



Влияние экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости на клиническое течение множественной миеломы

Черных Ю.Б.¹ • Голенков А.К.¹ • Шушанов С.С.² • Кравцова Т.А.² • Рыбалкина Е.Ю.² • Карамышева А.Ф.² • Митина Т.А.¹ • Трифонова Е.В.¹ • Катаева Е.В.¹ • Высоцкая Л.Л.¹ • Ставровская А.А.²

Черных Юлия Борисовна – науч. сотр., отделение клинической гематологии и иммунотерапии¹

✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–9, Российская Федерация.
Тел.: +7 (495) 631 73 81.
E-mail: yulia_chernih@mail.ru

Голенков Анатолий Константинович – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения клинической гематологии и иммунотерапии¹

Шушанов Саин Сакенович – д-р биол. наук, вед. науч. сотр., лаборатория генетики опухолевых клеток²

Кравцова Татьяна Александровна – мл. науч. сотр., лаборатория генетики опухолевых клеток²

Рыбалкина Екатерина Юрьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаборатория генетики опухолевых клеток²

Карамышева Аида Фуадовна – д-р биол. наук, руководитель лаборатории генетики опухолевых клеток²

Митина Татьяна Алексеевна – д-р мед. наук, ст. науч. сотр., отделение клинической гематологии и иммунотерапии¹

Трифопова Елена Викторовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., отделение клинической гематологии и иммунотерапии¹

Катаева Елена Васильевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., отделение клинической гематологии и иммунотерапии¹

Высоцкая Людмила Леонидовна – канд. мед. наук, науч. сотр., отделение клинической гематологии и иммунотерапии¹

Ставровская Алла Александровна – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр., лаборатория генетики опухолевых клеток²

Актуальность. Внедрение ингибитора протеасомы препарата бортезомиб для лечения множественной миеломы позволило улучшить выживаемость пациентов с этим злокачественным заболеванием, характеризующимся непрерывно рецидивирующим течением – клиническим проявлением феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). В предшествующих исследованиях получены противоречивые данные о воздействии экспрессии отдельных генов МЛУ на эффективность бортезомиба.

Цель – определить влияние экспрессии мРНК генов *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP*, ответственных за развитие МЛУ, в аспиратах костного мозга пациентов с впервые выявленной множественной миеломой до начала бортезомибсодержащей терапии на клиническое течение заболевания, ответ на проводимое лечение и общую выживаемость. **Материал и методы.** В группе из 15 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой III стадии по классификации Дьюри – Салмона до начала цитостатического лечения бортезомибсодержащими программами полихимиотерапии изучали экспрессию генов МЛУ. Исследование проводили в клетках мононуклеарной фракции костного мозга, содержащей плазмциты, экспрессию генов МЛУ определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. **Результаты.** Экспрессия генов МЛУ обнаружена у всех пациентов с впервые выявленной множественной миеломой до начала цитостатической терапии: *MDR1* экспрессирован у 14 (93%) больных, *MRP1*

и *LRP* – у 11 (73%), *BCRP* – у 15 (100%). Между подгруппами пациентов с высокой и низкой экспрессией генов МЛУ не выявлено статистически значимых отличий по таким клиническим показателям заболевания, как уровень гемоглобина, эритроцитов, общего кальция, креатинина, общего белка, лактатдегидрогеназы, альбумина. На момент диагностики множественной миеломы только абсолютное количество парапротеина оказалось статистически значимо ниже у больных с высокой экспрессией гена *MDR1* ($31,52 \pm 3$ против $44,27 \pm 3,62$ г/л, $p < 0,05$). После завершения 6 курсов индукционного лечения в подгруппе с низкой экспрессией гена *MDR1* зарегистрировано достоверное снижение количества парапротеина ($с 44,3 \pm 3,6$ до $16,8 \pm 5,2$ г/л, $p < 0,05$). На общую выживаемость отрицательное влияние оказала высокая экспрессия только гена *LRP* (медиана общей выживаемости у пациентов с высокой экспрессией гена *LRP* была 17 месяцев, с низкой – 62 месяца, $p < 0,05$). **Заключение.** Высокая экспрессия генов МЛУ у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой не связана с клиническими особенностями течения заболевания, но ухудшает непосредственный ответ на бортезомибсодержащее лечение и общую выживаемость.

