомы) и леналидомид (препарат иммуномодулирующего действия).

В связи с этим, возникла новая необходимость показать их эффективность в доказательных клинических исследованиях как в монотерапии, так и в комбинациях в первой и во второй линиях лечения. Следует отметить, масштабные клинические исследования, направленные на изучение клинических свойств бортезомиба и комбинаций на его основе при резистентной/рецидивной ММ (P/P ММ) (Richardson et al. SUMMIT, 2003; Niesvizky et al/ APEX, 2006; Delforge M. et al. VISTA, 2012). Исследования показали большую эффективность многокомпонентных комбинаций на основе бортезомиба, по сравнению с монотерапией.

При сравнительном анализе опубликованных результатов следует отметить трудности оценки из-за различия критериев включения в эти программы. Так в клинической группе программы APEX состав пациентов отличался меньшей предлеченностью и меньшей осложненностью. Кроме перечисленных факторов, затрудняющих анализ результатов программ APEX и SUMMIT существуют разночтения в оценке клинической эффективности бортезомиба. Это связано с тем, что международная оценка эффективности лечения ММ (Durie et al, 2006) применялась не всегда. Используя оценочную систему EBMT (Blade et al, 1998г.) программа SUMMIT отличалась от результатов APEX по объективному ответу на 15%. Другие важные

показатели эффективности так же достаточно трудно оценивать в мета-анализе из-за объективных проблем стандартизации групп, жесткого селективного отбора, разных кумулятивных доз курсов и химиотерапевтических (ХТ) циклов, длительности индукционного периода, наличия поддерживающего лечения. Все это делает актуальным проведение оригинальных клинических исследований, направленных на изучение эффективности бортезомибсодержащих программ лечения ММ.

В настоящее время в практике лечения ММ накапливаются случаи резистентности к бортезомибсодержащим программам. Это создает новую сложную и актуальную проблему, требующую научного анализа для ее решения. Ключевым звеном этой проблемы являются клинические исследования, направленные на изучение новых протоколов, включающих следующую новую генерацию препаратов, каким является леналидомид. В этой связи следует отметить работу, включающую более 700 пациентов с Р/Р ММ, леченных леналидомидом в сочетании с дексаметазоном с объективным противоопухолевым ответом (ОО) 60,6% и медианой общей выживаемости (ОВ) 29,6 мес. (Wang W. et al, 2008). Эту проблему может решить и монотерапия леналидомидом, но с меньшей эффективностью (ОО-26%, ОВ-23 мес. (Me)). В то же время, практически нет работ, касающихся комбинаций леналидомида, бортезомиба и преднизолона при Р/Р ММ. На наш взгляд, соединение двух эффективных противоопухолевых препаратов в сочетании с преднизолоном представляет актуальную научную задачу, которая может быть решена в результате проведения клинического исследования. Целесообразность проведения такого исследования диктуется возможностью получения эффективного протокола для лечения резистентной к бортезомибу ММ.

Сложной задачей является проблема лечения ММ, осложненной почечной недостаточностью (ПН). Актуальность изучения данной темы определяется новыми данными, касающимися роли циркулирующих

свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови (СЛЦ ИГСК) в патогенезе патологии почек при ММ, новыми лекарственными препаратами, широко внедряемыми в клиническую практику, возможностями аппаратного замещения ПН. Эти ключевые факторы проблемы находят свое отражение в отдельных публикациях (Gonsalves W.I. et al, 2005), но очевидно, что требуется обновленная концепция лечения ММ, осложненной ПН, которая включала бы вышеуказанные предпосылки. ММ относится к В-лимфопрролиферативным процессам с сохраненной протеинсинтезирующей функцией. Поэтому данный маркер В-клеточного иммунитета используется как оценочный фактор эффективности терапии и дальнейшее развитие этой проблемы заключено в исследованиях, касающихся роли СЛЦ в диагностике трудных случаев ММ, патогенезе нефропатии при ММ, диагностике ремиссии и мониторинге остаточной болезни. Однако в литературе недостаточно работ, касающихся прикладного значения уникального свойства СЛЦ и их короткого периода полураспада, которое позволило бы определять противоопухолевую динамику препаратов в реальном времени.

Актуальность иммунологического мониторинга в процессе лечения инновационными препаратами определяется состоянием Т-клеточного иммунитета, который недостаточно изучен при ММ. В этой связи следует отметить работу Franssen L.E. et al, 2015, показавшую ассоциацию высокой экспрессии Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) и короткой выживаемостью после аллогенной трансплантации стволовых клеток (аллоТСК). Кроме того, изучение процессов регенерации Т-системы после цитостатической терапии, включая смену субпопуляций, время восстановления и роль тимуса (по определению Т-рецепторных эксцизионных колец (TREC)) могут определить параметры химиотерапевтических программ ММ.

### **Цель исследования**

Разработать и внедрить оригинальные и эффективные программы лечения впервые диагностированной и резистентной/рецидивной

множественной миеломы на основе противоопухолевых препаратов новой генерации (бортезомиб, леналидомид) с учетом иммунологического мониторинга, включающего динамику циркулирующих свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови и субпопуляций Т-лимфоцитов.

### **Задачи исследования**

1. Разработать и внедрить в клиническую практику новые оригинальные химиотерапевтические программы на платформе бортезомиба для лечения впервые диагностированной и Р/Р ММ.

2. Разработать и внедрить в клиническую практику новую оригинальную программу: леналидомид, бортезомиб, преднизолон (РВП) для лечения ММ, резистентной к бортезомибсодержащим программам.

3. Сформулировать обновленную концепцию лечения ММ, осложненной ПН, на основе приоритета в патогенезе циркулирующих СЛЦ ИГСК, эффективной фармакодинамики бортезомиба и гемодиализной поддержки.

4. Разработать метод фармакодинамической оценки эффективности бортезомиба; комбинаций бортезомиба, мелфалана, преднизолона (ВМП) и леналидомида, бортезомиба, преднизолона (РВП) на основании анализа концентрации циркулирующих СЛЦ ИГСК в процессе курсов противоопухолевой терапии.

5. Изучить процессы регенерации Т-клеточного иммунитета при ММ после индукционных курсов противоопухолевой терапии с анализом субпопуляций: наивных клеток (CD45RA+62L+), терминально-дифференцированных клеток (CD45RA+62L-), Treg лимфоцитов (CD4+25+FOXP3+) и их изоформ, а так же, оценить вклад тимуса в процесс восстановления Т-клеточного звена по анализу уровня TREC.

## Новизна исследования

Впервые было показано, что индукционное лечение бортезомибом должно составлять не менее шести курсов у рецидивных и резистентных пациентов при этом достигался близкий к максимальному эффект. Эти данные послужили одним из факторов создания платформы бортезомиба, на базе которой были созданы многокомпонентные комбинации с высокой непосредственной и отдаленной эффективностью. Оригинальная ВМП программа была изучена у тяжелой группы пациентов с ММ в 1 и 2 линиях лечения с хорошей эффективностью и невысокой токсичностью за счет сниженных кумулятивных доз бортезомиба за индукционный период.

Программа РВП, где используются два инновационных препарата – бортезомиб и леналидомид, не имеет аналогов ни в нашей, ни в зарубежной литературе и обладает хорошим эффектом и невысокой токсичностью. Она применима во 2 линии лечения пациентов рецидивирующих и резистентных на бортезомибсодержащих протоколах.

Сформулированная в работе обновленная концепция ПН при ММ, базирующаяся на достижениях иммунохимии последних лет и собственных исследованиях, позволила получить оригинальные результаты, подтвержденные в проспективном клиническом исследовании.

Изучение иммунологического мониторинга в процессе терапии ММ позволило получить важные научные результаты.

Фармакодинамический анализ бортезомиба и комбинаций на его основе с помощью метода определения СЛЦ ИГСК в процессе курсов ХТ позволил в реальном времени определить чувствительность к этим препаратам и прогнозировать наступление отдаленного эффекта. Результат проведенной работы защищен патентом № 25494558 от 30.03.2015 "Способ определения эффективности лечения множественной миеломы".

Впервые были получены данные о регенерации Т-клеточной системы иммунитета после курсов лечения VCP (бортезомиб, циклофосфан, преднизолон) с анализом субпопуляций и определением времени восстановления, что было учтено при разработке параметров курсовой ХТ. Установлено преобладание гомеостатической пролиферации над тимопозом при восстановлении Т-лимфоцитов, на что указывают усиление пролиферации периферических Т-клеток и снижение уровня TREС в периферической крови.

Впервые проведено исследование Т-регуляторных клеток (CD4+25+FOXP3+) в разных фазах течения ММ, установлена достоверная прямая связь между активностью опухолевого процесса и экспрессией короткой изоформы, лишенной экзона 2, транскрипционного фактора FOXP3.

### **Практическая значимость**

Результаты, полученные в процессе проспективных клинических исследований, включающих 311 пациентов с ММ, имеют большое практическое значение.

Разработанные одно- и многокомпонентные программы на основе бортезомиба характеризовались высокой эффективностью, умеренной токсичностью, за счет сниженной кумулятивной дозы бортезомиба за индукционный период. Причем, формирование клинических групп для исследования осуществляли по неселективному принципу.

Все это делает их оптимальными программами для реальной клинической практики с широким спектром применения в 1 и 2 линиях у пациентов не являющихся кандидатами на аутологичную трансплантацию стволовых кроветворных клеток (ауТСК).

Программа, включающая леналидомид, бортезомиб, преднизолон (РВП), является на сегодняшний день единственной программой в отечественной гематологии, эффективность которой во 2 линии лечения была подтверждена в проспективном клиническом исследовании. Внедрение этой программы в реальную клиническую практику по существу решает проблему химиотерапевтического лечения ММ в целом, так как она преодолевает резистентность к ВМП, которая применима в 1 линии лечения. При этом достигается хороший показатель по ОВ, который равен 82 мес. (Ме) от момента диагноза. Разработанные нами оригинальные протоколы лечения используются в клинике гематологии МОНКИ и гематологических отделениях Московской области (ЦРБ г. Коломна, ЦРБ г. Королев).

Разработанные принципы терапии ММ, осложненной ПН, имеют большое значение для практики, поскольку восполняют информационный пробел в лечении этого состояния. Применение метода определения СЛЦ ИГСК в процессе проведения ПХТ позволяет практически в реальном времени определить чувствительность опухоли к проводимой терапии и в случае негативного результата произвести смену курса лечения. Иммунологический мониторинг, проводившийся в процессе противоопухолевой терапии, позволил получить важные для клинической практики результаты. Прежде всего, это данные по Т-клеточному гомеостазу в процессе лечения, которые имеют практическое значение, поскольку позволяют клиницистам обратить внимание на эту проблему и оптимизировать лечение с учетом новой научной информации.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная оригинальная ВМП программа (бортезомиб, мелфалан/циклофосфан, преднизолон) обладает высокой непосредственной и отдаленной результативностью, невысокой токсичностью и может применяться в 1 и 2 линиях лечения при широком спектре клинических проявлений ММ.

2. Разработанная оригинальная РВП программа (леналидомид, бортезомиб, преднизолон) обладает высокой непосредственной и отдаленной результативностью, невысокой токсичностью и может применяться при рецидивирующей и резистентной ММ к программам на основе бортезомиба.

3. Применение обновленной концепции лечения ММ, осложненной ПН, основанной на признании ведущей роли циркулирующих СЛЦ ИГСК в патогенезе этого осложнения, анализе уровня СЛЦ, обусловленном фармакодинамикой бортезомиба, гемодиализной поддержке, и клиническом эффекте, позволяет достичь более высокого противоопухолевого эффекта и улучшения почечной функции.

4. Разработанный метод фармакодинамической характеристики бортезомиба и многокомпонентных комбинаций на его основе с использованием анализа циркулирующих СЛЦ ИГСК позволяет определить чувствительность опухолевых клеток к проводимой терапии и прогнозировать отдаленные клинические результаты.

5. Т-клеточная система иммунитета при впервые выявленной ММ характеризуется повышением значений по всем изучаемым субпопуляциям Т-лимфоцитов, что может косвенно свидетельствовать об ее участии в первичном противоопухолевом ответе. Регенерация после цитостатической редукции происходит через 30 дней межкурсового интервала. Ремиссия при ММ сопровождается нормализацией показателей Treg.

### **Апробация работы**

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на Российских съездах (“Человек и лекарство”, Москва, 2007, 2010г.,2011г.,2012г.,2013г.); на Всероссийской научно-практической конференции “Отечественные противоопухолевые препараты”, Москва,2007г.; научно-практической конференции “Современная гематология. Проблемы и решения”, ноябрь 2014; Всероссийской

конференции с международным участием “Злокачественные лимфомы” октябрь 2013г.; Всероссийской конференции трансфузиологов и гематологов, С-Петербург, июнь 2014г.

Диссертация апробирована на совместной научно-практической конференции сотрудников клинических и лабораторных отделов ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского; курса трансфузиологии ФУВ ВПО МОНИКИ, кафедры клинической иммунологии и аллергологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова 10 сентября 2015 г.

### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты исследования и практические рекомендации, выработанные на основании проведенного исследования, используются в работе отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, отделениями гематологии ЦРБ г. Королев, г. Коломны. По результатам исследования опубликована 41 печатная работа.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 257 страницах машинописного текста и состоит из введения, 8 глав, выводов, списка литературы. Библиография включает в себя 296 источников литературы, в том числе 30 отечественных и 266 зарубежных. Работа иллюстрирована 39 таблицами 36 и рисунками.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании приняли участие 311 пациентов с множественной миеломой (ММ). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку результатов. Из них 105 пациентов с впервые диагностированной ММ и 101 пациент с Р/Р ММ, 49 пациентов с Р/Р к бортезомибсодержащим протоколам ММ, 29 пациентов с впервые диагностированной ММ, 27 пациентов с ММ, осложненной ПН. Средний возраст, принявших участие в исследовании, составил 57,2 года. Среди них 159 мужчин и 152 женщины. По Durie and Salmon 3 А ст. ММ имела у 249; 3Б ст. ММ определена у 53; 2 ст. ММ у 9. Показатель индекса по шкале Karnofsky <50% имелся у 48% пациентов. Среди пациентов с впервые диагностированной ММ (n=105) 3 стадия определена у 85 по шкале ISS, 1 стадия у 10 (9,5%), 2 стадия у 10 (9,5%). Средний показатель коморбидности в этой группе пациентов был равен 3,5 (по шкале CIRS). В целом, около 49% пациентов имели осложненное течение ММ (ПН, видимые опухоли, плазмноклеточный лейкоз, внутриспинальный опухолевый рост, гиперкальцемическая прекома, патологические переломы конечностей). Включение пациентов в исследование происходило с ноября 2006 по март 2014 гг.

Основная часть работы представлена одноцентровыми проспективными сравнительными рандомизированными клиническими исследованиями 2 и 3 фазы, включившими 284 пациента, в которых были разработаны оригинальные противоопухолевые программы лечения на основе инновационных препаратов.

Диагностика множественной миеломы (ММ) включала стандартные современные методы исследования пациентов для подтверждения диагноза и стадирования ММ. Включение пациентов в исследования проводили по

неселективному принципу, в результате чего клинические группы характеризовались высоким процентом пациентов с осложненным течением, коморбидностью, мультилинейной предлеченностью и тяжелым статусом Karnofsky, что, по существу, являлось моделью реальной клинической практики.

Группы исследования, которые характеризовались широким спектром клинических проявления были стандартизированы применением современных систем стадирования, коморбидности, тяжести болезни, осложнений лечения, непосредственной и отдаленной эффективности.

Стадию ММ устанавливали по международным стадирующим системам для ММ: Durie & Salvon (1975г.) и ISS(2005г.).

Реальный клинический статус оценивали по шкале Karnofsky (1984г.).

Коморбидность оценивали по шкале CIRS (2003г.)

Осложнения оценивали по критериям National Cancer Institute Cancer Therapy Evaluation Program. Common Terminology Criteria for Adverse Events, v 3.0. (2010г.)

Ответ на лечение оценивали по критериям EBMT (Blade et al, 1998г.) и международной оценочной системе ответа при ММ Durie et al (2006г.), на основании результатов иммунохимического исследования белков сыворотки и мочи до и после курсов индукционного лечения. Отдаленные результаты терапии оценивали по следующим критериям: длительность ответа (ДО) - от момента фиксированного объективного результата после индукционного лечения до момента фиксирования рецидива (прогрессии). Выживаемость без прогрессии (без рецидива) ВБП – от момента начала индукционной химиотерапии до прогрессии/рецидива или выхода из исследования на основании даты последнего контакта с пациентом. Общую выживаемость ОВ

– оценивали по методу Kaplan- Meier (1958г.) или определением процента выживших пациентов за определенные интервалы времени.

### **Иммунологические методы**

Иммунологические методы исследования были проведены в лаборатории клинической иммунологии и тканевого типирования ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (руководитель профессор, д.м.н. Яздовский В.В.), лаборатории биохимии РОНЦ им. Блохина (зав. лабораторией д.м.н. Н.В. Любимова), лаборатория дифференцировки лимфоцитов ФГБУ ФМБА «ГНЦ институт иммунологии» ФМБА России (зав. лабораторией к.м.н. Митин А.Н.).

Исследования иммунокомпетентных клеток проводили с помощью иммунофлуоресцентного анализа на проточном лазерном цитофлуориметре FACSCAN (Becton Dickinson Immunocetometry Systems, США). Использовали МАТ, меченные различными флуорохромами – FITC (флуоресцеина изотиоцианат), PE (фикоэритрин), PE-Cy7 (фикоэритрин-цианин7), APC (алофикоцианин), eFluor 660 и APC-eFluor 780 (алофикоцианин-eFluor 780). Использовали следующие комбинации МАТ фирмы «eBioscience» (США) (препараты для изотипических контролей той же фирмы):

CD3-APC+CD4-FITC+CD8-APC-eFluor 780+CD45RA-PE-Cy7 + CD62L-PE;

CD3-APC+CD4-PE-Cy7+CD8-APC-eFluor 780+ki-67-FITC;

CD3-PE-Cy7+CD4-FITC+FOXP3-eFluor 660;

CD3-PE-Cy7+CD4-FITC+CD25-PerCP-eFluor710+FoxP3(PCH101)-APC;

CD3-PE-Cy7+CD4-FITC+ FoxP3(PCH101)-APC+FOXP3(150D/E4)-PE.

Функционально-возрастную структуру Т-лимфоцитов определяли по экспрессии маркеров CD45RA и CD62L. Наивные Т-клетки (Tnaive) имеют

фенотип CD45RA+62L+, центральные Т-клетки памяти (T<sub>cm</sub>) – CD45RA-62L+, эффекторные Т-клетки памяти (T<sub>em</sub>) – CD45RA-62L-, терминально-дифференцированные эффекторные или вновь экспрессирующие CD45RA Т-клетки (T<sub>emra</sub>) – CD45RA+62L-.

Вклад тимуса в регенерацию Т-клеточного звена иммунитета после проведения курса противоопухолевой терапии по программе VCP (бортезомиб, цилофосфан, преднизолон) оценивали по количеству TREC. Уровень TREC (T-cell receptor excision circles - Т-рецепторные эксцизионные кольца) определяли методом ПЦР «в реальном времени». TREC образуются при перестройке генов Т-клеточного рецептора и обнаруживаются в виде кольцевых молекул ДНК. Вырезанное кольцо не реплицируется и при делении Т-клетки остается только в одной дочерней клетке, с каждым последующим делением число TREC на общее число дочерних Т-клеток уменьшается в геометрической прогрессии. Таким образом, уменьшение числа TREC по отношению к числу Т-клеток отражает количество делений, которому подверглась популяция, а при одинаковом уровне пролиферации – степень зрелости Т-клеточного пула.

Концентрацию свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови (СЛЦ ИГСК) определяли нефелометрическим методом (Free-Light метод) с использованием нефелометра Hitachi 911 (Япония) и реактивов «Freelight Human Kappa» и «Freelight Human Lambda» (Binding Site, UK) и методом ИФА с применением наборов СЛЦк ELISA и СЛЦλ ELISA (BioVendor, пр-во США) и микропланшетного ридера.

### **Статистика**

Статистический анализ общей выживаемости (ОВ) пациентов, безрецидивной выживаемости (ВБП) и длительности ответа (ДО) проводился по методу Kaplan-Meier. Использовали метод применения доверительных интервалов (Log-rank). Достоверность различий в группах пациентов

оценивали по критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . Оценку результатов экспрессии изоформ молекулы FOXP3 и показателей Т-клеточного звена иммунитета в процессе противоопухолевой терапии проводили с использованием методов непрямого параметрического анализа. Исследованные количественные показатели представляли в виде Me (L-H), где Me-медиана, L-нижний квартиль, H-верхний квартиль. Для сопоставления двух групп по количественным признакам использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия показателей в группах полагали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Обработку проводили с помощью программы Biostat (version 3.2), Microsoft Excel 2003, Statistica V.8.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное диссертационное исследование посвящено важной проблеме, которая касается разработки и изучению эффективности оригинальных химиотерапевтических программ лечения ММ на основе инновационных препаратов и иммунологическому мониторингу заболевания в процессе лечения.

Актуальность данной проблемы определяется широким внедрением в клиническую практику в последние годы новых противоопухолевых препаратов бортезомиб и леналидомид при недостаточно полной информации об их клинической результативности при широком спектре проявлений ММ. Кроме того, практически полное отсутствие научной информации о влиянии новых препаратов на показатели гуморального и Т-клеточного иммунитета при ММ делает иммунологический мониторинг в процессе лечения актуальной задачей.

В настоящее время проблему ХТ ММ следует рассматривать как этап перехода от программы на основе мелфалана на программы с использованием препаратов новой генерации (бортезомиб, леналидомид, карфилзомиб, помалидомид). Очевидно, что, этот этап развития проблемы ХТ ММ должен найти отражение в клинических исследованиях.

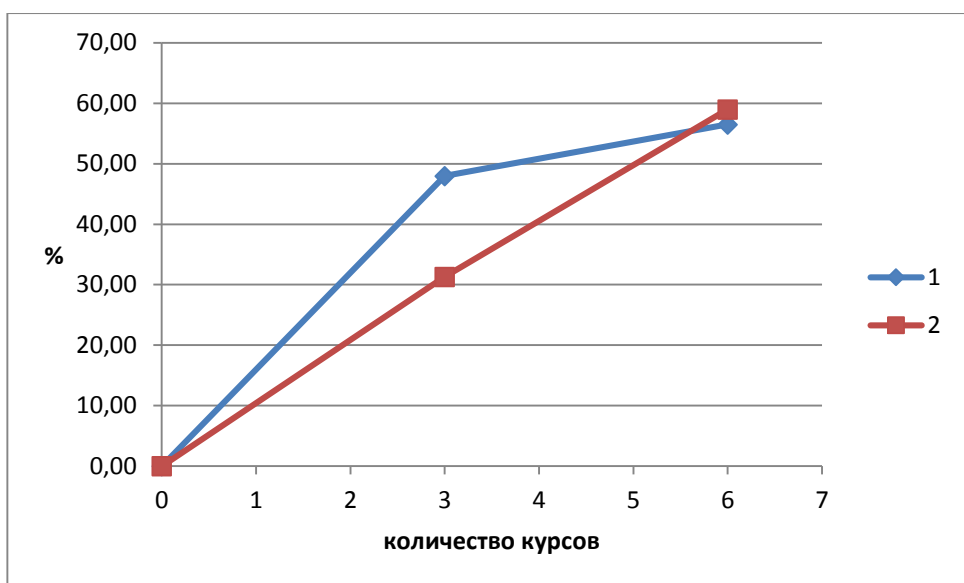
Эта проблема достаточно полно представлена в литературе – международные исследования SUMMIT, APEX, CREST, VISTA и отечественные исследования (Голенков А.К. и соавт., 2010г., 2013г., Бессмельцев С.С. и соавт., 2010г., Менделеева Л.П. и соавт., 2014г., Рехтина И.Г. и соавт., 2010г.) показывают эффективность программ 1 и 2 линий лечения ММ на платформе бортезомиба. Необходимость проведения собственных исследований на основании оригинальных ХТ-протоколов возникла в связи с идеей необходимости изучения эффективных комбинаций в более сложных клинических условиях. Поэтому, наши собственные

клинические исследования были построены на модели реальной клинической практики, основным признаком которых было формирование клинических групп по неселективному принципу. При этом группы характеризовались значительной долей пациентов с тяжелым течением болезни (3 стадия, индекс Karnofsky, полисистемные осложнения, мультилинейная предлеченность, коморбидность). Этот принцип позволил нам приблизить научные исследования к реальной клинической практике и разработать клинические химиотерапевтические технологии с широким спектром практического применения.

### **Лечение пациентов с множественной миеломой бортезомибом и бортезомибсодержащими программами**

Эффективность собственных оригинальных программ лечения ММ на платформе бортезомиба была изучена в 3-х собственных клинических исследованиях.

В первом проспективном сравнительном исследовании 2 фазы, включавшего 29 пациентов с R/P ММ, проводилась отработка параметров индукционного периода монотерапии бортезомибом с оценкой эффективности и токсичности лечения. Оценку результатов бортезомибом по стандартному протоколу оценивали после 3-х и 6-ти курсов лечения одновременно с анализом гематологической и негематологической токсичности. Все пациенты были с мультилинейной предлеченностью программами M-2, MP, VMCP. Было установлено, что после 6 курсов лечения снижение парапротеина (pIg) было достоверно больше, чем после 3-х курсов ( $59\pm 7\%$  и  $31\pm 3\%$ , соответственно,  $p < 0,05$ ), оценка международным критериям ответа (по Durie et al, 2006г.) подтвердила эти данные ( $\geq$ ЧО-56,5% и 48%, соответственно) (рис.1).



1- % ОО ; 2- % снижения рIg

*Рисунок 1.* Увеличение количества ОО у 29 пациентов с Р/Р ММ в зависимости от количества проведенных курсов бортезомиба (3/6)

Наряду с установленным кумулятивным эффектом, не было нарастания кумулятивной токсичности при увеличении курсов лечения. Так же было установлено, что отсутствие ответа и малый ответ (МО) после 3-х курсов лечения служат основанием для пролонгирования противоопухолевой терапии, в то же время, достижение  $\geq$ ЧО после 3-х курсов позволяет считать оптимальным проведение 6 цикловой индукции.

Полученные результаты, определившие параметры индукционного периода бортезомиба послужили основанием для изучения эффективности и безопасности многокомпонентных комбинаций на платформе бортезомиба при Р/Р ММ. в связи с этим, было проведено одноцентровое проспективное сравнительное рандомизированное клиническое исследование 3 фазы, включившее 101 пациента с Р/Р ММ.

Пациенты были рандомизированы на 4 группы, различающиеся по программам противорецидивного лечения . 1 группа, 27 пациентов с Р/Р ММ, получали монотерапию бортезомибом –V1 (бортезомиб 1,3мг/м<sup>2</sup> в/в стр.

