https://doi.org/10.17116/terarkh201789732-38

© Коллектив авторов, 2017

# Прогностическое значение амплификации 1q21 при множественной миеломе

Т.В. АБРАМОВА[1], Т.Н. ОБУХОВА[1], Л.П. МЕНДЕЛЕЕВА[1], О.С. ПОКРОВСКАЯ[1], Е.О. ГРИБАНОВА[1], В.В. РЫЖКО[1], Л.А. ГРЕБЕНЮК[1], М.В. НАРЕЙКО[1], М.В. СОЛОВЬЕВ[1], О.М. ВОТЯКОВА[2], С.М. КУЛИКОВ[1], М.А. РУСИНОВ[1], В.Г. САВЧЕНКО[1]

[1]ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия; [2]ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Резюме**

**Цель исследования.** Определить распространенность amp1q21 и ее связь с клиническими проявлениями множественной миеломы (ММ).

**Материалы и методы.** С декабря 2009 г. по март 2016 г. 134 пациентам в возрасте от 30 лет до 81 года (медиана 57 лет) до начала лечения выполнено FISH-исследование костного мозга (КМ) с центромерными и локус-специфичными ДНК-зондами для выявления amp1q21, t(11;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), t(6;14), трисомий хромосом 5, 9, 15, del13q14, del17p13/TP53, t(8q24)/cMYC. Индукционная терапии выполнялась курсами, содержащими бортезомиб. Трансплантация аутологичных стволовых клеток выполнена 48 больным. Медиана наблюдения за больными составила 19,3 мес (3,2—77,4 мес). Прогрессирование заболевания диагностировано у 69 (51,5%) пациентов, 12 пациентам FISH-исследование также проведено в период прогрессирования заболевания.

**Результаты.** В дебюте ММ amp1q21 обнаружена у 53 (39,6%) больных. Общая 5-летняя выживаемость у больных с amp1q21 почти в 2 раза ниже, чем у больных без нее, — 43,5 и 79,4% соответственно ($p$=0,07). Общая 5-летняя выживаемость у больных с одной дополнительной копией 1q21 (всего 3 копии) составила 67,3%, с 2 дополнительными копиями и более 1q21 (всего 4—7 копий) — 20,9% ($p$=0,0016). Из 12 пациентов, обследованных в период прогрессирования заболевания, amp1q21 выявлена у 9 (75%): в 2 случаях amp1q21 выявлена в период прогрессирования в отсутствие в дебюте; в 7 случаях amp1q21 обнаружена и в дебюте, и в период прогрессирования ММ, однако количество копий 1q21 не изменилось.

**Заключение.** Amp1q21 — одно из наиболее распространенных хромосомных нарушений у больных с впервые выявленной ММ и может появляться в ходе прогрессирования заболевания. Наличие amp1q21 является важным прогностическим фактором и, вероятно, должна включаться в диагностические исследования как в дебюте, так и в период прогрессирования заболевания.

*Ключевые слова: множественная миелома, хромосомные аберрации, амплификация 1q21, выживаемость, молекулярная генетика, гематология, плазматическая клетка, FISH.*

## Prognostic value of 1q21 amplification in multiple myeloma

T.V. ABRAMOVA[1], T.N. OBUKHOVA[1], L.P. MENDELEEVA[1], O.S. POKROVSKAYA[1], E.O. GRIBANOVA[1], V.V. RYZHKO[1], L.A. GREBENYUK[1], M.V. NAREYKO[1], M.V. SOLOVYEV[1], O.M. VOTYAKOVA[2], S.M. KULIKOV[1], M.A. RUSINOV[1], V.G. SAVCHENKO[1]

[1]National Research Center for Hematology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; [2]N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

**Aim.** To determine the prevalence of amp1q21 and its relationship to the clinical manifestations of multiple myeloma (MM).

**Subjects and methods.** In December 2009 to March 2016, a total 134 patients aged 30 to 81 years (median 57 years) underwent a pretreatment FISH-study of bone marrow (BM) with centromeric and locus-specific DNA probes to identify amp1q21, t(11;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), t(6;14), trisomies of chromosomes 5, 9, 15, del13q14, del17p13/TP53, and t(8q24)/cMYC. Induction therapy with bortezomib-containing cycles was performed. Autologous stem cell transplantation was carried out in 48 patients. The median follow-up of patients was 19.3 months (3.2—77.4 months). Disease progression was diagnosed in 69 (51.5%) patients; 12 patients also underwent FISH study during disease progression.

**Results.** At the onset of MM, amp1q21 was detected in 53 (39.6%) patients. The overall 5-year survival rate in patients with amp1q21 was almost 2 times lower than that in those without amp1q21 (43.5 and 79.4%, respectively; $p$=0.07). The overall 5-year survival rate in patients with one extra copy of 1q21 (only 3 copies) was 67.3%, that in those with 2 or more extra copies of 1q21 (only 4—7 copies) was 20.9% ($p$=0.0016). Nine (75%) of the 12 patients examined during disease progression were found to have amp1q21: 2 cases were detected in the period of progression to have amp1q21 in its absence at disease onset; 7 cases had amp1q21 both at MM onset and progression; however, the number of copies of 1q21 was unchanged.

**Conclusion.** Amp1q21 is one of the most common chromosomal abnormalities in patients with new-onset MM and may appear in the course of disease progression. The presence of amp1q21 is an important prognostic factor and must have to be included in the diagnostic study both at disease onset and progression.