Ключевые слова: множественная миелома, множественная лекарственная устойчивость, бортезомибсодержащая терапия

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-624-630

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация



Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) – биологический феномен, значительно улучшающий выживаемость опухолевых клеток в условиях воздействия цитостатических препаратов, что в конечном итоге отрицательно сказывается на длительности жизни пациентов со злокачественными новообразованиями [1]. Особую важность эта проблема приобретает в онкогематологии, где основной способ влияния на злокачественную клетку – полихимиотерапия. Внедрение в широкую клиническую практику новых классов химиопрепаратов, а также их сочетанное использование не всегда позволяет преодолеть лекарственную резистентность, которая проявляется прогрессией или рецидивом заболевания. Детальное изучение механизмов развития лекарственной устойчивости дает возможность прогнозировать раннее развитие резистентности к противоопухолевой химиотерапии и, возможно, обнаружить дополнительные генетические критерии прогноза ответа на лечение [1, 2].

Известно несколько молекулярных механизмов развития МЛУ, но одной из самых распространенных ее причин считается повышенная активность транспортных белков семейства ABC (ATP Binding Cassette), которые способны экспортировать из клетки большое количество разных веществ, в том числе противоопухолевые препараты [1, 2]. Доказана роль таких белков, как Р-гликопротеин (Pgp, или ABCB1), MRP1 (ABCC1), BCRP (ABCG2), LRP (LRP/MVP) в развитии феномена МЛУ при многих злокачественных заболеваниях, в том числе онкогематологических [1, 2]. Повышение активности этих белков – следствие гиперэкспрессии клетками новообразования таких генов МЛУ, как *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP* [2]. Исследования более 300 образцов опухолей до начала цитостатического лечения в подавляющем большинстве случаев выявили экспрессию гена *MDR1* [3]. Доказано, что гиперэкспрессия гена *BCRP* вызывает перекрестную резистентность к митоксантрону, доксорубину, топотекану при остром миелобластном лейкозе взрослых, мелкоклеточном раке легкого, аденокарциномах пищевого тракта [4–6].

Множественная миелома – злокачественное заболевание кроветворной ткани, характеризующееся клональной гетерогенностью опухолевых клеток. Ключевым фактором развития лекарственной резистентности становятся изначально присутствующие в опухолевой популяции клетки, экспрессирующие гены МЛУ. Экспрессия генов *MDR1*, *MRP*, *LRP* до начала терапии

выявляется, по разным данным, от 4 до 41% случаев множественной миеломы [7, 8]. В дальнейшем под влиянием цитостатических препаратов соотношение между количеством лекарственно-чувствительных и лекарственно-устойчивых опухолевых клеток изменяется в сторону увеличения количества последних [1]. Клинически этот процесс проявляется прогрессией/рецидивом заболевания на фоне лечения.

Существуют и альтернативные исследования, в которых на момент диагностики опухолевые плазмоциты были преимущественно МЛУ-отрицательны, а экспрессия генов МЛУ выявлялась только после терапии мелфаланом, доксорубицином, винкристином, кортикостероидами [9, 10].

Внедрение ингибитора протеасомы препарата бортезомиб в широкую клиническую практику позволило значительно улучшить выживаемость больных множественной миеломой. Тем не менее довольно большая группа пациентов резистентны к лечению, проводимому на основе бортезомиба [11]. Условия развития устойчивости к препарату при множественной миеломе активно изучаются, но единого мнения не существует. Недавно сообщалось, что бортезомиб является субстратом для Pgp, но не для других белков-транспортеров, и это непосредственно влияет на экспрессию и функции этого белка [10]. Однако данный вывод не подтверждается другими исследованиями [12].

Отечественные работы по изучению взаимодействия бортезомиба и белков МЛУ открывают новые аспекты темы: бортезомиб может снижать количество мРНК генов *MDR1* и *MRP1* и выступать как ингибитор Pgp [13]. Но проведенные исследования выполнены на культуре опухолевых клеток, а не на клиническом материале.

Недостаточное понимание механизмов развития феномена МЛУ в целом и при лечении бортезомибом в частности не позволяет эффективно решать имеющуюся проблему даже в случае применения препаратов с другими механизмами действия.

Цель нашего исследования – определить влияние экспрессии мРНК генов *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP*, ответственных за развитие МЛУ, в аспиратах костного мозга пациентов с впервые выявленной множественной миеломой до начала бортезомибсодержащей терапии на клиническое течение заболевания, ответ на проводимое лечение и общую выживаемость.