в 1,4,8,11 дни; цикл 42 дня). Объективный противоопухолевый ответ (ОО) получен у 70,3%. 2 группа из 22 пациентов с Р/Р ММ получала терапию V2 (бортезомиб+мелфалан: бортезомиб 1,3мг/м<sup>2</sup> в/в стр. в 1,4,8,11 дни, мелфалан р.о. 9мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни; цикл 55 дней). ОО получен у 68% . 20 пациентов из 3-й группы получали терапию программой V3 (бортезомиб+мелфалан+преднизолон: бортезомиб 1,3мг/м<sup>2</sup> в/в стр. в 1,4,8,11 дни, мелфалан р.о. 9мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни, преднизолон р.о. 60мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни; цикл 49 дней). ОО составил 90% в этой группе. В 4-ю группу вошли 32 пациента с Р/Р ММ, получившие терапию программой V4 (бортезомиб+мелфалан+преднизолон+циклофосфан: бортезомиб 1,3мг/м<sup>2</sup> в/в стр. в 1,4,8,11 дни, мелфалан р.о. 9мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни, преднизолон р.о. 60мг/м<sup>2</sup> с 1 по 4 дни, циклофосфан 250мг/м<sup>2</sup> в/в стр. с 1 по 7 дни; цикл 47 дней). ОО был получен в 62,3% случаев, однако качество ответов в 4-й группе было выше, так ПО+ОХЧО составила 43,6%.

В среднем по сумме всех программ проведено 6,5 циклов, средняя длительность цикла была 50 дней. Средний показатель объективного противоопухолевого ответа составил 71,1%. При достижении клинического результата проводили поддерживающее лечение.

При анализе ОВ по отдельным программам выявлен разброс от 65 до 107 мес., причем на V3 и V4 программах лечения Me не достигнута. В целом по группе, включая период предлеченности ОВ составляла 103 мес. Не было миелотоксичности и ПНП 3-4 степени.

Таким образом, проведенное исследование показало идентичность V1 и V2 программ и большой эффект V3 и V4 программ (рис.2 и рис.3)

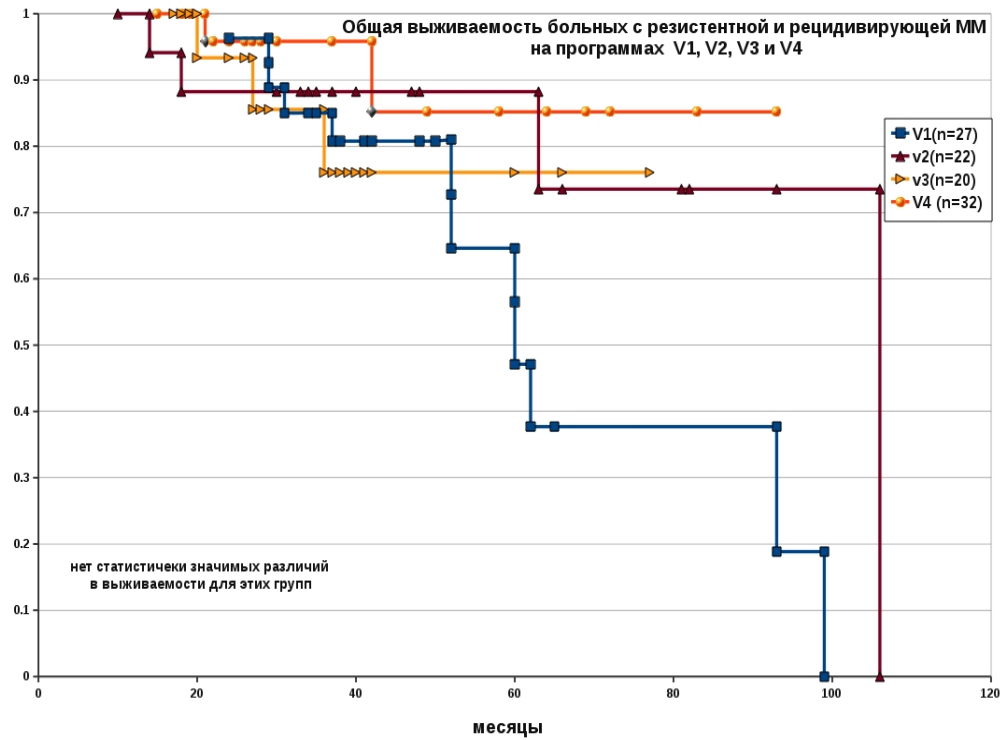


Рисунок 2. Общая выживаемость больных с резистентной и рецидивирующей ММ на программах V1, V2, V3, V4.

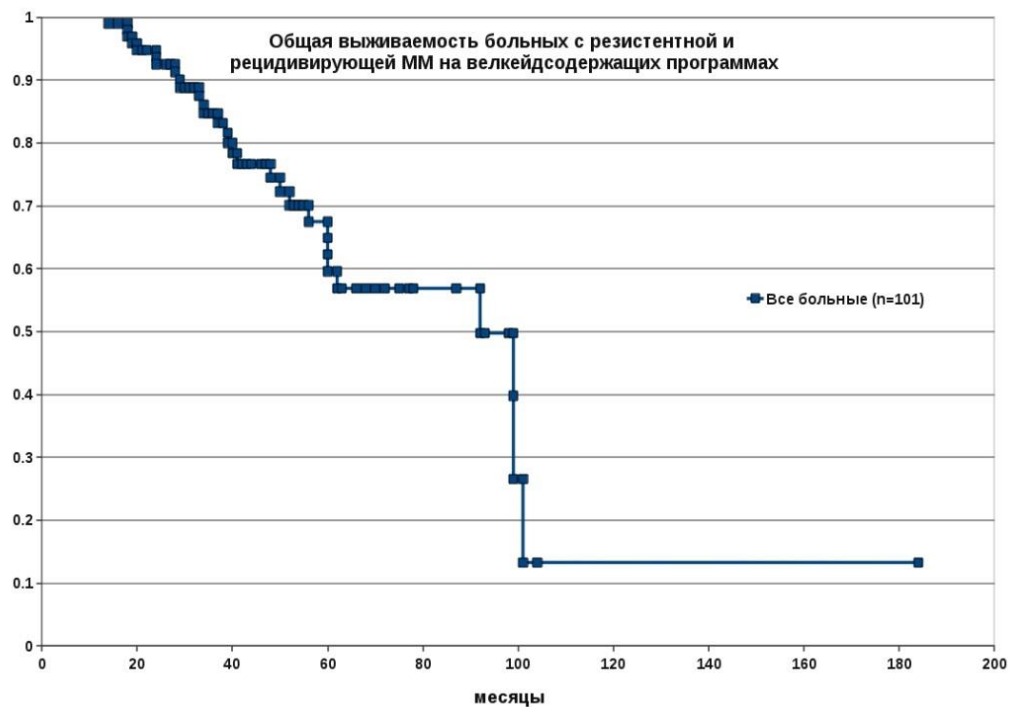
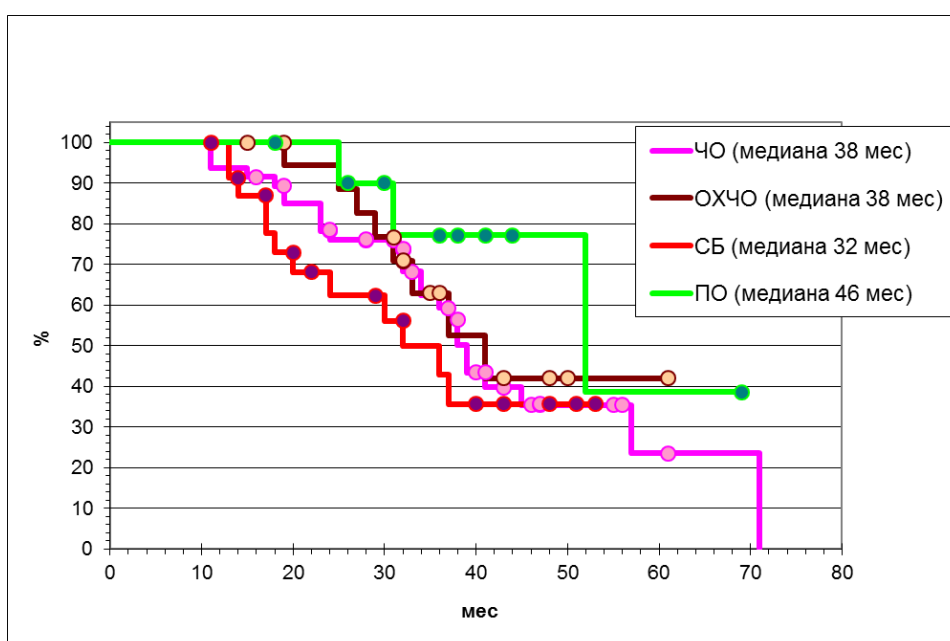


Рисунок 3. Общая выживаемость 101 пациента с резистентной и рецидивирующей ММ на бортезомидсодержащих программах.

Следующим этапом исследования была разработка программы лечения пациентов с впервые выявленной ММ на основе трехкомпонентной комбинации ВМП (бортезомиб, мелфалан, преднизолон). Задачей исследования было создание программы с достаточной противоопухолевой эффективностью, за счет комбинации препаратов, и невысокой токсичностью с широким диапазоном применения у пожилых пациентов, у пациентов с осложненным течением болезни и высокой степенью коморбидности, не являющимися кандидатами на аутологичную трансплантацию стволовых клеток (ауТСК).

В проспективное одноцентровое сравнительное рандомизированное клиническое исследование 3 фазы было включено 105 пациентов с впервые выявленной ММ, не являющихся кандидатами на ауТСК. Группы были сформированы по неселективному принципу и характеризовались широким спектром проявлений ММ, что соответствовало главной цели исследования – оценить эффективность ВМП-вариантов программы именно в таких клинических условиях ее применения. Длительность циклов 2 групп (ВМП6 и ВМП9) различалась за счет увеличения межкурсовых интервалов, при этом длительность химиотерапевтических курсов и количество курсов были постоянными. Оценивая противоопухолевый ответ после завершения 8 цикловой индукции, следует отметить, что варианты программы ВМП6 и ВМП9 с разной продолжительностью индукционных циклов имели практически одинаковый результат по снижению М-компонента ( $67,7 \pm 3,8\%$  и  $57 \pm 4,8\%$  соответственно,  $p > 0,05$ ). В целом, объективный противоопухолевый результат ВМП программы составлял 75,2%, а в сумме с МО этот показатель увеличивался до 87,5%. Следует отметить, что пролонгированные циклы индукции ВМП программы характеризовались меньшей кумулятивной дозой бортезомиба за индукцию ( $41,6 \text{ мг/м}^2$ ), по сравнению с  $67,6 \text{ мг/м}^2$  и  $46,8 \text{ мг/м}^2$ , опубликованными в литературе (Bringens S., Larossa A., 2010г.). При этом отмечена невысокая гематологическая

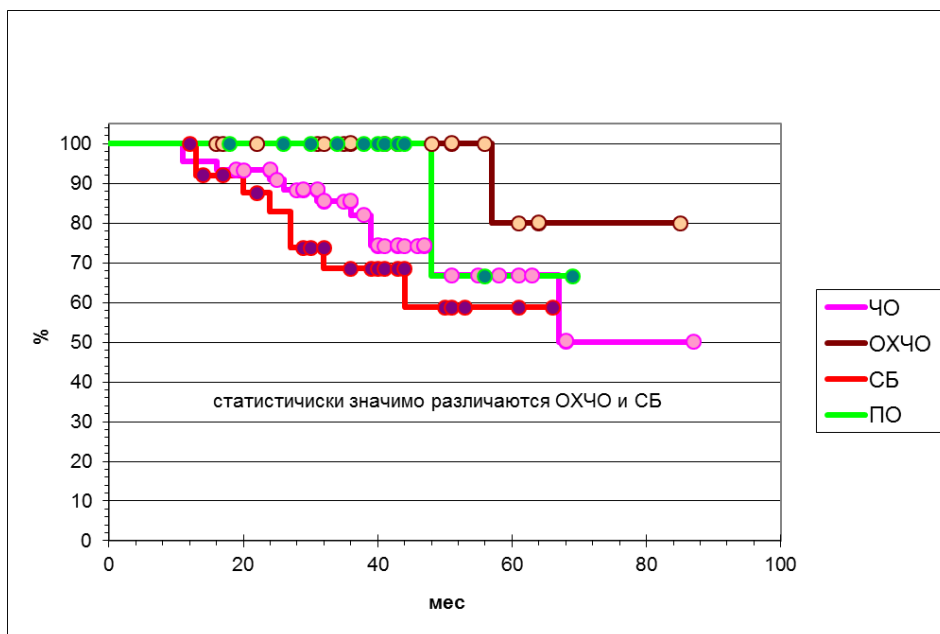
(24,6% 1-2 ст.) и негематологическая (5,26% ПНП 3-4 ст.) токсичность. Этот результат имеет большое научное значение, поскольку определяет нижний предел кумулятивной дозы бортезомиба (сравнительное снижение на 11,1-38,5%) при котором сохраняется высокая противоопухолевая эффективность при меньшей токсичности. Так же показано, что поддерживающее лечение не оказало влияния на длительность ответа (ДО). Отдаленные результаты, включающие ОВ и ВБП, показали высокие значения. Так ВБП (Ме) составляла от 32 до 46 мес. в зависимости от категории ответа log-rank-тест;  $p < 0,01$  (рис. 4).



Log-rank-тест;  $p < 0,01$

*Рисунок 4.* Выживаемость без прогрессии в зависимости от категории ответа после ВМП индукции у 105 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой.

Ме ОВ не была достигнута по всем категориям ответа (рис.5).



Log-rank-тест; ПО и СБ  $p < 0,05$ ; оХЧО и СБ  $p < 0, 05$

Рисунок 5. Общая выживаемость в зависимости от ответа на ВМП-программу у 105 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой.

В целом по группе Me ОВ не достигнута (рис. 6).