*Keywords: multiple myeloma, chromosomal aberrations, 1q21 amplification, survival, molecular genetics, hematology, plasma cell, FISH.*

Ауто-ТСК — трансплантация аутологичных стволовых клеток
ВБП — выживаемость без прогрессирования заболевания
КМ — костный мозг
ММ — множественная миелома
ОВ — общая выживаемость
ХА — хромосомные аномалии

-13/13q — моносомия 13 или делеция локуса 13q14
Amp1q21 — амплификация локуса 1q21
CD — cluster of differentiation — кластер дифференцировки
Cdk — Cyclin-dependent kinase — зависимая от циклинов киназа
CKS1B — Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 1, ген
del1p32 — делеция локуса 1p32
del17p13/TP53 — делеция локуса 17p13 с потерей гена TP53
GEP — gene expression progiling — профиль экспрессии гена
FISH — флуоресцентная гибридизация *in situ*
SKY — Spectral Karyotyping — многоцветное спектральное кариотипирование
t(8q24)/cMYC — транслокация с вовлечением локуса гена *cMYC/8q24*

Множественная миелома (ММ, миеломная болезнь, болезнь Рустицкого—Калера) — злокачественное лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся инфильтрацией костного мозга (КМ) плазматическими клетками, наличием моноклонального иммуноглобулина в сыворотке и/или в моче и остеолитическими поражениями костей. В соответствии с классификацией ВОЗ ММ относится к периферическим В-клеточным лимфоидным опухолям [1, 2].

ММ является второй по распространенности гематологической опухолью и составляет примерно 1% от всех злокачественных новообразований [3]. Несмотря на успехи в лечении ММ, заболевание остается неизлечимым, однако медиана продолжительности жизни увеличилась с 3 до 6 лет в результате применения новых лекарственных препаратов и трансплантации аутологичных стволовых клеток (ауто-ТСК) [4, 5].

ММ характеризуется выраженной геномной гетерогенностью [6], обусловленной множеством численных и структурных изменений хромосом [7, 8], которые играют важную роль в онкогенезе, приводя к генному дисбалансу [9], изменению структуры и функции генов и вследствие этого к нарушению регуляции клеточного цикла и дифференцировки клеток [8].

Многочисленные исследования показали, что некоторые цитогенетические изменения имеют большое прогностическое значение, определяют выживаемость и ответ на терапию при ММ [10].

Первые хромосомные перестройки, ассоциированные с ММ, описаны в конце 70-х — начале 80-х годов прошлого века. В 1985 г. G. DeWald и соавт. [11] в исследовании, основанном на стандартном цитогенетическом методе, показано, что наиболее часто в структурные аномалии вовлекаются 1, 11 и 14-я хромосомы.

В настоящее время накоплена обширная информация о хромосомных аберрациях при ММ, полученная с использованием стандартной методики дифференциального окрашивания хромосом, а также молекулярно-цитогенетических методов исследования, таких как флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) и многоцветное спектральное кариотипирование (SKY).

На основании первичных или инициирующих хромосомных нарушений [8] выделяют две генетические группы ММ: с множественными трисомиями и с транслокациями с вовлечением локуса генов тяжелых цепей иммуноглобулина *IgH/14q32* (tIgH/14q32). Множественные трисомии встречаются примерно в 40—60% случаев [12, 13] и чаще всего представлены 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 и 21-й хромосомами [6]. Частота перестроек с вовлечением локуса гена *IgH/14q32* составляет 50% [13]. Примерно в 15% случаев трисомии могут сочетаться с транслокациями [12]. Самыми частыми транслокациями с вовлечением локуса гена *IgH/14q32* являются t(11;14)(q13;q32) и t(4;14)(p16;q32), которые выявляются примерно в 20 и 15% случаев впервые диагностированной ММ соответственно [14, 15]. Реже встречаются t(14;16)(q32;q23), t(14;20)(q32;q12), (6;14)(p21;q32) (3, 2 и 1% соответственно) [10—12]. Транслокации t(11;14)(q13;q32), t(6;14)(p21;q32) рассматриваются в качестве стандартного риска, при которых медиана общей продолжительности жизни составляет 8—10 лет [13, 15], тогда как t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), t(14;20)(q32;q12) являются факторами неблагоприятного прогноза [13, 16—18]. Медиана общей продолжительности жизни у этих больных варьирует от 14,4 до 30,1 мес [16].

Среди вторичных, появляющихся в ходе опухолевой трансформации, перестроек хромосом при ММ наиболее часто выявляются делеция локуса 13q14/моносомия 13 (-13/13q-), амплификация локуса 1q21 (amp1q21), делеция 17p13 с потерей гена *TP53* (del17p13/TP53) и транслокация с вовлечением локуса гена *cMYC/8q24* (t(8q24)/cMYC) [8]. Моносомия 13, или делеция локуса 13q14, встречается примерно в 45% случаев и длительное время считалась фактором неблагоприятного прогноза, обу-

*Сведения об авторах:*
*Обухова Татьяна Никифоровна* — к.м.н., зав. научно-клинической лаб. кариологии
*Менделеева Лариса Павловна* — д.м.н., проф., зав. отд-нием высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов
*Покровская Ольга Станиславовна* — к.м.н., с.н.с. отд-ния высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов
*Грибанова Елена Олеговна* — к.м.н., зав. научно-клиническим отд-нием химиотерапии гематологических заболеваний
*Рыжко Вячеслав Владимирович* — к.м.н., с.н.с. научно-клинического отд-ния химиотерапии гематологических заболеваний
*Гребенюк Любовь Алексеевна* — н.с. научно-клинической лаб. кариологии
*Нарейко Мария Вячеславовна* — врач-гематолог научно-клинического отд-ния высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов
*Соловьев Максим Валерьевич* — врач-гематолог, аспирант отд-ния высокодозной химиотерапии парапротеинемических гемобластозов
*Вотякова Ольга Михайловна* — к.м.н., с.н.с. отделения химиотерапии гемобластозов
*Куликов Сергей Михайлович* — к.т.н. зав. информационно-аналитического отд.
*Русинов Михаил Анастасович* — к.ф-м.н., с.н.с. информационно-аналитического отд.
*Савченко Валерий Григорьевич* — акад. РАН, проф., Генеральный директор ФГБУ ГНЦ Минздрава России

*Контактная информация:*
*Абрамова Татьяна Валерьевна* — врач-гематолог научно-клинической лаб. кариологии; 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4а; тел.: +7(495)6132636; e-mail: abramova.blood@gmail.com

словливая химиорезистентность опухоли, но с применением новых препаратов биологически направленного действия ее неблагоприятное влияние на течение заболевания нивелировалось [19]. Частота потери локуса гена *TP53* составляет примерно 10% случаев впервые выявленной ММ и увеличивается при рецидивах и появлении экстрамедуллярных очагов. Это генетическое нарушение определяет низкую общую выживаемость (ОВ) и частоту достижения полных ремиссий [17]. Перестройки локуса гена *cMYC* встречаются примерно в 15% случаев [4, 13], их прогностическое значение находится на стадии изучения.