Материал и методы

Проведенное исследование является клинико-экспериментальной работой, направленной

на подтверждение гипотезы о причинно-следственной связи экспрессии генов МЛУ с клиническими особенностями течения впервые выявленной множественной миеломы, а также с ответом на терапию бортезомибсодержащими программами лечения, включая такие параметры, как динамика снижения маркера опухоли парапротеина и общая выживаемость. Данная гипотеза соответствует принципам трансляционной медицины, направленной на изучение влияния фундаментальных факторов на течение и исходы заболевания. Сочетание фундаментальных и клинических данных увеличивает информационный потенциал исследования и делает доказательными полученные результаты. Выбор главного предмета исследования (экспрессия генов *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP*) позволяет минимизировать влияние неучтенных факторов на причинно-следственную связь, изучаемую в работе.

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и соответствует требованиям надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice – GCP).

Исследовался аспират костного мозга 15 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой III стадии (6 мужчин и 9 женщин), возраст пациентов – 51–77 лет (медиана 61 год). Иммунохимическая характеристика типа патологического иммуноглобулина распределилась следующим образом: Ак – 5, Ал – 2, Гк – 4, Гл – 2, Бенс-Джонс λ – 1, Мк – 1 случай. Стадирование на момент диагностики проводили по общепринятой системе V.G. Durie и S.E. Salmon [14]. Всем пациентам, включенным в исследование, в дальнейшем проводилось лечение бортезомибсодержащими схемами полихимиотерапии: VMP – бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно струйно в 1-, 4-, 8- и 11-й дни цикла, мелфалан 9 мг/м² внутрь с 1-го по 4-й дни цикла, преднизолон 60 мг/м² внутрь с 1-го по 4-й дни цикла; VCP – бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно струйно в 1-, 4-, 8- и 11-й дни цикла, циклофосфамид 400 мг внутривенно струйно с 1-го по 4-й дни цикла, преднизолон 60 мг/м² с 1-го по 4-й дни цикла; VMCP – бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно струйно в 1-, 4-, 8- и 11-й дни цикла, мелфалан 9 мг/м² внутрь с 1-го по 4-й дни цикла, циклофосфамид 400 мг внутривенно струйно с 1-го по 4-й дни цикла, преднизолон 60 мг/м² с 1-го по 4-й дни цикла [11]. Эффективность терапии оценивали согласно Единым международным критериям объективного эффекта при множественной миеломе от

2006 г., разработанным Международной группой по изучению множественной миеломы (уровень доказательности 2А согласно Национальной всеобщей онкологической сети (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) [15]. Время наблюдения за больными составило от 1 до 96 месяцев (медиана 31 месяц).

Выделение РНК из клеток мононуклеарной фракции костного мозга и электрофорез выделенной РНК проводились согласно стандартному протоколу. Качество выделенной РНК оценивали по наличию полос рибосомальной РНК. Концентрацию РНК определяли по оптическому поглощению при длине волны 260 нм.

Экспрессию мРНК исследуемых генов определяли полуквантитативным методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Реакцию амплификации проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) по следующей схеме: денатурация – 94 °С, 10 с; отжиг – 10 с; синтез – 72 °С, 20 с. В качестве внутреннего контроля для оценки количества взятой в реакцию РНК определяли экспрессию *GAPDH*. Продукты полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией анализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Размеры фрагментов оценивали в соответствии с расположением полос маркерной ДНК, а их интенсивность оценивали денситометрированием с использованием компьютерной программы Scion Image [13].

Для удобства статистических расчетов интенсивность экспрессии мРНК исследуемых генов представлена в виде относительных величин, то есть отношения полученных при денситометрическом анализе численных значений экспрессии искомого гена и гена, взятого в качестве внутреннего контроля (*GAPDH*), и выражена в баллах. Статистическая обработка полученных данных была выполнена с помощью компьютерной программы Statistica 12.5. Достоверность различий в двух группах определялась с использованием критериев Стьюдента для зависимых (paired t-test) и независимых выборок (independent t-test). Общая выживаемость анализировалась по методу Каплана – Мейера с применением критерия Кокса – Мантла. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Общую выживаемость рассчитывали от даты постановки диагноза до последнего наблюдения или смерти; выбывшие из-под наблюдения пациенты были цензурированы на момент проведения их последнего визита или телефонного интервью.