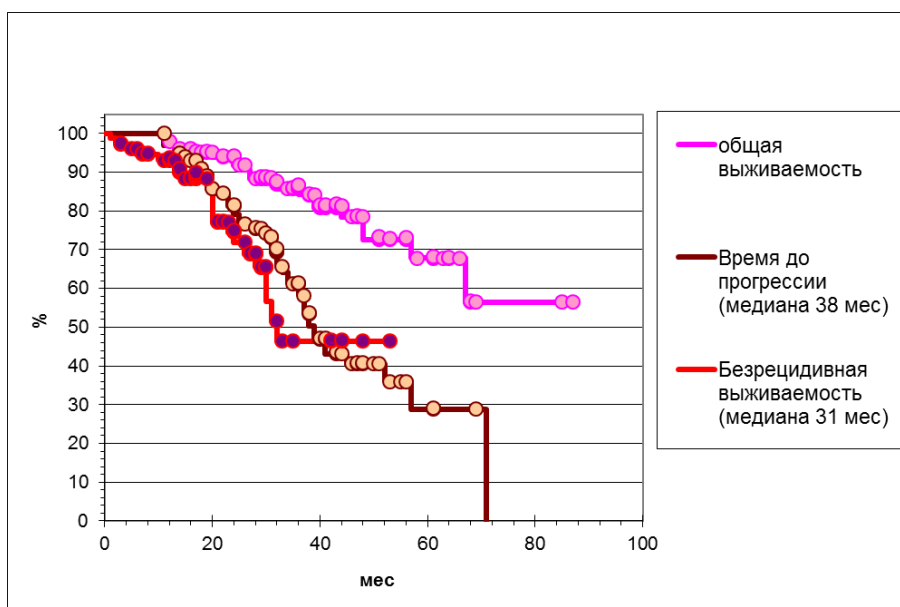


Рисунок 6. Результаты общей выживаемости, времени до прогрессии и безрецидивной выживаемости у 105 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой.

Полученные результаты можно расценивать как достаточно высокие в сравнении с аналогами, опубликованными в литературе.

Оценивая полученные результаты собственного клинического исследования, хочется отметить, что разработанная ВМП программа (ВМП6 и ВМП9 – варианты) обладает высокой эффективностью по непосредственным и отдаленным результатам и умеренно выраженной токсичностью. Важно подчеркнуть, что осложненное течение ММ, у пациентов, вступивших в исследование, диагностировано в 60% случаев. Данная программа может быть использована в широком возрастном спектре с впервые выявленной ММ с осложненным течением и коморбидностью. Суммируя результаты трех клинических исследований, посвященных оценке эффективности лечения ММ новым противоопухолевым препаратом бортезомиб и комбинациями препаратов на его основе следует указать на их важную научно-практическую ценность. Она заключается в том, что их эффективность и невысокая токсичность доказаны в научных исследованиях и это является научным фактом, а идея их проведения была мотивирована объективной необходимостью создания новых эффективных программ на основе инновационных препаратов с широкими возможностями их использования. Оценивая в целом три клинических исследования, включивших в себя 235 пациентов с ММ, следует отметить, что полученные результаты отражают поэтапное внедрение бортезомибсодержащих программ в лечении ММ (монотерапия, комбинации препаратов, 1 и 2 линии лечения) с качественной характеристикой эффективности каждого этапа.

### **Лечение множественной миеломы, резистентной к бортезомибсодержащим программам**

Ключевой проблемой ХТ ММ является развитие резистентности к предшествующим цитостатическим препаратам, которую следует рассматривать как заключительную фазу развития онкологического процесса. Настоящий этап ХТ ММ характеризуется развитием

резистентности к бортезомибсодержащим программам лечения, поэтому решение этой проблемы может заключаться в применении препаратов новой генерации или их комбинаций с предшественниками. В связи с этим, появляется большое количество работ, посвященных изучению эффективности леналидомида (ревлимида) в комбинациях с другими препаратами при P/P MM (Weber D.M. et al, 2007, Dimopoulos M. et al, 2007, Siegel D.S. et al, 2012). В отечественной литературе оригинальных исследований на эту тему практически не представлено.

Основываясь на анализе данной проблемы нами было проведено одноцентровое проспективное исследование 2 фазы, направленное на изучение оригинальной РВП программы (Р-ревлимид (леналидомид), В-велкейд (бортезомиб), П-преднизолон) при MM, резистентной к бортезомибсодержащим программам.

В исследование было включено 48 пациентов. Включение осуществлялось по неселективному принципу. О тяжести пациентов в группе исследования свидетельствует статус Karnovsky, показатели которого  $\leq 50\%$  зафиксированы в 37,7% случаев, III стадия по Durie & Salmon у 96%, 3 линии предшествующей терапии у 24,4%, ауТСК у 8,1%.

При анализе непосредственных результатов после завершения 7 циклового лечения по программе РВП (ревлимид 25 мг р.о. с 1 по 14 дни, бортезомиб 1,3мг/м<sup>2</sup> в/в стр. в 1,4,8,11 дни, преднизолон 60мг/м<sup>2</sup>; цикл 48 дней) ОО был получен у 63,1%, а в сочетании с МО он составил 67,1%. ДО (Ме) составляла 10,69мес. (95%ДИ 10,6-10,73), ВВП 22,77мес.(Ме) (95%ДИ 22,74-22,8), ОВ 31,9мес. (Ме) (95%ДИ 31,8-31,9), ОВ от момента диагноза составила 82,02мес.(Ме). Гематологическая токсичность 3 ст. отмечалась у 4,1%, негематологическая токсичность: пневмония-8,17%, herpes Zoster-4,1%, ПНП 3ст.-10,2%, ТЭЛА у 1 пациента, которая была купирована тромболитической терапией.

Оригинальность данной программы подчеркивается непрямым сравнением с аналогом, опубликованным в зарубежной литературе (протокол RVD: ревлимид, бортезомиб, дексаметазон) (Richardson et al, 2014). Обладая сравнимой эффективностью и токсичностью, она отличалась от аналога более тяжелым составом пациентов, более пролонгированными циклами лечения и использованием преднизолона вместо дексаметазона с одновременным повышением разовой дозы леналидомида до 25мг (вместо 15мг). Указанные параметры эффективности и токсичности, а так же, технология ее применения делают оригинальную программу РВП оптимальной для использования в реальной клинической практике (рисунки 7.8.9.10).

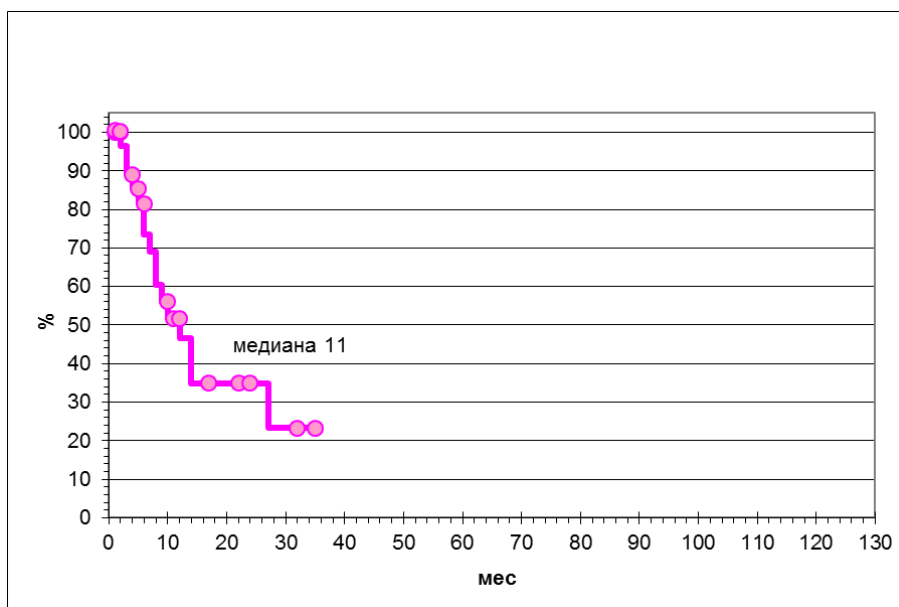


Рисунок 7. Длительность ответа на терапии РВП у 49 пациентов с Р/Р ММ.  
Me 10,69 мес. 95% ДИ 10,6-10,73

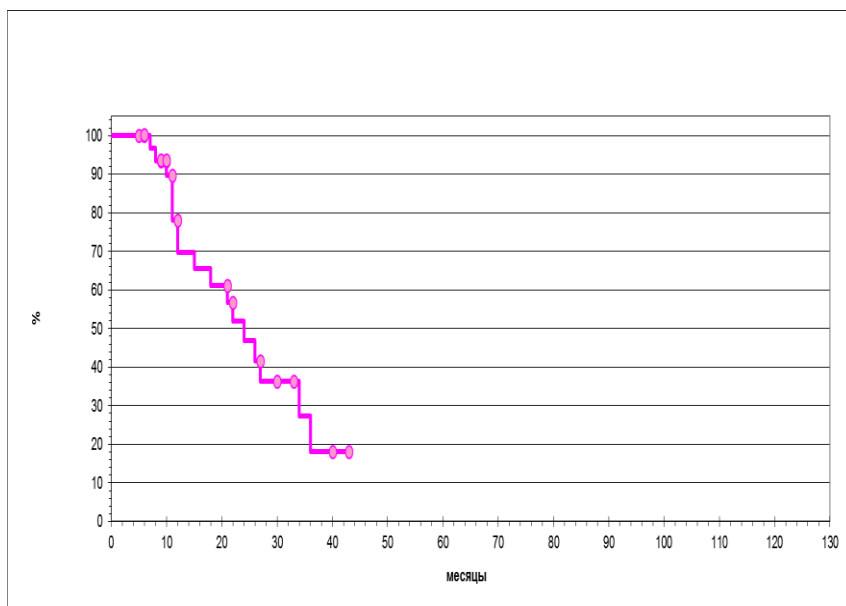


Рисунок 8. Выживаемость без прогрессии на терапии РВП у 49 пациентов с Р/Р ММ. Ме 22,77 мес. 95%ДИ 22,74-22,8

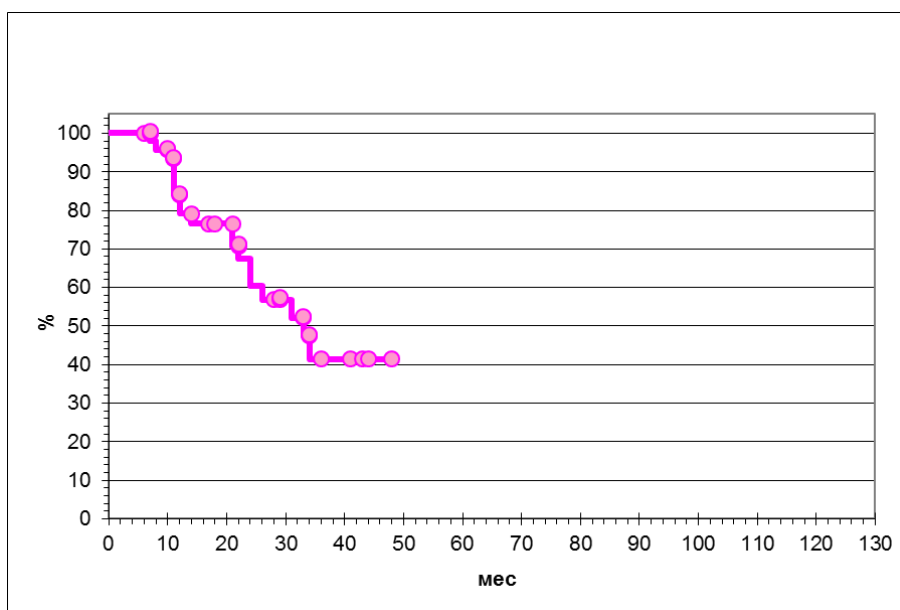
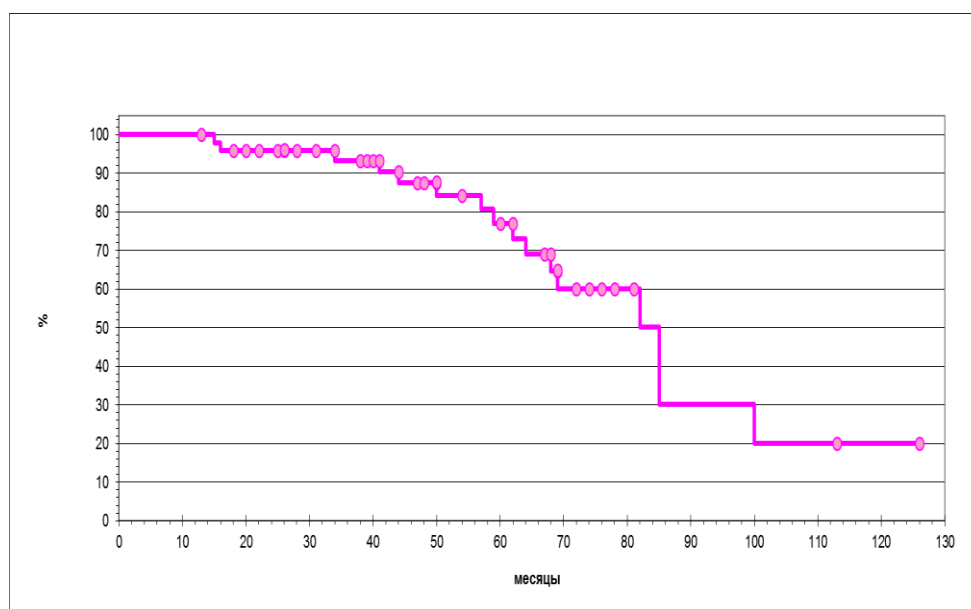


Рисунок 9. Выживаемость на РВП терапии у 49 пациентов с Р/Р ММ. Ме 31,9 мес. 95% ДИ 31,8-31,94



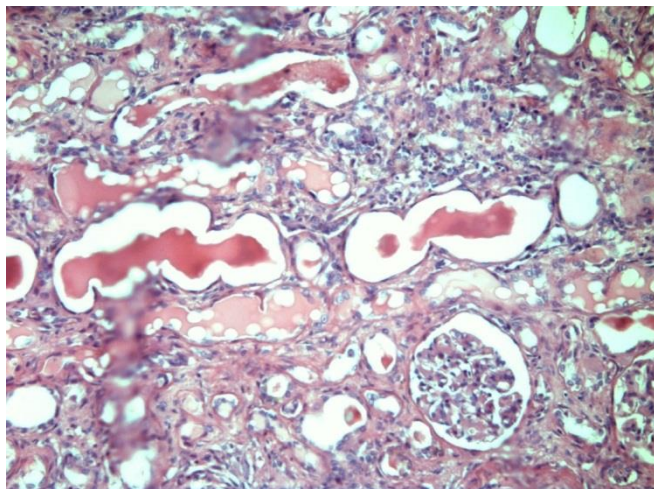
*Рисунок 10.* Общая выживаемость на РВП от момента первичного диагноза у 49 пациентов с Р/Р ММ. Ме 82,02мес. 95% ДИ 82,00-82,03

Подводя итог четырем проспективным одноцентровым клиническим исследованиям 2 и 3 фазы, включающих 284 пациента следует отметить их большое научно-практическое значение. По существу, речь идет о разработке эффективных клинических технологий на основе инновационных противоопухолевых препаратов с точным научным анализом их эффективности, позволившим в настоящее время решить вопрос лечения впервые выявленной и Р/Р ММ.