Amp1q21 является одним из наиболее распространенных хромосомных нарушений при ММ. Amp1q21 связана с прогрессирующим течением заболевания: на момент установления диагноза выявляется у 46—50% больных, в прогрессировании частота выявления достигает 72% [20]. Несмотря на то что amp1q21 является одной из самых частых аберраций при ММ, сообщения о ее прогностическом значении остаются противоречивыми.

В Клинике Мейо (Рочестер, США) на основании результатов стандартного цитогенетического исследования, FISH и профиля экспрессии множества генов проведена стратификация риска у пациентов на группы стандартного, промежуточного и высокого риска и дифференцированная терапия в этих группах. Пациентов с amp1q21 относят к группе промежуточного риска, медиана общей продолжительности жизни составляет 4—5 лет [18].

По данным других исследователей, amp1q21, как и t(4;14), t(14;16), t(14;20) и del17p13/TP53, является фактором высокого риска у больных ММ [21].

В ряде исследований показана зависимость общей продолжительности жизни от количества дополнительных копий 1q21 [22, 23]. У больных с 2 дополнительными копиями 1q21 и более медиана продолжительности жизни без прогрессирования статистически значимо ниже, чем у больных лишь с 1 дополнительной копией (17,6 и 28 мес соответственно), а 3-летняя ОВ составляет 52 и 78% соответственно [23].

Определение amp1q21 в настоящее время не включается в общепринятые диагностические тесты, однако прогностическое влияние amp1q21 на течение ММ активно изучается в мире.

Целью нашего исследования являлась оценка распространенности amp1q21 и ее связи с клиническими проявлениями заболевания.

## Материалы и методы

В работу включены 134 больных ММ, наблюдавшихся в клинических подразделениях ФГБУ ГНЦ Минздрава РФ и отделении химиотерапии гемобластозов ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ с декабря 2009 г. по март 2016 г.: 67 мужчин и 67 женщин в возрасте от 30 лет до 81 года (медиана 57 лет). Всем больным выполнено FISH-исследование КМ до начала терапии; 12 больным повторное FISH-исследование выполнено в период прогрессирования заболевания. Сроки наблюдения за пациентами варьировали от 3,2 до 77,4 мес (19,3 мес).

Диагноз устанавливали в соответствии с критериями, разработанными Международной рабочей группой по изучению множественной миеломы (The International Myeloma Working Group — IMWG) [24].

Всем больным выполняли общий клинический и биохимический анализы крови, цитологическое исследование пунктата и гистологическое исследование трепанобиоптата КМ и/или биоптата мягкотканного образования, иммунохимический анализ крови и суточной мочи, рентгенологическое исследование костей. Цитогенетическое исследование клеток КМ выполнялось в научно-клинической лаборатории кариологии ФГБУ ГНЦ МЗ РФ.

В зависимости от количества плазматических клеток в миелограмме цитогенетическое исследование КМ выполняли на мононуклеарах (при количестве плазматических клеток в пунктате >20%) или на клетках CD138+ (при количестве плазматических клеток <20%) с последующим проведением FISH. Позитивную иммуномагнитную селекцию клеток CD138+ из фракции мононуклеаров выполняли с использованием моноклонального антитела к CD138 (MicroBead kit, «Miltenyi Biotec», Германия) согласно протоколу производителя [25].

Контроль чистоты полученной фракции клеток выполняли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител анти-CD138-PE (BD, США). Чистота полученной фракции составила 80—99%.

У 80 пациентов FISH-исследование проводили на тотальных клетках КМ, у 54 — на сепарированных клетках CD138+.

Для выявления аномалий 1-й хромосомы использовали ДНК-зонд XL 1p32/1q21 («MetaSystems», Германия), с помощью которого анализируются локусы 1q и 1p. Поиск других первичных и вторичных хромосомных аномалий (ХА) выполняли с использованием ДНК-зондов: XL IGH plus, XL t(11;14), XL t(4;14), XL t(14;16), XL t(14;20), XL t(6;14), cMYC BA («MetaSystems», Германия) и D13S25, TP53 deletion probe («Cytocell», Объединенное Королевство), LSI D5S23/D5S721, CEP9, CEP15 Multi-Color Probe («Abbott», США) и ON MM 15q22 / 9q34 («Kreatech», Нидерланды). Исследование проводили согласно протоколам производителей. Для каждого зонда анализировали по 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Результаты FISH-анализа описывали в соответствии с международной номенклатурой (International System for Cytogenetic Nomenclature, ISCN, 2013) [26].

Всем больным, включенным в исследование, индукционную терапию проводили курсами содержащими, бортезомиб (VCD: бортезомиб + циклофосфан + дексаметазон, PAD: бортезомиб + адриабластин + дексаметазон). Ауто-ТСК выполнена 48 пациентам.

Согласно системе определения стадии ММ по Durie-Salmon I стадия диагностирована у 8 (6%) больных, II — у 41 (30,6%), III — у 85 (63,4%). У 41 (30,6%) больного диагностирована подстадия B. Иммунохимический вариант определен как G у 70 (52,3%) больных, A у 25 (18,7%), биклональная секреция у 3 (2,2%) больных, M у 1 (0,7%). Секреция свободных легких цепей определена у 34 (25,4%) больных. Несекретирующая миелома диагностирована у 1 (0,7%) пациента. На момент исследования согласно международной системе ISS I стадия диагностирована у 27 (20,1%) больных, II — у 38 (28,4%), III — у 68 (50,8%), у 1 (0,7%) нет данных. Частота клинических проявлений у больных ММ представлена в **табл. 1**.

ОВ оценивали у 131 (97,8%) пациента из 134, так как 3 (2,2%) больных с вялотекущей миеломой не получают лечение и находятся под наблюдением.