Результаты и обсуждение

На момент постановки диагноза множественной миеломы экспрессия генов МЛУ обнаружена у всех 15 пациентов (табл. 1). Ген *MDR1* выявлен у 14 (93%), *MRP1* и *LRP* – у 11 (73%), *BCRP* – у 15 (100%) больных. Согласно визуальной шкале, средняя экспрессия генов *MRP1* и *BCRP* составила 1 балл, гена *MDR1* – $1,5 \pm 0,27$, гена *LRP* – $1,47 \pm 0,14$ балла.

В зависимости от интенсивности экспрессии – выше или ниже среднего – мы выделили 2 подгруппы пациентов (с высокой и низкой интенсивностью экспрессии каждого из генов МЛУ) и изучили клинические показатели заболевания. Что касается экспрессии мРНК генов *BCRP* и *MRP1*, в общей группе пациентов не установлено различий по интенсивности их экспрессии, поэтому дальнейший анализ взаимосвязи этого показателя с клиническим течением заболевания не проводился.

В подгруппах пациентов с высокой и низкой интенсивностью экспрессии гена *LRP* достоверных отличий по основным клиническим параметрам (уровень гемоглобина, эритроцитов, общего кальция, креатинина, общего белка, количества парапротеина, лактатдегидрогеназы, альбумина) получено не было.

При анализе подгрупп больных, разделенных по интенсивности экспрессии мРНК гена *MDR1*, получены достоверные различия по количеству парапротеина (табл. 2). Абсолютное количество парапротеина было статистически значимо ниже в подгруппе больных с высокой экспрессией гена *MDR1* ($31,52 \pm 3$ против $44,27 \pm 3,62$ г/л, $p < 0,05$). На основании этого можно предположить, что высокая экспрессия гена *MDR1* способна тормозить синтез парапротеина опухолевой клеткой.

При анализе результатов лечения бортезомибодержащими программами полихимиоте-

Таблица 1. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) у 15 больных с впервые выявленной множественной миеломой

Ген МЛУ	Количество больных с экспрессией гена, абс. (%)	Средняя экспрессия, баллы*
<i>MDR1</i>	14 (93)	$1,5 \pm 0,27$
<i>MRP1</i>	11 (73)	$1 \pm 0,25$
<i>LRP</i>	11 (73)	$1,47 \pm 0,14$
<i>BCRP</i>	15 (100)	$1,03 \pm 0,28$

* Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки ($M \pm SE$)

рапии (VMP, VCP, VMCP) по завершении индукционного периода (6 циклов) были установлены различные результаты лечения в подгруппах пациентов с высокой и низкой экспрессией мРНК только гена *MDR1* (табл. 3). Относительно среднего значения по группе в подгруппе с высокой экспрессией гена *MDR1* зарегистрировано недостоверное снижение количества парапротеина после лечения (на 39% относительно исходного значения), что входит в категорию стабилизации заболевания. У больных с низкой экспрессией мРНК этот показатель уменьшился на 62% по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$), что соответствует категории частичного ответа.

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что в подгруппе пациентов с высокой экспрессией мРНК гена *MDR1* и низкой продукцией парапротеина применяемая программа лечения оказывала меньшее противоопухолевое действие. Предположительно, у таких больных бортезомиб действует со сниженной эффективностью – генетически обусловленная продукция парапротеина ниже и точка приложения для воздействия препарата уменьшена. Вместе с тем

Таблица 2. Клинические показатели пациентов с впервые выявленной множественной миеломой в зависимости от интенсивности экспрессии мРНК гена *MDR1*

Средняя экспрессия гена <i>MDR1</i>	Клинический показатель*							
	гемоглобин, г/л	эритроциты, млн	кальций общий, ммоль/л	креатинин, мкмоль/л	общий белок, г/л	парапротеин, г/л	ЛДГ, ед/л	альбумин, г/л
Более 1,5 балла (n=8)	$111 \pm 5,5$	$3,61 \pm 0,12$	$2,34 \pm 0,89$	$105 \pm 13,4$	$92,5 \pm 4,5$	$31,52 \pm 3$	$300 \pm 36,6$	$38 \pm 2,1$
Менее 1,5 балла (n=7)	$101 \pm 3,07$	$3,2 \pm 0,2$	$2,59 \pm 0,25$	126 ± 18	$98,2 \pm 5,3$	$44,27 \pm 3,62$	302 ± 35	$33,5 \pm 2,4$
Значение <i>p</i> (independent t-test)	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

* Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки ($M \pm SE$)

