

МАКУНИНА ЭЛЕОНОРА АНАТОЛЬЕВНА

**ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *MAGE-C1* И БЕЛКА *MAGE-C1* НА КЛИНИЧЕСКОЕ
ТЕЧЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ**

3.1.28 – гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Менделеева Лариса Павловна**

кандидат медицинских наук **Гальцева Ирина Владимировна**

Официальные оппоненты:

Семочкин Сергей Вячеславович - доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник отделения высокодозной химиотерапии с блоком ТКМ отдела лекарственного лечения опухолей МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации .

Митина Татьяна Алексеевна - доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения клинической гематологии и иммунотерапии, заведующий кафедрой гематологии факультета усовершенствования врачей, государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского».

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «19» октября 2022 года в ____ часов

на заседании диссертационного совета 21.1.023.01 (Д 208.135.01) при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.blood.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 года

Ученый секретарь диссертационного совета

Кандидат медицинских наук

Сысоева Е.П.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования

В современной практике гематолога существует немало известных биологических маркеров, выявляемых рутинными методами исследования, позволяющих не только устанавливать диагноз множественная миелома (ММ), проводить стадирование заболевания, оценивая величину опухолевой массы, но и анализировать степень воздействия проводимого лечения (Atkinson Jr. A. J. et al., 2001; Wallington-Beddoe C. T. et al., 2021).

В то же время развитие молекулярной биологии позволило значительно расширить возможности изучения генетических трансформаций в опухолевых клетках и изменений костномозгового микроокружения, способствующих росту опухолевого субстрата (Bahlis N. J., 2012; Kyle R. A. et al., 2010). Каждый новый этап интерпретации этих молекулярных открытий способствовал модификации и пересмотру диагностических критериев, позволяя устанавливать диагноз ММ на ранних этапах и инициировать терапию до появления клинических признаков.

Раково-тестикулярные антигены (РТА) - активно изучаемая группа опухолеассоциированных антигенов, которые в норме имеют ограниченную экспрессию на некоторых здоровых тканях (яичко, трофобласт, плацентарные клетки). Патологическая экспрессия данной группы антигенов определяется при разных злокачественных новообразованиях, в том числе при ММ (De Plaen E. et al., 1994; He L. et al., 2014; Jungbluth A. A. et al., 2005; Shires K. et al., 2016).

Из наиболее часто выявляемых при ММ генов, кодирующих РТА, следует выделить ген *MAGE-C1* (melanoma antigen gene family member C1), который расположен на длинном плече X-хромосомы и имеет выраженную специфичность в злокачественных плазматических клетках (ПК).

Исследования, посвященные изучению гена *MAGE-C1* при ММ, по данным литературы, единичные, а число больных, включенных в них, ограничено малыми выборками, вследствие чего говорить о его роли в развитии злокачественных заболеваний и ММ в частности не представляется возможным. Несмотря на это, работы, в которых изучалась экспрессия гена *MAGE-C1* при ММ, представляют результаты, позволяющие предположить, что этот биомаркер может выступать в качестве дополнительного лабораторного показателя при диагностике ММ, отражать эффективность терапевтических подходов и являться одним из ключевых событий, обуславливающих рефрактерность ММ, способствуя выживанию злокачественных ПК, защищая их как от спонтанного, так и от лекарственного апоптоза, в частности снижая восприимчивость ПК к терапевтическому эффекту бортезомиба (Chen Y. T. et al., 2005; De Carvalho F. et al., 2011, 2012; Lucas S. et al., 1998).

В связи с этим представляется важным изучить наличие экспрессии гена *MAGE-C1* как

фактора, способствующего снижению вероятности достижения ответа на противоопухолевую терапию бортезомибом и выживаемости без прогрессии после выполнения высокодозного этапа лечения и трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Актуальным является и поиск взаимосвязи экспрессии исследуемого гена с другими клинико-лабораторными характеристиками с целью изучения биологии опухолевой трансформации.

Цель исследования

Изучение экспрессии гена *MAGE-C1* и белка MAGE-C1 в плазматических клетках костного мозга больных в дебюте множественной миеломы, а также поиск взаимосвязи с клиническим течением заболевания для оценки возможности использования их в качестве прогностических факторов.

Задачи исследования

1. Определить экспрессию гена *MAGE-C1* в плазматических клетках методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) у больных ММ до начала лечения.
2. Детектировать экспрессию белка MAGE-C1 плазматическими клетками иммуногистохимическим (ИГХ) методом и методом мультипараметрической проточной цитофлуориметрии у больных ММ до начала лечения.
3. Изучить взаимосвязь клинико-лабораторных параметров с экспрессией гена *MAGE-C1* и белка MAGE-C1 у больных ММ.
4. Оценить противоопухолевый ответ на бортезомиб-содержащую терапию больных ММ в зависимости от экспрессии гена *MAGE-C1* и белка MAGE-C1.
5. Определить вероятность развития рецидива или прогрессии в зависимости от экспрессии гена *MAGE-C1* после ауто-ТГСК.

Научная новизна

Впервые проведено исследование, направленное на изучение особенностей экспрессии гена *MAGE-C1* тремя методами: ПЦР-РВ, ИГХ и проточной цитофлуориметрии. Произведено сопоставление результатов, полученных при выполнении этих методов.

Освоена и адаптирована методика определения внутриядерной экспрессии белка MAGE-C1 методом проточной цитофлуориметрии.

Изучена взаимосвязь показателей экспрессии исследуемых целевых параметров с клиническим течением множественной миеломы.

Определена группа больных с экскрецией белка Бенс-Джонса относительно риска развития миеломной каст-нефропатии на основании высокого содержания ПК,

экспрессирующих белок *MAGE-C1* и ген *MAGE-C1*.

Практическая значимость

Результаты проведенного исследования послужили основанием для определения персонафицированного подхода к терапии ММ. Так, у больных с повышенной экспрессией гена *MAGE-C1* целесообразно применение двух таргетных препаратов уже в первой линии индукционной терапии.

Определен высокий коэффициент корреляции между результатами ПЦР-РВ и ИГХ методов исследования. Так, в случае низкой клеточности пунктата костного мозга, что может составлять трудности для выполнения ПЦР-РВ, представляется возможным применять ИГХ исследование трепанобиоптатов костного мозга.

Положения, выносимые на защиту

1. Определение экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* в плазматических клетках костного мозга является важным для изучения патобиологических основ развития ММ.
2. Результаты ПЦР-РВ и ИГХ методов показали высокий уровень корреляции при исследовании экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1*.
3. Повышенная экспрессия гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* может рассматриваться в качестве дополнительного биомаркера неблагоприятного течения ММ.
4. Выявление повышенной экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* может способствовать формированию резистентности опухоли к бортезомиб-содержащим схемам индукционной терапии.
5. Наличие повышенной экспрессии гена *MAGE-C1* существенно влияет на вероятность развития рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК.

Апробация

Основные положения диссертации представлены в материалах и докладах на:

1. V и VI Конгрессе гематологов России (Москва, 2020г., 2022 г.);
2. XVIII Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (Москва, 2021г.);
3. 63 ежегодном Конгрессе Американского общества гематологов (Атланта, 2021г.);
4. 27 Конгрессе Европейского общества гематологов (Вена, 2022г.).

Апробация диссертации состоялась на заседании проблемной комиссии «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ 18 июля 2022 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 34 работы, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 30 тезисных сообщений (23 на русском языке, 7 на английском языке).

Объем и структура работы

Работа изложена на 139 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, клинической характеристики больных и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, приложений. Текст работы содержит 32 таблицы, 30 рисунков. Список литературы включает 7 отечественных и 99 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика больных

В исследование включено 97 больных впервые выявленной множественной миеломой (41 мужчина и 56 женщин) в возрасте от 30 до 82 лет (медиана 58 лет), находившихся на лечении в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в период с марта 2019 г. по февраль 2022 г.

