

2. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. М.: Тверь; ООО «Издательство «Триада»; 2008.

REFERENCES

1. Guder W.G., Narayanan S., Wisser H., Zawta B. Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory: The Impact of Preanalytical Variables on the Quality of Laboratory Results. 4th ed. Wiley-Blackwell; 2009.
2. Lugovskaya S.A., Pochtar' M.E., Dolgov V.V. Gematological Analyzers. Interpretation of Blood Tests. Methodical Recommendations [Gematologicheskie analizatory. Interpretatsiya analiza krovi. Metodicheskie rekomendatsii]. Moscow: Tver'; ООО «Izdatel'stvo «Triada»; 2008. (in Russian)
3. Miller J.J. Specimen collection, handling, preparation, and storage. In: Ward-Cook K.M., Lehman C.A., Schoeff L.E., Williams R.H., eds. Clinical Diagnostic Technology. Volume 1: The Preanalytical Phase. Washington: AACC Press; 2006: 173.
4. ISO/IEC 15189:2003. Medical laboratories — Particular requirements for Quality and Competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
5. CLSI GP-34A: Validation and Verification of tubes for Venous and capillary blood Specimen collection; Approved Guideline. Volume 30, Number 25. CLSI document GP-32A. Wayne, USA: Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI); 2010.
6. CLSI EP9-A2-IR: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. 2nd ed. Volume 30, Number 17. CLSI document EP9-A2-IR. Wayne, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2010.
7. CLSI H3-A6: Clinical Laboratory Standards Institute. Procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved guideline. 6th ed. Volume 27, Number 26. CLSI document H3-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
8. Ricos C., Alvarez V., Cava F., Garcia-Lario J.V., Hernandez A., Jimenez C.V. et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1999; 59(7): 491—500.
9. Quality requirements. Desirable Biological Variation Database specifications. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. (accessed 11 February 2016)
10. Lima-Oliveira G., Lippi G., Salvagno G.L., Montagnana M., Poli G., Solero G.P. et al. Brand of dipotassium EDTA vacuum tubes a new source of pre-analytical variability in routine hematology testing. *Brit. J. Biomed. Sci.* 2013; 70(1): 6—9.

Поступила 02.04.16

Принята к печати 15.05.16

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.153.962.4-008.61-078.33

Дубина И.А.¹, Первакова М.Ю.¹, Лапин С.В.¹, Эмануэль В.Л.¹, Тотолян А.А.², Суркова Е.А.¹, Грязева И.В.³, Самойлович М.П.³, Климович В.Б.³

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ ГАММАПАТИЙ

¹ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава Российской Федерации, 197022, Санкт-Петербург;

² ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», 197101, Санкт-Петербург;

³ ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», 197758, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Содержание свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов каппа и лямбда, а также соотношение их концентраций в сыворотке крови являются важными диагностическими и прогностическими маркерами при моноклональных гаммапатиях. Одним из общепринятых способов определения содержания СЛЦ является метод Freelite™, основанный на нефелометрическом выявлении СЛЦ с помощью поликлональных антител. Целью данного исследования была валидация отечественной тест-системы для определения уровня СЛЦ в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА). Мы собрали образцы сыворотки крови 89 здоровых доноров и 165 больных моноклональными гаммапатиями. Для определения уровня СЛЦ мы использовали ИФА тест-систему фирмы «Полигност», основанную на применении моноклональных антител. Мы определили ряд аналитических характеристик набора реактивов, в том числе предел обнаружения и диапазон линейности. Предел обнаружения СЛЦ ИФА тест-системы был в 2 раз ниже, чем заявленный производителем нефелометрического набора Freelite™; таким образом, аналитические характеристики ИФА-набора позволяют определять уровень СЛЦ в диапазоне нормальных значений. Мы установили референтные границы концентрации каппа-СЛЦ (3,25—15,81 мкг/мл), лямбда-СЛЦ (3,23—28,05 мкг/мл) и их соотношения (0,3—1,9) в сыворотке крови, которые практически совпали с рекомендованными интервалами для набора Freelite™. У больных с моноклональными гаммапатиями уровень СЛЦ был достоверно выше ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой условно здоровых доноров. При парапротеинемиях наблюдалось достоверное изменение ($p < 0,01$) соотношения каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ по сравнению с контрольной группой. Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что отечественный ИФА-набор обладает хорошими аналитическими и диагностическими характеристиками и может быть использован в лабораторной практике.

Ключевые слова: свободные легкие цепи; моноклональная гаммапатия; иммуноферментный анализ; парапротеин.