Таблица 3. Ответ на индукционную терапию с применением бортезомиба в группах пациентов с множественной миеломой с различной экспрессией гена *MDR1*

Экспрессия гена <i>MDR1</i>	Количество парапротеина, г/л [†]		Снижение парапротеина, %	Категория ответа
	исходное	после лечения		
Более 1,5 балла (n=8)	31,5±3	19,3±5,6 [†]	39	Стабилизация заболевания
Менее 1,5 балла (n=7)	44,3±3,6 [§]	16,8±5,2 [‡]	62	Частичный ответ

[†] Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки (M±SE)

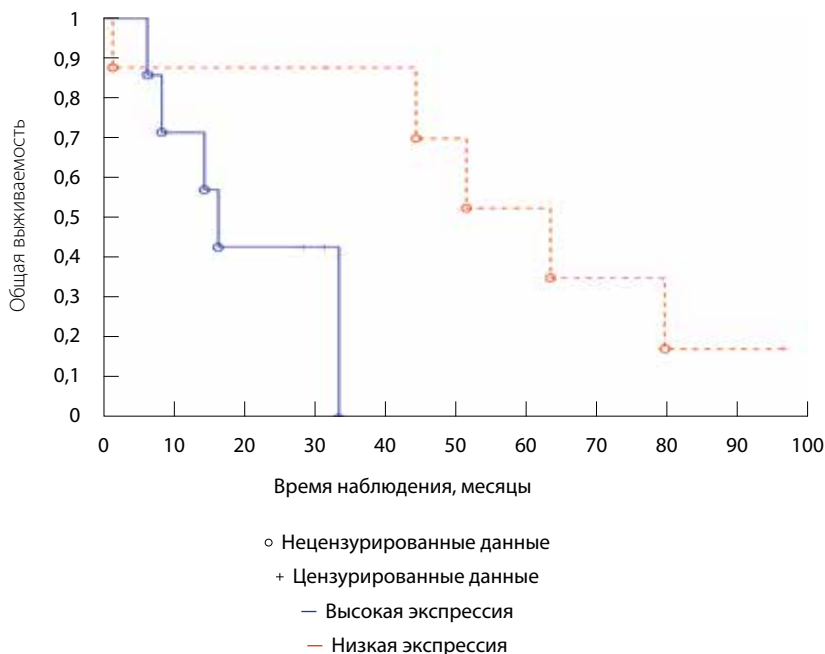
[‡] p > 0,05 (paired t-test) по сравнению с исходными показателями

[§] p < 0,05 (paired t-test) по сравнению с исходными показателями

[§] p < 0,05 (independent t-test) по сравнению с показателями экспрессии *MDR1* более 1,5 балла

повышенная экспрессия мРНК гена *MDR1* в этой же подгруппе больных способствует быстрому выведению алкилирующих препаратов (мелфалана, циклофосамида) из клетки, что снижает их противоопухолевый эффект.

При анализе данных больных в подгруппе с низкой экспрессией мРНК гена *MDR1* лучший результат лечения обусловлен синергизмом воздействия бортезомиба при повышенном синтезе парапротеина – точке приложения ингибитора протеасомы – и достаточным противоопухолевым воздействием алкилирующих препаратов, входящих в комбинацию, за счет сниженного их выведения из клетки белком Pgp, продуктом гена



Общая выживаемость больных с впервые выявленной множественной миеломой в зависимости от интенсивности экспрессии гена *LRP* (по методу Каплана – Мейера)

MDR1. Выявленные факторы создают благоприятные условия для эффективной противоопухолевой фармакодинамики используемых схем терапии.

При анализе кривых общей выживаемости по Каплану – Мейеру в зависимости от интенсивности экспрессии изучаемых генов по критерию Кокса – Мантела значимые различия (p < 0,05) были получены только по экспрессии гена *LRP* (рисунок). Медиана общей выживаемости в подгруппе пациентов с повышенной интенсивностью экспрессии гена *LRP* составила 17 месяцев, а в подгруппе пациентов с низкой интенсивностью экспрессии гена *LRP* – 62 месяца.