Диагностику множественной миеломы проводили в соответствии с критериями международной рабочей группы по изучению ММ (IMWG — 2014г.). Диагностические мероприятия включали иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи, морфологическое и молекулярно-цитогенетическое исследование аспирата костного мозга, гистологическое и ИГХ исследование трепанобиоптата, рентгенологическое исследование костей скелета.

У 85 больных индукционный этап терапии включал бортезомиб-содержащие курсы: у 81-VCD, у 4 - VMP. У 10 больных применены схемы, включающие два таргетных препарата – VRD, 2 больным применена схема, включающая только леналидомид - RCD. Всего на индукционном этапе терапии больным было проведено от 1 до 9 курсов (медиана 6). 31 больному потребовалось проведение двух и более линий лечения. Высокодозная химиотерапия (мелфалан 200 мг/м²) с ауто-ТГСК проведена 31 больному (у 23 - однократная, у 8 - тандемная). Сроки наблюдения варьировали от 1,3 до 35 месяцев (медиана 16,7 месяцев).

Оценку противоопухолевого ответа после индукционного этапа терапии и на 100-й день после ауто-ТГСК проводили в соответствии с критериями, разработанными IMWG (2016).

Работа выполнена в отделении гематологии и химиотерапии парапротеинемических гемобластозов с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (зав. отделом, д.м.н., профессор Менделеева Л. П., зав. отделением, к.м.н. Соловьев М. В.),

отделении гематологии и химиотерапии плазмноклеточных дискразий (зав. отделением, д.м.н. Рехтина И. Г.), отделении интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром (зав. отделением, к.м.н. Кузьмина Л.А.).

В **таблице 1** представлена характеристика пациентов, включенных в исследование.

Таблица 1. Характеристика больных ММ, включенных в исследование.

Исследуемые параметры	Клинико-лабораторная характеристика больных ММ в дебюте заболевания (n=97)
Стадия по Durie-Salmon:	
I	7 (7,2%)
II	14 (14,4%)
III	76 (78,4%)
Стадия по ISS:	
I	30 (31%)
II	25 (25,7%)
III	38 (39,2%)
Нет данных	4 (4,1%)
Стадия по R-ISS:	
I	19 (19,6%)
II	53 (54,6%)
III	15 (15,5%)
Нет данных	10 (10,3%)
Наличие костных плазмоцитом:	46 (47,4%)
Размеры костных плазмоцитом:	
менее 50 мм	24 (52,2%)
более 50 мм	22 (47,8%)
Высокий цитогенетический риск:	28 (28,9%)
Лактатдегидрогеназа:	
80-280 Ед/л	58 (59,8%)
285-584 Ед/л	39 (40,2%)
Гемоглобин:	
55-119 г/л	66 (68%)
120- 151 г/л	31 (32%)
Сывороточный креатинин:	
45,4-177 мкмоль/л	76 (78,4%)
211-1535 мкмоль/л	21 (21,6%)
Плазматические клетки в костном мозге:	
0,8-30 %	60 (61,9%)
30,4-89 %	37 (38,1%)
Сывороточный парапротеин:	
следы-30,2 г/л	48 (49,5%)
31,2-85 г/л	49 (50,5%)

Методы исследования

В соответствии с задачами исследования всем 97 больным в дебюте заболевания

выполняли пункцию и трепанобиопсию костного мозга. У доноров забор материала производился во время эксфузии костномозговой взвеси. Дизайн проспективного исследования схематически представлен на **рисунке 1**.



Рисунок 1. Дизайн проспективного исследования

Имунофенотипирование клеток костного мозга и определение числа ПК, экспрессирующих внутриядерный белок MAGE-C1 проводили 29 больным методом проточной цитофлуориметрии на базе лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга (зав. лаборатории, к.м.н. Гальцева И.В.). Контрольная группа включала 5 здоровых доноров, аспират костного мозга которых также исследовали на предмет выявления ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1.

На базе этой же лаборатории выполняли пробоподготовку для последующего выполнения ПЦР-РВ, включающую выделение клеток мононуклеаров из нативной костномозговой взвеси 97 больных ММ, высокоактивную магнитную сепарацию по CD138 поверхностному антигену, анализ чистоты выделенной фракции.

Определение значений экспрессии гена *MAGE-C1* в мононуклеарах костного мозга, обогащенных CD138+ клетками, выполняли методом ПЦР-РВ у 93 больных, у которых было выделено достаточное для исследования число клеток. С целью оценки показателей экспрессии гена *MAGE-C1* использовали амплификатор Real-Time CFX96 Touch (Bio-RAD, США). Праймерные системы и зонды для выполнения ПЦР-РВ синтезировали в ЗАО «Синтол», Москва. Последовательности праймеров и флуоресцентных зондов являются оригинальными и были разработаны в ходе проведения данного исследования. В качестве контрольной группы

были включены 8 здоровых доноров, у которых исследовали аналогичные клетки.

Оценку экспрессии гена *MAGE-C1* производили по разнице (ΔCt) между циклами пороговой флуоресценции продукта гена «домашнего хозяйства» *GAPDH* и продукта исследуемого гена. Значения ΔCt были переведены в разы $2^{\Delta Ct}$ для сравнения результатов ПЦР-РВ в разных образцах. Полученные цифры позволяют оценить значения экспрессии гена *MAGE-C1* относительно значений экспрессии гена «домашнего хозяйства», поэтому итоговые показатели экспрессии не являются абсолютными.

Этот этап работы проводили на базе лаборатории генной инженерии (руководитель лаборатории, Сурин В.Л.) и научно-клинической лаборатории кариологии (зав. лабораторией, к.м.н. Обухова Т.Н.).

Следующий этап работы включал исследование трепанобиоптатов костного мозга 34 больных гистологическим методом для определения характеристики плазмоклеточного субстрата, а также ИГХ методом на предмет выявления экспрессии белка *MAGE-C1* ПК по стандартной методике окрашивания с использованием антител к *MAGE-C1*. С целью отработки методики использования антитела к *MAGE-C1* проведено ИГХ исследование биоптата яичка и трепанобиоптатов костного мозга 7 здоровых доноров. Анализ экспрессии белка *MAGE-C1* ПК проводили «слепым» методом с использованием микроскопа LEICA DM4000B (Leica microsystems AG, Германия). Гистологическое и ИГХ исследования проводили в патологоанатомическом отделении (зав. отделением, д.б.н. Ковригина А.М.).

Работа выполнена при сотрудничестве с другими отделениями и лабораториями ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Генеральный директор – д.м.н. Паровичникова Е.Н., до 2021 г. - академик РАН, д.м.н., профессор Савченко В.Г.).

Для статистического анализа результатов были использованы классические методы описательной статистики, частотного анализа (анализа таблиц сопряженности), однофакторного дисперсионного анализа, многофакторного логистического анализа. Работа выполнена совместно с сотрудниками информационно-аналитического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отделом — к.т.н. Куликов С. М.). Расчеты проводились в статистических пакетах GraphPadPrism9 и SAS 9.4. Критический уровень значимости p принят равным 0,05.

Результаты исследования

В соответствии с задачами исследования у 93 больных ММ в дебюте заболевания были определены показатели экспрессии гена *MAGE-C1*. Медиана составила 0,15 ($2^{\Delta Ct}$), разброс от 0,0003 до 14,12 ($2^{\Delta Ct}$), среднее значение - $0,8 \pm 0,2 (2^{\Delta Ct})$. Учитывая величину порогового значения исследуемого гена, определенного относительно максимального показателя экспрессии у

доноров, равную 0,06 ($2^{\Delta Ct}$), больные были разделены на две группы: с нормальными – у 30 (32%) больных или повышенными значениями экспрессии гена *MAGE-C1* - у 63 (68%) больных.

Больные, у которых выявлено наличие повышенной экспрессии гена *MAGE-C1* были разделены на две группы. Группу с промежуточным значением экспрессии составили 49 (77,8%) больных, отдельно была выделена группа с высоким уровнем экспрессии гена *MAGE-C1*, которую составили 14 (22,2%) больных ММ. Алгоритм распределения больных на группы и соответствующие им значения экспрессии исследуемого гена представлены в **таблице 2**.