### **Лечение множественной миеломы, осложненной почечной недостаточностью**

Одним из тяжелых осложнений ММ, влияющих на качество и продолжительность жизни является почечная недостаточность (ПН). В настоящее время возможности лечения этого осложнения значительно расширились, что связано с современными достижениями гематологии, иммунологии и нефрологии.

Среди них следует отметить и методологию определения СЛЦ ИГСК, которая позволила уточнить их доминирующую роль в патологии канальцевого аппарата почек (рис. 11).



*Рисунок 11.* Патология почек при множественной миеломе (cast-нефропатия). Белковые преципитаты в канальцах (окраска гематоксилин-эозин, х200).

Расширенные возможности аппаратного замещения функции почек, экстакорпоральное селективное удаление СЛЦ из циркуляции с использованием гемодиализа (ГД) с фильтрами расширенного диапазона проницаемости, а также современные противоопухолевые препараты новой генерации (бортезомиб, леналидомид), обладающие высокой избирательностью противоопухолевого действия без токсического влияния на почки позволили изменить представления об этой проблеме.

В связи с эволюцией взглядов на патогенез ПН при ММ сформулирована обновленная концепция лечения ММ, протекающей с этим осложнением. В этой концепции ведущая роль отводится бортезомибу и бортезомибсодержащим программам лечения, обладающих высокой избирательностью без нефротоксического действия. Применение этих программ сразу после установления диагноза ММ и ПН позволит быстро уменьшить концентрацию СЛЦ в крови и снизить почечную преднагрузку за счет короткого периода их полураспада. Важность быстрого начала

цитостатического лечения базируется на собственных данных, показавших снижение концентрации циркулирующих СЛЦ на 28% через 24 часа после в/в введения бортезомиба 1,3мг/м<sup>2</sup> на основании мониторинга концентраций СЛЦ.

Существуют работы, свидетельствующие о целесообразности селективного экстракорпорального удаления СЛЦ в этот период. Диализная поддержка в этих случаях диктуется ресурсом почечной функции. Изложенная обновленная концепция лечения ММ и ПН была подтверждена собственным клиническим исследованием 2 фазы, направленным на изучение эффективности бортезомибсодержащих программ лечения ММ и ПН в сочетании с гемодиализом.

В исследование включено 27 пациентов с ММ, осложненной почечной недостаточностью. При анализе изотипов рIg установлено, что легкоцепьевая множественная миелома- ММЛЦ (изолированная ВJ ММ) была у 29,6%. При ММ с интактной молекулой рIg (70,3%) сопутствующая ВJ-протеинурия была у всех. В момент диагноза ММ ПН была установлена у 21 пациента (77,7%), причем у 2 из них были дополнительные факторы воздействия на почки (аминогликозиды, бисфосфонаты), потребовавшие экстренного применения ГД. В целом частота ПН при ММ составила 26,7%, из них в 51,8% случаев был необходим ГД при пороговых значениях клубочковой фильтрации (КФ)  $\leq 20$ мл/мин.

Противоопухолевое лечение проводили бортезомибсодержащими программами V1-V4. При слабом противоопухолевом ответе в 26,3% случаев лечение интенсифицировали на V3-V4 программы. Количество курсов ХТ влияло на противоопухолевый ответ, но почечный ответ достигался и на меньшем количестве курсов, что, по-видимому, зависело от ресурса нормальной функции почек.

В группе пациентов, находившихся на сочетанном лечении ХТ+ГД – 57,2%, ГД был постоянным, в 14,3% - возобновляемым и 28,5% пациентов были сняты с ГД. У пациентов с ММ и ПН при КФ $\geq$ 20мл/мин. ГД не проводился, а результаты лечения свидетельствовали о значительной нормализации показателей функции почек после ХТ индукции. Важным итоговым показателем данного исследования явился сравнительный анализ общей выживаемости двух групп пациентов, находившихся на диализной поддержке и без нее (рис. 12).

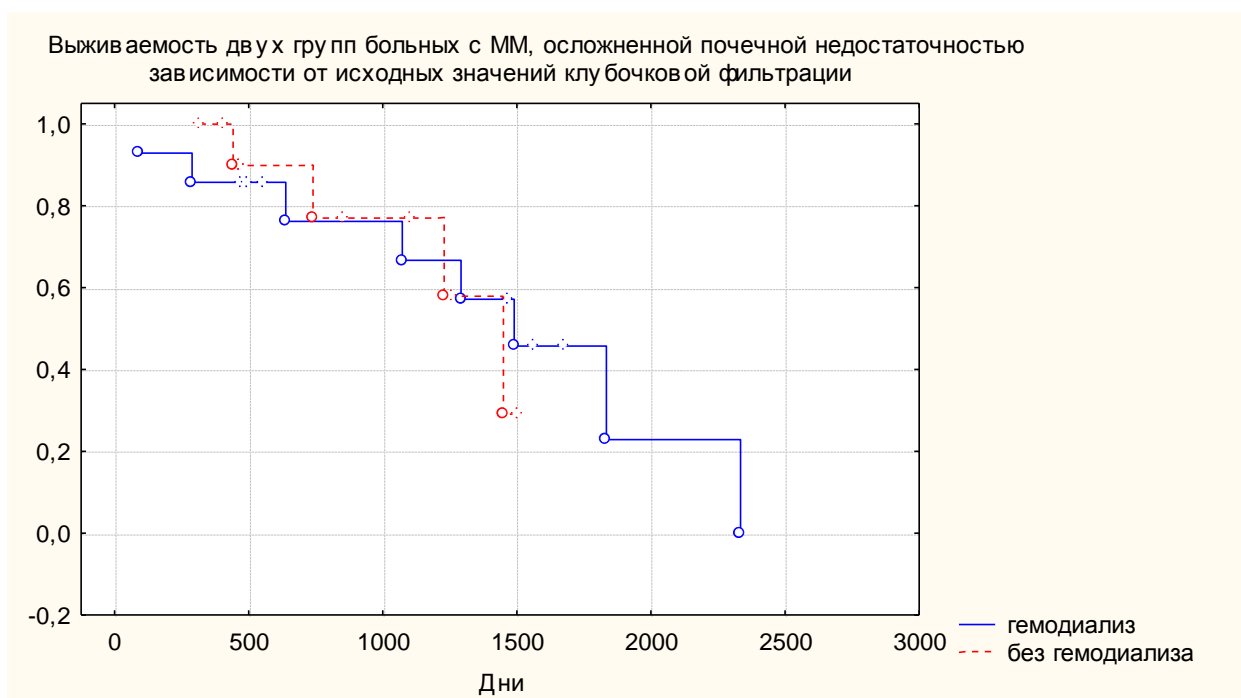


Рисунок 12. Общая выживаемость двух групп пациентов с ММ, осложненной почечной недостаточностью в зависимости от исходных значений клубочковой фильтрации.

Различий не было установлено. Это свидетельствует о существенном терапевтическом значении ГД в дополнении к ХТ у этой группы пациентов.

## **Фармакодинамическая характеристика бортезомиба и оригинальных программ ВМП и РВП в лечении пациентов с рецидивной/резистентной множественной миеломой на основании анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови**

Применение оригинальных программ лечения ММ на основе противоопухолевых препаратов новой генерации требует не только клинического анализа их результативности и токсичности, но так же, более глубоких исследований по фармакодинамике этих препаратов и их влияния на Т-клеточную систему иммунитета.

В этой связи, в нашей работе получил дальнейшее развитие метод определения СЛЦ ИГСК, который был использован в рамках нашей оригинальной идеи для фармакодинамической оценки указанных препаратов и их комбинаций, а так же, характеристика СЛЦ при ММ с интактной молекулой рIg и для мониторинга остаточной болезни. Эти задачи были решены в рамках клинического исследования, включивших 64 пациента с различными вариантами и в различных фазах течения ММ.

В рамках данного исследования можно выделить три направления: изучение диагностических возможностей метода определения СЛЦ при ММ с интактной молекулой рIg; мониторинг уровня плато остаточной опухоли при ММ по кинетике СЛЦ, включая варианты болезни, протекающие с ХПН; фармакодинамическая характеристика противоопухолевых препаратов на основе анализа ОСЛЦ в процесс курса ХТ с установлением чувствительности к ним в реальном времени в сравнении с отдаленными клиническими результатами.

Исследование показало, что при высокой массе опухоли при ММ с интактной молекулой рIg определяемой по М-компоненту отношение исследуемых концентраций к/λ СЛЦ носило опухолевый характер и выходило за пределы нормальных значений (0,26-1,65) в большую или

меньшую стороны, в зависимости от изотипа СЛЦ ( $k$  или  $\lambda$ ). Установленная взаимосвязь означает, что существует гиперпродукция опухолевого клона СЛЦ, которую можно рассматривать как запрограммированный избыток синтеза СЛЦ для формирования интактной молекулы и использовать в качестве дополнительного оценочного критерия эффективности противоопухолевой терапии. В связи с этим, следующим этапом работы было изучение анализа СЛЦ и ЭФ белков сыворотки, включая случаи ММ, осложненные ПН.

Кинетическая характеристика плато опухоли была определена у 5 пациентов каждые 3 месяца в течение 9 месяцев, которые находились в фазе поддерживающего ХТ лечения. Наблюдения показали, что мониторинг остаточной опухоли по СЛЦ-анализу обладает большей чувствительностью, чем стандартные иммунохимические исследования и позволяет диагностировать ранний (доклинический) рецидив болезни. Важно обращать внимание на селективный характер повышения ОСЛЦ, в то время, как одновременное увеличение концентрации НСЛЦ может свидетельствовать о поражении почек.

Дальнейшее изучение проблемы СЛЦ ИГСК при ММ касалось фармакодинамической характеристики новых противоопухолевых препаратов и их комбинаций с использованием метода определения СЛЦ. Предпосылкой для этого послужило уникальное биологическое свойство СЛЦ – короткий период их полураспада (2-4 часа), что позволяет оценивать противоопухолевый ответ по их кинетике практически в реальном времени. Поэтому дальнейшей задачей исследования была фармакодинамическая оценка бортезомиба в режиме монотерапии, а так же комбинаций ВМП и РВП.

При оценке фармакодинамики бортезомиба у 14 пациентов пробы для анализа брали на 1,2,3,5,9,12 дни 11 дневного курса лечения и выражали результаты в % к исходной концентрации СЛЦ. У 9 из 14 пациентов с Р/Р

ММ отмечено снижение концентрации ОСЛЦ  $\geq 50\%$  к 12 дню, что совпадало с получением ОО через 6-8 месяцев после завершения индукции (по Durie et al, 2006г.). Установлено так же, что у всех ответивших, снижение концентрации ОСЛЦ на 28% было зафиксировано через 24 часа после первого введения препарата, причем концентрация физиологических – НСЛЦ- антителпродуцентов не снижалась. Это свидетельствовало о высокой избирательности препарата или снятия опухолевой супрессии за счет снижения количества Treg-клеток. У 5 пациентов с отсутствием фармакодинамического ответа не было зафиксировано положительных противоопухолевых результатов (ОО) по завершении индукционного периода лечения.

При изучении фармакодинамики многокомпонентных комбинаций препаратов (ВМП и РВП) по той же методике получены аналогичные непосредственные и отдаленные результаты. При этом, снижение концентрации ОСЛЦ в первые 24 часа после начала лечения составляло 22 и 26% соответственно. Найденная закономерность о взаимосвязи функции СЛЦ-маркера опухоли и положительными отдаленными результатами не имела аналогов в литературе.

Сравнивая фармакодинамические кривые бортезомиба, ВМП и РВП следует отметить совпадающую противоопухолевую фармакодинамику ВМП и РВП комбинаций. Бортезомиб обладал несколько меньшим влиянием на опухоль (рис.13).