Заключение

Настоящее исследование показало, что у больных с впервые выявленной множественной миеломой опухолевый клон характеризуется наличием базовой экспрессии мРНК генов МЛУ (*MDR1*, *MRP1*, *BCRP*, *LRP*). Экспрессия изучаемых генов неоднородна и различается у исследуемых пациентов. Не обнаружено статистически значимой связи интенсивности экспрессии генов МЛУ с такими клиническими показателями, как количество гемоглобина, эритроцитов, общего кальция, креатинина, общего белка, лактатдегидрогеназы, альбумина. Установлено наличие достоверной взаимосвязи уровня экспрессии мРНК гена *MDR1* и количества парапротеина. В подгруппе пациентов с повышенной экспрессией мРНК гена *MDR1* количество продуцируемого парапротеина опухолевой клеткой было достоверно ниже, чем в подгруппе пациентов с низкой экспрессией.

При анализе влияния уровня экспрессии мРНК гена *MDR1* на величину противоопухолевого ответа после завершения индукционной бортезомибсодержащей полихимиотерапии выявлен различный результат. В подгруппе пациентов с высокой экспрессией мРНК гена *MDR1* зарегистрировано снижение количества парапротеина на 39% относительно исходного (стабилизация заболевания), а в подгруппе пациентов с низкой экспрессией мРНК гена *MDR1* – на 62% (частичный ответ и лучший результат). Полученные данные свидетельствуют о том, что высокая экспрессия мРНК гена *MDR1* является фактором, неблагоприятно влияющим на фармакодинамику применяемых бортезомибсодержащих программ лечения. Это может быть связано со сниженным синтезом парапротеина опухолевой клеткой, что уменьшает плацдарм для воздействия ингибитора протеасомы, и одновременной недостаточной внутриклеточной



концентрацией алкилирующих препаратов и преднизолона за счет их более активного выведения из клетки белком Pgp.

Анализ интенсивности экспрессии генов МЛУ и общей выживаемости показал значимые разли-

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов.

чия только по экспрессии гена *LRP*. Повышенная экспрессия гена *LRP* ассоциирована с худшей выживаемостью больных с впервые выявленной множественной миеломой на бортезомибосодержащих программах полихимиотерапии. ©