Для статистической обработки данных использовали стандартные методы описательного, частотного и событийного анализа. Расчеты проводили с помощью процедур пакета SAS 9.4. За начальную точку отсчета взята дата установления диагноза. ОВ рассчитывали от начала лечения до даты смерти или даты последнего обращения к врачу. Анализ ОВ проводили с помощью метода Каплана—Мейера, для оценки статистической значимости различий в группах использовали логранговый тест.

## Результаты

**Частота выявления ХА.** В результате проведенных исследований ХА выявлены у 133 (99,3%) больных. Первичные патогенетические ХА выявлены у 118 (88,1%) пациентов: tIgH/14q32 — у 57 (42,5%), множественные трисомии хромосом 5/9/15 — у 77 (57,5%), у 15 (11,2%) больных они

***Таблица 1.*** **Частота клинических проявлений у 134 больных ММ**

| Параметр | Значение |
|---|---|
| Пол: | |
| мужчины | 67 (50) |
| женщины | 67 (50) |
| Возраст, годы | 57 (27—81) |
| Иммунохимический вариант ММ: | |
| IgA | 25 (18,7) |
| IgG | 70 (52,3) |
| IgM | 1 (0,7) |
| Свободные легкие цепи | 34 (25,4) |
| Биклональная секреция | 3 (2,2) |
| Несекретирующая миелома | 1 (0,7) |
| Стадия ММ по ISS: | |
| I | 27 (20,1) |
| II | 38 (28,4) |
| III | 68 (50,8) |
| нет данных | 1 (0,7) |
| Стадия ММ по Durie-Salmon: | |
| I | 8 (6) |
| II | 41 (30,6) |
| III | 85 (63,4) |
| Подстадия B | 41 (30,6) |

*Примечание*. Данные представлены в виде абсолютного числа больных (%) или медианы (диапазон).

сочетались между собой, у 3 (2,2%) выявлена гипоплоидия. У 12 (9%) больных первичные хромосомные нарушения не выявлены. Частота выявления отдельных транслокаций IgH/14q32 составила: t(11;14) — 16,4% (22 больных), t(4;14) — 12,7% (17 больных), t(14;16) — 3,7% (5 больных), t(14;20) — 2,2% (3 больных), t(6;14) выявлена у 1 (0,7%) больного, хромосомный партнер не установлен у 9 (6,8%) больных.

Среди вторичных хромосомных нарушений наиболее часто встречались del13q14 и amp1q21. Del13q14 выявлена у 54 (40,3%) пациентов. Amp1q21 обнаружена у 53 больных (39,6%) и у 3 (2,2%) пациентов — делеция локуса 1p32 (del1p32), у 1 (0,7%) — моносомия 1-й хромосомы. Del17p13/TP53 обнаружен у 17 (12,7%); t(8q24)/cMYC — у 23 (17,2%). В **табл. 2** представлена частота выявления ХА у больных ММ.

**Частота выявления amp1q21.** Amp1q21 выявлена у 53 (39,6%) больных. В 32 (60,4%) из 53 случаев выявлено 3 копии локуса 1q21, в 21 (39,6%) — более 3 (от 4 до 7) копий 1q21 **(рис. 1 см. на цв. вклейке)**.

При повторном FISH-исследовании у 12 (17,4%) из 69 пациентов с диагностированным прогрессированием заболевания amp1q21 выявлена у 9 (75%), при этом у 2 больных amp1q21 зарегистрирована только в период прогрессирования в отсутствие в дебюте заболевания.

**Анализ ОВ больных ММ с amp1q21 и без нее.** Анализ выживаемости выявил различия в зависимости от наличия или отсутствия amp1q21 в дебюте заболевания. Соответствующие кривые ОВ представлены на **рис. 2, а**. Так, 5-летняя ОВ больных, у которых обнаружена amp1q21, составила 43,5%, в то время как у больных без amp1q21 — 79,4% ($p$=0,07).

**Анализ ОВ больных ММ в зависимости от количества копий локуса 1q21.** Сопоставление показателей ОВ в зависимости от количества выявленных копий 1q21 показало достоверно неблагоприятное влияние большого числа дополнительных копий. Так, 5-летняя ОВ больных с 1 дополнительной копией 1q21 (3 копии) составила 67,3%, а с 2 дополнительными копиями и более 1q21 (4—7 копий)—20,9% ($p$=0,0016) **(см. рис. 2, б)**.

**Цитогенетическое исследование КМ больных в период прогрессирования ММ**. У 10 из 12 пациентов, которым повторное цитогенетическое исследование проводилось в период прогрессирования заболевания, не выявлено новых цитогенетических изменений при сравнении с первичным исследованием.

У 2 пациентов при прогрессировании ММ мы обнаружили появление новых, ранее не определяемых цитогенетических нарушений. В обоих случаях этим цитогенетическим нарушением оказалась amp1q21. Мы не обнаружили увеличения числа копий 1q21 в ходе прогрессии ММ.

У одного из этих пациентов в дебюте заболевания выявлен лишь гипердиплоидный тип ММ, а спустя 17 мес на фоне прогрессирования появилась amp1q21.

У второй больной при исследовании в дебюте заболевания выявлены del13q14 и t(11;14)(q13;q32), а при повторном исследовании во время рецидива, резвившегося спустя 20 мес и проявившегося в виде увеличения патологической секреции, появления новых мягкотканных компонентов, определена amp1q21 в 22% интерфазных ядер **(рис. 3 см. на цв. вклейке)**.