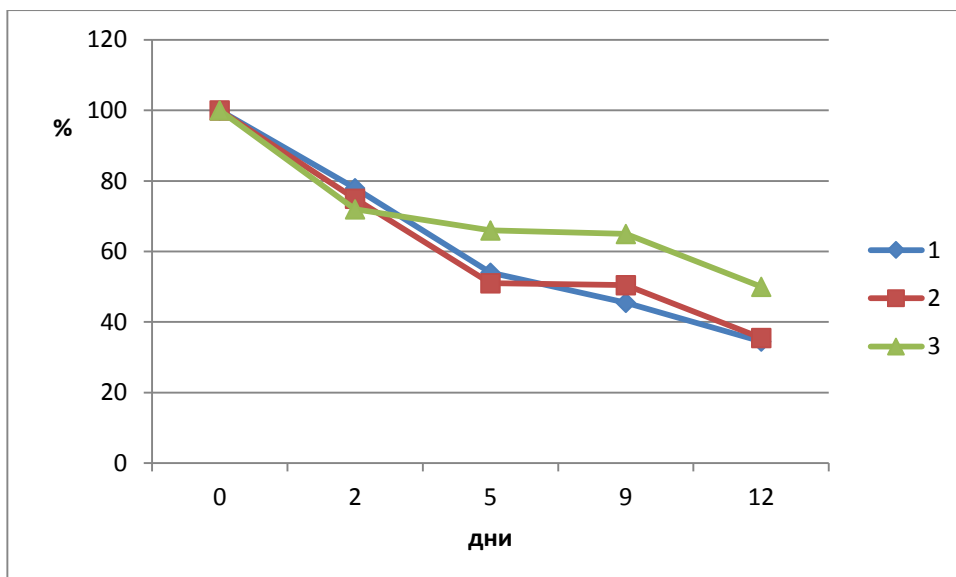


Рисунок 13. Фармакодинамическая характеристика бортезомибсодержащих курсов лечения по динамике концентраций ОСЛЦ у 20 пациентов с рецидивирующей/резистентной ММ, отвечающих на терапию (р1,2 и р3 <0,05)

1-терапия ВМП;

2-терапия РВП;

3-терапия В (бортезомибом).

Важная особенность была установлена при оценке фармакодинамических кривых НСЛЦ в подгруппах с положительным ответом на лечение. Отсутствие снижения значений НСЛЦ, отражающих состояние физиологических антителпродуцентов, в процессе курсов ХТ свидетельствует о высокой избирательности применяемых препаратов. Возможно, так же снятие опухолевой супрессии в процессе лечения за счет снижения количества Тreg-лимфоцитов, являющимися носителями иммуносупрессии.

## Характеристика Т-клеточного звена иммунитета при множественной миеломе

В связи с вышеизложенным, было предпринято новое исследование, направленное на характеристику Т-клеточного звена иммунитета в процессе проведения VCP-программы (бортезомиб, циклофосфан, преднизолон). В данное исследование было включено 15 пациентов с впервые диагностированной ММ и 19 здоровых доноров. Все пациентам был проведен 1-й индукционный курс VCP-терапии. Оценивая субпопуляции Т-лимфоцитов в момент диагноза следует отметить абсолютное повышение их значений в периферической крови по сравнению со здоровыми лицами (табл.1).

*Таблица 1*

Изменение числа лимфоцитов и Т-клеток периферической крови первичных пациентов с множественной миеломой до и после лечения в сравнении с контрольной группой (\*10<sup>9</sup>/л)

		Доноры		До лечения		По завершению лечения		После восстановления	
		Н	L	Н	L	Н	L	Н	L
Лимфоциты	Н	1,67*	1,91	2,33 <sup>†</sup>	2,86	0,89* <sup>†</sup>	1,46	1,68	1,91
	L		1,42		1,79		0,81		1,41
CD3 <sup>+</sup>	Н	1,16*	1,36	1,74 <sup>†</sup>	2,01	0,63* <sup>†</sup>	0,89	1,11	1,40
	L		0,98		1,06		0,52		0,92
CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>+</sup>	Н	0,71	0,88	0,88	1,26	0,49* <sup>†</sup>	0,56	0,73	0,85
	L		0,67		0,7		0,35		0,59
CD3 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup>	Н	0,37	0,46	0,57	1,03	0,13* <sup>†</sup>	0,19	0,33	0,44
	L		0,26		0,22		0,11		0,13

\*p<0,05 по отношению к первичным пациентам; <sup>†</sup>p<0,05 по отношению к донорам

Основной вклад в рост числа CD3<sup>+</sup> лимфоцитов вносили клетки с фенотипом CD3<sup>+</sup>8<sup>+</sup>62L-45RA<sup>+</sup> – терминально-дифференцированных эффекторных Т-клеток (табл.2).

Таблица 2

Возрастная структура CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови, определяемая по экспрессии CD62L и CD45RA, в процентах у доноров и первичных пациентов с множественной миеломой до и после лечения

		Доноры		До лечения		По завершении лечения*		После восстановления**	
		H	L	H	L	H	L	H	L
CD62L <sup>+</sup> 45RA <sup>+</sup>	H	37,4	45,5	20,2 <sup>†</sup>	31,5	19,8 <sup>†</sup>	11,4	15,2 <sup>†</sup>	24,3
	L		25,7		13,4		6,3		11,8
CD62L <sup>+</sup> 45RA <sup>-</sup>	H	9,9	15,3	7,5	9,9	7,5	13,5	7,1	9,2
	L		6,4		5,6		6,1		5,5
CD62L <sup>-</sup> 45RA <sup>-</sup>	H	15,7	18,7	15,3	21,5	18,1	34,4	17,5	26,6
	L		13,7		7,7		13,3		14,1
CD62L <sup>-</sup> 45RA <sup>+</sup>	H	35,4	55,1	49,9 <sup>†</sup>	62,4	45,7	50,1	55,6	62,7
	L		18,9		41,5		36,6		38,5

<sup>†</sup>p<0,05 по отношению к донорам; \* -на 4-й день после завершения курса';

\*\* -на 30-й день после завершения курса

Возрастная структура CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитов по экспрессии CD62L и CD45RA, повторяла динамику CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитов (табл. 3).

Таблица 3

Возрастная структура CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови, определяемая по экспрессии CD62L и CD45RA, в процентах у доноров и первичных пациентов с множественной миеломой до и после лечения

		Доноры		До лечения		По завершении лечения*		После восстановления**	
		H	L	H	L	H	L	H	L
CD62L <sup>+</sup> 45RA <sup>+</sup>	H	31,2	47,1	28,3	39,9	36,4	40,1	39,3	43,6
	L		23,9		22,1		23,2		26,5
CD62L <sup>+</sup> 45RA <sup>-</sup>	H	42,5	48,3	38,0	48,5	38,5	43,0	37,7	42,0
	L		38,7		28,3		29,4		32,6
CD62L <sup>-</sup> 45RA <sup>-</sup>	H	20,8	25,2	26,0	30,1	18,3	22,7	20,8	30,4
	L		13,5		15,6		16,5		15,0
CD62L <sup>-</sup> 45RA <sup>+</sup>	H	1,2	2,4	3,0 <sup>†</sup>	6,8	2,0	3,4	1,7	4,4
	L		0,7		1,9		1,0		1,0

<sup>†</sup>p<0,05 по отношению к донорам; \* -на 4-й день после завершения курса';

\*\* -на 30-й день после завершения курса

В то же время, отмечено снижение количества наивных Т-клеток CD3<sup>+</sup>8<sup>+</sup>62L<sup>+</sup>45RA<sup>+</sup>. Treg-лимфоциты с фенотипом CD4<sup>+</sup>25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> у

пациентов с впервые выявленной ММ перед лечением были достоверно повышены, по сравнению с показателями здоровых лиц.

В целом, картина соответствовала описанному ранее активному Т-клеточному иммунному ответу на раково-тестикулярные антигены, экспрессируемые при ММ (Goodetar O.C. et al, 2008; Atanackovic D. et al, 2007). Через 4 дня после окончания 11-дневного курса VCP-терапии отмечено достоверное снижение всех субпопуляций Т-лимфоцитов по отношению к исходным и части из них к контролю. На 30 сутки межкурсового перерыва число всех субпопуляций приближалось к показателям контроля. С учетом полученных результатов в структуре наших оригинальных программ предусматривается межкурсовой интервал не менее 30 дней.

Следует отметить, что при постцитостатической регенерации Т-системы сохранялась исходная возрастная структура субпопуляций Т-лимфоцитов, что говорит о сохранении активного Т-клеточного иммунного ответа у пациентов с впервые выявленной ММ. На это указывает и высокая пролиферативная активность, определенная по экспрессии Ki-67 среди CD3+CD4+CD8 - лимфоцитов во всех точках исследования.

Вклад тимуса в постцитостатическую регенерацию Т-системы оценивали по уровню TREC в лимфоцитах (Т-рецепторные эксцизионные кольца) с помощью метода ПЦР. Установлен сниженный показатель TREC на тысячу Т-клеток в момент диагноза ММ, значительное снижение после курса VCP, а к 30дню межкурсового интервала показатель уровня TREC не достигал показателя нелеченных пациентов. Это может быть связано с инволюцией тимуса у данной группы пациентов (средний возраст по группе 57 лет) и его сниженному влиянию на регенерацию Т-лимфоцитов после цитостатического воздействия.

Характеристика Treg – клеток была проведена у 37 пациентов с ММ, среди которых были подгруппы впервые диагностированных, достигших ремиссии пациентов и пациентов в Р/Р ММ. Контрольная группа была представлена 15 здоровыми донорами.

В результате было показано, абсолютное и относительное увеличение CD3+CD4+FOXP3-лимфоцитов (табл.4)

*Таблица 4*

Изменение численности исследованных субпопуляций лимфоцитов из периферической крови доноров и пациентов с различным течением множественной миеломы (млн/л)

группа		лимфоциты		CD3+4+		CD3+4+25+FOXP3+		CD3+4+25-FOXP3+	
Доноры контроль	Н	1323,0	1518,0	557,8	660,7	18,6	22,9	5,1	6,3
	L		1224,0		485,7		15,9		2,3
Первичные	Н	2047,8*	2776,1	795,5*	1095,6	51,4*	58,7	19,3*	29,0
	L		1935,6		638,1		25,0		11,5
Ремиссия	Н	1260,0	1505,5	485,8	657,7	19,8	25,8	6,0	9,0
	L		1072,0		373,3		10,6		3,3
Резистентные	Н	1368,3	1756,8	446,5	696,9	16,7	28,6	9,3	16,2
	L		787,5		199,8		8,9		5,5

\* p<0,05

Основной вклад в увеличение этого количества вносят клетки, экспрессирующие короткую изоформу FOXP3Δ2 (рис. 14; рис.15)

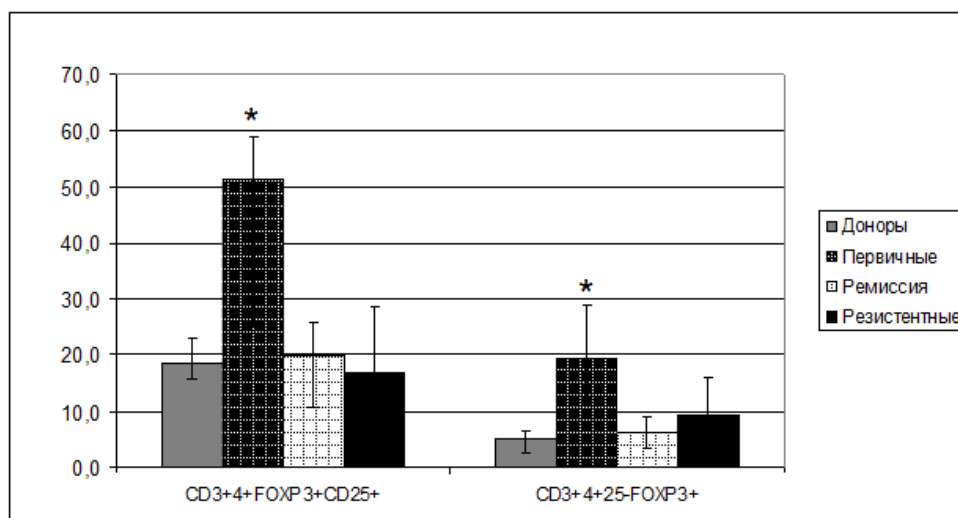


Рисунок 14 . Изменение числа CD4+25+FOXP3+ и CD4+25-FOXP3+ клеток при различных формах течения множественной миеломы.

По оси абсцисс – фенотипическая характеристика исследуемых субпопуляций. По оси ординат – число клеток в млн/л (Me (L-H)).

\*Достоверные отличия относительно контроля ( $p < 0,05$ ).

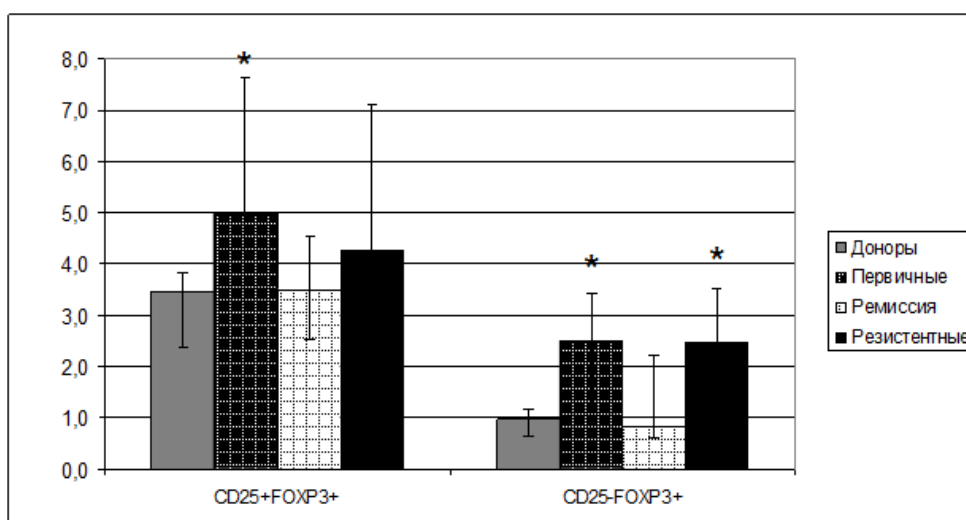


Рисунок 15 . Изменение процента CD25+FOXP3+ и CD25-FOXP3+ клеток среди CD4+ Т-лимфоцитов при различных формах течения множественной миеломы

По оси абсцисс – фенотипическая характеристика исследуемых субпопуляций. По оси ординат – процент клеток исследуемой субпопуляции

относительно CD4+ Т-клеток (Me (L-H)). \*Достоверные отличия относительно контроля ( $p < 0,05$ ).