Таблица 2. Распределение больных ММ в зависимости от уровня экспрессии гена *MAGE-C1* плазматическими клетками костного мозга.

Уровень экспрессии гена <i>MAGE-C1</i> у больных ММ	Значения экспрессии гена <i>MAGE-C1</i> , $2^{\Delta Ct}$		
	Медиана	Разброс	Среднее
Нормальный (n=30)	0,0009	0,0003-0,05	0,01±0,003
Промежуточный (n=49)	0,23	0,07-0,77	0,28±0,02
Высокий (n=14)	3,36	0,97-14,12	4,32±0,95

Исследование экспрессии белка *MAGE-C1* иммуногистохимическим методом

При ИГХ исследовании трепанобиоптатов 34 больных ММ было выявлено, что диапазон процентного содержания ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, варьировал от минимального (<1% ПК) до окрашивания практически всех ПК. У двух из семи здоровых доноров определялись единичные ПК (<1%), экспрессирующие белок *MAGE-C1*, у пяти других доноров не было выявлено ПК, экспрессирующих данный белок.

В зависимости от количества ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, больные были разделены на 2 группы: с нормальными значениями экспрессии (<1% ПК) - 9 (26,5%) больных, остальные 25 (73,5%) больных были отнесены к группе с повышенными показателями экспрессии исследуемого белка. Больные, у которых документировано наличие повышенной экспрессии белка *MAGE-C1*, были также разделены на две группы. Промежуточные показатели экспрессии исследуемого белка (>1-<50% ПК) были документированы у 11 (44%) больных из 25, высокие показатели (>50% ПК) – у 14 (56%) больных.

Сопоставление экспрессии гена *MAGE-C1* методом ПЦР-РВ и белка *MAGE-C1* методом ИГХ в плазматических клетках костного мозга у больных ММ

Для анализа сопоставимости двух методов исследования экспрессии гена *MAGE-C1* (методом ПЦР-РВ) и белка *MAGE-C1* (методом ИГХ) были проанализированы результаты указанных исследований, выполненных у одних и тех же 34 больных ММ.

Оценка статистической связи экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* методом

многомерного частотного распределения позволила выявить зависимость: при нормальных показателях экспрессии гена *MAGE-C1*, соответствующих таковым у доноров, не наблюдалось высокой экспрессии белка MAGE-C1. При этом высокая экспрессия исследуемого гена всегда ассоциировалась с экспрессией белка выше нормальных значений, $p=0,003$.

Кроме того, определено достоверное отличие значений экспрессии гена *MAGE-C1* у больных с различным процентным содержанием ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1 ($p=0,008$). Так, у больных с нормальным уровнем экспрессии белка MAGE-C1 в ПК среднее значение экспрессии гена *MAGE-C1* составило $0,2\pm 0,09$ ($2^{\Delta Ct}$), разброс значений от 0,002 до 0,79 ($2^{\Delta Ct}$). У больных с промежуточными показателями экспрессии белка MAGE-C1 среднее значение экспрессии исследуемого гена равнялось $0,87\pm 0,39$ ($2^{\Delta Ct}$), разброс - от 0,002 до 3,36 ($2^{\Delta Ct}$). При высокой экспрессии белка MAGE-C1 средний показатель экспрессии гена составил $2,27\pm 0,7$ ($2^{\Delta Ct}$), разброс значений от 0,09 до 9,44 ($2^{\Delta Ct}$).

Определение экспрессии белка MAGE-C1 плазматическими клетками костного мозга методом проточной цитофлуориметрии

Определение экспрессии белка MAGE-C1 в ПК костного мозга у 29 больных ММ было выполнено методом проточной цитофлуориметрии. У 5 здоровых доноров, включенных в исследование в качестве контрольной группы, при выполнении проточной цитофлуориметрии не было выявлено ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1. Таким образом, было определено, что любой детектированный процент ПК, экспрессирующих исследуемый белок, считался патологическим.

Всем 29 больным выполнено цитологическое исследование пунктата костного мозга, 20 больным - иммунофенотипирование с определением профиля опухолевых ПК, который характеризовали различными комбинациями антигенов: CD38 low/dim, CD19-, CD45-, CD27-/low, CD56+/high, CD81-/low, CD117+, CD200+/high.

Процентное содержание ПК по результатам цитологического исследования и проточной цитофлуориметрии представлены в **таблице 3**. Удалось определить, что процентное содержание ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1 соответствовало процентному содержанию ПК с aberrантным иммунофенотипом.

Кроме того, в рамках исследования определили, что у больных с числом ПК в миелограмме менее 30%, доля ПК с aberrантным иммунофенотипом и ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1, была достоверно ниже таковой у больных с инфильтрацией ПК $\geq 30\%$ ($p=0,009$ при анализе доли aberrантных ПК и $p<0,0001$ при анализе доли ПК, экспрессирующих исследуемый белок). Одновременно с этим, процентное содержание aberrантных ПК и ПК, экспрессирующих исследуемый белок, в каждой группе достоверно не

отличались.

Таблица 3. Содержание плазматических клеток в костном мозге больных ММ.

Методы исследования содержания плазматических клеток в костном мозге		Процентное содержание плазматических клеток в костном мозге у больных ММ		
		Медиана, %	Разброс значений, %	Среднее значение, %
Цитологический метод	Содержание ПК в миелограмме, n=29	25,8	0,8-72,4	26,84±3,43
Метод мультипараметрической проточной цитофлуориметрии (иммунофенотипирование)	Доля aberrantных ПК от всех просчитанных событий, n=20	5,52	0,27-64,3	12,7±3,68
	Доля ПК, экспрессирующих MAGE-C1, от всех просчитанных событий, n=29	5,22	0,0004-44,2	9,51±2,1

При исследовании экспрессии белка MAGE-C1 методом проточной цитофлуориметрии исследовали фракцию CD138+ клеток в связи с тем, что этот иммунофенотипический маркер специфичен для ПК, однако не позволяет отдифференцировать нормальные ПК от опухолевых. Вследствие этого, мы ориентировались на показатели aberrantных ПК, полученные при выполнении иммунофенотипирования. Процент aberrantных ПК от всех ПК, выявленных в пробах, соответствовал значениям, превышающим 95%. Таким образом, нам удалось подтвердить специфичность экспрессии MAGE-C1 именно злокачественными ПК.

Взаимосвязь клинико-лабораторных параметров больных ММ с экспрессией гена MAGE-C1 и белка MAGE-C1

В качестве следующего этапа работы мы провели анализ взаимосвязи клинико-лабораторных параметров больных ММ с исследуемыми целевыми параметрами.

У больных с нормальной и повышенной экспрессией гена *MAGE-C1* достоверные отличия были определены в зависимости от пола пациента, наличия костных плазмоцитом и их размеров, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), содержания гемоглобина, доли плазматических клеток в костном мозге.

У больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* наличие костных плазмоцитом документировали значительно реже (33,3%) чем у больных с повышенной экспрессией исследуемого гена (57,2%), $p=0,02$.

Только у 10% больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* размеры плазмоцитомы превышали 50 мм хотя бы в одном измерении в отличие от больных с

повышенной экспрессией исследуемого гена, размеры костных плазмоцитом у которых превышали 50 мм в одном измерении уже в 58,3% случаев, $p=0,006$. При этом удалось определить, что наиболее часто (83,3%) костные плазмоцитомы размерами более 50 мм регистрировали у больных с высоким уровнем экспрессии гена *MAGE-C1*, $p=0,01$.

Аналогичные результаты были получены при сравнительном анализе клинико-лабораторных характеристик у больных с нормальной и повышенной экспрессией белка *MAGE-C1*, определенной ИГХ методом. У больных с нормальной экспрессией исследуемого белка костные плазмоцитомы размерами более 50 мм выявлены значительно реже, чем у больных с высокой экспрессией белка *MAGE-C1*: 28,6% против 100%, $p=0,02$.