Литература

1. Волкова ТО, Багина УС. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам. Принципы экологии. 2012;1(2):4–21. doi: 10.15393/j1.art.2012.921.
2. Ставровская АА. Множественная лекарственная устойчивость, обусловленная активностью транспортных белков клетки: некоторые новые факты и перспективы исследований. Биологические мембраны. 2003;20(3):196–205.
3. Moitra K. Overcoming multidrug resistance in cancer stem cells. Biomed Res Int. 2015;2015:635745. doi: 10.1155/2015/635745.
4. Benderra Z, Faussat AM, Sayada L, Perrot JY, Chaoui D, Marie JP, Legrand O. Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein in 149 adult acute myeloid leukemias. Clin Cancer Res. 2004;10(23):7896–902. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0795.
5. Kawabata S, Oka M, Soda H, Shiozawa K, Nakatomi K, Tsurutani J, Nakamura Y, Doi S, Kitazaki T, Sugahara K, Yamada Y, Kamihira S, Kohno S. Expression and functional analyses of breast cancer resistance protein in lung cancer. Clin Cancer Res. 2003;9(8):3052–7.
6. Wang N, Chen L, Wei B, Zheng W. Expression of ABCG2 in human gastric carcinoma. The Chinese-German Journal of Clinical Oncology. 2010;9(3):145–8. doi: 10.1007/s10330-010-0003-0.
7. Schwarzenbach H. Expression of MDR1/P-glycoprotein, the multidrug resistance protein MRP, and the lung-resistance protein LRP in multiple myeloma. Med Oncol. 2002;19(2):87–104. doi: 10.1385/MO:19:2:87.
8. Sonneveld P. Multidrug resistance in hematological malignancies. Journal of Internal Medicine. 2000;247(5):521–34. doi: 10.1046/j.1365-2796.2000.00689.x.
9. Mutlu P, Kiraz Y, Gündüz U, Baran Y. An update on molecular biology and drug resistance mechanisms of multiple myeloma. Crit Rev Oncol Hematol. 2015;96(3):413–24. doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.07.003.
10. O'Connor R, Ooi MG, Meiller J, Jakubikova J, Klippel S, Delmore J, Richardson P, Anderson K, Clynes M, Mitsiades CS, O'Gorman P. The interaction of bortezomib with multidrug transporters: implications for therapeutic applications in advanced multiple myeloma and other neoplasias. Cancer Chemother Pharmacol. 2013;71(5):1357–68. doi: 10.1007/s00280-013-2136-7.
11. Голенков АК, Митина ТА, Когарко ИН, Любимова НВ, Клинушкина ЕФ, Барышников АЮ. Фармакодинамическая характеристика эффективности Велкейда при резистентной и рецидивной множественной миеломе: определение свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови. Терапевтический архив. 2009;81(7):37–41.
12. Abraham J, Salama NN, Azab AK. The role of P-glycoprotein in drug resistance in multiple myeloma. Leuk Lymphoma. 2015;56(1):26–33. doi: 10.3109/10428194.2014.907890.
13. Панищева ЛА, Какпакова ЕС, Рыбалкина ЕЮ, Ставровская АА. Влияние ингибитора протеасом бортезомиба на экспрессию и активность ABC транспортеров в опухолевых клетках. Биологические мембраны. 2010;27(2):195–201.
14. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. Cancer. 1975;36(3):842–54. doi: 10.1002/1097-0142(197509)36:3<842::AID-CNCR2820360303>3.0.CO;2-U.
15. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadaro M, Cavo M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV; International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 2006;20(9):1467–73. doi: 10.1038/sj.leu.2404284.
1. Volkova TO, Bagina US. Mnozhestvennaya lekarstvennaya ustoychivost' opukholevykh kletok k khimioterapevticheskim preparatam [Ecological aspects of the multidrug resistance to chemotherapy agents]. Printsipy ekologii [Principles of Ecology]. 2012;1(2):4–21 (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2012.921.
2. Stavrovskaya AA. Mnozhestvennaya lekarstvennaya ustoychivost', obuslovlennaya aktivnost'yu transportnykh belkov kletki: nekotorye novye fakty i perspektivy issledovaniy [Multidrug resistance caused by the activity of cellular transporters: some new data and future perspectives]. Biologicheskie membrany [Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology]. 2003;20(3):196–205 (in Russian).
3. Moitra K. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer Stem Cells. Biomed Res Int. 2015;2015:635745. doi: 10.1155/2015/635745.
4. Benderra Z, Faussat AM, Sayada L, Perrot JY, Chaoui D, Marie JP, Legrand O. Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein in 149 adult acute myeloid leukemias. Clin Cancer Res. 2004;10(23):7896–902. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0795.
5. Kawabata S, Oka M, Soda H, Shiozawa K, Nakatomi K, Tsurutani J, Nakamura Y, Doi S, Kitazaki T, Sugahara K, Yamada Y, Kamihira S, Kohno S. Expression and functional analyses of breast cancer resistance protein in lung cancer. Clin Cancer Res. 2003;9(8):3052–7.
6. Wang N, Chen L, Wei B, Zheng W. Expression of ABCG2 in human gastric carcinoma. The Chinese-German Journal of Clinical Oncology. 2010;9(3):145–8. doi: 10.1007/s10330-010-0003-0.
7. Schwarzenbach H. Expression of MDR1/P-glycoprotein, the multidrug resistance protein MRP, and the lung-resistance protein LRP in multiple myeloma. Med Oncol. 2002;19(2):87–104. doi: 10.1385/MO:19:2:87.
8. Sonneveld P. Multidrug resistance in hematological malignancies. Journal of Internal Medicine. 2000;247(5):521–34. doi: 10.1046/j.1365-2796.2000.00689.x.
9. Mutlu P, Kiraz Y, Gündüz U, Baran Y. An update on molecular biology and drug resistance mechanisms of multiple myeloma. Crit Rev Oncol Hematol. 2015;96(3):413–24. doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.07.003.



10. O'Connor R, Ooi MG, Meiller J, Jakubikova J, Klippel S, Delmore J, Richardson P, Anderson K, Clynes M, Mitsiades CS, O'Gorman P. The interaction of bortezomib with multidrug transporters: implications for therapeutic applications in advanced multiple myeloma and other neoplasias. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71(5): 1357–68. doi: 10.1007/s00280-013-2136-7.
11. Golenkov AK, Mitina TA, Kogarko IN, Lyubimova NV, Klinushkina EF, Baryshnikov AYu. Farmakodinamicheskaya kharakteristika effektivnosti Velkeyda pri rezistentnoy i retsidivnoy mnozhestvennoy mielome: opredelenie svobodnykh legkikh tsepey immunoglobulinov syvorotki krovi [Pharmacodynamic characteristics of Velkeid efficacy in resistant and

recurrent multiple myeloma: determination of free light chains of blood serum immunoglobulins]. *Terapevticheskiy arkhiv* [Therapeutic archive]. 2009;81(7):37–41 (in Russian).

