

# Множественная миелома с экстрамедуллярной плазмочитомой: аспекты патогенеза и клиническое наблюдение

М.В. Фирсова, Н.В. Рисинская, М.В. Соловьев, Т.Н. Обухова, М.А. Кислицына, Е.Е. Никулина, И.А. Якутик, Т.В. Абрамова, А.Б. Судариков, А.М. Ковригина, Л.П. Менделеева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

**Контакты:** Майя Валерьевна Фирсова [firs-maia@yandex.ru](mailto:firs-maia@yandex.ru)

**Введение.** Множественная миелома, осложненная экстрамедуллярной плазмочитомой, – неблагоприятный вариант заболевания. Остается неизвестным, что является триггером, запускающим опухолевую трансформацию. В обзоре представлены данные литературы о патогенезе экстрамедуллярного поражения, а также приведен клинический пример разностороннего изучения опухолевого субстрата.

**Цель исследования** – изучение молекулярно-биологических характеристик опухолевого субстрата костного мозга и экстрамедуллярной плазмочитомы с помощью различных методов.

**Материалы и методы.** Пациентка, 55 лет, поступила с диагнозом множественной миеломы, протекающей с экстрамедуллярной плазмочитомой забрюшинного пространства. Была выделена ДНК из образцов различной локализации (плазма крови, CD138<sup>+</sup>-клетки костного мозга, клетки плазмочитомы и буккального эпителия). Профиль коротких tandemных повторов (STR) ДНК из полученных образцов исследовали методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с последующим фрагментным анализом. Проводили флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга с использованием различных ДНК-зондов, также сравнительную геномную гибридизацию на микроматрице (arrayCGH) ДНК плазмочитомы. Мутационный профиль генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* изучали методом секвенирования по Сэнгеру в образцах опухоли различной локализации.

**Результаты.** Проводимая индукционная терапия (VCD (бортезомиб + циклофосфамид + дексаметазон), VRD (бортезомиб + леналидомид + дексаметазон), терапия даратумумабом) была неэффективной, констатирована смерть через 4 мес после возникновения первых клинических проявлений. При сопоставлении STR-маркеров опухолевой свободно циркулирующей в плазме ДНК (сДНК плазмы), CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга, плазмочитомы наибольшее количество вовлеченных локусов выявлено именно в ДНК плазмочитомы. Мутация в гене *NRAS* обнаружена только в ДНК плазмочитомы. Это свидетельствует о присутствии в экстрамедуллярной плазмочитоме другого клона опухолевых клеток. При молекулярном кариотипировании плазмочитомы методом arrayCGH выявлены перестройки множества хромосом. Биаллельная делеция локуса 1p32.3, амплификация 1q21, перестройка в локусе 8q24 и del17p13 подтверждены при молекулярном кариотипировании методом arrayCGH и при FISH-исследовании в костном мозге и плазмочитоме.

**Заключение.** Разностороннее молекулярно-генетическое исследование субстрата экстрамедуллярной плазмочитомы необходимо для понимания механизмов патогенеза и на этой основе – для разработки дифференцированных терапевтических подходов.

**Ключевые слова:** множественная миелома, экстрамедуллярная плазмочитома, метод arrayCGH, STR-профилерование, *NRAS*

**Для цитирования:** Фирсова М.В., Рисинская Н.В., Соловьев М.В. и др. Множественная миелома с экстрамедуллярной плазмочитомой: аспекты патогенеза и клиническое наблюдение. Онкогематология 2022;17(4):67–80. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-4-67-80

## Multiple myeloma with extramedullary plasmacytoma: pathogenesis and clinical case

M. V. Firsova, N. V. Risinskaya, M. V. Solovlev, T. N. Obukhova, M. A. Kislitsyna, E. E. Nikulina, I. A. Yakutik, T. V. Abramova, A. B. Sudarikov, A. M. Kovrigina, L. P. Mendeleva

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

**Contacts:** Mayya Valer'evna Firsova [firs-maia@yandex.ru](mailto:firs-maia@yandex.ru)

**Background.** Multiple myeloma complicated by extramedullary plasmacytoma is an unfavorable variant of the disease. It remains unknown what triggers tumor transformation. The review presents literature data on the pathogenesis of extramedullary disease, as well as a clinical example of a comprehensive study of the tumor substrate.

**Aim.** To study the molecular and biological characteristics of the tumor substrate of the bone marrow and extramedullary plasmacytoma using various research methods.