Для корреспонденции: Дубина Ирина Александровна, врач клин. лаб. диагностики лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине, ПСПбГМУ им. ак. И.П. Павлова, e-mail: befunny2008@mail.ru

Для цитирования: Дубина И.А., Пervaкова М.Ю., Лапин С.В., Эмануэль В.Л., Тотолян А.А., Суркова Е.А., Грязева И.В., Самойлович М.П., Климович В.В. Определение уровня свободных легких цепей иммуноглобулинов методом иммуноферментного анализа для диагностики моноклональных гаммапатий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(11): 781-786. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-11-781-786

Dubina I.A.¹, Pervakova M.Yu.¹, Lapin S.V.¹, Emanuel V.L.¹, Totolian A.A.², Surkova E.A.¹, Gryazeva I.V.³, Samoilovitch M.P.³, Klimovitch V.B.³

THE DETECTION OF LEVEL OF FREE LIGHT CHAINS OF IMMUNOGLOBULINS USING ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY TECHNIQUES FOR DIAGNOSTIC OF MONOCLONAL GAMMOPATHY

¹The I.P. Pavlov first St. Petersburg state medical university, 197022 St. Petersburg, Russia

²The Pasteur research institute of epidemiology and microbiology, 197101 St. Petersburg, Russia

³The Russian research center of radiology and surgical technologies, 197758 St. Petersburg, Russia

The content of free light chains of immunoglobulins kappa and lambda and also ratio of their concentrations in blood serum are important diagnostic and prognostic markers in case of monoclonal gammopathy. The technique Freelight™ based on nephelometric detection of free light chains using polyclonal antibodies is one of common modes of detection of free light chains. The actual study was carried out with purpose of validating of national test-system for detection of level of free light chains in blood serum using technique of enzyme-linked immunosorbent assay. The samples of blood serum were taken from 89 healthy donors and 165 patients with monoclonal gammopathy. To detect the level of free light chains enzyme-linked immunosorbent assay test-system "Polygnost" was used based on application of monoclonal antibodies. The number of analytical characteristics of reagents set was determined including limit of detection and range of linearity. The limit of detection of free light chains using enzyme-linked immunosorbent assay test-system was two times lower than claimed by manufacturer of nephelometric set "Freelight™". Hence, analytical characteristics of enzyme-linked immunosorbent assay set make it possible to detect the level of free light chains within range of standard values. The reference limits were established concerning concentration of free light chains kappa (3.25-15.81 mkg/ml), free light chains lambda (3.23-28.05 mkg/ml) and their ratio (0.3-1.9) in blood serum that factually matched the recommended intervals for "Freelight™" set. In patients with monoclonal gammopathy the level of free light chains was reliably higher ($p < 0.01$) as compared with control group of healthy donors. In case of paraproteinemia reliable alteration ($p < 0.01$) of ratio free light chains kappa/free light chains lambda was observed in comparison with control group. The results of actual study testify that national enzyme-linked immunosorbent assay set has good analytical and diagnostic characteristics and it can be used in laboratory practice.

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay; monoclonal gammopathy; enzyme-linked immunosorbent assay; paraprotein

For citation: Dubina I.A., Pervakova M.Yu., Lapin S.V., Emanuel V.L., Totolian A.A., Surkova E.A., Griazeva I.V., Samoilovitch M.P., Klimovitch V.B. The detection of level of free light chains of immunoglobulins using enzyme-linked immunosorbent assay techniques for diagnostic of monoclonal gammopathy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostic)* 2016; 61 (11): 781-786. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-11-781-786

For correspondence: Dubina I.A., physician of of laboratory of laboratory diagnostic of autoimmune diseases of the research medical center of molecular medicine. e-mail: befunny2008@mail.ru

Information about authors:

Dubina I: orcid.org/0000-0001-5256-7066
Pervakova M: orcid.org/0000-0001-9630-257X
Lapin S: orcid.org/0000-0002-4998-3699
Emanuel V: orcid.org/0000-0002-2079-0439
Totolyan A: orcid.org/0000-0003-4571-8799
Surkova E: orcid.org/0000-0001-5191-0221
Griazeva I: orcid.org/0000-0003-1865-8719
Klimovitch V: orcid.org/0000-0001-8425-2093

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support.