Известно, что наличие плазмоцитомы в дебюте заболевания значительно снижает показатели выживаемости больных ММ. В то же время, факторы, способствующие развитию плазмоцитомы в настоящее время до конца не определены, открытым остается вопрос о том, могут ли геномные изменения способствовать распространению опухолевых клеток за пределы костного мозга и создавать благоприятные условия для их роста и выживания.

Повышенные показатели активности ЛДГ у больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* регистрировали значимо реже по сравнению с больными с повышенной экспрессией исследуемого гена: 23,3% против 47,6%, $p=0,01$. Распределение больных с повышенной экспрессией исследуемого гена на группы с промежуточным и высоким уровнем экспрессии позволило обнаружить, что высокая активность ЛДГ регистрировалась достоверно более чем в два раза чаще у больных с гиперэкспрессией гена (38% против 84,6%), $p=0,0008$.

Доказано, что повышение активности ЛДГ сопровождается агрессивным течением заболевания, этот фактор выступает в качестве дополнительного признака, отражающего активность опухолевого процесса, и значительно снижает продолжительность общей выживаемости.

В нашем исследовании, как и в работах других авторов, не было выявлено значимой корреляции между детекцией экспрессии гена *MAGE-C1* и наличием комплекса цитогенетических аномалий высокого риска. Однако удалось определить, что обнаружение del17p чаще ассоциировалось с выявлением повышенной экспрессии гена *MAGE-C1*, чем нормальной (91% против 9%) $p=0,05$.

Одновременно с этим, обнаружено, что средние значения экспрессии гена *MAGE-C1* были достоверно ниже у больных с I-II стадиями по R-ISS по сравнению с больными, у которых была определена III стадия (0,69 против 1,77 ($2^{\Delta Ct}$), $p=0,04$.

Полученные результаты являются закономерными, так как в критерии пересмотренной системы стадирования R-ISS включены показатели активности ЛДГ и цитогенетические аномалии высокого риска, а III стадия характеризуется высокой активностью ЛДГ и/или

наличием цитогенетических аномалий высокого риска в сочетании с III стадией по ISS.

Анимию разной степени тяжести (содержание гемоглобина от 55 до 119 г/л) регистрировали у 90% больных с нормальной экспрессией против 60,4% больных с повышенной экспрессией исследуемого гена, $p=0,003$. При распределении больных на три группы в зависимости от уровня экспрессии гена данная тенденция сохранялась, $p=0,02$.

Данная закономерность может быть обусловлена следующим наблюдением. Известно, что одной из причин развития анемии при ММ может выступать плазмноклеточная инфильтрация костного мозга, угнетающая нормальный эритропоэз. В нашем исследовании у 56,6% больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* инфильтрация костного мозга ПК превышала 30%, у больных с повышенной экспрессией исследуемого гена такое процентное содержание ПК в миелограмме регистрировали лишь у 30,8%, $p=0,05$.

При сопоставлении значений процентного содержания ПК костного мозга, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, определенного методом проточной цитофлуориметрии, с клинико-лабораторными характеристиками больных ММ, удалось обнаружить взаимосвязь с нарушением почечной функции. Было продемонстрировано, что у больных с нормальной функцией почек, доля ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, была достоверно ниже (медиана 3,78%), чем у больных с миеломной каст-нефропатией (медиана 18%), $p=0,03$.

Были проанализированы значения процентного содержания ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, экспрессии гена *MAGE-C1* и показатели экскреции белка Бенс-Джонса у больных ММ с миеломной каст-нефропатией в дебюте заболевания. Основываясь на этих параметрах, мы построили прогностические модели и выделили группы больных относительно риска развития миеломной каст-нефропатии. Группа высокого риска была выделена на основании высокого процентного содержания ПК ($\geq 18\%$), экспрессирующих белок *MAGE-C1*, и экскреции белка Бенс-Джонса $>0,5$ г/сут. Вероятность развития каст-нефропатии в этом случае составила 66,6%, $p=0,07$ (рисунок 2А).

Прогностическая модель, основанная на параметрах процентного содержания ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, и экспрессии гена *MAGE-C1* ПК костного мозга, позволила обнаружить, что решающим фактором, влияющим на развитие нефропатии, является не столько уровень экспрессии гена *MAGE-C1*, сколько увеличение числа ПК, экспрессирующих исследуемый белок. Как низкие, так и высокие показатели экспрессии гена *MAGE-C1*, выявленные у больных с $<18\%$ ПК, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, позволили документировать миеломную каст-нефропатию лишь в 11,1% и 13% случаев. Тогда как достоверно большее число больных ММ с документированной миеломной каст-нефропатией (80%) было выявлено на фоне одновременного роста процентного содержания ПК, экспрессирующих *MAGE-C1*, и уровня экспрессии гена *MAGE-C1*, $p=0,01$ (рисунок 2Б).

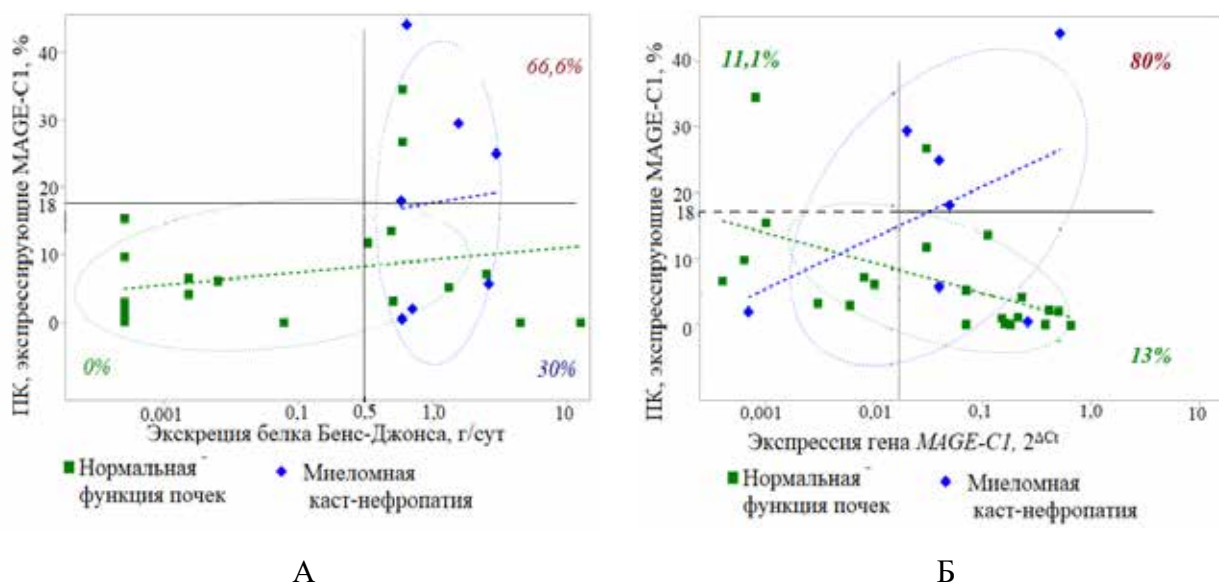


Рисунок 2. Определение риска развития миеломной каст-нефропатии в дебюте ММ:

А – в зависимости от числа ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1, и показателей экскреции белка Бенс-Джонса;

Б - в зависимости от числа ПК, экспрессирующих белок MAGE-C1, и показателей экспрессии гена MAGE-C1.

Оценка противоопухолевого ответа на бортезомиб-содержащие курсы в зависимости от экспрессии гена *MAGE-C1*

Результаты исследования позволили оценить связь экспрессии гена *MAGE-C1* и белка MAGE-C1 с риском формирования резистентности опухоли. Нормальные показатели экспрессии исследуемого гена и белка ассоциировались с более высокой вероятностью достижения общего (ПО+ОХЧО+ЧО) ответа в короткие сроки после начала специфической терапии.

Оценку противоопухолевого ответа производили после 4-6 курсов терапии, так как в случае рефрактерности опухоли к бортезомибу, требовался переход на вторую и последующие линии терапии.