## Обсуждение

ММ — плазмоклеточная опухоль, характеризующаяся выраженной геномной нестабильностью [3]. Хромосомные аберрации считаются одним из наиболее важных прогностических факторов у больных ММ. К сожалению, в связи с низкой пролиферативной активностью плазматических клеток успешное стандартное цитогенетическое исследование — выявление ХА в аберрантном кариотипе

***Таблица 2.*** **Частота выявления ХА у больных ММ**

| ХА | Число больных ММ с ХА, абс. (%) |
|---|---|
| tIgH/14q32 | 57 (42,5) |
| t(11;14) | 22 (16,4) |
| t(4;14) | 17 (12,7) |
| t(14;16) | 5 (3,7) |
| t(14;20) | 3 (2,2) |
| t(6;14) | 1 (0,7) |
| t(IgH/14q32) с неустановленным хромосомным партнером | 9 (6,8) |
| Гипердиплоидия | 77 (57,5) |
| t(IgH/14q32) + гипердиплоидия | 15 (11,2) |
| Гипоплоидия | 3 (2,2) |
| del13q14 | 54 (40,3) |
| amp1q21 | 53 (39,6) |
| del1p32 | 3 (2,2) |
| моносомия 1 | 1 (0,7) |
| del17p13/TP53 | 17 (12,7) |
| t(8q24)/cMYC | 23 (17,2) |

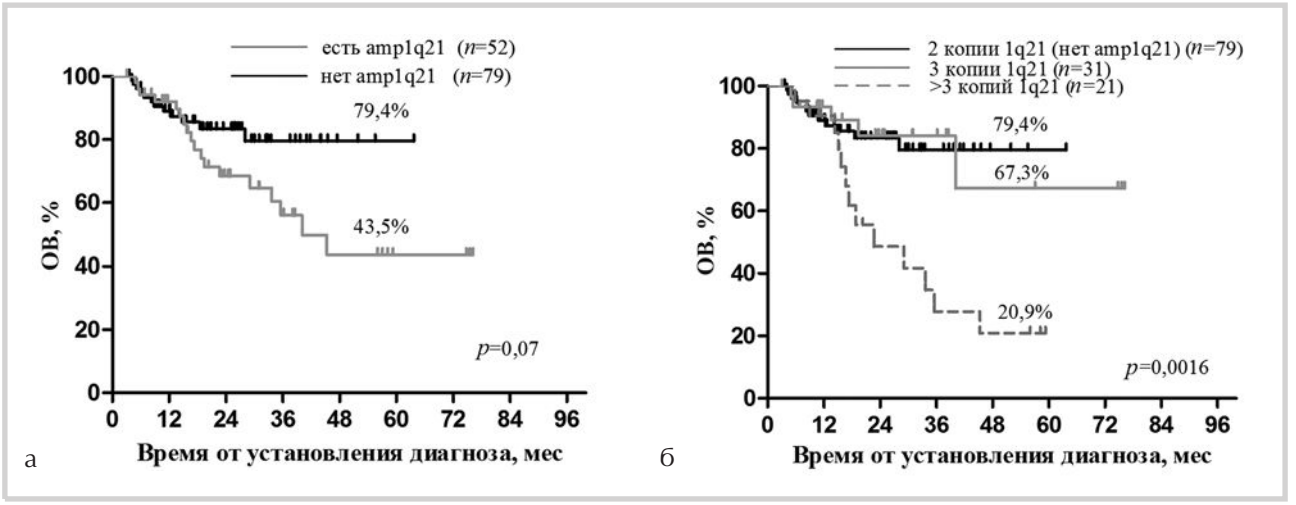



***Рис. 2.*** **ОВ больных ММ в зависимости от наличия amp1q21 в дебюте заболевания (а) и количества копий 1q21 (б).**

может быть выполнено только в 30% случаев и в основном у больных с развернутыми стадиями заболевания [27]. Однако молекулярно-цитогенетический анализ с использованием метода FISH позволяет выявить ХА у 90% больных ММ [28]. В нашем исследовании методом FISH ХА выявлены у 99% больных.

В нашей работе amp1q21 оказалась часто встречаемой ХА при ММ, которая выявлена у 53 (39,6%) из 134 больных. Полученный результат сопоставим с данными мировой литературы, отмечавшей, что среди больных с впервые выявленной ММ данная ХА встречается у 32—49% [3, 22, 23].

Нами получены различия по ОВ в группах с наличием amp1q21 и в ее отсутствие. Так, 5-летняя ОВ больных с amp1q21 практически в 2 раза ниже, чем у больных без amp1q21, и составила 43,5%, в то время как без данной ХА — 79,4% ($p$=0,07).

В последние годы достигнут значительный прогресс в определении конкретных ХА и их роли в биологии и влиянии на течение ММ. Вероятно, неблагоприятное влияние amp1q21 связано с биологическими механизмами, которые запускаются при ее амплификации. В регионе 1q21 расположено большое количество генов, однако наиболее вероятным кандидатным геном, участвующим в патогенезе ММ, является ген cyclin kinase subunit 1B (*CKS1B*). Белок CKS1B относится к группе малых протеинов (9—18 kDa), которые взаимодействуют с зависимыми от циклинов киназами (Cdk), играющими важную роль в клеточном цикле [29, 30]. CKS1B взаимодействует с зависимым от циклинов комплексом p27kip1-Cdk/cyclin, который далее индуцирует формирование зависимого от убиквитина комплекса p27kip1-SCF [31].

В результате этого взаимодействия происходит инициация убиквинирования и деградации (зависимый от убиквитина протеолиз) p27Kip1, что приводит к остановке клетки в стадии G1/S, нарушая тем самым клеточный цикл. Деградация p27Kip1 является важным шагом в развитии опухолевого процесса [32], так как в норме p27Kip1 является туморосупрессором [33].

Увеличение числа копий региона 1q21 приводит к гиперэкспрессии гена *CKS1B* [32]. Во многих исследованиях доказано, что гиперэкспрессия гена *CKS1B* коррелирует со снижением уровня p27Kip1 [34]. Однако имеются сообщения о немногочисленной группе пациентов, у которых могут определяться как низкие, так и высокие уровни CKS1B и p27Kip1 [32].

По данным литературы, гиперэкспрессия гена *CKS1B* ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при различных онкологических заболеваниях, в том числе ММ [29, 35]. Hong Chang и соавт. [32] показали, что медиана общей продолжительности жизни у больных с гиперэкспрессией CKS1B и без нее составила 44,5 и 89,3 мес., соответственно (p<0,0001).

Гиперэкспрессия гена *CKS1B* при ММ может быть определена на уровне мРНК с помощью GEP (gene expression progiling) — количественного анализа экспрессии генов [34, 36], а также на белковом уровне с помощью Western blotting (белковый иммуноблот) и иммуногистохимического исследования [29, 32].

Из данных литературы известно, что на ОВ и выживаемость без прогрессирования заболевания (ВБП) больных ММ влияет не только наличие amp1q21, но и количество копий данного локуса [22, 23, 37]. Так, Kai Neben и соавт. [23] в своей работе показали, что по сравнению с нормальным числом копий 1q21 (2), когда медиана ВБП для больных составила 39,3 мес, медиана ВБП соответственно с 3 копиями и более 3 копий 1q21 составляет 28 мес (отношение рисков 1,7; $p$=0,0010) и 17,6 мес (отношение рисков 2,5; $p$ =0,0062). Сходные результаты наблюдались и в ОВ: 3-летняя ОВ составила 82% (отношение рисков 1,9; $p$ =0,0052), 73% (отношение рисков 1,7; $p$ =0,0032), 52% (отношение рисков 4,0; $p$=0,0009) у пациентов без amp1q21, соответственно с 3 копиями и более 3 копий.

В нашем исследовании при оценке ОВ оказалось, что наличие 3 копий 1q21 достоверно не влияет на ОВ, в то время как у больных более чем с 3 копиями 1q21 этот показатель статистически значимо ниже.

## Заключение

В опубликованной литературе представлены единичные исследования, посвященные поиску amp1q21 как в

дебюте, так и в прогрессии ММ. В нашем исследовании мы показали, что amp1q21 может появляться при прогрессировании заболевания, обнаружив это у 2 больных ММ. Частота выявления amp1q21 увеличивается в период прогрессирования заболевания, но число копий в ходе трансформации опухоли не изменяется.

В заключение следует отметить необходимость проведения молекулярно-цитогенетического исследования КМ больных ММ в момент установления диагноза, а также выполнение повторного исследования FISH при прогрессировании заболевания, поскольку появление ранее не выявлявшихся ХА, в частности amp1q21, может своевременно указать на целесообразность смены тактики лечения конкретного больного.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №15-04-02568).

## ЛИТЕРАТУРА


1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2008.
2. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011; 117(19):5019-5032. https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-293050
3. Nemec P, Zemanova Z, Greslikova H, Greslikova H, Michalova K, Filkova H, Tajtlova J, Kralova D, Kupska R, Smetana J, Krejci M, Pour L, Zahradova L, Sandecka V, Adam Z, Buchler T, Spicka I, Gregora E, Kuglik P, Hajek R. Gain of 1q21 Is an Unfavorable Genetic Prognostic Factor for Multiple Myeloma Patients Treated with High-Dose Chemotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(4):548-554. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.11.025
4. Kuehl WM, Bergsagel PF. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3456-3463. https://doi.org/10.1172/jci61188
5. Mahindra A, Laubach J, Raje N, Munshi N, Richardson PG, Anderson K. Latest advanced and current challenges in the treatment of multiple myeloma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(3):135-143. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2012.15
6. Hervé AL, Florence M, Philippe M, Michel A, Thierry F, Kenneth A, Jean-Luc H, Nikhil M, Stéphane M. Molecular heterogeneity of multiple myeloma: pathogenesis, prognosis, and therapeutic implications. *J Clin Oncol*. 2011;29(14):1893-1897. https://doi.org/10.1200/jco.2010.32.8435
7. Fonseca R, Debes-Marun CS, Picken EB, Dewald GW, Bryant SC, Winkler JM, Blood E, Oken MM, Santana-Dávila R, González-Paz N, Kyle RA, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR. The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood*. 2003;102(7):2562-2567. https://doi.org/10.1182/blood-2003-02-0493
8. Morgan GJ, Walker BA and Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(5):335-348. https://doi.org/10.1038/nrc3257
9. Avet-Loiseau H, Leleu X, Roussel M, Moreau P, Guerin-Charbonnel C, Caillot D, Marit G, Benboubker L, Voillat L, Mathiot C, Kolb B, Macro M, Campion L, Wetterwald M, Stoppa AM, Hulin C, Facon T, Attal M, Minvielle S, Harousseau JL. Bortezomib plus dexamethasone induction improves outcome of patients with t(4;14) myeloma but not outcome of patients with del(17p). *J Clin Oncol*. 2010;28(30):4630-4634. https://doi.org/10.1200/jco.2010.28.3945
10. Bergsagel PL, Kuehl WM. Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene*. 2001;20(40):5611-5622. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204641
11. DeWald GW, Kyle RA, Hicks GA, Greipp PR. The clinical significance of cytogenetic studies in 100 patients with multiple myeloma, plasma cell leukemia, or amyloidosis. *Blood*. 1985;66(2):380-390.
12. Kumar S, Fonseca R, Ketterling RP, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Hayman SR, Buadi FK, Dingli D, Knudson RA, Greenberg A, Russell SJ, Zeldenrust SR, Lust JA, Kyle RA, Bergsagel L, Rajkumar SV. Trisomies in multiple myeloma: Impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood*. 2012;119(9):2100-2105. https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-390658
13. Nahi H, Sutlu T, Jansson M, Alici E, Gahrton G. Clinical impact of chromosomal aberrations in multiple myeloma. *J Intern Med*. 2010;269(2):137-147. https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02324.x
14. Ni IB, Ching NC, Meng CK, Zakaria Z. Translocation t(11;14)(q13;q32) and genomic imbalances in multi-ethnic multiple myeloma patients: a Malaysian study. *Hematol Rep*. 2012;4(3):e19. https://doi.org/10.4081/hr.2012.e19
15. Segges P, Braggio E. Genetic Markers Used for Risk Stratification in Multiple Myeloma. *Genet Res Int*. 2011;2011:798089. https://doi.org/10.4061/2011/798089
16. Ross FM, Chiecchio L, Dagrada G, Protheroe Rebecca K.M, Stockley DM, Harrison CJ, Cross Nicholas CP, Szubert AJ, Drayson MT, and Morgan GJ. The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long term stable disease in MGUS. *Haematologica*. 2010;95(7):1221-1225. https://doi.org/10.3324/haematol.2009.016329
17. Avet-Loiseau H, Attal M, Campion L, Caillot D, Hulin C, Marit G, Stoppa AM, Voillat L, Wetterwald M, Pegourie B, Voog E, Tiab M, Banos A, Jaubert J, Bouscary D, Macro M, Kolb B, Traulle C, Mathiot C, Magrangeas F, Minvielle S, Facon T, Moreau P. Longterm analysis of the IFM 99 trials for myeloma: Cytogenetic abnormalities [(t(4;14), del(17p), 1q gains] play a major role in defining long-term survival. *J Clin Oncol*. 2012;30(16):1949-1952. https://doi.org/10.1200/jco.2011.36.5726
18. Mikhael JR, Dingli D, Roy V, Reeder CB, Buadi FK, Hayman SR, Dispenzieri A, Fonseca R, Sher T, Kyle RA, Lin Y, Russell SJ, Kumar S, Bergsagel PL, Zeldenrust SR, Leung N, Drake MT, Kapoor P, Ansell SM, Witzig TE, Lust JA, Dalton RJ, Gertz MA, Stewart AK, Rajkumar SV, Chanan-Khan A, Lacy MQ. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(4):360-376. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.01.019
19. Avet-Louseau H, Daviet A, Sauner S, Bataille R. Intergroupe Francophone du Myélome. Chromosome 13 abnormalities in

multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol*. 2000;111(4):1116-1117. https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2000.02488.x

20. Sawyer JR. The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet*. 2011;204(1):3-12. https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2010.11.002
21. Morgan GJ, Gregory WM, Davies FE, Bell SE, Szubert AJ, Brown JM, Coy NN, Cook G, Russell NH, Rudin C, Roddie H, Drayson MT, Owen RG, Ross FM, Jackson GH, Child JA; National Cancer Research Institute Haematological Oncology Clinical Studies Group. The role of maintenance thalidomide therapy in multiple myeloma: MRC Myeloma IX results and meta-analysis. *Blood*. 2012;119(1):7-15. https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-357038
22. An G, Xu Y, Shi L, Zhong S, Deng S, Xie Z, Sui W, Zhan F, and Qiu L. Chromosome 1q21 gains confer inferior outcomes in multiple myeloma treated with bortezomib but copy number variation and percentage of plasma cells involved have no prognostic value. *Haematologica*. 2013;99(2):353-359. https://doi.org/10.3324/haematol.2013.088211
23. Neben K, Lokhorst HM, Jauch A, Bertsch U, Hielscher T, Van der Holt B, Salwender H, Blau IW, Weisel K, Pfreundschuh M, Scheid C, Dührsen U, Lindemann W, Schmidt-Wolf IG, Peter N, Teschendorf C, Martin H, Haenel M, Derigs HG, Raab MS, Ho AD, van de Velde H, Hose D, Sonneveld P, Goldschmidt H. Administration of bortezomib before and after autologous stem cell transplantation improves outcome in multiple myeloma patients with deletion 17p. *Blood*. 2012;119(4):940-948. https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-379164
24. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, Kumar S, Hillengass J, Kastritis E, Richardson P, Landgren O, Paiva B, Dispenzieri A, Weiss B, LeLeu X, Zweegman S, Lonial S, Rosinol L, Zamagni E, Jagannath S, Sezer O, Kristinsson SY, Caers J, Usmani SZ, Lahuerta JJ, Johnsen HE, Beksac M, Cavo M, Goldschmidt H, Terpos E, Kyle RA, Anderson KC, Durie BG, Miguel JF. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):e538-e548. https://doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70442-5
25. Miltenyi Biotec. Accessed March 1, 2016. Available at: http://www.miltenyibiotec.com
26. Simons A, Shaffer LG, Hastings RJ. Cytogenetic Nomenclature: Changes in the ISCN 2013 Compared to the 2009 Edition. *Cytogenet Genome Res*. 2013;141:1-6. https://doi.org/10.1159/000353118
27. Sawyer JR, Waldron JA, Jagannath S, Barlogie B. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple myeloma. *Cancer Genet Cytogenet*. 1995;82(1):41-49. https://doi.org/10.1016/0165-4608(94)00284-i
28. Stewart AK, Fonseca R. Prognostic and therapeutic significance of myeloma genetics and gene expression profiling. *J Clin Oncol*. 2005;23(26):6339-6344. https://doi.org/10.1200/jco.2005.05.023
29. Zhan F, Colla S, Wu X, Chen B, Stewart JP, Kuehl WM, Barlogie B, Shaughnessy JD. CKS1B, overexpressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1-dependent and -independent mechanisms. *Blood*. 2007;109(11):4995-5001. https://doi.org/10.1182/blood-2006-07-038703
30. Bahmanyar M, Qi X, Chang H. Genomic aberrations in anaplastic multiple myeloma: High frequency of 1q21(CKS1B) amplifications. *Leuk Res*. 2013;37(12):1726-1728. https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.09.025
31. Zhang Y. CKS1B (CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2011;14(7):676-678. https://doi.org/10.4267/2042/44803
32 Chang H, Jiang N, Jiang H, Saha MN, Qi C, Xu W, Reece D. CKS1B nuclear expression is inversely correlated with p27Kip1 expression and is predictive of an adverse survival in patients with multiple myeloma. *Haematologica*. 2010;95(9):1542-1547. https://doi.org/10.3324/haematol.2009.022210
33. Denicourt C, Saenz CC, Datnow B, Cui Xian-Shu, Dowdy SF. Relocalized p27Kip1 Tumor Suppressor Functions as a Cytoplasmic Metastatic Oncogene in Melanoma. *Cancer Res*. 2007;67(19):9238-9243. https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-1375
34. Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27Kip1 and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematology*. 2005;10(Suppl.1):117-126. https://doi.org/10.1080/10245330512331390140
35. Chen M-H, Qi C, Reece D, Chang H. Cyclin kinase subunit 1B nuclear expression predicts an adverse outcome for patients with relapsed/refractory multiple myeloma treated with bortezomib. *Hum Pathol*. 2012;43(6):858-864. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.07.013
36. Fonseca R, Van Wier SA, Chng WJ, Lacy MQ, Dispenzieri A, Bergsagel PL, Rajkumar SV, Greipp PR, Litzow MR, Price-Troska T, Henderson KJ, Ahmann GJ, Gertz MA. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia*. 2006; 20(11):2034-2040. https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404403
37. Yu W, Guo R, Qu X, Qiu H, Li J, Zhang R, Chen L. The amplification of 1q21 is an adverse prognostic factor in patients with multiple myeloma in a Chinese population. *Onco Targets Ther*. 2016;9:295-302. https://doi.org/10.2147/ott.s95381