12. Abraham J, Salama NN, Azab AK. The role of P-glycoprotein in drug resistance in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(1):26–33. doi: 10.3109/10428194.2014.907890.
13. Panishcheva LA, Kakpakova ES, Rybalkina EYu, Stavrovskaya AA. The influence of proteasome inhibitor bortezomib on ABC transporters' expression and activity in tumor cells. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2010;4(2):220–5.
14. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of

measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975;36(3):842–54. doi: 10.1002/1097-0142(197509)36:3<842::AID-CNCR2820360303>3.0.CO;2-U.

15. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadaro M, Cavo M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV; International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20(9):1467–73. doi: 10.1038/sj.leu.2404284.

The effect of multidrug resistance gene expression on the clinical course of multiple myeloma

Chernykh Yu.B.¹ • Golenkov A.K.¹ • Shushanov S.S.² • Kravtsova T.A.² • Rybalkina E.Yu.² • Karamysheva A.F.² • Mitina T.A.¹ • Trifonova E.V.¹ • Kataeva E.V.¹ • Vysotskaya L.L.¹ • Stavrovskaya A.A.²

Background: Implementation of a proteasome inhibitor bortezomib into treatment of multiple myeloma has helped to improve survival of patients with this malignancy that is characterized by continuous relapsing course as a clinical manifestation of multidrug resistance (MDR). Previous studies have resulted in contradictory data on the effects of various MDR genes expression on efficacy of bortezomib. **Aim:** To evaluate an impact of *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP* gene mRNA expression responsible for the development of MDR in bone marrow aspirates from patients with newly diagnosed multiple myeloma before bortezomib-containing therapy on the clinical course of the disease, response to treatment and overall survival. **Materials and methods:** MDR gene expression was assessed in a group of 15 patients with newly diagnosed multiple myeloma Durie-Salmon stage III before initiation of a bortezomib-based chemotherapeutic regimen. The assessment was done in bone marrow mononuclear cell fraction containing plasmacytes. MDR gene expression was measured by reverse transcription polymerase chain reaction test. **Results:** MDR gene expression was found in all patients with newly diagnosed multiple myeloma before initiation of cytostatic therapy: *MDR1* was expressed in 14 (93%) of patients, *MRP1*

and *LRP* – in 11 (73%), *BCRP* – in 15 (100%). There was no difference between patient subgroups with high and low MDR gene expression in their clinical parameters, such as hemoglobin level, erythrocyte counts, total calcium, creatinine, total protein, lactate dehydrogenase, and albumin. At diagnosis of multiple myeloma, only absolute levels of paraprotein were significantly lower in patients with high *MDR1* gene expression (31.52 ± 3 vs 44.27 ± 3.62 g/L, $p < 0.05$). After 6 cycles of induction, there was a significant decrease of paraprotein levels in the group with low *MDR1* gene expression (from 44.3 ± 3.6 to 16.8 ± 5.2 g/L, $p < 0.05$). Overall survival was negatively associated with high *LRP* gene expression only (median of overall survival in patients with high *LRP* gene expression was 17 months and in those with low expression – 62 months, $p < 0.05$). **Conclusion:** High expression of MDR genes in patients with newly diagnosed multiple myeloma is not associated with clinical characteristics of the disease but may deteriorate the immediate response to bortezomib-based regimens and overall survival.

Key words: multiple myeloma, multidrug resistance, bortezomib-based regimen

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-624-630

Chernykh Yuliya B. – MD, Research Fellow, Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹
✉ 61/2–9 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 73 81.
E-mail: yulia_chernih@mail.ru

Golenkov Anatoliy K. – MD, PhD, Professor, Head of Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹

Shushanov Sain S. – PhD, Doctor of Biol. Sci., Leading Research Fellow, Laboratory of Tumor Cells Genetics²

Kravtsova Tat'yana A. – Junior Research Fellow, Laboratory of Tumor Cells Genetics²

Rybalkina Ekaterina Yu. – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Tumor Cells Genetics²

Karamysheva Aida F. – PhD, Doctor of Biol. Sci., Head of Laboratory of Tumor Cells Genetics²

Mitina Tat'yana A. – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹

Trifonova Elena V. – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹

Kataeva Elena V. – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹

Vysotskaya Lyudmila L. – MD, PhD, Research Fellow, Department of Clinical Hematology and Immunotherapy¹

Stavrovskaya Alla A. – MD, PhD, Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Tumor Cells Genetics²

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation