

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ (ПЛАЗМОКЛЕТОЧНОЙ МИЕЛОМЕ)

Т. В. Глазанова [✉], Е. Р. Шилова, С. С. Бессмельцев

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Лечение множественной миеломы (ММ) неразрывно связано с необходимостью оценки и мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ). Определение МОБ является важной задачей, позволяющей более глубоко оценить эффективность терапии, получить значимую прогностическую информацию, и является определяющим критерием степени эрадикации опухолевого клона. Это обуславливает необходимость совершенствования методов выявления остаточных опухолевых клеток и приводит к обновлению критериев определения глубины ответа в соответствии с уровнем МОБ. В настоящее время не существует единого метода обнаружения МОБ, рекомендуется использовать как интрамедуллярную, так и экстрамедуллярную детекцию патологических клеток. В обзоре описаны современные методы определения МОБ, включая методы визуализации, выявления остаточных опухолевых клеток в образцах костного мозга и периферической крови с использованием многопараметрической проточной цитометрии (МПЦ), в том числе нового поколения (NGF), и методы, основанные на анализе ДНК — аллель-специфичная олигонуклеотидная полимеразная цепная реакция (АКО-ПЦР) и секвенирование нового поколения (NGS). Проведен сравнительный анализ их преимуществ, ограничений, недостатков и, соответственно, клинической значимости. Показаны необходимые пороги чувствительности описываемых методов и ситуации, в которых применение того или иного метода является оптимальным для диагностики МОБ.

Ключевые слова: множественная миелома, минимальная остаточная болезнь, методы оценки, проточная цитометрия, секвенирование нового поколения

Вклад авторов: Т. В. Глазанова — разработка концепции, сбор и анализ литературы; Е. Р. Шилова — редактирование текста, подготовка рукописи; С. С. Бессмельцев — редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Валентиновна Глазанова
2-я Советская ул., д. 16, г. Санкт-Петербург, 191023; tatyana-glazanova@yandex.ru

Статья получена: 16.11.2023 **Статья принята к печати:** 20.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.062

MODERN APPROACHES TO ASSESSMENT OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN MULTIPLE MYELOMA (PLASMA CELL MYELOMA) CASES

Glazanova TV [✉], Shilova ER, Bessmeltsev SS

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical-Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

The treatment of multiple myeloma is inextricably linked to the need for assessment and monitoring of the minimal residual disease (MRD). Assessment of the MRD allows evaluating the efficacy of therapy and obtaining significant prognostic information; it is an indicator of the degree of eradication of the tumor clone. The methods for detecting residual tumor cells evolve constantly, which translates into updates of the criteria reflecting the scale of response to therapy. There is no single MRD detection technique; common recommendations suggest seeking for pathological cells both intramedullary and extramedullary. This review describes current MDR determination methods, including imaging, next generation multiparametric flow cytometry, and methods based on DNA analysis — allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction and next generation sequencing. We compare their advantages, limitations, disadvantages, clinical significance, and show the necessary sensitivity thresholds of the described methods and the conditions that make this or that approach ideal in the context of detection of MRD.

Keywords: multiple myeloma, minimal residual disease, methods of assessment, flow cytometry, next generation sequencing

Author contributions: Glazanova TV — concept development, collection and analysis of literature; Shilova ER — article editing, authoring; Bessmeltsev SS — article editing, approval of its final version.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatyana V. Glazanova
Sovetskaya, 16, St. Petersburg, 191023, Russia; tatyana-glazanova@yandex.ru

Received: 16.11.2023 **Accepted:** 20.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.062

Множественная миелома (ММ) — В-клеточная злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой служат плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин. Согласно версии классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2017 г., термин «множественная миелома» заменен на термин «плазмноклеточная миелома». Между тем в 5-ом издании классификации гематолимфоидных опухолей ВОЗ от 2022 г. при обсуждении зрелых лимфоидных и гистиоцитарно-дендритно-клеточных новообразований был выработан Международный консенсус (International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms), и эксперты решительно поддержали термин «множественная миелома», а не «плазмноклеточная миелома» [1]. Поэтому

в статье использован главным образом хорошо известный специалистам-гематологам термин «множественная миелома».

Общепризнано, что мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) при множественной миеломе, т. е. детекция миеломных клеток на субклиническом уровне после успешной противоопухолевой терапии, представляет собой важную задачу, позволяющую более глубоко оценить эффективность терапии, получить значимую прогностическую информацию в отношении общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессии (ВБП) больных ММ и служит определяющим критерием степени эрадикации опухолевого клона. В связи с этим постоянно совершенствуются методы выявления

остаточных опухолевых клеток, обновляются категории определения глубины ответа в соответствии с уровнем МОБ [2–4].

В последние годы методы обнаружения МОБ быстро развивались, их чувствительность и применимость значительно расширились. Для повышения чувствительности детекции миеломных клеток были разработаны новые высокопроизводительные методы оценки аспиратов костного мозга (КМ), включая многопараметрическую проточную цитометрию (МПЦ), аллель-специфичную олигонуклеотидную качественную полимеразную цепную реакцию и секвенирование нового поколения (NGS). Эти методы дают возможность проводить быстрое исследование от нескольких тысяч до миллиона клеток КМ или соответствующего количества ДНК за один тест и позволяют выполнять количественную оценку остаточных опухолевых клеток в КМ.

Известно, что и у пациентов, достигших МОБ-негативного статуса (МОБ(-)), неизбежно развитие рецидива, при этом у части пациентов невозможно выявить опухолевые клетки методом как МПЦ, так и ПЦР, что свидетельствует о необходимости дальнейших усилий по стандартизации и улучшению диагностики МОБ.

Более низкая величина предельного уровня (cutoff) выявления МОБ при чувствительных видах анализа, таких как NGS или высокочувствительная МПЦ, будет способствовать дальнейшему улучшению возможностей прогнозирования заболевания [5, 6]. Так, с использованием метода NGS и выделением трех групп пациентов с учетом времени до прогрессирования (ВдП) было показано, что пациенты с высоким ($< 10^{-3}$), промежуточным (10^{-3} – 10^{-5}) и низким ($> 10^{-5}$) уровнем МОБ характеризовались значительными различиями в величине ВдП (27, 48 и 80 месяцев соответственно) [5]. Таким образом, 10^{-5} на настоящий момент, как правило, расценивают как целевой предельный уровень для определения МОБ-негативного статуса.

В 2016 г. международной рабочей группой по изучению миеломы (International Myeloma Working Group, IMWG) опубликованы следующие критерии МОБ(-)-статуса [7]:

- устойчивый МОБ(-)-статус, т. е. МОБ-негативность клеток КМ с использованием NGF и/или NGS и визуализации с использованием позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ-КТ), сохраняющаяся в течение года;
- МОБ-негативность при использовании проточной цитометрии, т. е. отсутствие клональных плазматических клеток (ПК) с аберрантным фенотипом по результатам NGF в аспиратах КМ с использованием стандартной операционной процедуры EuroFlow для обнаружения МОБ (или эквивалентного валидированного метода) с минимальной чувствительностью 10^{-5} или выше;
- МОБ-негативность при использовании метода секвенирования — отсутствие клональных ПК при NGS аспиратов КМ, в которых присутствие клона определяется как менее двух одинаковых считываний, полученных после секвенирования ДНК аспиратов КМ с минимальной чувствительностью 10^{-5} или выше;
- МОБ-негативность по результатам NGF или NGS плюс исчезновение каждой области повышенного поглощения индикатора, обнаруженной на исходном уровне или предшествующей ПЭТ-КТ, или снижение до меньшего, чем SUV средостения, или снижение до меньшего, чем в норме.

Цель данного обзора — провести сравнительный анализ преимуществ, ограничений, недостатков и клинической значимости современных методов определения МОБ с

описанием оптимального выбора того или иного метода в различных клинических ситуациях.

Методы оценки МОБ при множественной (плазмноклеточной) миеломе

Серологические методы определения опухолевого клона

Для диагностики и мониторинга опухолевой нагрузки при ММ используют определение свободных легких цепей (СЛЦ) в сыворотке и в моче [8]. В настоящее время определение сывороточных κ и λ СЛЦ стало частью рутинных клинических анализов, в особенности для диагностики и наблюдения за пациентами с несекретирующей и олигосекретирующей миеломой и AL-амилоидозом [9].

Еще в 2006 г. международная группа IMWG включила нормализацию уровня СЛЦ и отсутствие в биоптатах КМ пациентов с ММ клональных миеломных клеток, определяемых с помощью иммуногистохимии и/или иммунофлюоресценции, в качестве дополнительных требований при определении более строгих критериев полного ответа (ПО) [10]. Соотношение СЛЦ при постановке диагноза служит независимым прогностическим фактором агрессивности заболевания [11], а также способствует улучшению стратификации на группы риска [12]. Однако взгляды относительно включения СЛЦ в качестве рутинного метода мониторинга МОБ у пациентов с ММ остаются противоречивыми, поскольку в некоторых исследованиях приводят противоположные результаты, даже в отношении ответа на терапию [13, 15]. Так, показано, что нормализация уровня СЛЦ не была ассоциирована с увеличением выживаемости у пациентов с ПО, установленным по традиционным критериям. Кроме того, высказано предположение, что определение СЛЦ следует заменить на определение тяжелых цепей и считать их в большей степени суррогатным маркером восстановления иммунной системы, нежели средством мониторинга МОБ, и СЛЦ нельзя расценивать как достоверный метод оценки МОБ при миеломе, хотя соотношение СЛЦ включено в критерии оценки ответа.

Морфологическое исследование

Морфологическое исследование КМ — наиболее часто используемый метод определения опухолевой нагрузки при ММ. Самостоятельное прогностическое значение микроскопического исследования КМ показано в ряде крупных исследований [16, 17], однако его чувствительность ограничена количеством клеток, подлежащих оценке, а также вариабельностью условий забора образца.

Методы визуализации

В отличие от многих других гематологических заболеваний, характер инфильтрации КМ клетками ММ может быть различным в зависимости от варианта заболевания и места взятия пробы, а разведение аспиратов КМ периферической кровью может приводить к ложноотрицательным результатам. Эти проблемы, наряду с возможностью экстрамедуллярных (ЭМ) поражений, приводят к сложностям и неоднозначностям в интерпретации результатов всех методов, где для оценки МОБ используют КМ. Поэтому МОБ(-)-результаты могут быть ложноотрицательными. Применение альтернативных методов, таких как методы визуализации [18, 19],

мониторирование клоногенных клеток-предшественников ММ [19, 20] или циркулирующих опухолевых миеломных клеток может дать дополнительную информацию о наличии МОБ [2]. Чувствительные методы визуализации — надежное средство оценки ЭМ поражений малой величины ввиду высокой частоты ЭМ рецидивов при ММ. Магнитно-резонансная томография (МРТ) — наиболее чувствительный неинвазивный метод для выявления очагов в костях скелета и оценки распространенности и природы поражения мягких тканей и типа инфильтрации КМ. Этот метод показан в том числе при моноклональных гаммапатиях неопределенного значения (MGUS) и тлеющей миеломе, так как выявляет очаги размером 5 мм и, таким образом, уточняет прогрессирование опухолевого процесса. Однако при наличии некроза и воспаления очаговые поражения могут оставаться сверхинтенсивными как у ответивших, так и у не ответивших на терапию пациентов, поэтому заключение о достижении ПО на основании результатов МРТ бывает невозможно сделать однозначно.

Тогда как МРТ не позволяет правильно оценить активные очаги при миеломе после терапии, визуализация с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) доказала свою прогностическую значимость [18, 21] и может быть наиболее эффективным средством мониторинга МОБ при ММ. Специфическое достоинство ПЭТ — это способность выявлять как костномозговые, так и ЭМ очаги поражения, дифференцировать активные опухолевые и некротические ткани. Несмотря на широкое использование метода ПЭТ/КТ, сочетающего томографию и изотопный метод, существует ряд проблем: не у всех пациентов с ММ наблюдают выявляемые очаги (ПЭТ-авидные), и интерпретация данных осложняется гетерогенностью критериев визуализации и недостаточной воспроизводимостью у разных исследователей. Кроме того, ПЭТ/КТ не всегда достаточно информативна ввиду таких недостатков, как предел пространственного разрешения в 0,5 см и вероятность ложноотрицательных результатов при очень низком поглощении фтордезоксиглюкозы. При повторных исследованиях необходимо учитывать уровень радиационного облучения — более высокий по сравнению с рентгенографией и КТ [22, 23].

При оценке результативности терапии более специфичную ПЭТ/КТ с фтордезоксиглюкозой (¹⁸F-ФДГ) считают эталонным методом визуализации. Сохранение значительного аномального захвата ¹⁸F-ФДГ после лечения служит независимым негативным прогностическим фактором, и данный метод представляет собой важный инструмент для выявления МОБ перед началом поддерживающей терапии. Определение полного метаболического ответа при ПЭТ недавно было стандартизировано, а критерии интерпретации гармонизированы. Отмечены многообещающие результаты использования инновационных радиофармацевтических препаратов, таких как малые молекулы, нацеленные на хемокиновые рецепторы CXCR4, и меченные радиоактивным изотопом антитела к CD38, в качестве потенциальных тераностиков, являющихся одновременно диагностическими и противоопухолевыми средствами [24].

Аллель-специфичная олигонуклеотидная ПЦР (АСО-ПЦР)

Развитие рецидива у пациентов с ММ означает, что не все клоногенные злокачественные клетки были уничтожены и персистируют на выявленные вышеописанными методами остаточные опухолевые клетки. В связи с этим важно более точное мониторирование в ремиссии и рецидиве

с помощью молекулярно-биологических методов, в том числе АСО-ПЦР и количественной ПЦР (полимеразной цепной реакции) в реальном времени (ПЦР-РВ). Гипервариабельный регион реаранжировки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgH) используют как опухолевый маркер для детекции МОБ при ММ. Его определение и анализ последовательности требуют разработки аллель-специфичных олигонуклеотидных праймеров и определенного дизайна зондов [25].