Received 04.05.2016
Accepted 15.05.2016

Введение. Моноклональная гаммапатия (МГ) представляет собой состояние, при котором в результате нарушения регуляторных механизмов происходит избыточная пролиферация одного клона плазматических клеток, синтезирующих моноклональный иммуноглобулин или парапротеин (ПП) [1]. Для диагностики множественной миеломы уже более 150 лет используется определение содержания белка Бенс-Джонса в моче; иными словами, ПП в моче является первым охарактеризованным онкомаркером. С молекулярной точки зрения ПП представляет собой полную молекулу иммуноглобулина либо его фрагменты — легкие или тяжелые цепи. Существует 5 изоформ тяжелых цепей, которые крайне редко синтезируются без легких цепей, а также 2 типа цепей легких — каппа и лямбда. Для обеспечения правильной сборки молекул иммуноглобулинов необходим избыток легких цепей, поэтому плазматциты продуцируют приблизительно на

40% больше легких цепей, чем тяжелых. Легкие цепи, не вошедшие в состав антител, циркулируют в крови, образуя пул свободных легких цепей (СЛЦ), который при поликлональной продукции характеризуется постоянным соотношением каппа- и лямбда-СЛЦ, составляющим в норме 1/2—1/3 [2]. При поликлональном синтезе иммуноглобулинов и/или нарушении функции почек концентрация СЛЦ обоих типов в крови может увеличиваться в 30—40 раз [3]. При миеломной трансформации плазматцитов отмечается рестрикция легкой цепи, что приводит к моноклональному синтезу одной из таких цепей. Результатом рестрикции становится изменение соотношения каппа/лямбда, что позволяет использовать этот феномен для диагностики МГ [4]. В 2014 г. Международная группа по изучению миеломы (IMWG) утвердила «отношение каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ > 100 или < 0,001» в качестве одного из критериев диагностики множественной миеломы

Таблица 1

Распределение МГ по составу ПП, определенному при иммунофиксации

Вид парапротеина, обнаруженный при иммунофиксации	Количество человек, <i>n</i>
IgG/каппа	69
IgG/лямбда	43
IgA/каппа	12
IgA/лямбда	14
IgM/каппа	14
IgM/лямбда	2
Каппа СЛЦ	4
Лямбда СЛЦ	1
IgD/лямбда	6

[5]. Благодаря тому, что СЛЦ имеют короткий период полураспада (для каппа-СЛЦ он составляет 2—4 ч, для лямбда-СЛЦ — 3—6 ч), определение их уровня в сыворотке можно использовать в качестве раннего маркера ответа на терапию, что особенно важно для выявления резистентности к различным препаратам и при изменении курса лечения.

Прогноз состояния больного МГ во многом зависит от своевременной диагностики и эффективного лечения. Благодаря пересмотру методов диагностики и внедрению новых препаратов пятилетняя выживаемость при множественной миеломе увеличилась с 26% до 50% [6]. Долгое время для определения ПП при скрининге и мониторинге МГ использовалось сочетание электрофореза белков сыворотки крови с иммунофиксацией, которое считается «золотым стандартом» выявления ПП [7] и часто дополняется электрофорезом и иммунофиксацией образца суточной мочи. Однако определение содержания СЛЦ в сыворотке крови незаменимо при диагностике таких вариантов МГ, как несекреторная миелома [8], болезнь легких цепей, AL-амилоидоз и болезнь депозитов легких цепей [9]. Определение СЛЦ, электрофорез и иммунофиксация представляют собой комбинацию тестов, позволяющих с высокой чувствительностью выявлять все основные варианты МГ.

Повышение уровня СЛЦ отмечается не только при онкогематологических заболеваниях, но и при ревматоидном артрите, системной красной волчанке, сахарном диабете. Концентрация СЛЦ в спинномозговой жидкости является чувствительным маркером субарахноидального воспаления, лимфоматозного менингита, рассеянного склероза [10]. Наша исследовательская группа изучает феномен синтеза СЛЦ в спинномозговой жидкости при рассеянном склерозе и других демиелинизирующих заболеваниях центральной нервной системы с 1994 г. [11], и концентрации СЛЦ в ликворе зарекомендовали себя как надежный диагностический и прогностический маркер заболевания [12].

В 2001 г. был предложен набор Freelight™ (Binding Site, Великобритания), основанный на использовании поликлональных антител для определения концентрации СЛЦ методом нефелометрии или турбидиметрии с латексным усилением. Он имеет порог определения 1,5 и 3 мкг/мл для каппа-СЛЦ и лямбда-СЛЦ соответственно, что не позволяет выявлять СЛЦ в ряде биологических образцов. Более высокий уровень чувствительности и стандартизации может обеспечить иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием моноклональных антител, направленных к скрытым эпитопам легких цепей, которые демаскируются при формировании СЛЦ. Моноклональные антитела были созданы в лаборатории гибридомной технологии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий под руководством профессора В.Б. Климовича [13].