У больных с нормальной экспрессией исследуемого гена вероятность достижения общего ответа составила 87,8% в среднем через 1,77 месяцев от начала терапии против 64% через 3,6 месяцев в группе больных с повышенной экспрессией, $p=0,03$ (рисунок 3А). При этом распределение больных в зависимости от уровня экспрессии гена *MAGE-C1*, позволило определить, что наименьшая вероятность достижения общего ответа наблюдалась в группе больных с высоким уровнем экспрессии исследуемого гена и составила 58,3%, у больных с промежуточным уровнем экспрессии вероятность достижения ответа была несколько выше и соответствовала 66%. Медиана времени достижения общего ответа у больных с

промежуточным уровнем экспрессии составляла 3,44 месяца, а у больных с высоким уровнем экспрессии возрастала до 4,22 месяца, $p=0,09$ (рисунок 3Б).

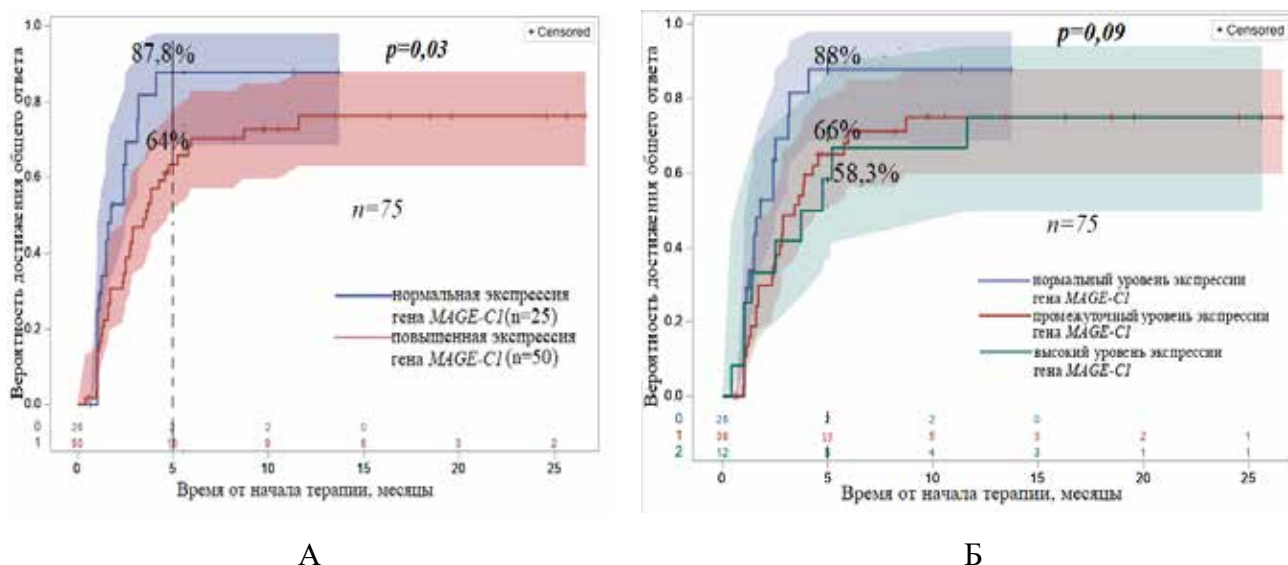


Рисунок 3. Вероятность достижения общего противоопухолевого ответа у больных:

А - с нормальной или повышенной экспрессией гена MAGE-C1;

Б – с нормальным, промежуточным и высоким уровнем экспрессии гена MAGE-C1.

Кроме того, выявлено, что значения экспрессии гена *MAGE-C1* в дебюте ММ были достоверно ниже у больных, достигших общего ответа, и составили 0,15 ($2^{\Delta Ct}$) против 0,27 ($2^{\Delta Ct}$) у больных с рефрактерным к бортезомибу течением заболевания, $p=0,05$.

Оценка противоопухолевого ответа на бортезомиб-содержащие курсы в зависимости от экспрессии белка MAGE-C1

Оценка вероятности достижения общего ответа у больных с нормальными и повышенными показателями экспрессии белка MAGE-C1 ПК костного мозга, определенными методом ИГХ, не позволила получить достоверные результаты. Вероятно, это обусловлено малым объемом выборки больных. Несмотря на это отмечена тенденция некоторого улучшения показателей общего противоопухолевого ответа у больных с нормальной экспрессией исследуемого белка. Так, у всех больных с нормальной экспрессией белка MAGE-C1 было констатировано достижение общего ответа уже к 5 месяцам от начала лечения, тогда как у больных с повышенной экспрессией белка MAGE-C1 общий ответ на бортезомиб –содержащие схемы терапии к этому же сроку составил 77%, а предельный процент больных, которые достигали минимум частичный ответ был равен 82% к году от начала лечения после назначения им препаратов второй и последующих линий терапии, $p=0,98$ (рисунок 4А).

Разделение больных на три группы в зависимости от уровня экспрессии белка MAGE-C1 позволило определить, что вероятность достижения общего противоопухолевого ответа к 5 месяцам от начала терапии у больных с промежуточной экспрессией исследуемого белка

составила 90% и приближалась к таковой у больных с нормальной экспрессией белка MAGE-C1. В то же время наиболее неблагоприятное влияние оказывало выявление высокого уровня экспрессии белка MAGE-C1, вероятность достижения общего противоопухолевого ответа у больных из этой группы к 5 месяцам от начала терапии снижалась до 70%, $p=0,55$ (рисунок 4Б). Включение в схемы лечения иммуномодулирующих препаратов, моноклональных антител, позволило увеличить частоту достижения противоопухолевого ответа в группе больных с высокой экспрессией исследуемого белка максимально до 77% к году от начала индукционного этапа терапии.

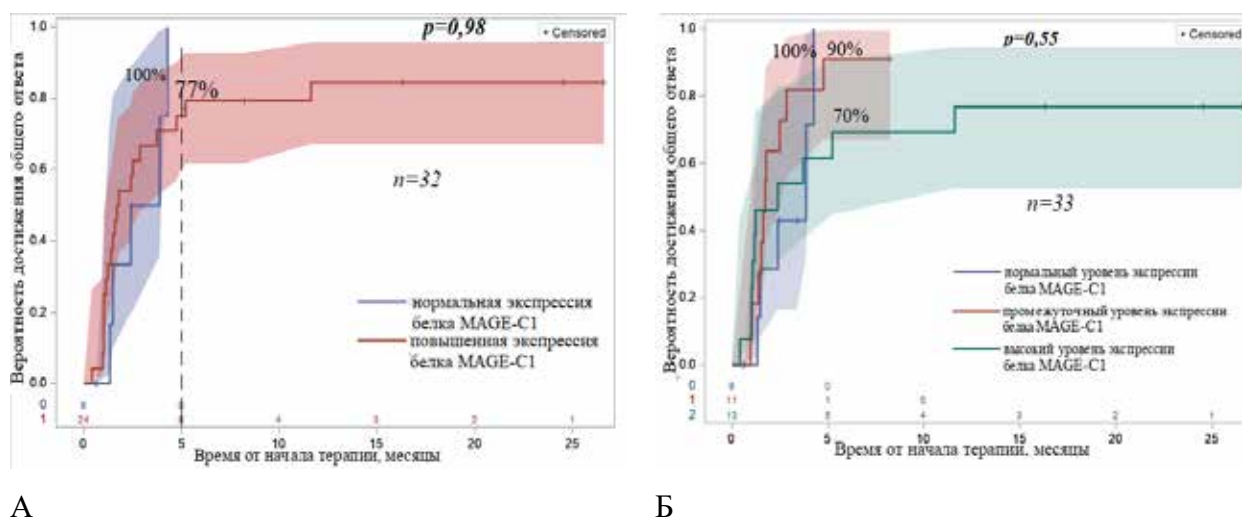


Рисунок 4. Вероятность достижения общего противоопухолевого ответа у больных:
 А - с нормальной и повышенной экспрессией белка MAGE-C1;
 Б - с нормальным, промежуточным и высоким уровнем экспрессии белка MAGE-C1.