Метод АСО-ПЦР для идентификации клональных реаранжировок IgH позволяет определять очень малые количества опухолевых ПК с чувствительностью 1×10^{-5} . В отличие от предшествующих качественных или полуколичественных методов ПЦР, метод АСО-ПЦР позволяет проводить точную количественную оценку МОБ. Он включает изготовление праймеров, комплементарных связывающему (junctional) региону реаранжированных генов IgH и используемых для исследования образцов КМ в различные сроки для определения глубины ответа, что требует наличия первоначального (полученного до начала лечения) диагностического образца.

Среди преимуществ ПЦР-методов детекции МОБ — их чувствительность, точность, воспроизводимость, потребность в небольших количествах ДНК, незаменимость при выполнении ретроспективных исследований. В то же время они более сложные, дорогостоящие, занимают больше времени и позволяют выявлять только исходный опухолевый клон. Тем не менее детекцию опухолевых маркеров при помощи ПЦР широко применяют для клинического исследования пациентов при установлении раннего рецидива или определении опухолевой контаминации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при аутологичной трансплантации (аутоТГСК). Таким образом, при использовании полностью специфичных для пациента праймеров/зондов метод АСО-ПЦР эффективен у > 90% пациентов с ММ, позволяя выявлять динамические изменения МОБ при аутоТГСК, несмотря на ПО, установленный общепринятыми методами [26].

NGS

Для оценки МОБ при злокачественных лимфоидных неоплазиях также используют метод NGS — количественный метод, основанный на применении консенсусных праймеров для универсальной амплификации с секвенированием всех реаранжированных сегментов генов Ig, присутствующих в клональных миеломных клетках [5, 27]. Метод NGS показал применимость более чем в 90% случаев и чувствительность $\leq 10^{-6}$. Он может использоваться во многих лабораториях, так как основан на автоматизированном анализе данных и не требует экспертной интерпретации (знания характеристик опухолевого клона), и на результаты молекулярных методов исследования не оказывают влияния генетическая гетерогенность и изменение клоальности злокачественных клеток в процессе лечения. Результаты NGS могут быть также интерпретированы для идентификации субклонов и клоальной эволюции на стадии МОБ [4]. Однако требуется дополнительная валидация для доказательства и подтверждения применимости данного метода при стратификации пациентов на группы риска.

МПЦ

На настоящий момент МПЦ служит одним из основных способов диагностики злокачественных новообразований

Таблица. Сравнение методов оценки МОБ в костном мозге [7]

	АСО-ПЦР	МПЦ	NGS
Применимость	60–70%	Около 100%	≥90%
Потребность в исходном образце	Да, необходимо создание пациент-специфичных зондов	Нет, опухолевые ПК можно определять в любых образцах по их фенотипическим различиям с нормальными ПК	Требуются исходные образцы для идентификации доминирующего клона; альтернатива — хранившиеся образцы с наличием опухолевых клеток для установления исходного статуса
Требования к образцу	< 10 ⁶ клеток	> 5 × 10 ⁶ клеток	< 10 ⁶ клеток, большее количество повышает чувствительность
Обработка образца	Может быть отсрочена; используют свежие и хранящиеся образцы	Исследование в течение 24–48 ч после забора образца	Может быть отсрочена; используют свежие и хранящиеся образцы
Контроль качества образца	Невозможен. Требуются дополнительные исследования	Немедленный с глобальным анализом клеток КМ	Невозможен. Требуются дополнительные исследования
Чувствительность	≥1 в 10 ⁵ клеток	≥1 в 10 ⁵ клеток	≥1 в 10 ⁵ клеток
Дополнительная информация о содержимом образца	Отсутствует	Подробная информация о содержании популяций лейкоцитов	Информация о репертуаре генов Ig В-клеток в исследуемых образцах
Длительность и сложность выполнения	Необходим синтез пациент-специфичных праймеров/зондов; может занять несколько дней	Выполняется за несколько часов; существует автоматизированная система обработки данных	Может занять несколько дней; требуется значительная биоинформационная поддержка
Стандартизация	Выполнена для других заболеваний (EuroMRD), может быть осуществлена и для ММ	Стандартизован EuroFlow	В процессе
Доступность	Широкая; около 60 лабораторий, членов EuroMRD, дважды в год участвуют в проверке контроля качества	Большинство учреждений с проточными цитометрами (4 и более цветов). Многие лаборатории используют протоколы и наборы EuroFlow	Ограничена одной компанией-производителем/платформой

и позволяет выявлять злокачественные ПК в КМ по aberrантной экспрессии поверхностных маркеров приблизительно у 90% пациентов. Шестицветная МПЦ обладает чувствительностью 1×10^{-4} миеломных клеток, использование восьми и более цветов или маркеров повышает чувствительность (до 1×10^{-6} опухолевых клеток) и специфичность метода. Метод также позволяет дифференцировать экспрессию легких κ или λ цепей Ig (IgL) [28, 29]. За последние годы чувствительность МПЦ возросла до $\geq 10^{-5}$ благодаря одновременной оценке 8 и более маркеров в одной пробирке, позволяя определять aberrантные фенотипы ПК для оценки МОБ при подсчете достаточного числа клеток ($\geq 5 \times 10^6$) [30–32]. Создание проточных цитофлуориметров, позволяющих детектировать до 30 маркеров одновременно, привело к увеличению числа флуорохромов, которые могут использовать в одной пробирке, а также количества исследуемых клеток.

МПЦ также позволяет оценить роль опухолевого микроокружения при плазмноклеточных заболеваниях [33] и идентифицировать возможные терапевтические мишени на злокачественных ПК [34].

Описано много поверхностных маркеров, позволяющих отличать опухолевые ПК от нормальных. Наиболее часто используют CD138, CD38, CD45, CD56, CD19 и цитоплазматические κ и λ легкие цепи Ig. Дополнительными диагностическими маркерами, многие из которых характеризуются aberrантной экспрессией на ПК, служат CD20, CD27, CD28, CD81, CD117 и CD200 [35]. При терапии моноклональными антителами против CD38 или CD138 полезными могут оказаться CD54, CD229, CD319. Однако гетерогенность экспрессии этих маркеров и различия в количестве исследуемых событий и стратегии анализа создают сложности и противоречия при интерпретации результатов, полученных в ходе различных исследований [36].

Значение МПЦ подтверждено при прогнозировании результатов аутоТГСК. По данным многих исследователей, МПЦ МОБ(–)-статус на 100-й день у пациентов, получивших аутоТГСК, представляет собой один из наиболее важных предикторов исхода заболевания и ассоциирован со статистически значимым улучшением показателя ВБП вне зависимости от цитогенетических характеристик [6, 37, 38].

По данным исследования, из пациентов после аутоТГСК с поддерживающей терапией леналидомидом в течение года у 58% обследованных удалось достичь ПО, из них 68% были МОБ(–) по результатам МПЦ. Трехлетняя ВБП составляла 77%, а ОВ — 100%. Ни у одного из пациентов, достигших МОБ(–)-статуса, не было рецидива после достижения медианы 39 месяцев [35].