Целью нашего исследования является оценка аналитических характеристик и диагностических возможностей тест-системы для определения уровня СЛЦ в сыворотке крови методом ИФА.

Материал и методы. Для оценки диагностических характеристик ИФА-системы мы отобрали 254 образца сыворотки крови. Из них 89 образцов были получены от условно здоровых доноров, а 165 — от больных МГ, проходящих лечение в гематологических стационарах. Распределение больных по группам в зависимости от вида ПП, обнаруженного при иммунофиксации сыворотки крови, представлено в табл. 1.

Во всех сыворотках больных содержание ПП было определено методом электрофореза с иммунофиксацией с помощью оборудования и реактивов Helena Biosciences (Великобритания). Процедуры иммунофиксации выполнялись в соответствии с инструкцией производителя. Полученные денситограммы были обработаны с помощью программного

обеспечения Platinum 3.0. Определение концентрации общего белка для расчета абсолютного содержания М-градиента осуществлялось биуретовым методом с помощью полуавтоматического биохимического анализатора А15 (Biosystems, Испания).

Для определения уровня каппа-СЛЦ и лямбда-СЛЦ использовали реактивы для ИФА метода (ООО «Полигност», Россия) согласно инструкции. Детекция СЛЦ основана на использовании четырех семейств моноклональных антител, распознающих детерминанты: 1) лямбда-СЛЦ, 2) каппа-СЛЦ, 3) общие для свободных и связанных в иммуноглобулинах лямбда-цепей, 4) общие для свободных и связанных каппа-цепей. Антитела, распознающие только эпитопы СЛЦ, сорбированы в твердой фазе, что обеспечивает специфический захват СЛЦ из образцов сыворотки. Другие антитела, распознающие легкие цепи — как в свободном виде, так и в составе иммуноглобулинов, меченные пероксидазой хрена, — выявляют связавшиеся легкие цепи.

Для отсеечения фонового сигнала определили предел аналитической чувствительности данного набора. За него было принято утроенное стандартное отклонение среднего значения шумового сигнала, которое измеряли путем постановки 20 бланков. Линейность метода измерялась путем серийного разведения образцов. Для этого для каппа-СЛЦ и лямбда-СЛЦ использовали по 2 сыворотки крови, которые разводили в диапазоне от 1/100 до 1/1000. Для определения референтных интервалов уровня каппа-СЛЦ, лямбда-СЛЦ и отношения каппа/лямбда использовали сыворотки условно здоровых доноров. Расчет производили согласно протоколу EP28-A3c Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины [14]. Так как объем выборки находился в пределах от 40 до 120 человек, полученные значения были нормализованы путем логарифмирования, после чего был использован параметрический подход. За референтный интервал был принят диапазон отклонения от среднего значения на два стандартных отклонения.

Статистический анализ данных проводили с использованием встроенных функций программы MS Excel, программ Statistica 6.0 (StatSoft) и GraphPad Prism 4.0.

Результаты. В ходе определения аналитических характеристик ИФА-системы были получены следующие пределы обнаружения СЛЦ в сыворотке крови с учетом разведения образца (1:100): 0,8 и 1,5 мкг/мл для каппа-СЛЦ и лямбда-СЛЦ соответственно. Оценка линейности метода показала, что в диапазоне от 4,8 до 27,8 мкг/мл для каппа-СЛЦ и в интервале от 6,0 до 30,08 мкг/мл для лямбда-СЛЦ коэффициент детерминации R^2 равнялся 0,99—1,0 (рис. 1).

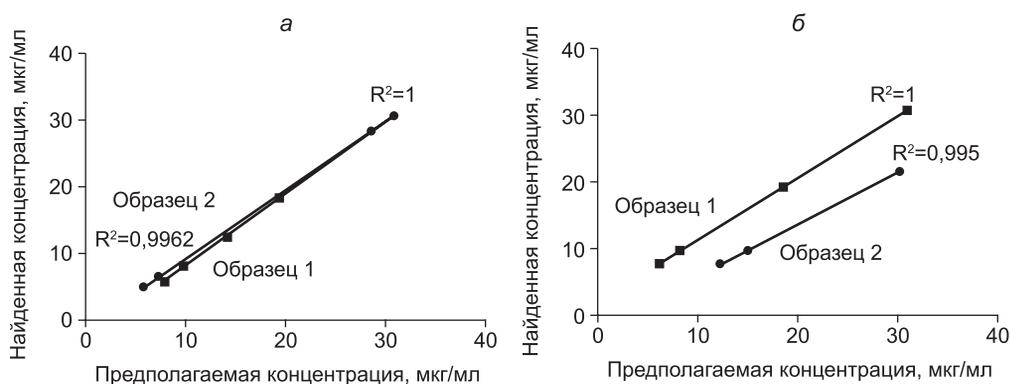


Рис. 1. Диапазон линейности каппа-СЛЦ (а) и лямбда-СЛЦ (б).