Экспрессия гена *MAGE-C1* как маркер рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК

Следующим этапом работы являлась оценка вероятности развития рецидива или прогрессии после ауто-ТГСК у 31 больного с нормальной или повышенной экспрессией гена *MAGE-C1*. В качестве индукционного этапа лечения 29 больным проводили курсы терапии с применением бортезомиба, у двух больных были использованы комбинированные схемы с применением двух таргетных препаратов (бортезомиб и леналидомид). Проведение двух линий терапии с включением леналидомид-содержащих курсов, схем с использованием химиотерапевтических препаратов потребовалось 13 больным.

Из 31 больного, включенного в данный этап анализа, у 11 больных экспрессия гена *MAGE-C1* была определена как нормальная - медиана 0,003 (0,0006-0,04, 2^{ACt}), у остальных 20 документирована повышенная экспрессия исследуемого гена – медиана 0,4 (0,07-4,45, 2^{ACt}).

В таблице 4 представлены варианты достигнутого противоопухолевого ответа у больных ММ перед выполнением высокодозного этапа терапии в зависимости от нормальной и

повышенной экспрессии гена *MAGE-C1*.

Таблица 4. Противоопухолевый ответ у больных с нормальной и повышенной экспрессией гена *MAGE-C1* перед выполнением ауто-ТГСК.

Экспрессия гена <i>MAGE-C1</i> (n=31)	Частота достигнутого противоопухолевого ответа перед ауто-ТГСК			
	ПО	ОХЧО	ЧО	Стабилизация
Нормальная (n=11)	9% 1/11	45,5% 5/11	36,5% 4/11	9% 1/11
Повышенная (n=20)	5% 1/20	40% 8/20	40% 8/20	15% 3/20

Распределение больных в группах с нормальной и повышенной экспрессией исследуемого гена относительно достигнутого противоопухолевого ответа перед выполнением ауто-ТГСК было примерно одинаковым, что позволяет рассматривать группы как сопоставимые.

У больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* в течение 15 месяцев после ауто-ТГСК сохранялась ремиссия заболевания, к 20 месяцу не более чем у 20% больных констатировали развитие рецидива или прогрессии. В то же время в эти же сроки уже у 70% больных с повышенной экспрессией исследуемого гена наблюдалось развитие рецидива или прогрессии (рисунок 5).

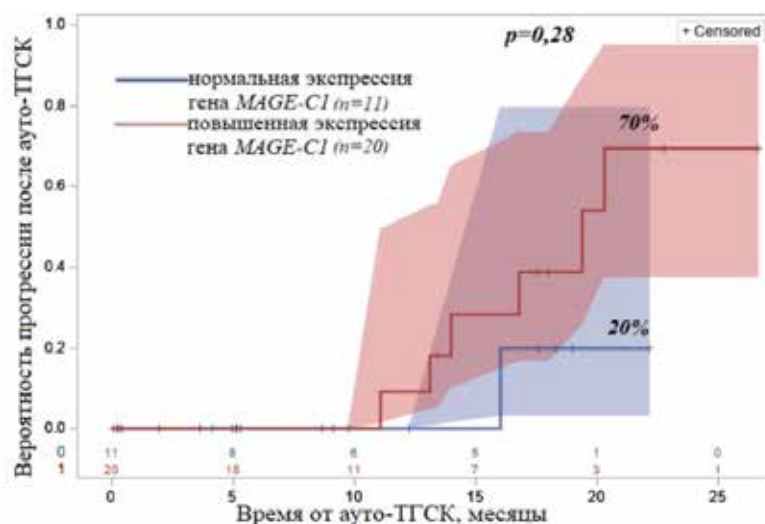


Рисунок 5. Вероятность рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК в зависимости от экспрессии гена *MAGE-C1*.

Кроме того, в группе больных с повышенной экспрессией гена *MAGE-C1* развитие рецидива или прогрессии констатировали раньше на полгода по сравнению с больными, у которых экспрессия исследуемого гена была определена как нормальная. Таким образом,

повышенная экспрессия гена *MAGE-C1* втрое увеличивает вероятность рецидива или прогрессии после высокодозного этапа терапии с последующей ауто-ТГСК у больных ММ, однако, достоверность полученных результатов не была подтверждена статистически ($p=0,28$), вероятно, ввиду малой выборки больных.

У 19 больных, которым была выполнена ауто-ТГСК, документирован стандартный цитогенетический риск, у остальных 12 - высокий цитогенетический риск. Из 12 больных с высоким цитогенетическим риском у 4 экспрессия гена *MAGE-C1* расценена как нормальная, у 8 - повышенная. Чтобы определить какой фактор имеет наибольшее влияние на вероятность развития рецидива или прогрессии после ауто-ТГСК, больные были разделены на 4 группы.

Первой группе больных соответствовали нормальные показатели экспрессии исследуемого гена и стандартный цитогенетический риск ($n=7$), во вторую группу вошли 4 больных с нормальной экспрессией гена *MAGE-C1* и высоким цитогенетическим риском, к третьей группе отнесены 12 больных с повышенной экспрессией гена *MAGE-C1* и стандартным риском, четвертая группа — 8 больных, включивших совокупность двух неблагоприятных признаков.

Результаты оценки вероятности рецидива или прогрессии в этих 4 группах представлены на **рисунке 6**.

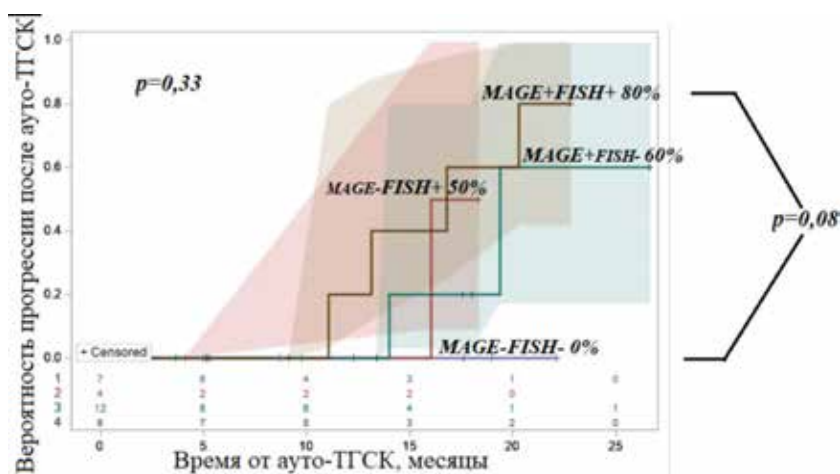


Рисунок 6. Вероятность рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК в зависимости от экспрессии гена *MAGE-C1* и цитогенетического риска.

FISH «-» — стандартный цитогенетический риск, FISH «+» — высокий цитогенетический риск, *MAGE* «-» нормальная экспрессия гена *MAGE-C1*, *MAGE* «+» повышенная экспрессия гена *MAGE-C1*.

Наиболее благоприятное течение заболевания наблюдалось у больных с нормальной экспрессией исследуемого гена и стандартным цитогенетическим риском, у всех больных из этой группы сохранялась ремиссия заболевания к 20 месяцам после ауто-ТГСК. В то же время

совокупность сразу двух факторов (повышенная экспрессия исследуемого гена и высокий цитогенетический риск) значимо увеличивала вероятность развития рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК до 80%. Столь значительная разница на небольшой выборке больных может рассматриваться как достоверная ($p=0,08$).

При этом в рамках нашей работы не удалось определить какой из этих факторов (повышенная экспрессия гена *MAGE-C1* или высокий цитогенетический риск) оказывает наибольшее влияние на вероятность развития рецидива или прогрессии у больных после ауто-ТГСК. Как повышенная экспрессия исследуемого гена, так и наличие цитогенетических аномалий высокого риска, одинаково влияли на развитие рецидива или прогрессии у больных ММ после ауто-ТГСК (60% и 50%, соответственно).