Однако метод МПЦ имеет ряд ограничений: требования, предъявляемые к качеству исследуемых образцов КМ, отсутствие стандартизации протоколов МПЦ и вариабельность чувствительности метода, состав панелей моноклональных антител и качество выполнения в различных лабораториях [39]. Кроме того, методы МПЦ первого поколения не обладают такой чувствительностью, как АСО-ПЦР и NGS.

МПЦ нового поколения (next-generation flow)

Учитывая вариабельность методики выполнения МПЦ, для единообразия критериев установления МОБ требуется выработка консенсуса [40]. Консорциумом EuroFlow и IMWG разработаны более чувствительные методы с новым дизайном и подсчетом большего числа клеток — МПЦ нового поколения (next-generation flow, NGF). Разработана валидированная восьмицветная панель антител для диагностики ММ: 1-я пробирка — CD45/CD138/CD38/CD56/ β_2 микроглобулин/CD19/cyIgkappa/cyIglambda, 2-я пробирка — CD45/CD138/CD38/CD28/CD27/CD19/CD117

[41], где используют четыре базовых маркера (CD38, CD138, CD45, CD19) и восемь дополнительных для последующих идентификации, подсчета и характеристики опухолевых ПК. Данный способ позволяет одновременно анализировать до 10^6 клеток. Разработаны также программные алгоритмы для автоматической идентификации клональных ПК (т. е. МОБ) в образцах КМ.

Метод NGF получил одобрение IMWG в качестве эталонного для установления иммунофенотипических ПО при ММ и достигает чувствительности 2×10^{-6} , превосходя предыдущие протоколы МПЦ (10^{-4} – 10^{-5}), но сильно зависит от точной идентификации патологического иммунофенотипа, что требует высокого уровня квалификации специалиста [42].

Показано также, хотя и на основании небольшого количества данных, что метод NGF превосходит NGS [40]. Оценка МОБ через три месяца после аутоТГСК у пациентов с ММ методом NGS (LymphoTrack®) в сравнении с результатами NGF (EuroFlow) показала, что использование различных образцов КМ повлияло на применимость оценки МОБ с предпочтением NGF, однако корреляция между NGS и NGF была высокой ($r = 0,905$). Трехлетняя ВБП при использовании методов NGS и NGF была выше у МОБ-негативных пациентов по сравнению с МОБ-положительными (NGS: 88,7 против 56,6%; NGF: 91,4 против 50%; $p < 0,001$ для обоих сравнений), что привело к преимуществу трехлетней ОБ (NGS: 96,2 против 77,3%; NGF: 96,6 против 74,9%, $p < 0,01$ для обоих сравнений). В модели регрессии Кокса МОБ-негативность в NGS и NGF имела схожие результаты, но предпочтение отдавали последнему в отношении ВБП (ОР: 0,20, 95% ДИ: 0,09–0,45, $p < 0,001$) и ОБ (ОР: 0,21, 95% ДИ: 0,06–0,75), $p = 0,02$). Полученные результаты показывают, что по чувствительности МПЦ может приближаться к молекулярным методам [43].

С использованием NGF мы можем сегодня войти в новую фазу количественной оценки остаточной болезни, перейдя от определения «минимальной» к «измеримой» остаточной болезни [44].

Применение лечебных препаратов на основе антител к CD38, таких как даратумумаб [45], которые снижают экспрессию антигена CD38 на ПК, также привело к необходимости поиска альтернативных маркеров идентификации нормальных или неопластических ПК. Для этой цели оказались информативными маркеры CD269, CD319, CD229 и CD54, позволяющие идентифицировать ПК в более «сложных» образцах, включая долго хранившиеся [29]. Следует отметить, что на результаты NGS терапия моноклональными антителами не оказывает такого влияния.

Сравнение методов

Каждый из описанных методов оценки МОБ (основанный на фенотипе ПК и/или генотипе) обладает как преимуществами, так и недостатками, которые следует учитывать (см. табл.).

Проведен сравнительный анализ применимости, чувствительности и прогностической значимости метода АСО-ПЦР и МПЦ для оценки МОБ у 170 пациентов с ММ, достигших хотя бы частичного ответа на терапию [46]. Отсутствие выявления клональности (18%), неудачи при секвенировании (10%) и субоптимальные характеристики результатов АСО-ПЦР (30%) ограничили применимость ПЦР до 42% случаев. При сравнении оценки МОБ с помощью ПЦР и МПЦ наблюдали значимую корреляцию результатов обоих методов ($r = 0,881$). Среди пациентов с

полным ответом по результатам ПЦР выделили две группы риска с различной длительностью ВБП (49 vs. 26 месяцев, $p = 0,001$) и ОБ (не достигнуто vs. 60 месяцев, $p = 0,008$). Обладая менее широкой применимостью по сравнению с МПЦ, метод АСО-ПЦР тем не менее позволяет оценивать эффективность терапии и проводить стратификацию больных ММ на группы риска [46].

В свете появления новых подходов к терапии ММ и новых препаратов проведено сравнение способности этих методов прогнозировать результат лечения [47]. Оба они дали практически идентичные кривые выживаемости с очень высокими прогностическими значениями при оценке МОБ как у интенсивно, так и не интенсивно леченных пациентов, что подтверждает значимость обоих методов для прогноза результатов терапии. Однако ЭМ рецидивы далеко не всегда выявляют обоими методами.

Таким образом, АСО-ПЦР и МПЦ представляют собой надежные методы для мониторинга эффективности лечения, позволяющие с высокой вероятностью прогнозировать исход как у пациентов после аутоТГСК, так и у не получавших трансплантацию лиц. Метод АСО-ПЦР обладает большей чувствительностью, однако МПЦ используют чаще. МПЦ следует рассматривать как метод выбора при оценке МОБ при ММ, а молекулярные методы можно считать дополнительным инструментом до тех пор, пока не будет продемонстрировано их сравнительное преимущество [48].

Метод ПЦР-РВ обладает большей чувствительностью по сравнению с МПЦ, тогда как МПЦ более простой и быстрый, они могут взаимно дополнять друг друга при оценке МОБ у больных ММ. Показана достоверная корреляция между выявлением МОБ у пациентов с ММ методом ПЦР-РВ и экспрессией CD138 [49].

По результатам исследования RV-ММ-EMN-441 у пациентов, получивших консолидацию в виде ауто-ТГСК, величина МОБ ниже, чем у получавших курс циклофосфамид + леналидомид + дексаметазон. Прогрессия МОБ предшествовала клиническим проявлениям рецидива с медианой девять месяцев, а биохимическим признакам рецидива — с медианой четыре месяца. Выявление МОБ как методом МПЦ, так и ПЦР-РВ позволило идентифицировать группу низкого риска и лучше охарактеризовать эффект терапии [50].

Идеальный метод выявления МОБ должен обладать рядом необходимых характеристик, в числе которых: высокая применимость (возможность использования у большинства пациентов), высокая чувствительность и специфичность, хорошая возможность выполнения (результаты могут быть получены у большинства пациентов), доступность, небольшая продолжительность, потребность в небольшом объеме исследуемого образца, который хорошо поддается транспортировке, воспроизводимость, доказанная клиническая значимость и экономическая эффективность. Существенный недостаток молекулярного метода, основанного на секвенировании, состоит в потребности в наличии исходного образца для установления опухоль-специфичных последовательностей. В настоящее время не существует методов, которые бы полностью удовлетворяли этим идеальным критериям, однако методы NGS и NGF соответствуют большинству из них [5, 27, 51].