Референтный интервал нормальных значений составил для каппа-СЛЦ 3,25—15,81 мкг/мл, для лямбда-СЛЦ — 3,23—28,05 мкг/мл и для отношения каппа-СЛЦ/ лямбда-СЛЦ — 0,3—1,9 (рис. 2).

Выявлена прямая высокодостоверная зависимость между уровнем каппа- и лямбда-СЛЦ в крови здоровых доноров, коэффициент корреляции Спирмена $R_s = 0,53$, $p < 0,01$.

В ходе исследования 165 сывороток больных МГ методом электрофореза и иммунофиксации в 60% случаев (99/165) был выявлен ПП, содержащий каппа-цепь, а в 40% случаев (66/165) — ПП, содержащий лямбда-цепь (см. табл. 1).

Между уровнем каппа- и лямбда-СЛЦ в крови у больных МГ выявлена очень слабая обратная зависимость ($R_s = -0,29$, $p < 0,01$).

У больных МГ с ПП в крови, содержащим легкую цепь каппа, достоверное увеличение каппа-СЛЦ отмечалось в

67,68% (67/99) случаев (критерий Мана-Уитни), а при МГ, представленными ПП с легкой лямбда-цепью, достоверное увеличение СЛЦ лямбда диагностировалось в 69,7% (46/66) случаев (рис. 3).

У больных МГ с ПП, содержащим легкую цепь каппа, достоверное увеличение коэффициента каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ наблюдалось в 62,63% (62/99) случаев (критерий Мана—Уитни), а достоверное уменьшение этого коэффициента ниже референсных границ выявлено в 80,3% (53/66) случаев МГ, представленных ПП с легкой цепью лямбда (рис. 4).

Обсуждение. Механизмы синтеза СЛЦ при моноклональных гаммапатиях недостаточно изучены и могут быть обусловлены более сложными процессами, чем это традиционно представлялось. Недавно было описано возникновение дополнительных генетических поломок внутри одного опухолевого клона. Это явление получило название «intraclonal heterogeneity», т.е. «гетерогенность в пределах клона» [15]. При данном феномене среди плазмочитов, синтезирующих интактный ПП, появляется субпопуляция клеток, синтезирующих только СЛЦ той же клональности и утрачивающих способность к синтезу полной молекулы иммуноглобулина [16, 17]. Такие модифицированные клетки более устойчивы к терапии, а продуцируемые ими СЛЦ токсичны и вызывают повреждение почек, поэтому размер этой патогенетически значимой популяции определяется и изменением соотноше-