Представляется важным продолжить изучение этой проблемы. Возможно, более длительный период наблюдения и увеличение числа больных, позволит подтвердить выявленную зависимость в этих двух группах.

Выводы

1. Определено, что в дебюте множественной миеломы повышенная экспрессия гена *MAGE-C1* плазматическими клетками костного мозга выявляется методом ПЦР-РВ у 68% больных, а экспрессия белка *MAGE-C1* методом ИГХ – у 73,5% больных. Методом проточной цитометрии подтверждено, что экспрессия внутриядерного белка *MAGE-C1* присутствует в 95-100% аберрантных плазматических клеток.

2. Показано, что высокая экспрессия гена *MAGE-C1* по сравнению с нормальной достоверно чаще ассоциируется с наличием костных плазмоцитом крупных размеров (83,3% против 10%, $p=0,001$), повышенной активностью ЛДГ (84,6% против 23,3%, $p=0,0008$), низким (<30%) содержанием плазматических клеток в миелограмме (69,2% против 43,4%, $p=0,02$), наличием del17p (91% против 9%, $p=0,05$). При этом достоверная взаимосвязь высокой экспрессии белка *MAGE-C1* обнаружена только с наличием крупных (более 50 мм) костных плазмоцитом (100% против 28,6%, $p=0,02$).

3. Доказано, что при одновременном повышении уровня экспрессии гена *MAGE-C1* и содержания плазматических клеток, экспрессирующих белок *MAGE-C1*, вероятность развития миеломной каст-нефропатии у больных с выявленной экскрецией белка Бенс-Джонса возрастает до 80% ($p=0,01$).

4. Показано, что высокая экспрессия гена *MAGE-C1* ассоциируется с достоверным снижением вероятности достижения общего ответа на бортезомиб-содержащие схемы индукционной терапии (64% против 87,8%), а также с увеличением в 2 раза медианы времени

достижения общего ответа (3,6 против 1,77 месяцев), $p=0,03$.

5. Определено, что повышенная экспрессия гена *MAGE-C1* в сочетании с высоким цитогенетическим риском увеличивает вероятность рецидива или прогрессии после выполнения ауто-ТГСК по сравнению с нормальной экспрессией и стандартным цитогенетическим риском (80% против 0%, $p=0,08$).

Практические рекомендации

При выявлении повышенной экспрессии гена *MAGE-C1* у больных ММ, в первой линии индукционной терапии целесообразно применение двух таргетных препаратов.

В случае возникновения трудностей при определении экспрессии гена *MAGE-C1* методом ПЦР-РВ, обусловленных низкой клеточностью пунктата костного мозга, следует рассмотреть применение ИГХ метода с окраской антителом к *MAGE-C1*.

У больных с высокой экспрессией ПК гена *MAGE-C1* и/или белка *MAGE-C1* важно прицельное выполнение визуализирующих методов исследования для оценки размеров и количества костных плазмоцитом или экстрамедуллярного поражения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Макунина Э. А. Раково-тестикулярный антиген *MAGE-C1/CT7* при множественной миеломе // Онкогематология, 2020, Т.15, №4, С.29-37

2. Макунина Э.А., Менделеева Л.П., Сурин В.Л., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Ковригина А.М., Шерстнев А.А., Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Куликов С.М. Сопоставление экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* у первичных больных множественной миеломой // Онкогематология. 2022. Т. 17. № 2. С. 51-59.

3. Нарейко М.В., Менделеева Л. П., Сурин В. Л., Демидова Е. Ю., Покровская О. С., Кузьмина Л. А., Грибанова Е. О., Гальцева И. В., Урнова Е. С., Дроков М. Ю., Фирсова М. В., Соловьев М. В., Макунина Э. А., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г. Эффективность индукционной терапии у первичных больных множественной миеломой в зависимости от уровня экспрессии гена *C-MYC* в дебюте заболевания // Гематология и трансфузиология, 2016. Т.61, №1, С.10-16

4. Е.А. Мамаева, Л.П. Менделеева, М.В. Соловьев, М. В. Фирсова, А. А. Крайзман, Н. К. Арутюнян, А. В. Абакумова, А. А. Старцев, Э. А. Макунина, Ю. А. Кондратьева, Л. А. Кузьмина Ранние и поздние рецидивы множественной миеломы после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток // Гематология и трансфузиология Том 66, №4(2021) стр. 512-525

5. Макунина Э.А., Фирсова М.В., Менделеева Л. П., Сурин В. Л., Соловьев М. В., Сергеева А. М., Гальцева И. В., Давыдова Ю. О., Капранов Н. М., Крайзман А.А., Кондратьева Ю. А., Арутюнян Н. К. Экспрессия гена *MAGE-C1* у больных множественной миеломой в дебюте заболевания // Гематология и трансфузиология, 2020. Т.65, №S1, С.173

6. Макунина Э.А., Менделеева Л. П., Сурин В. Л., Гальцева И. В., Соловьев М. В., Фирсова М.В., Давыдова Ю. О., Капранов Н. М. Сопоставление клинико-лабораторных параметров и экспрессии гена *MAGE-C1* у больных множественной миеломой // Сборник тезисов постерной сессии XVIII Российской конференции с международным участием. Москва, 2021. С. 29-30

7. Макунина Э.А., Менделеева Л.П., Сурин В.Л., Гальцева И.В., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Давыдова Ю.О., Капранов Н.М. Влияние экспрессии гена *MAGE-C1* на эффективность бортезомиб-содержащих схем терапии при множественной миеломе // Сборник тезисов постерной сессии XVIII Российской конференции с международным участием. Москва, 2021. С. 29

8. Макунина Э.А., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Старцев А.А., Абакумова А.В., Мамаева Е.А., Хышова В.А., Гальцева И.В., Сурин В.Л., Менделеева Л.П. Зависимость противоопухолевого ответа от экспрессии гена *MAGE-C1* у больных множественной миеломой // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 248-249.

9. Макунина Э.А., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Абакумова А.В., Мамаева Е.А., Старцев А.А., Хышова В.А., Гальцева И.В., Сурин В.Л., Менделеева Л.П. Влияние экспрессии гена *MAGE-C1* на показатели выживаемости без прогрессии больных множественной миеломой после ауто-ТГСК // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 54.

10. Макунина Э.А., М.В. Соловьев, М.В. Фирсова, А. А. Шерстнев, А. В. Абакумова, Е.А. Мамаева, А. А. Старцев, В.Л. Сурин, А.М. Ковригина, Л.П. Менделеева Сопоставление экспрессии гена *MAGE-C1* и белка *MAGE-C1* у больных множественной миеломой в дебюте заболевания // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 247-248.

11. Боева Э.А., Покровская О. С., Менделеева Л. П., Урнова Е. С., Нарейко М. В., Фирсова М. В., Соловьев М. В., Кузьмина Л. А., Гальцева И. В., Гапонова Т. В., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г. Влияние количества мобилизованных CD34+ клеток на выживаемость больных множественной миеломой после аутологичной трансплантации // Вестник гематологии. 2014. Т.10. №2. С. 9-10

12. Боева Э.А., Покровская О. С., Менделеева Л. П., Кузьмина Л. А., Гальцева И. В., Варламова Е. Ю., Двирнык В. Н., Костина И. Э., Таусон И. В., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г. Тандемная трансплантация аутологичного и аллогенного костного мозга у молодого больного с резистентно-рецидивирующим течением множественной миеломы // Гематология и трансфузиология, 2014. Т.59, №1-S1, С.81

13. Фирсова М.В., Покровская О. С., Менделеева Л. П., Урнова Е. С., Нарейко М. В., Боева Э. А., Васильева В. А., Соловьев М. В., Михальцова Е. Д., Рехтина И. Г., Модел С. В., Кузьмина Л. А., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г. Высокодозная химиотерапия и трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с множественной миеломой, протекающей с диализ-зависимой почечной недостаточностью // Вестник гематологии. 2014. Т. 10. № 2. С. 75-76.