Выявление МОБ в периферической крови

Клональные ПК при ММ обычно локализируются в КМ, однако небольшие их количества можно определять

чувствительными методами в периферической крови у большинства пациентов с ММ. Наличие циркулирующих опухолевых клеток ассоциировано с меньшей ВБП и худшей ОВ. Так, при исследовании ПК в периферической крови методом МПЦ у ранее получавших лечение пациентов с ММ ни у одного из достигших ПО не было выявлено циркулирующих ПК при первичном исследовании, тогда как у пациентов с развившимся рецидивом эти клетки присутствовали [52].

Молекулярно-генетические методы также используют для выявления малых количеств циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови. Показано, что, хотя по результатам АСО-ПЦР уровень МОБ в периферической крови был значительно ниже по сравнению с КМ, пациенты после аутоТГСК с негативными результатами АСО-ПЦР через три месяца характеризовались большей бессобытийной выживаемостью (медиана 15 месяцев vs четыре месяца) и ОВ (медиана 52 месяца vs 17 месяцев) [53]. Мониторинг клонотипических клеток в периферической крови методом секвенирования способствовало раннему выявлению рецидива ММ. Результаты другого исследования с применением АСО-ПЦР показали возможность выявления клонов миеломных клеток с частотой менее одной клетки на 10^6 лейкоцитов. При этом удалось выявить миеломные клетки в периферической крови у 96% пациентов [54]. Несмотря на наличие корреляции между величиной ММ-клона при параллельном исследовании образцов КМ и периферической крови, ни у одного из пациентов в описываемых исследованиях не удалось достичь полной ремиссии. В ряде работ оценивали ДНК циркулирующих клеток для выявления небольших количеств остаточных опухолевых клеток, что позволяет также отслеживать отдельные опухолевые клоны [55, 56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая значимость определения МОБ-статуса у больных ММ в условиях появления новых препаратов, совершенствования программ трансплантации ГСК и улучшения результатов терапии в целом, особенно важным становится использование в клинической практике наиболее чувствительных и информативных методов выявления остаточных опухолевых клеток.

Идеальный метод мониторинга МОБ должен идентифицировать патологические плазматические клетки с помощью чувствительного, прогностического,

неинвазивного, стандартизированного, экономически эффективного и доступного подхода. Наряду с эволюцией иммунологических подходов существует множество новых постоянно разрабатываемых дополнительных путей выявления остаточных опухолевых клеток в костном мозге и за его пределами.

Методы визуализации, такие как ПЭТ-КТ или МРТ, позволяют выявить остаточное заболевание, включая костномозговые и экстрамедуллярные очаги. При этом недавние исследования показывают, что диффузионно-взвешенная МРТ всего тела (WB-DWI-MRI) может обеспечить лучшую оценку МОБ, чем ПЭТ-КТ с ФДГ [57]. NGS с секвенированием локусов IgH/IgK/IgL для выявления реаранжировок гена Ig в клетках ММ становится важным методом выявления МОБ. Данные NGS могут быть дополнительно интерпретированы для идентификации субклонов, клональной эволюции и роста отдельных клонов на стадии МОБ. Параллельно с другими клиническими оценками следует проводить исследования МОБ в образцах костного мозга с использованием проверенных и стандартизированных процедур, обладающих высоким порогом чувствительности, в идеале 10^{-6} , которые в настоящее время включают NGF и NGS.

Основываясь на анализе плюсов и минусов каждого метода обнаружения МОБ, можно заключить, что в целом, по чувствительности NGS или NGF > МПЦ > АСО-ПЦР, а по применимости — МПЦ или NGF > NGS > АСО-ПЦР, так как метод АСО-ПЦР требует наличия диагностических образцов для идентификации последовательностей клонотипов, специфичных для пациента [4].

Объединение методов NGF, NGS и ПЭТ-КТ для комплексного выявления МОБ ММ — перспективная тенденция, поскольку сочетание интрамедуллярного отрицательного результата МОБ, определяемого с помощью МПЦ или NGS, и экстрамедуллярного отрицательного результата по WB-DWI-MRI или ПЭТ-КТ может обеспечить более точную оценку глубокой ремиссии [58]. В настоящее время на стадии лабораторных и доклинических исследований находятся такие новые методы, как матричная лазерная десорбция/ионизация-масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия, определение циркулирующей внеклеточной ДНК и секвенирование РНК на уровне одной клетки [59, 60]. Включение в программы обследования больных ММ новых альтернативных методов может кардинально изменить оценку МОБ ММ в будущем.

Литература

1. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022; 140 (11): 1229–53. DOI: 10.1182/blood.2022015851.
2. Paiva B, Chandia M, Puig N, Vidriales MB, Perez JJ, Lopez-Corral L, et al. The prognostic value of multiparameter flow cytometry minimal residual disease assessment in relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100 (2): e53–e55. DOI: 10.3324/haematol.2014.115162.
3. Bertamini L, D'Agostino M, Gay F. MRD Assessment in Multiple Myeloma: Progress and Challenges. *Curr Hematol Malig Rep*. 2021; 16 (2): 162–71. DOI: 10.1007/s11899-021-00633-5.
4. Ding H, Xu J, Lin Z, Huang J, F Wang F, Yang Y, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: current status. *Biomark Res*. 2021; 9 (75): 1–10. DOI: 10.1186/s40364-021-00328-2.
5. Martinez-Lopez J, Lahuerta JJ, Pepin F, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood*. 2014; 123 (20): 3073–9. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550020.
6. Rawstron AC, Gregory WM, De Tute RM, Davies FE, Bell SE, Drayson MT, et al. Minimal Residual Disease in Myeloma by Flow Cytometry: Independent Prediction of Survival Benefit per Log Reduction. *Blood*. 2015; 125: 1932–5. DOI: 10.1182/blood-2014-07-590166.
7. Kumar S, Paiva B, Anderson K, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple

- myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016; 17 (8): e328–e346. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
8. Голеньков А. К., Митина Т. А., Клинушкина Е. Ф., Катаева Е. В., Чуксина Ю. Ю., Черных Ю. Б. и др. Корреляции свободных легких цепей иммуноглобулинов с биохимическими и иммунологическими показателями крови у больных с множественной миеломой. *Вестник гематологии*. 2023; 1 (19): 23–8.
 9. Singhal S, Vickrey E, Krishnamurthy J, Singh V, Allen S, Mehta J. The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Blood*. 2009; 1 (114): 38–9.
 10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel Durie JS, Harousseau BG, Miguel JL, Bladé JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006; 9 (20): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
 11. Kyrtsolis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A, et al. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007; 3 (137): 240–3. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06561.x.
 12. Van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K, Pineda-Roman M, Anaissie E, Epstein J, et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood*. 2007; 110 (3): 827–32. DOI: 10.1182/blood-2007-01-067728.
 13. Mead GP, Drayson MT. Sensitivity of serum free light chain measurement of residual disease in multiple myeloma patients. 2009; 8 (114): 1717.
 14. Giarin MM, Giaccone L, Sorasio R, Stilgoi C, Amoroso B, Cavallo F, et al. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*. 2009; 55 (8): 1510–6. DOI:10.1373/clinchem.2009.124370.
 15. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buad F, Dingli D, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stemcell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (36): 4529–35. DOI:10.1200/JCO.2013.49.0086.
 16. Chee CE, Kumar S, Larson DR, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009; 13 (114): 2617–8. DOI:10.1182/blood-2009-01-198788.
 17. De Larrea F, Tovar N, Rozman M, Laura Rosiñol L, Arostegui JI, Cibeiraet MT, et al. Multiple myeloma in serologic complete remission after autologous stem cell transplantation: impact of bone marrow plasma cell assessment by conventional morphology on disease progression. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1084–7.
 18. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011; 118 (23): 5989–95. DOI: 10.1182/blood-2011-06-361386.
 19. Reghunathan R, Bi C, Liu SC, Loong KT, Chung TH, Huang G, Chng WJ, et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget*. 2013; 4 (8): 1230–40. DOI: 10.18632/oncotarget.1145.
 20. Zent CS, Wilson CS, Tricot G, Jagannath S, Siegel D, Desikanet KR, et al. Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 1998; 9 (91): 3518–23.
 21. Sachpekidis C, Goldschmidt H, Dimitrakopoulou-Strauss A. Positron Emission Tomography (PET) Radiopharmaceuticals in Multiple Myeloma. *Molecules*. 2019; 25 (1): 134. DOI: 10.3390/molecules25010134.
 22. Панкратов А. Е., Зейналова П. А. Роль ПЭТ/КТ в диагностике и оценке эффекта у больных множественной миеломой. *Онкогематология*. 2021; 16 (3): 33–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-33-39.
 23. Ghimire K, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, et al. Incidence and survival outcomes of extramedullary myeloma. *Blood*. 2013; 122 (21): 3141. DOI: 10.1182/blood.V122.21.1696.1696.
 24. Kraeber-Bodere F, Jamet B, Bezzi D, Zamagni E, Moreau P, Nanni C. New Developments in Myeloma Treatment and Response Assessment. *J Nucl Med*. 2023; 64 (9): 1331–43. DOI:10.2967/jnumed.122.264972.
 25. Van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007; 21: 604–11.
 26. Bai Y, Wong K, Fung T, Chim C. High applicability of ASO-RQPCR for detection of minimal residual disease in multiple myeloma by entirely patient-specific primers/probes. *J Hematol Oncol*. 2016; 9 (1): 107. DOI: 10.1016/s1083-8791(00)70006-1.
 27. Ladetto M, Donovan JW, Harig S, Trojan A, Poor C, Schlossnaget R, et al. Real-time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000; 6: 241–53.
 28. Paiva BN, Gutierrez CL, Rosinol MB, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustainable complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 29. Rawstron AC, Child JA, de Tute RM, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (20): 2540–7. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.2119.
 30. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte Q, Pedreira CE, van der Velden VH, Novakova M, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four-year (2010–2013) quality assurance rounds. *Cytometry A*. 2015; 87 (2): 145–56. DOI: 10.1002/cyto.a.22581.
 31. Гривцова Л. Ю., Лунин В. В., Семенова А. А., Ларионова В. Б., Тумян Г. С. Минимальная остаточная болезнь при плазмоклеточной (множественной) миеломе: проточнo-цитометрические подходы. *Онкогематология*. 2020; 15 (1): 40–50. DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50.
 32. Толстых Е. Э., Тупицын Н. Н. Ключевые маркеры диагностики минимальной остаточной болезни при множественной миеломе. *Российский биотерапевтический журнал*. 2022; 21 (1): 42–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-4.
 33. Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, Ocio EM, Sharma R, Oyajobi BO, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015; 29 (10): 2110–3. DOI:10.1038/leu.2015.79.
 34. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol*. 2010; 149: 334–51.
 35. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, Lin P, Jorgensen JL, Orfao A, et al. Consensus guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015; 90: 26–30. DOI: 10.1002/cyto.b.21249.
 36. Flanders A, Stetler-Stevenson M, Landgren O. Minimal residual disease testing in multiple myeloma by flow cytometry: major heterogeneity. *Blood*. 2013; 122: 1088–89.
 37. Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustainable complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 38. Соловьев М. В., Менделеева Л. П., Гальцева И. В., Покровская О. С., Фирсова М. В., Нарейко М. В. и др. Значение минимальной остаточной болезни после трансплантации аутологичных стволовых клеток при множественной миеломе. *Гематол. и трансфузиол.* 2014; 59 (1): 69.
 39. Nishihori T, Song J, Shain K. Minimal Residual Disease Assessment in the Context of Multiple Myeloma Treatment. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016; 11: 118–26. DOI: 10.1007/s11899-016-0308-3.
 40. Roschewski M, Stetler-Stevenson M, Yuan C, Mailankody S,