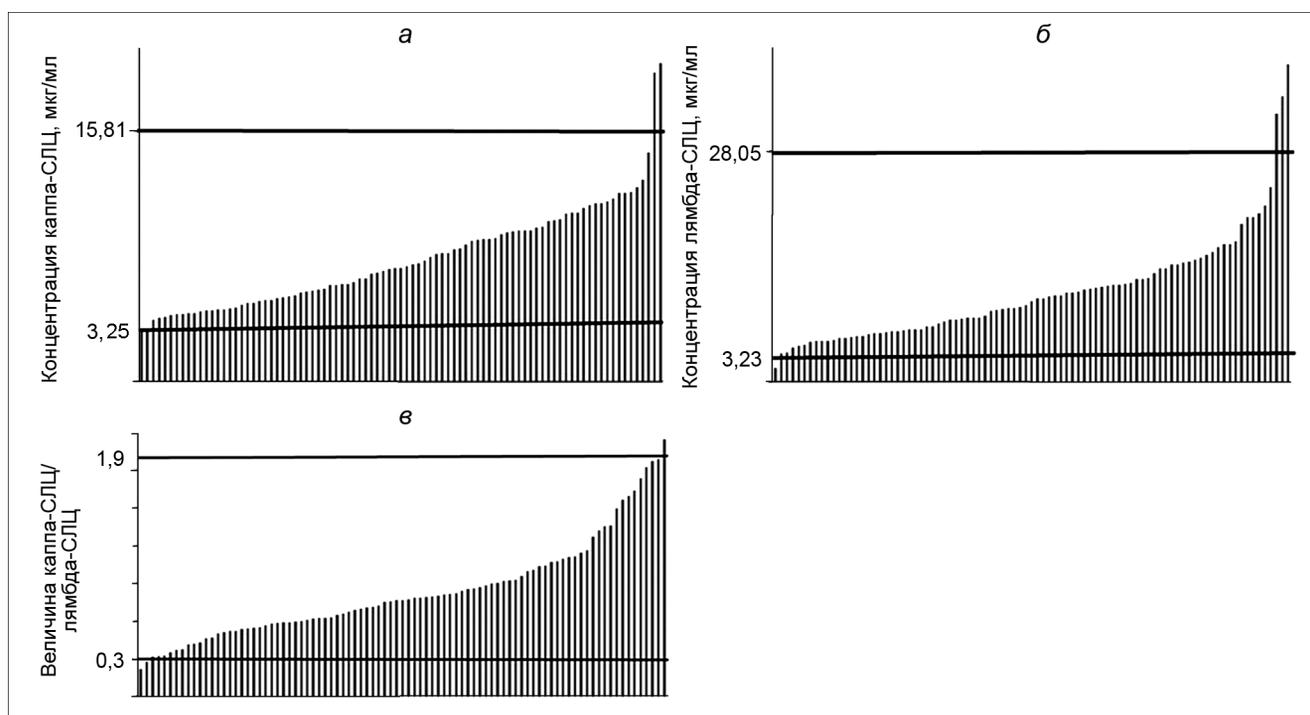


Рис. 2. Референтный диапазон концентрации каппа-СЛЦ (а), лямбда-СЛЦ (б) и отношения каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ (в) в сыворотке крови доноров. Вертикальные столбцы — результаты определения показателей у доноров, горизонтальные линии — верхняя и нижняя границы референсного интервала.

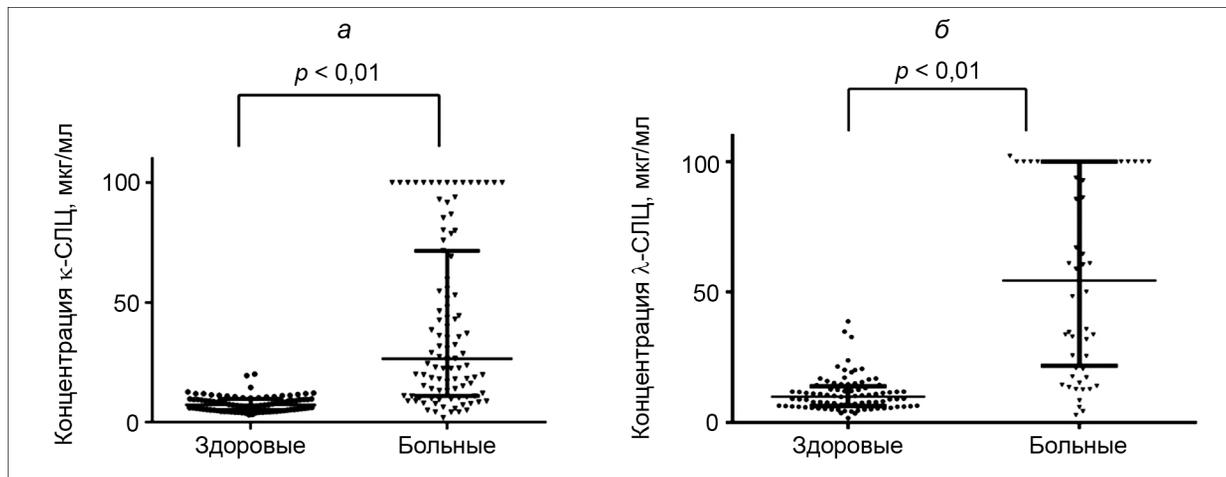


Рис. 3. Уровень каппа-СЛЦ (а) и лямбда-СЛЦ (б) у здоровых доноров и больных с МГ. Здесь и на рис. 4: I — интерквартильный размах, горизонтальная черта — медиана.

ния СЛЦ. Кроме того, рецидив заболевания, который сопровождается избыточной продукцией соответствующих СЛЦ, получил название «ускользание СЛЦ» (англ. Free light chains escape) и, возможно, связан с внутриклональной гетерогенностью популяций плазмочитов. Это также определяет значимость мониторинга содержания СЛЦ, поскольку он является единственным методом раннего обнаружения рецидива заболевания.