Важно подчеркнуть, что эти данные впервые обнаружены в нашем исследовании. Так же установлено, что уровень экспрессии CD4+25+FOXP3+ отражает эффективность противоопухолевой терапии в виду их нормализации при достижении ремиссии. Кроме того, весьма вероятно, что дефицит циркулирующих антител при ММ может быть следствием Treg супрессии.

Полученные результаты позволяют по новому взглянуть на патогенез ММ и рассматривать уровень Treg и в частности экспрессии короткой изоформы CD4+25+FOXP3 $\Delta$ 2 как маркер активности опухолевого процесса и маркер ремиссии.

Таким образом, в итоге проведенной диссертационной работы получены оригинальные результаты, которые имеют большую научно-практическую ценность. Прежде всего, это вытекает из проведенного анализа большого клинического материала (311 пациентов с ММ), который был представлен в формате 5 проспективных клинических исследований, обладающих высоким уровнем доказательности. Созданы новые программы лечения на платформе бортезомиба и леналидомида, являющимися препаратами новой генерации противоопухолевых лекарственных средств. Данные программы характеризуются высокой противоопухолевой эффективностью, оцененной по непосредственным и отдаленным результатам, низкой токсичностью. Они могут быть использованы как при впервые диагностированной, так и при Р/Р ММ. Следует так же отметить, что в дизайне данных клинических исследований была заключена модель реальной клинической практики, предполагавшая включение пациентов в группы по неселективному признаку. В результате клинические группы характеризуются большой долей пациентов с мультилинейной предлеченностью, тяжестью клинических проявлений, осложненностью и

высокой коморбидностью. По существу, создавалась очень трудная клиническая среда для реализации фармакодинамического ресурса инновационных противоопухолевых препаратов.

В связи с тем, что бортезомиб и леналидомид, в настоящее время стали доступными препаратами для широкой клинической практики, разработанные нами оригинальные химиотерапевтические технологии, для их эффективного использования имеют большое практическое значение.

Важным этапом работы было формулирование обновленной клинической концепции лечения ММ, осложненной ПН, основанной на ведущей роли в этом СЛЦ. Сочетанное применение бортезомибсодержащих программ и ГД позволили значительно улучшить результаты лечения и снять с диализной зависимости 28,5% пациентов.

Иммунологический мониторинг, проведенный в процессе клинических исследований касался В- и Т- клеточных звеньев иммунитета. Для этого были использованы новые методы исследования, такие как определение СЛЦ ИГСК и Т-клеточного гомеостаза, включая Treg клетки и TREC. Это позволило использовать их в качестве новых оценочных систем лечения ММ. Полученные результаты являются приоритетными, что подтверждено патентом.

## **ВЫВОДЫ**

1. Разработан комплекс оригинальных химиотерапевтических программ на платформе бортезомиба, включающий: а) бортезомиб (монотерапия)-V1; б) бортезомиб+мелфалан-V2; в) бортезомиб+мелфалан+преднизолон (ВМП)-V3; г) ВМП+циклофосфан-V4 на основании проспективного сравнительного клинического исследования 101 пациента с резистентной/рецидивной множественной миеломой, предварительно леченных программами на основе мелфалана.

2. Объективный противоопухолевый ответ указанных программ (частичный и более) зафиксирован : V1-70,3%; V2-68%; V3(ВМП)-90%; V4(ВМП+циклофосфан)-62,3%. Общая выживаемость (Me): V1-63 мес., V2-107мес.; V3(ВМП) и V4(ВМП+циклофосфан) – не достигнута. В целом по группе ОВ – 103мес., объективный ответ 71,1%.

3. Эффективность оригинальной ВМП программы, изученная в проспективном клиническом исследовании у 105 пациентов, не являющихся кандидатами на ауТСК, с впервые диагностированной ММ составила: 75,2% общих противоопухолевых ответов; ВВП (Me)- 38 мес.; ОВ (Me) за 3 года в зависимости от категории ответа – 70-100%; ОВ (Me) – не достигнута при Me наблюдения 32,3 мес.; поддерживающее лечение не влияло на длительность ответа (за 2 года 42,8% и 42%).

4. Варианты ВМП программы, примененные у пациентов с впервые выявленной ММ с длительностью ХТ циклов лечения 6 и 9 недель различались по кумулятивной дозе бортезомиба/нед., которые были невысокими (0,86 и 0,6 мг/м<sup>2</sup>). Не было различий по категориям объективного ответа и по ВВП (Me)(40 и 32 мес. соотв.).

5. Разработана РВП программа (леналидомид, бортезомиб, преднизолон) на основании проспективного клинического исследования, включающего 49 пациентов с рецидивной/резистентной множественной миеломой к бортезомибсодержащим программам объективный ответ (> ЧО) – 63,1%; длительность ответа (Me) - 10,69мес., ВВП (Me) – 22,7мес.; ОВ (Me) на РВП – 31,9 мес.; ОВ (Me) от момента диагноза 82,02 мес.

6. Сформулирована обновленная концепция лечения множественной миеломы, осложненной почечной недостаточностью, основанная на приоритете СЛЦ ИГСК в ее развитии, использовании бортезомиба и необходимости гемодиализа при низких резервах функции почек (КФ<20мл/мин.). Применение бортезомибсодержащих программ,

подтвержденное фармакодинамическим анализом, дает 63,6% объективных ответов (> ЧО); в группе ХТ+ГД снято с ГД 28,5%, в группе ХТ без ГД частичный почечный ответ отмечен у всех. ОВ (Ме) не отличалась в двух подгруппах и составляла 50 и 48 мес.

7. Разработан метод фармакодинамической оценки противоопухолевых препаратов новой генерации и их комбинаций: а) бортезомиб в режиме монотерапии; б) бортезомиб+мелфалан+преднизолон (ВМП); в) леналидомид+ бортезомиб+ преднизолон (РВП) на основании мониторинга концентраций СЛЦ ИГСК в процессе курсов химиотерапии. Установлено, что снижение концентрации опухолевых СЛЦ на 22-28% через 24 часа после начала ХТ свидетельствует о высокой чувствительности опухоли к препаратам и является фактором прогноза наступления ремиссии после индукционных курсов с вероятностью 85,7-100% (патент №2549458 от 30.03.2015 «Способ определения эффективности лечения множественной миеломы»).

8. Дана характеристика регенерации Т-клеточной системы иммунитета в процессе VCP терапии (бортезомиб, циклофосфан, преднизолон) у 15 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой. Установлено исходное повышение количества Т-лимфоцитов по сравнению с группой здоровых доноров и было представлено субпопуляцией CD3+8+62L-45RA+. Цитостатическая депрессия характеризовалась достоверным снижением количества всех исследуемых субпопуляций, восстановление до субнормальных нормальных значений к 30 дню межкурсового интервала. Механизм регенерации характеризовался повышением пролиферации периферических Т-лимфоцитов при недостаточном (сниженном) участии тимуса, определяемым по сниженному количеству TREC.

9. Характеристика Т-регуляторных лимфоцитов с фенотипом CD4+25+ FOXP3+ (Treg) в разных фазах течения ММ (впервые выявленная,

ремиссия, резистентная/рецидивная) показала достоверное их повышение у первичных пациентов и в случаях резистентности. Нормальные значения Treg были определены при достижении ремиссии. Более точная характеристика участия CD4+25+FOXP3+ лимфоцитов в патогенезе множественной миеломы отражается в экспрессии короткой внутриклеточной изоформы транскрипционного фактора CD4+CD25+FOXP3 $\Delta$ 2+, которую можно рассматривать как маркер активного опухолевого процесса и ремиссии.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение в реальной клинической практике оригинальной терапии ВМП в I линии лечения у пациентов с ММ, не являющихся кандидатами на ауТСК, и во II линии у пациентов с Р/Р ММ позволяет достигать высокого противоопухолевого эффекта с минимальной гематологической и негематологической токсичностью.

2. Применение в реальной клинической практике оригинальной терапии RVP показано пациентам с ММ, резистентной к ранее проводимому противоопухолевому лечению, включавшего бортезомиб.

3. Раннее применение бортезомибсодержащих режимов терапии и при необходимости их сочетание с гемодиализом позволяет скомпенсировать и улучшить показатели почечной функции у пациентов с ММ, осложненной почечной недостаточностью и увеличить общую выживаемость.

4. Применение метода определения СЛЦ ИГСК в процессе проведения ПХТ позволяет практически в реальном времени определить чувствительность опухоли к проводимой терапии и в случае негативного результата произвести смену индукционного курса лечения.

5. Полученные оригинальные данные по Т-клеточному гомеостазу в процессе лечения, свидетельствуют о постцитостатической регенерации Т-клеточной популяции к 30 дню межкурсового интервала. Это необходимо учитывать для безопасной (в отношении бактериально-грибковых и вирусных осложнений) реализации программы противоопухолевого лечения.

6. Показатели CD4+25+FOXP3+ и CD4+25+FOXP3Δ2 могут быть использованы в качестве критерия ремиссии при множественной миеломе и прогностического критерия.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Голенков А.К. Роль свободных легких цепей сыворотки в определении активности множественной миеломы / А.К.Голенков, **Т.А.Митина**, Т. Высоцкая Л.Л., И.Н.Когарко, А.Ю.Барышников, М.В.Козлова, Е.В.Трифорова // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты». Российский биотерапевтический журнал – 2007 -№1 - С.65.
2. **Митина Т.А.** Клиническая эффективность велкейда у рефрактерных и рецидивных больных множественной миеломой / **Т.А.Митина**, А.К.Голенков, Высоцкая Л.Л., Е.В.Трифорова, Ю.Б.Черных, А.В.Кедров // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты». Российский биотерапевтический журнал – 2007 -№ 1 - С.37.
3. **Митина Т.А.** Эффективность бортезомиба у рефрактерных больных множественной миеломой / **Митина Т.А.**, Голенков А.К., Высоцкая Л.Л., Трифорова Е.В., Черных Ю.Б., Катаева Е.В., Дудина Г.А., Буравцова И.В., Кильдюшевский А.В., Кедров А.В. // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты». Российский биотерапевтический журнал – 2007 - №1 - С.62.
4. Голенков А.К. Роль свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки в определении активности множественной миеломы / Голенков А.К., **Митина Т.А.**, Высоцкая Л.Л., Когарко И.Н., Барышников А.Ю., Козлова М.В., Трифорова Е.В. // Вестник Гематологии – 2007 - ТIII-№2 - С.13-14. / Материалы конференции – Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии Российской конференции Санкт-Петербург, 13-15 июня 2007г.

5. **Митина Т.А.** Эффективность лечения велкейдом рефрактерных и рецидивных больных множественной миеломой / **Митина Т.А.**, Голенков А.К., Высоцкая Л.Л., Трифонова Е.В., Черных Ю.Б., Кедров А.В. // Вестник Гематологии – 2007-Т III-№2 - С. 32. /Материалы конференции – Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии Российской конференции Санкт-Петербург, 13-15июня 2007г.
6. Golenkov A. Efficacy of single-agent bortezomib and combination of bortezomib, melphalan, prednisolon in patient with relapsed and refractory MM associated with poor clinical parameters / A.Golenkov, **T. Mitina**, Y. Chernykh, E. Kataeva, A. Kedrov, A. Fomin, R. Koshelev R. // Leukemia research – 2007-V31-S2 - post. 044- Sept. 2007.
7. Голенков А.К. Клиническое значение анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки при множественной миеломе с различным ответом на химиотерапию / Голенков А.К., **Митина Т.А.**, Луцкая Т.Д., Козлова Н.В., Когарко И.Н., Кадагидзе З.Г., Барышников А.Ю. // **Российский биотерапевтический журнал – 2007- №3 – С.71-75.**
8. Golenkov A. A role immunoglobulin serum free liht chains in the evaluation of treatment results for multiple myeloma / Golenkov A., **Mitina T.**, Kogarko I., Barushnikov A., Lutskaya T., Lubimova N. // 19th International Congress on Anti Cancer Treatment, Paris, France, Feb 5-8 – 2008 – P.285-286
9. **Митина Т.А.** Клиническая характеристика кумулятивного эффекта велкейда при рецидивной/резистентной множественной миеломе / **МитинаТ.А.**, Голенков А.К. // **Терапевтический архив - 2008- Т80-№7- С.48-50.**
10. Голенков А.К. Лечение множественной миеломы велкейдом / Голенков А.К., **Митина Т.А.** // Учебное пособие для врачей - 2008- С.- 35.

11. Голенков А.К. Фармакодинамическая характеристика эффективности велкейда при рецидивной и резистентной множественной миеломе: определение свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови / Голенков А.К., **Митина Т.А.**, Когарко И.Н., Любимова Н.В., Клинушкина Е.Ф., Барышников А.Ю. // **Терапевтический архив - 2009-Т81-№7-С.37-41.**
12. Голенков А.К. Лечение множественной миеломы / А.К. Голенков, А.Ю. Барышников, А.В. Караулов, **Т.А. Митина** // Монография, Москва- 2009-С.-125.
13. Голенков А.К. Лечение рецидивирующей и резистентной миеломы бортезомибсодержащими программами в широкой клинической практике / А.К. Голенков, **Т.А. Митина**, Т.Д. Луцкая, Е.В. Трифонова, Е.В. Катаева // Эффективная фармакотерапия онкология, гематология и радиология – 2010 -№2-С.50-55.
14. **Митина Т.А.** Эффективность бортезомиба и бортезомибсодержащих программ лечения больных рецидивирующей и резистентной множественной миеломой / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Е.Ф. Клинушкина // **Терапевтический архив – 2010 - №7- С. 57-61.**
15. **Mitina T.** The efficacy of boptezomib and bortezomib-containing regimens for treatment of relapsed/refractory MM in real clinical practice / **T. Mitina**, A. Golenkov, E. Kataeva, E. Trifonova, E. Klinushkina // Haematologica, 15 congress of EHA, Spain, Barselona, June 10-13 – 2010 - abstract book -95(S 2) - P. 576.
16. **Митина Т.А.** Лечение резистентной и рецидивирующей ММ бортезомибом в программах моно- и полихимиотерапии / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, И.В. Буравцова, Е.В. Трифонова, Е.Ф. Клинушкина // XVIII Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”. Сборник материалов конгресса. Тезисы докладов. Москва 11-15 апреля - 2011 – С. 97.

17. **Митина Т.А.** Эффективность лечения больных ММ, осложненной почечной недостаточностью, бортезомибсодержащими программами в сочетании с гемодиализом / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Е.В. Трифонова, Г.А. Дудина, Л.Л. Высоцкая, И.В. Буравцова, Е.В. Катаева, Е.И. Прокопенко, А.М. Фомин, В.П. Суслов, А.В. Ватазин // **Гематология и трансфузиология – 2011 - №4 – С.12-16.**
18. **Митина Т.А.** Терапия бортезомибсодержащими программами множественной миеломы, осложненной почечной недостаточностью / **Митина Т.А.** // Научно-практический журнал «Вестник гематологии» 2011 – Т VII - №12 – 2011 - С.34.
19. **Митина Т.А.** Применение иммуномодулирующих программ у больных множественной миеломой, резистентных к бортезомибсодержащей терапии / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Т.Д. Луцкая, И.В. Буравцова, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Л.Л. Высоцкая, К.В. Седов // V Научно-практическая конференция «Современная гематология. Проблемы и решения», 2-3 ноября Москва – 2011 - С.33.
20. Трифонова Е.В. Эффективность терапии множественной миеломы, осложненной внутриспинальным опухолевым ростом, велкейдом или его комбинацией в сочетании с интратекальными введениями цитозара / Е.В. Трифонова, А.К. Голенков, А.В. Кедров, **Т.А. Митина**, Е.В. Катаева // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство» - Москва – 2012 - С.218.
21. **Митина Т.А.** Эффективность иммуномодулирующих противоопухолевых программ терапии у больных множественной миеломой, резистентных к бортезомибсодержащим протоколам / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Т.Д. Луцкая, Л.Л. Высоцкая, Е.В. Катаева, Г.А. Дудина, Ю.Б. Черных, Е.В. Трифонова, И.В. Буравцова, К.В.

Седов // Гематология и трансфузиология. Материалы конгресса гематологов России, 2-4 июля- Москва – 2012 - С. 63.

22. Голенков А.К. Экспрессия генов факторов роста эндотелия сосудов и их рецепторов при различных вариантах течения множественной миеломы / А.К. Голенков, А.Ф. Карамышева, И.В. Буравцова, Г.А. Дудина, Л.Л. Высоцкая, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, **Т.А. Митина**, Т.Д. Луцкая, Ю.Б. Черных, К.В. Седов, Е.С. Какпакова, Ю.С. Саблина // Гематология и трансфузиология. Материалы конгресса гематологов России, 2-4 июля 2012 –Москва - С.42.

23. **Митина Т.А.** Эффективность противоопухолевой химиотерапии множественной миеломы на основе анализа кинетики свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, И.Н. Когарко // Сборник материалов XX Российского национального конгресса «Человек и лекарство» - Москва – 2013 - С.109.

24. Черных Ю.Б. Исследование уровня экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости у резистентных пациентов с множественной миеломой / Ю.Б. Черных, С.С. Шушанов, Е.Ю. Рыбалкина, Е.В. Трифонова, Л.Л. Высоцкая, К.В. Седов, К.А. Белоусов, Е.Ф. Клинушкина, Е.В. Катаева, Г.А. Дудина, Т.Д. Луцкая, **Т.А. Митина**, А.К. Голенков // «Вестник гематологии»- 2013 – Том IX - №2 - С.54-55.

25. **Митина Т.А.** Оценка остаточной опухоли у больных с ММ на основании анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков , А.Ю. Барышников, А.В. Караулов, Е.В. Трифонова, Ю.Б. Черных, Е.В. Катаева, Т.Д. Луцкая, Л.Л. Высоцкая, Г.А. Дудина, С.Г. Захаров, А.М. Фомин, Н.В. Любимова, И.Н. Когарко // **Научно-практический журнал Альманах клинической медицины -2013 - №29 - С. 33-37.**

26. **Митина Т.А.** Кинетическая характеристика остаточной опухоли при различных вариантах ММ на основании анализа свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, А.Ю. Барышников, А.В. Караулов, Е.В. Трифонова, Ю.Б. Черных, Е.В. Катаева, Т.Д. Луцкая, Л.Л. Высоцкая, Г.А. Дудина, С.Г. Захаров, А.М. Фомин, Н.В. Любимова, И.Н. Когарко // **Российский биотерапевтический журнал - 2013 - №1 - С. 31-36.**
27. **Митина Т.А.** Эффективность бортезомиба, мелфалана, преднизолона (ВМП) у пациентов с впервые выявленной множественной миеломой / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Е.В. Трифонова, Т.Д. Луцкая, Е.В. Катаева, Л.Л. Высоцкая, Г.А. Дудина, Ю.Б. Черных, С.Г. Захаров, Е.В. Клинушкина, К.А. Белоусов // **Биомедицинский журнал Medline.ru, - 2013 - Т 14 - С.1030-1050.**
28. Митин А.Н. Динамика восстановления Т-лимфоцитов после индукционного курса полихимиотерапии у пациентов с впервые выявленной множественной миеломой / А.Н. Митин, М.М. Литвина, А.Д. Донецкова, М.Ф. Никонова, В.В. Комогорова, Н.И. Шарова, **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, А.А. Ярилин // **Иммунология - 2014 - т.35 - №4 - С.209-215.**
29. Митин А.Н. Анализ экспрессии молекулы FOXP3 и изоформ CD4+Тклетками периферической крови при различных формах течения множественной миеломы / А.Н. Митин, Литвина М.М., **Митина Т.А.**, Голенков А.К., Ярилин А.А. // **Иммунология - 2014 - т.35 - №4 - С.215-219.**
30. **Митина Т.А.** Динамика Т-регуляторных клеток у пациентов с множественной миеломой / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, К.А. Белоусов, Т.Д. Луцкая, Г.А. Дудина, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Ю.Б. Черных, С.Г. Захаров, А.Н. Митин, М.М. Литвина // Сборник материалов XXI Российского национального конгресса "Человек и лекарство" - Москва -2014 - С.79.

31. Golenkov A.K. Value research of T-regs cells in periferal blood of patients with multiple myeloma / A.K. Golenkov, **Т.А. Митина**, Yu.B. Chernyh T.D. Lutsкая, A.N. Mitin, M. Litvina // Blood Journal, Home/December 6 -2014 -124(21)- P. 5697.
32. **Митина Т.А.** Значение показателей Т-регуляторных клеток при множественной миеломе / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, А.Н. Митин, М.М. Литвина, Т.Д. Луцкая, С.Г. Захаров // Научно-практический журнал "Вестник гематологии"-2014 –Т. X - №2 - С.42-43.
33. Голенков А.К. Кинетика свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови при множественной миеломе в течение одного курса химиотерапии ревлимидов, велкейдом и преднизолоном (РВП) / А.К. Голенков, **Т.А. Митина**, О.В. Москалец, В.В. Яздовский, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Г.А. Дудина, Л.Л. Высоцкая, Ю.Б. Черных, С.Г. Захаров // Сборник материалов II Конгресса гематологов России, 17-19 апреля 2014 года, Москва – №1 - С.86.
34. **Митина Т.А.** Характеристика Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+Foxp3+) в различных фазах течения множественной миеломы / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, К.А. Белоусов, Т.Д. Луцкая, Г.А. Дудина, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Ю.Б. Черных, С.Г. Захаров, А.Н. Митин, М.М. Литвина // Сборник материалов II Конгресса гематологов России, 17-19 апреля 2014 года, Москва - №1 - С.104.
35. Шевелев С.В. Иммунофенотипирование трансформированных плазматических клеток костного мозга у больных множественной миеломой / С.В. Шевелев, **Т.А. Митина**, Ю.Б. Черных, Е.В. Катаева, В.В. Яздовский, Ю.Ю. Чуксина // Евразийский онкологический журнал 33(03)2014. Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии 16-18 сентября 2014 - Т.33 (03) - С.631-632.
36. **Митина Т.А.** Эффективность терапии RVP (леналидомид, бортезомиб, преднизолон) у пациентов с рецидивной и рефрактерной

множественной миеломой / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, Т.Д. Луцкая, Г.А. Дудина, Л.Л. Высоцкая, Ю.Б. Черных, Е.В. Катаева, С.Г. Захаров, К.А. Белоусов // Материалы VIII научно-практической конференции «Современная гематология. Проблемы и решения», 6 ноября 2014г., Москва, с.24-25.

37. **Митина Т.А.** Кинетика свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови у пациентов с множественной миеломой в процессе проведения курсов химиотерапии, включающих леналидомид / **Т.А. Митина**, А.К. Голенков, В.В.Яздовский, А.В. Караулов, О.В. Москалец, Е.Ф. Клинушкина, Е.В. Катаева, Е.В. Трифонова, Т.Д. Луцкая, Г.А. Дудина, Л.Л. Высоцкая, Ю.Б. Черных, С.Г. Захаров, А.М. Фомин // **Иммунология – 2014 – Т. 35 - № 6 - С. 29-33.**

38. Mitina T. FOXP3 expression and its isoform in peripheral blood of patients with multiple myeloma / **Mitina T.**, Golenkov A., Mitin A., Litvina M. // 36th EORTC-PAMM, Jan 24, 2015, Marseille, France, [www.PAMM2015.org](http://www.PAMM2015.org).

39. Голенков А.К. Способ определения эффективности лечения множественной миеломы / Голенков А.К., **Митина Т.А.**, Трифонова Е.В., Яздовский В.В., Москалец О.В. // **Патент РФ на изобретение № 2549458, от 30.03.2015 г.**

40. **Митина Т.А.** Значение Т-клеточного звена иммунитета при множественной миеломе / **Митина Т.А.**, Голенков А.К., Митин А.Н., Литвина М.М., Донецкова А.Д., Никонова М.Ф., Комогорова, В.В., Шарова Н.И., Караулов А.В. // **Имунопатология, аллергология, инфектология – 2015 - №1 - С.90-104.**

41. **Митина Т.А.** Эффективность леналидомида, бортезомиба и преднизолона при лечении пациентов с рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой / **Митина Т.А.**, Голенков А.К., Трифонова Е.В., Катаева Е.В., Высоцкая Л.Л., Черных Ю.Б.,

Захаров С.Г., Белоусов К.А., Караулов А.В. // **Онкогематология – 2015-Т10-№4-С.8-14.**

## **Список сокращений**

ММ - множественная миелома

ЛЦММ – легкоцепьевая множественная миелома

Р/Р ММ – резистентная/рецидивная множественная миелома

ХТ – химиотерапия

ОО – общий противоопухолевый ответ

ПО – полный противоопухолевый ответ

БПО – близкий к полному ответ

ОЧХО – очень хороший частичный ответ

ЧО – частичный противоопухолевый ответ

МО – малый противоопухолевый ответ

НО - нет ответа

СБ – стабилизация заболевания

ОВ – общая выживаемость

ВБП – выживаемость без прогрессии

ДО – длительность ответа

Ме – медиана

ПН – почечная недостаточность

СЛЦ – свободные легкие цепи

СЛЦ ИГСК – свободные легкие цепи иммуноглобулинов сыворотки крови

ОСЛЦ – опухолевые свободные легкие цепи

НСЛЦ – неопухолевые свободные легкие цепи

κ-СЛЦ – каппа свободные легкие цепи

λ-СЛЦ – лямбда свободные легкие цепи

ГД – гемодиализ

Treg – Т-регуляторный лимфоцит

TREC (T-cell receptor excision circles) – Т-рецепторные эксцизионные кольца

аутоТСК – аутологичная трансплантация стволовых клеток

V1 – протокол монотерапии бортезомибом

V2 – протокол терапии: бортезомиб + мелфалан

V3 - протокол терапии: бортезомиб + мелфалан+ преднизолон

V4 - протокол терапии: бортезомиб + мелфалан+ преднизолон+циклофосфан

ВМП – протокол терапии: бортезомиб + мелфалан+ преднизолон

РВП – протокол терапии: бортезомиб + леналидомид+ преднизолон

ПНП – периферическая полинейропатия

ХПН – хроническая почечная недостаточность

КФ – клубочковая фильтрация

ПФ – плазмаферез

CD – кластер дифференцировки

Ig – иммуноглобулин

pIg – патологический иммуноглобулин

ИФА – иммунофлуоресцентный анализ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

МНПК – мононуклеары периферической крови

МАТ – моноклональные антитела

FOXP3 (forkhead box P3) – внутриклеточный транскрипционный фактор  
(скурфин)

FL-FOXP3 – полная молекула внутриклеточного транскрипционного фактора  
FOXP3

FOXP3 $\Delta$ 2 – молекула внутриклеточного транскрипционного фактора FOXP3,  
лишенная экзона 2