- Korde N, Landgren O. Minimal residual disease: what are the minimum requirements? *J Clin Oncol*. 2014; 32 (5): 475–6.
41. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Garcia-Sanchez O, Böttcher S, et al. Next generation flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017; 31 (10): 2094–103. DOI:10.1038/leu.2017.29.
 42. Bai Y, Orfao A, Chim CS. Molecular detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2018; 181: 11–26. DOI: 10.1111/bjh.15075.
 43. Medina-Herrera A, Sarasquete ME, Jiménez C, Puig N, García-Sanz R. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (14): 3687. DOI: 10.3390/cancers15143687.
 44. Pacelli P, Raspadori D, Bestoso E, Gozzetti A, Bocchia M. «Friends and foes» of multiple myeloma measurable/minimal residual disease evaluation by next generation flow. *Front Oncol*. 2022; 12: 1057713. DOI: 10.3389/fonc.2022.1057713.
 45. Khagi Y, Mark TM. Potential role of daratumumab in the treatment of multiple myeloma. *Onco Targets Ther*. 2014; 7: 1095–100.
 46. San Miguel J, Harousseau JL, Joshua D, Anderson KC. Individualizing treatment of patients with myeloma in the era of novel agents. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 2761–66.
 47. Wirk B, Wingard JR, Moreb JS. Extramedullary disease in plasma cell myeloma: the iceberg phenomenon. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48 (1): 10–8. DOI: 10.1038/bmt.2012.26.
 48. Puig N, Sarasquete M, Balanzategui A, Martínez J, Paiva B, García H, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014; 28 (2): 391–7. DOI: 10.1038/leu.2013.217.
 49. Kara IO, Duman BB, Afsar CU. The evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma by fluorescent molecular beacons in real time PCR of IgH gene rearrangements and correlation with flow cytometry. *J BUON*. 2013; 18 (2): 442–7.
 50. Oliva S, Gambella M, Gilestro M, Muccio V, Gay F, Drandi D, et al. Minimal residual disease after transplantation or lenalidomide-based consolidation in myeloma patients: a prospective analysis. *Oncotarget*. 2017; 8 (4): 5924–35. DOI: 10.18632/oncotarget.12641.
 51. Korde N, Roschewski M, Zingone A, Kwok M, Manasanch EE, Bhutani M, et al. Treatment with carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone with lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. *JAMA Oncol*. 2015; 1 (6): 746–54. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.2010.
 52. Gonsalves WL, Morice WG, Rajkumar V, Gupta V, Timm MM, Dispenzieri A, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2014; 167 (4): 500–5. DOI: 10.1111/bjh.13067.
 53. Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, Schroeder T, Strapatsas T, Kobbe G, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19 (7): 1109–15. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.04.025.
 54. Vij R, Mazumder A, Klinger M, O'Dea D, Paasch J, Martin T, et al. Deep sequencing reveals myeloma cells in peripheral blood in majority of multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14 (2): 131–19. DOI: 10.1016/j.clml.2013.09.013.
 55. Rustad EH, Coward E, Skytøen ER, Misund K, Holien T, Standal T, et al. Monitoring multiple myeloma by quantification of recurrent mutations in serum. *Haematologica*. 2017; 102 (7): 1266–72. DOI: 10.3324/haematol.2016.160564.
 56. Kis O, Kaedbey R, Chow S, Danesh A, Dowar M, Li T, et al. Circulating tumour DNA sequence analysis as an alternative to multiple myeloma bone marrow aspirates. *Nat Commun*. 2017; 8: 15086. DOI: 10.1038/ncomms15086.
 57. Pawlyn C, Fowkes L, Otero S, Jones JR, Boyd KD, Davies FE, et al. Whole body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia*. 2016; 30 (6): 1446–8. DOI: 10.1038/leu.2015.338.
 58. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, Neri P, Paiva B, Samur M, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2020; 4 (23): 5988–99. DOI: 0.1182/bloodadvances.2020002827.
 59. Guo G, Raje NS, Seifer C, Kloeber J, Isenhardt R, Ha G, et al. Genomic discovery and clonal tracking in multiple myeloma by cell-free DNA sequencing. *Leukemia*. 2018; 32 (8): 1838–41. DOI: 10.1038/s41375-018-0115-z.
 60. Ryu D, Kim SJ, Hong Y, Jo A, Kim N, Kim HJ, et al. Alterations in the transcriptional programs of myeloma cells and the microenvironment during extramedullary progression affect proliferation and immune evasion. *Clin Cancer Res*. 2020; 26 (4): 935–44. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-19-0694.

References

1. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022; 140 (11): 1229–53. DOI: 10.1182/blood.2022015851.
2. Paiva B, Chandia M, Puig N, Vidriales MB, Perez JJ, Lopez-Corral L, et al. The prognostic value of multiparameter flow cytometry minimal residual disease assessment in relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100 (2): e53–e55. DOI: 10.3324/haematol.2014.115162.
3. Bertamini L, D'Agostino M, Gay F. MRD Assessment in Multiple Myeloma: Progress and Challenges. *Curr Hematol Malig Rep*. 2021; 16 (2): 162–71. DOI: 10.1007/s11899-021-00633-5.
4. Ding H, Xu J, Lin Z, Huang J, F Wang F, Yang Y, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: current status. *Biomark Res*. 2021; 9 (75): 1–10. DOI: 10.1186/s40364-021-00328-2.
5. Martínez-López J, Lahuerta JJ, Pepin F, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood*. 2014; 123 (20): 3073–9. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550020.
6. Rawstron AC, Gregory WM, De Tute RM, Davies FE, Bell SE, Drayson MT, et al. Minimal Residual Disease in Myeloma by Flow Cytometry: Independent Prediction of Survival Benefit per Log Reduction. *Blood*. 2015; 125: 1932–5. DOI: 10.1182/blood-2014-07-590166.
7. Kumar S, Paiva B, Anderson K, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016; 17 (8): e328–e346. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
8. Golenkov AK, Mitina TA, Klinushkina EF, Kataeva EV, Chuksina YuYu, Chernykh YuB, et al. Correlation of immunoglobulin free light chains with biochemical and immunochemical parameters of blood in patients with multiple myeloma. *Bulletin of hematology*. 2023; 1 (19): 23–8. Russian.
9. Singhal S, Vickrey E, Krishnamurthy J, Singh V, Allen S, Mehta J. The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Blood*. 2009; 1 (114): 38–9.
10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel Durie JS, Harousseau BG, Miguel JL, Bladé JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006; 9 (20): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
11. Kyrtsolis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A, et al. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007; 3 (137): 240–3. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06561.x.
12. Van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K, Pineda-Roman M, Anaissie E, Epstein J, et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood*. 2007; 110 (3):