Нами было показано, что метод ИФА обладает высокой чувствительностью к выявлению СЛЦ. Уточненный нами предел аналитической чувствительности ИФА набора был значительно ниже по сравнению с порогом определения ЭФ (500—2000 мг/л) и иммунофиксации (150—500 мг/л), что свидетельствует о более высокой аналитической чувствительности ИФА-метода и позволяет выявить наличие ПП в тех случаях, когда ЭФ оказывается недостаточно информативным. Кроме того, порог аналитической чувствительности СЛЦ для сыворотки крови с помощью ИФА-метода был в 2 раза ниже, чем у поликлонального нефело- и турбидиметрического набора Freelight™ (табл. 2). Следует отметить, что

другие разведения биоматериалов позволяют с помощью ИФА-метода исследовать не только сыворотку крови, но и другие биологические жидкости.

Диапазон референтных интервалов для каппа-СЛЦ, лямбда-СЛЦ, а также для соотношения каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ, установленный с помощью ИФА-набора, практически совпал со значениями, рекомендованными Freelight™ для соответствующих величин, что свидетельствует о метрологической сопоставимости аналитических методов (табл. 3).

Нарушение процессов регуляции синтеза легких цепей и феномена рестрикции при МГ подтверждается очень слабой обратной зависимостью между сывороточным уровнем каппа- и лямбда-СЛЦ, выявленной нами в исследованных образцах.

Повышение СЛЦ каппа было обнаружено в 67% образцов с ПП, содержащим легкую цепь каппа, а повышение СЛЦ лямбда — в 69,7% случаев с ПП с легкой цепью лямбда. Следует обратить внимание на то, что изменение соотношения κ/λ чаще встречалось у больных с ПП, содержащим λ-СЛЦ (80,3%). Как видно из результатов, изменение абсолютных и относительных концентраций СЛЦ было обнаружено не у всех больных с МГ: это объясняется тем фактом, что при МГ, представленных интактным иммуноглобулином, уровень

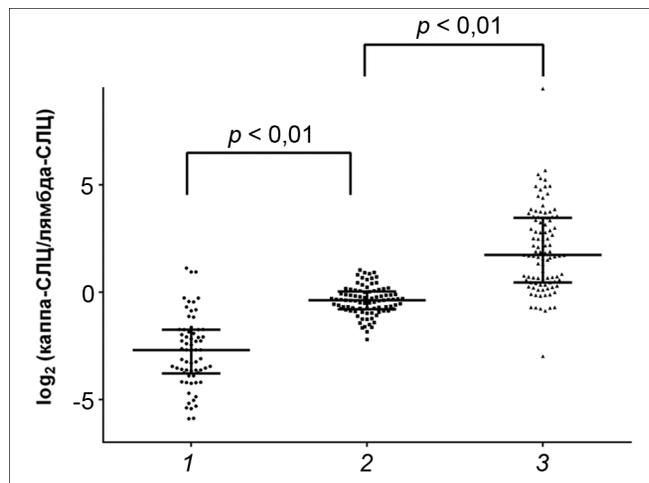


Рис. 4. Отношение каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ у здоровых доноров и больных МГ. 1 — больные МГ, представленными ПП с лямбда-цепью; 2 — условно здоровые доноры; 3 — больные МГ, представленные ПП с каппа-цепью.

Таблица 2

Предел обнаружения СЛЦ в сыворотке крови

	Freelight™ Binding Site	Полигност
Каппа СЛЦ	1,5 мкг/мл	0,8 мкг/мл
Лямбда СЛЦ	3 мкг/мл	1,5 мкг/мл

Таблица 3

Диапазон референтных величин для СЛЦ и отношения каппа/лямбда в сыворотке крови

	Freelight™ Binding Site	Полигност
Каппа СЛЦ	3,3—19,4 мкг/мл	3,25—15,81 мкг/мл
Лямбда СЛЦ	5,7—26,3 мкг/мл	3,23—28,05 мкг/мл
каппа-СЛЦ/лямбда-СЛЦ	0,26—1,65	0,3—1,9

СЛЦ и их соотношения могут оставаться в пределах нормы [18].

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что набор отечественного производства, в основе которого лежит ИФА-метод, линеен, аналитически чувствителен и специфичен. По ряду параметров данная тест-система совпадает с импортной системой Freelight™ (Великобритания). Таким образом, метод ИФА с использованием моноклональных антител, распознающих не только эпитопы СЛЦ, но и антигенные детерминанты легких цепей в составе иммуноглобулинов, может являться адекватной лабораторной технологией определения СЛЦ и их соотношения для диагностики МГ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10203).