14. Покровская О. С., Менделеева Л. П., Урнова Е. С., Фирсова М.В., Боева Э. А., Нарейко М. В., Кузьмина Л. А., Гальцева И. В., Паровичникова Е. Н., Рехтина И. Г., Таусон И. В., Варламова Е. Ю., Савченко В. Г. Высокодозная химиотерапия и трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой, протекающей с почечной недостаточностью // Гематология и трансфузиология, 2014. Т.59, №1-S1, С.24

15. Старцев А.А., Соловьев М. В., Фирсова М.В., Макунина Э. А., Крайзман А. А., Менделеева Л. П. Дополнительная трансплантация аутологичных стволовых клеток крови после I рецидива множественной миеломы // Вестник гематологии, 2019 Т. 15. №3. с 64-65.

16. Мамаева Е. А., Менделеева Л. П., Покровская О. С., Урнова Е. С., Соловьев М. В., Фирсова М.В., Крайзман А. А., Макунина Э. А., Арутюнян Н. К., Кондратьева Ю. А. Клиническое течение рецидива множественной миеломы после трансплантации аутологичных стволовых клеток крови // Гематология и трансфузиология, 2020. Т.65, №S1, С.86-87

17. Фирсова М.В., Менделеева Л. П., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А., Соловьев М. В., Покровская О. С., Крайзман А. А., Макунина Э. А., Довыденко М. В., Мамаева Е. А., Хышова В. А., Савченко В. Г. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток больным множественной миеломой в режиме ауто-алло // Гематология и трансфузиология, 2020 Т.65, №S1, С.51-52

18. Кондратьева Ю. А., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Арутюнян Н. К., Макунина Э. А., Скидан Н. И., Менделеева Л. П. Эффективность локальной лучевой терапии на остаточные костные плазмцитомы после ауто-ТГСК у пациентов с множественной миеломой // Гематология и трансфузиология, 2020. Т.65, №S1, С.151

19. Фирсова М.В., Менделеева Л. П., Соловьев М. В., Покровская О. С., Кузьмина Л. А., Рехтина И. Г., Урнова Е. С., Крайзман А. А., Макунина Э. А., Кондратьева Ю. А., Савченко В. Г. Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови больным множественной миеломой, осложненной диализ-зависимой почечной недостаточностью // Гематология и трансфузиология, 2020. Т.65, №S1, С.105-106

20. Старцев А.А., Менделеева Л. П., Соловьев М. В., Фирсова М.В., Макунина Э. А., Крайзман А. А., Абакумова А. В., Мамаева Е. А. Отсроченное восстановление показателей периферической крови после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови у больных множественной миеломой // Гематология и трансфузиология, 2020. Т.65, №S1, С.104

21. Старцев А.А., Соловьев М.В., Двирнык В.Н., Панасенко М.Н., Гальцева И.В., Капранов Н.М., Фирсова М.В., Макунина Э.А., Абакумова А.В., Мамаева Е.А., Менделеева Л.П. Сопоставление экспрессии CD269, CD319 на опухолевых плазматических клетках костного мозга и циркулирующих в крови белков BCMA, SLAMF7 в дебюте множественной миеломы // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 76.

22. Соловьев М.В., Фирсова М.В., Макунина Э.А., Старцев А.А., Мамаева Е.А., Абакумова А.В., Менделеева Л.П. Эффективность тандемной ауто-ТГСК у больных множественной миеломой (результаты одноцентрового ретроспективного исследования) // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 75.

23. Менделеева Л.П., Соловьев М.В., Фирсова М.В., Макунина Э.А., Старцев А.А., Мамаева Е.А., Абакумова А.В., Крайзман А.А., Арутюнян Н.К. COVID-19 у больных множественной миеломой (одноцентровое когортное исследование) // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 56-57.

24. А. А. Старцев, М.В. Соловьев, В.Н. Двирнык, М.Н. Панасенко, М.В. Фирсова, Э.А. Макунина, А.В. Абакумова, Е.А. Мамаева, Л.П. Менделеева Сопоставление клинико-лабораторных параметров и концентрации циркулирующего белка внеклеточного матрикса SLAMF7 у больных ММ в дебюте заболевания // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 303.

25. Мамаева Е.А., Фирсова М.В., Соловьев М.В., Абакумова А.В., Старцев А.А., Макунина Э.А., Костина И.Э., Ковригина А.М., Менделеева Л.П. Особенности клинической характеристики множественной миеломы, осложненной костными плазмочитомами // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 251.

26. Мамаева Е.А., Фирсова М.В., Соловьев М.В., Абакумова А.В., Старцев А.А., Макунина Э.А., Ковригина А.М., Данилина Т.П., Обухова Т.Н., Абрамова Т.В., Менделеева Л.П. Молекулярно-биологические различия опухолевых клеток в костном мозге и субстрате костной плазмоцитомы при множественной миеломе // Гематология и трансфузиология. 2022. Т. 67. № S2. С. 125.

27. Е.А. Мамаева, М.В. Фирсова, М.В. Соловьев, А.В. Абакумова, А. А. Старцев, Э.А. Макунина, Т.П. Данилина, А.М. Ковригина, Л.П. Менделеева Особенности клинического течения плазмноклеточной миеломы у пациентов с костными плазмоцитомами и экспрессией циклина D1 // Вестник гематологии, 2022. Т. XVIII. № 2. С.65.

28. Makunina E.A., Mendeleeva L.P., Surin V.L., Galtseva I.V, Davidova J.O., Solovev M.V., Firsova M.V., Savchenko V.G. Effect of *MAGE-C1* Gene Expression on Prognosis and Effectiveness of Bortezomib-Containing Courses in Multiple Myeloma // Blood 2021. Т. 138 № S1 С. 4327

29. Makunina E.A., Mendeleeva L., Surin V., Soloviev M., Firsova M., Galtseva I., Kulikov S., Startsev A., Mamaeva E., Abakumova A. Assesment of the efficacy of bortezomib-containing therapy regimens depending on MAGE-C1 gene expression in multiple myeloma patients // HemaSphere. 2022. Т. 6. № S3. С. 1826-1827.

30. Urnova E.S., Mendeleeva L., Pokrovskaya O., Graheva M., Tarandovskii I., Nareiko M., Gemdjan E., Firsova M., Solovev M., Kuzmina L., Makunina E., Parovichnicova E., Savchenko V. Hypercoagulability in multiple myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation // Bone Marrow Transplantation. 2015. Т .50. №s1. С. S626

31. Pokrovskaya O., Mendeleeva L., Makunina E., Kuzmina L., Firsova M., Nareiko M., Urnova E., Galtseva I., Sorokina T., Parovichnicova E., Savchenko V. Tandem autologous plus reduced-intensity allogeneic ctem cell transplantation without standard immunosuppression in young patients with relapsed and refractory mulyple myeloma // Bone Marrow Transplantation. 2015. Т .50. №s1. С. S300

32. Startsev A.A., Solovev M., Dvirnyk V., Panasenko M., Galtseva I., Kapranov N., Firsova M., Makunina E., Abakumova A., Mamaeva E., Mendeleeva L. CD269, CD319 expression on malignant plasma cells and soluble BCMA, SLAMF7 protein comparation in newly diagnosed multiply myeloma patients // HemaSphere. 2022. Т. 6. № S3. С. 1902-1903.

33. Abakumova A., Mendeleeva L., Klyasova G., Solovev M., Firsova M., Makunina E., Mamaeva E., Startsev A. Spectrum of infectious complications following transplantation of autologous blood stem cells in patients with mulyple myeloma // HemaSphere. 2022. Т. 6. № S3. С. 1850-1851.

34. Mamaeva E., Firsova M., Solovev M., Abakumova A., Startsev A., Makunina E., Kovrigina A., Danilina T., Mendeleeva L. Comparison of expression of NSD2, CYCLIN D1 and C-MAF by plasma cells in bone marrow and plasmacytoma in patients with plasma cell myeloma // HemaSphere. 2022. T. 6. № S3. C. 1835-1836