- 827–32. DOI: 10.1182/blood-2007-01-067728.
13. Mead GP, Drayson MT. Sensitivity of serum free light chain measurement of residual disease in multiple myeloma patients. *Blood*. 2009; 8 (114): 1717.
 14. Giarin MM, Giaccone L, Sorasio R, Sfiligoi C, Amoroso B, Cavallo F, et al. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*. 2009; 55 (8): 1510–6. DOI:10.1373/clinchem.2009.124370.
 15. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buad F, Dingli D, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stemcell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (36): 4529–35. DOI:10.1200/JCO.2013.49.0086.
 16. Chee CE, Kumar S, Larson DR, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009; 13 (114): 2617–8. DOI:10.1182/blood-2009-01-198788.
 17. De Larrea F, Tovar N, Rozman M, Laura Rosiñol L, Arostegui JI, Ciberaet MT, et al. Multiple myeloma in serologic complete remission after autologous stem cell transplantation: impact of bone marrow plasma cell assessment by conventional morphology on disease progression. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1084–7.
 18. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011; 118 (23): 5989–95. DOI: 10.1182/blood-2011-06-361386.
 19. Reghunathan R, Bi C, Liu SC, Loong KT, Chung TH, Huang G, Chng WJ, et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget*. 2013; 4 (8): 1230–40. DOI: 10.18632/oncotarget.1145.
 20. Zent CS, Wilson CS, Tricot G, Jagannath S, Siegel D, Desikanet KR, et al. Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 1998; 9 (91): 3518–23.
 21. Sachpekidis C, Goldschmidt H, Dimitrakopoulou-Strauss A. Positron Emission Tomography (PET) Radiopharmaceuticals in Multiple Myeloma. *Molecules*. 2019; 25 (1): 134. DOI: 10.3390/molecules25010134.
 22. Pankratov AE, Zeynalova PA. The role of PET/CT in the diagnosis and response assessment in patients with multiple myeloma. *Oncohematology*. 2021; 16 (3): 33–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-33-39. Russian.
 23. Ghimire K, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, et al. Incidence and survival outcomes of extramedullary myeloma. *Blood*. 2013; 122 (21): 3141. DOI: 10.1182/blood.V122.21.1696.1696.
 24. Kraeber-Bodere F, Jamet B, Bezzi D, Zamagni E, Moreau P, Nanni C. New Developments in Myeloma Treatment and Response Assessment. *J Nucl Med*. 2023; 64 (9): 1331–43. DOI:10.2967/jnumed.122.264972.
 25. Van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007; 21: 604–11.
 26. Bai Y, Wong K, Fung T, Chim C. High applicability of ASO-RQPCR for detection of minimal residual disease in multiple myeloma by entirely patient-specific primers/probes. *J Hematol Oncol*. 2016; 9 (1): 107. DOI: 10.1016/s1083-8791(00)70006-1.
 27. Ladetto M, Donovan JW, Harig S, Trojan A, Poor C, Schlossnaget R, et al. Real-time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000; 6: 241–53.
 28. Paiva BN, Gutierrez CL, Rosinol MB, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 29. Rawstron AC, Child JA, de Tute RM, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (20): 2540–7. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.2119.
 30. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte Q, Pedreira CE, van der Velden VH, Novakova M, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four-year (2010–2013) quality assurance rounds. *Cytometry A*. 2015; 87 (2): 145–56. DOI: 10.1002/cyto.a.22581.
 31. Grivtsova LYu, Lunin VV, Semenova AA, et al. Minimal residual disease in plasma cell (multiple) myeloma: flow cytometric approaches. *Oncohematology*. 2020; 15 (1): 40–50. DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50. Russian.
 32. Tolstykh EE, Tupitsyn NN. Key markers for diagnosis of minimal residual disease in multiple myeloma. *Russian Journal of Biotherapy*. 2022; 21 (1): 42–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-4. Russian.
 33. Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, Ocio EM, Sharma R, Oyajobi BO, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015; 29 (10): 2110–3. DOI:10.1038/leu.2015.79.
 34. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol*. 2010; 149: 334–51.
 35. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, Lin P, Jorgensen JL, Orfao A, et al. Consensus guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015; 90: 26–30. DOI: 10.1002/cyto.b.21249.
 36. Flanders A, Stetler-Stevenson M, Landgren O. Minimal residual disease testing in multiple myeloma by flow cytometry: major heterogeneity. *Blood*. 2013; 122: 1088–89.
 37. Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 38. Solovov MV, Mendeleva LP, Galtseva IV, Pokrovskaya OS, Firsova MV, Nareyko MV, et al. Znachenie minimal'noy ostatochnoy bolezni posle transplantatsii autologichnykh stvolovykh kletok pri mnozhestvennoy mielome. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2014; 59 (1): 69. Russian.
 39. Nishihori T, Song J, Shain K. Minimal Residual Disease Assessment in the Context of Multiple Myeloma Treatment. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016; 11: 118–26. DOI: 10.1007/s11899-016-0308-3.
 40. Roschewski M, Stetler-Stevenson M, Yuan C, Mailankody S, Korde N, Landgren O. Minimal residual disease: what are the minimum requirements? *J Clin Oncol*. 2014; 32 (5): 475–6.
 41. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Puig N, Garcia-Sanchez O, Böttcher S, et al. Next generation flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017; 31 (10): 2094–103. DOI:10.1038/leu.2017.29.
 42. Bai Y, Orfao A, Chim CS. Molecular detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2018; 181: 11–26. DOI: 10.1111/bjh.15075.
 43. Medina-Herrera A, Sarasquete ME, Jiménez C, Puig N, García-Sanz R. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (14): 3687. DOI: 10.3390/cancers15143687.
 44. Pacelli P, Raspadori D, Bestoso E, Gozzetti A, Bocchia M. «Friends and foes» of multiple myeloma measurable/minimal residual disease evaluation by next generation flow. *Front Oncol*. 2022; 12: 1057713. DOI: 10.3389/fonc.2022.1057713.
 45. Khagi Y, Mark TM. Potential role of daratumumab in the treatment of multiple myeloma. *Onco Targets Ther*. 2014; 7: 1095–100.
 46. San Miguel J, Harousseau JL, Joshua D, Anderson KC. Individualizing treatment of patients with myeloma in the era of novel agents. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 2761–66.
 47. Wirk B, Wingard JR, Moreb JS. Extramedullary disease in plasma cell myeloma: the iceberg phenomenon. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48 (1): 10–8. DOI: 10.1038/bmt.2012.26.

48. Puig N, Sarasquete M, Balanzategui A, Martínez J, Paiva B, García H, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014; 28 (2): 391–7. DOI: 10.1038/leu.2013.217.
49. Kara IO, Duman BB, Afsar CU. The evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma by fluorescent molecular beacons in real time PCR of IgH gene rearrangements and correlation with flow cytometry. *J BUON*. 2013; 18 (2): 442–7.
50. Oliva S, Gambella M, Gilestro M, Muccio V, Gay F, Drandi D, et al. Minimal residual disease after transplantation or lenalidomide-based consolidation in myeloma patients: a prospective analysis. *Oncotarget*. 2017; 8 (4): 5924–35. DOI: 10.18632/oncotarget.12641.
51. Korde N, Roschewski M, Zingone A, Kwok M, Manasanch EE, Bhutani M, et al. Treatment with carfi Ixomib-lenalidomide-dexamethasone with lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. *JAMA Oncol*. 2015; 1 (6): 746–54. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.2010.
52. Gonsalves WI, Morice WG, Rajkumar V, Gupta V, Timm MM, Dispenzieri A, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2014; 167 (4): 500–5. DOI: 10.1111/bjh.13067.
53. Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, Schroeder T, Strapatsas T, Kobbe G, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19 (7): 1109–15. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.04.025.
54. Vij R, Mazumder A, Klinger M, O'Dea D, Paasch J, Martin T, et al. Deep sequencing reveals myeloma cells in peripheral blood in majority of multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14 (2): 131–19. DOI: 10.1016/j.clml.2013.09.013.
55. Rustad EH, Coward E, Skytøen ER, Misund K, Holien T, Standal T, et al. Monitoring multiple myeloma by quantification of recurrent mutations in serum. *Haematologica*. 2017; 102 (7): 1266–72. DOI: 10.3324/haematol.2016.160564.
56. Kis O, Kaedbey R, Chow S, Danesh A, Dowar M, Li T, et al. Circulating tumour DNA sequence analysis as an alternative to multiple myeloma bone marrow aspirates. *Nat Commun*. 2017; 8: 15086. DOI: 10.1038/ncomms15086.
57. Pawlyn C, Fowkes L, Otero S, Jones JR, Boyd KD, Davies FE, et al. Whole body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia*. 2016; 30 (6): 1446–8. DOI: 10.1038/leu.2015.338.
58. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, Neri P, Paiva B, Samur M, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2020; 4 (23): 5988–99. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002827.
59. Guo G, Raje NS, Seifer C, Kloeber J, Isenhardt R, Ha G, et al. Genomic discovery and clonal tracking in multiple myeloma by cell-free DNA sequencing. *Leukemia*. 2018; 32 (8): 1838–41. DOI: 10.1038/s41375-018-0115-z.
60. Ryu D, Kim SJ, Hong Y, Jo A, Kim N, Kim HJ, et al. Alterations in the transcriptional programs of myeloma cells and the microenvironment during extramedullary progression affect proliferation and immune evasion. *Clin Cancer Res*. 2020; 26 (4): 935–44. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-19-0694.