Поступила 16.03.17

**К статье *Т.В. Абрамовой и соавт.* «Прогностическое значение амплификации 1q21 при множественной миеломе»**

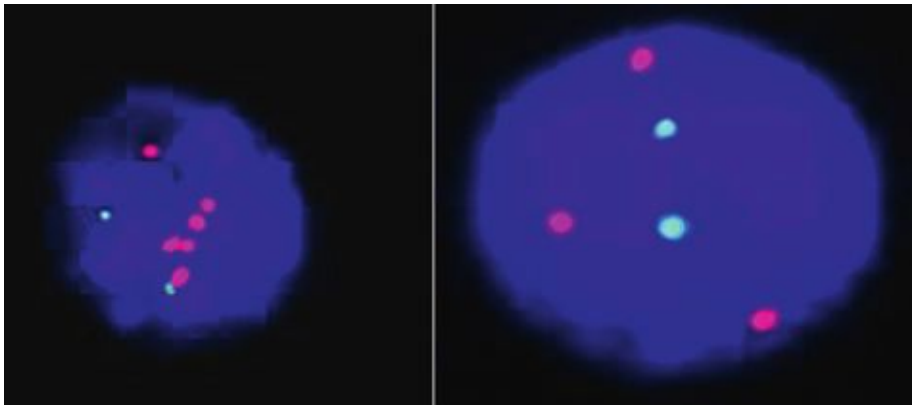


***Рис. 1.*** **Амплификация 1q21 у больных ММ в дебюте заболевания.**
а — 4 дополнительных копии 1q21; б — 1 дополнительная копия 1q21.

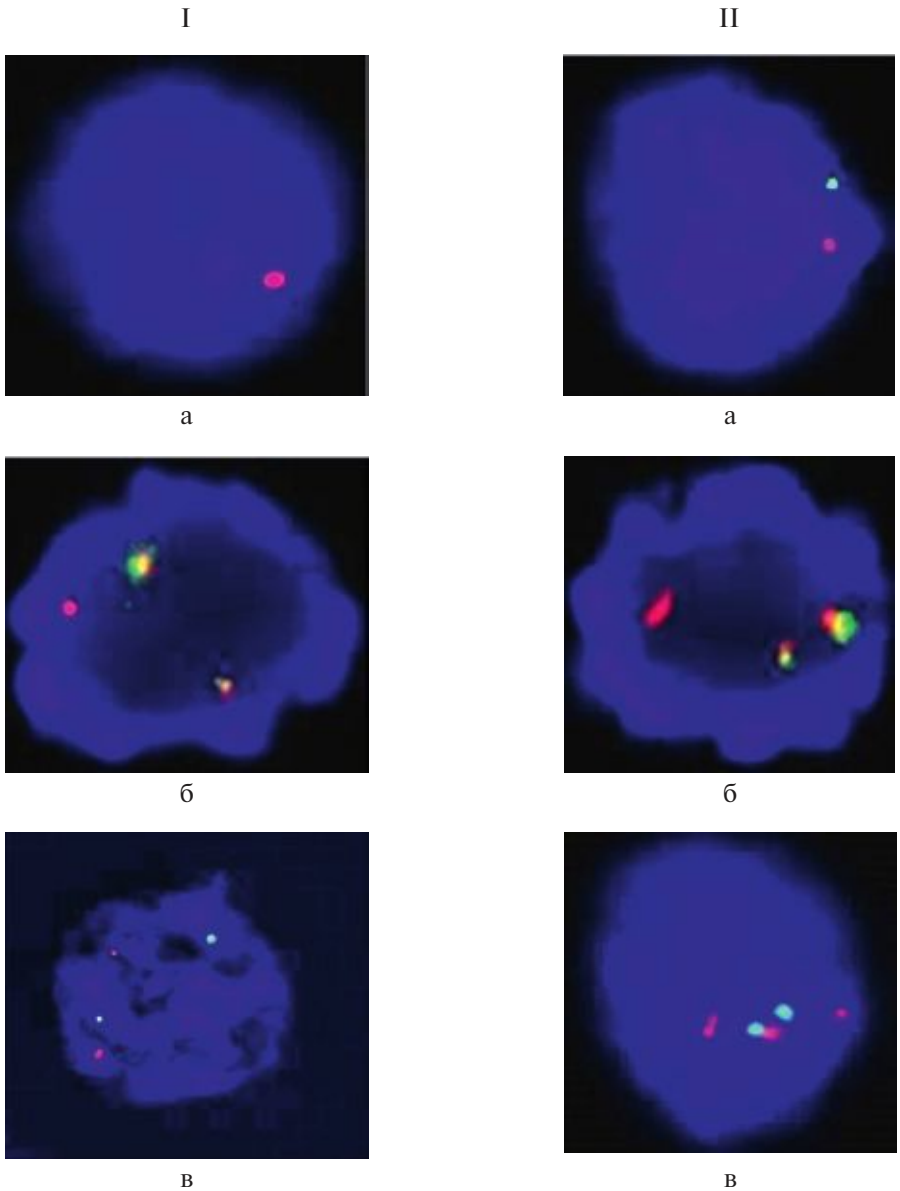



***Рис. 3.*** **Результаты FISH-исследования клеток CD138+ КМ больной *К.*, 44 года.**
I — в дебюте ММ: а — делеция локуса гена 13q14; б — транслокация t(11;14)(q13;q32); в — амплификация локуса гена 1q21 не выявлена; II — в период прогрессирования ММ: а — делеция локуса гена 13q14; б — транслокация t(11;14)(q13;q32); в — амплификация локуса гена 1q21 выявлена.