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 3—10, 14—18
см. REFERENCES)

2. Лапин С.В., Мазинг А.В., Эмануэль В.Л. Современные подходы в диагностике парапротеинемий. Оснащение современной лаборатории. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. 2011; (6): 17.
11. Тотолян Н.А., Готовчиков А.А., Лапин С.В., Максимов И.В., Кодзаева А.Ю., Прахова Л.Н. и др. Интрацеллюлярный синтез иммуноглобулинов в диагностике и дифференциальной диагностике рассеянного склероза. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2012; 112(9-2): 73—86.
12. Назаров В.Д., Лапин С.В., Суркова Е.А., Евдосенко Е.П., Макшаков Г.С., Тотолян А.А. Диагностическая информативность показателей интрацеллюлярного синтеза свободных легких цепей иммуноглобулинов при рассеянном склерозе. *Медицинская иммунология*. 2015; 17(3): 235—44.
13. Грязева И.В., Климович В.Б., Пашкова С.Ф. Моноклональные антитела к легким цепям иммуноглобулинов человека и их применение в иммуноанализе. *Иммунология*. 1994; (3): 31—7.

REFERENCES

1. Alexanian R., Weber D., Liu F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1999; 123(2): 108—13.
2. Lapin S.V., Mazing A.V., Emanuel V.L. Modern approaches in diagnosis of paraproteinemias. Equipment of modern laboratory. *Spravochnik zaveduyushchego kliniko-diagnosticheskoy laboratorii*. 2011; (6): 17. (in Russian)
3. Bradwell A.R. Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevylite). 6th ed. UK: The Binding Site Ltd; 2003.
4. Jenner E. Serum free light chains in clinical laboratory diagnostics. *Clin. Chim. Acta*. 2014; 427: 15—20.
5. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A., Blade J., Merlini G., Mateos M.V. et al. International Myeloma Working Group updated

- criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014; 15(12): e538—48.
6. Katzel J.A., Hari P., Vesole D.H. Multiple myeloma: charging toward a bright future. *CA Cancer J. Clin.* 2007; 57(5): 301—18.
7. Ward A.M. PRU Handbook of Clinical Immunochemistry. 8th ed. Sheffield: PRU Publication; 2004.
8. Drayson M., Tang L.X., Drew R., Mead G.P., Carr-Smith H., Bradwell A.R. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood*. 2001; 97(9): 2900—2.
9. Katzmann J.A., Clark R.J., Abraham R.S., Bryant S., Lymp J.F., Bradwell A.R. et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* 2002; 48(9): 1437—44.
10. Makshakov G., Nazarov V., Kochetova O., Surkova E., Lapin S., Evdoshenko E. et al. Diagnostic and Prognostic Value of the Cerebrospinal Fluid Concentration of Immunoglobulin Free Light Chains in Clinically Isolated Syndrome with Conversion to Multiple Sclerosis. *PLoS One*. 2015; 10(11): e0143375.
11. Totolyan N.A., Gotovchikov A.A., Lapin S.V., Maksimov I.V., Kodzaeva A.Yu., Prakhova L.N. et al. Intrathecal immunoglobulin production in the diagnosis and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2012; 112(9-2): 73—86. (in Russian)
12. Nazarov V.D., Lapin S.V., Surkova E.A., Evdoshenko E.P., Makshakov G.S., Totolyan A.A. Diagnostic value of markers of intrathecal immunoglobulin free light chains synthesis in multiple sclerosis. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015; 17(3): 235—44. (in Russian)
13. Gryazeva I.V., Klimovich V.B., Pashkova S.F. Monoclonal antibodies against human immunoglobulin free light chains and their appliance in immunoanalysis. *Immunologiya*. 1994; (3): 31—7. (in Russian)
14. Horowitz G.L., Altaie S., Boyd J.C., Ceriotti F., Garg U., Horn P. et al. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory. Approved Guideline — 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
15. Brioli A., Giles H., Pawlyn C., Campbell J.P., Kaiser M.F., Melchor L. et al. Serum free immunoglobulin light chain evaluation as a marker of impact from intracloonal heterogeneity on myeloma outcome. *Blood*. 2014; 123(22): 3414—9.
16. Ayliffe M.J., Davies F.E., de Castro D., Morgan G.J. Demonstration of changes in plasma cell subsets in multiple myeloma. *Haematologica*. 2007; 92(8): 1135—8.
17. Keats J.J., Chesi M., Egan J.B., Garbitt V.M., Palmer S.E., Braggio E. et al. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 120(5): 1067—76.
18. Bhole M.V., Sadler R., Ramasamy K. Serum-free light-chain assay: clinical utility and limitations. *Ann. Clin. Biochem.* 2014; 51(Pt.5): 528—42.

Поступила 04.05.16
Принята к печати 15.05.16