**Materials and methods.** A 55-year-old patient was admitted to National Medical Research Center for Hematology with a diagnosis of multiple myeloma occurring with extramedullary plasmacytoma of the retroperitoneal space. DNA was isolated from samples of different localization (blood plasma, CD138<sup>+</sup> bone marrow cells, plasmacytoma and buccal epithelial cells). The profile of short tandem DNA repeats (STR) from the obtained samples was studied by multiplex polymerase chain reaction followed by fragment analysis. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) of bone marrow CD138<sup>+</sup> cells was performed using various DNA probes. Comparative genomic hybridization on a microarray (arrayCGH) plasmacytoma DNA was also performed. The mutation profile of the *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* genes was studied by Sanger sequencing in tumor samples of various localizations.

**Results.** The induction therapy (VCD (bortezomib + cyclophosphamide + dexamethasone), VRD (bortezomib + lenalidomide + dexamethasone), daratumumab therapy) was ineffective, death occurred 4 months after the first clinical manifestations appeared. Comparison of STR markers of circulating cell-free tumor DNA (cfDNA), CD138<sup>+</sup> bone marrow cells, and plasmacytoma revealed the largest number of involved loci exactly in plasmacytoma' DNA. A mutation in the *NRAS* gene was found only in plasmacytoma' DNA. This indicates the presence of another clone of tumor cells in the extramedullary plasmacytoma. Molecular karyotyping of plasmacytoma using the arrayCGH method revealed rearrangements of many chromosomes. 1p32.3 bi-allelic deletion, amplification of 1q21, 8q24/MYC rearrangements and del17p13 were confirmed by arrayCGH molecular karyotyping and FISH studies in bone marrow and plasmacytoma.

**Conclusion.** A comprehensive molecular genetic study of the extramedullary plasmacytoma' substrate is necessary to understand the pathogenesis mechanisms and, on this basis, to develop differentiated therapeutic approaches.

**Keywords:** multiple myeloma, extramedullary plasmacytoma, arrayCGH, STR profiling, *NRAS*

**For citation:** Firsova M.V., Risinskaya N.V., Solovov M.V. et al. Multiple myeloma with extramedullary plasmacytoma: pathogenesis and clinical case. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2022;17(4):67–80. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-4-67-80

## Введение

Множественная миелома (ММ) — злокачественное клональное лимфопролиферативное заболевание, субстратом которого являются плазматические клетки. ММ на сегодняшний день неизлечима, однако благодаря новым препаратам таргетного воздействия и высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток в ряде случаев удается контролировать заболевание, рассматривать его как хроническое. Течение болезни вариabельно — от медленно прогрессирующего процесса до молниеносных форм. Это зависит от степени эволюции опухолевого клона, величины опухолевой нагрузки, наличия неблагоприятных факторов риска.

Согласно актуальным критериям, разработанным Международной рабочей группой по изучению множественной миеломы (IMWG-2014), для диагностики заболевания требуется обнаружение субстрата опухоли (выявление более 10 % плазматических клеток в костном мозге или гистологически доказанной плазмоцитомы) в сочетании с признаками симптомокомплекса CRAB и/или маркерами опухолевой активности [1].

Один из возможных критериев ММ — плазмоцитомы, однако она возникает не у всех больных. До настоящего времени нет унифицированной классификации плазмоцитом, что обуславливает путаницу в терминологии и частоте встречаемости. Так, в научной литературе присутствует множество различных терминов: мягкотканый компонент, экстрамедуллярное поражение, костная, внутрикостная, внекостная,

экстрамедуллярная плазмоцитома. Несмотря на многообразие дефиниций, речь идет о 2 видах плазмоцитом: анатомически связанных с костью и возникающих автономно в различных органах и тканях. Одни авторы к термину «экстрамедуллярное поражение» относят все новообразования при ММ, ассоциированные с костью и анатомически разобщенные с ней [2–4]. Другие эксперты считают важным дифференцировать эти 2 типа плазмоцитом, называя экстрамедуллярными только поражения, возникающие вследствие гематогенного распространения опухолевой клетки в органы и ткани [5–7].

Анализ данных литературы и собственный опыт позволили нам сделать вывод о важности разграничения плазмоцитом на 2 разных вида — костные и экстрамедуллярные. Примерно у трети пациентов в дебюте ММ выявляются новообразования, ассоциированные с костью, разрушающие корковый слой и выходящие за ее пределы, — костные плазмоцитомы. Более редкий вариант поражения — экстрамедуллярная плазмоцитома — может возникнуть в любом органе и ткани без непосредственной анатомической связи с костными структурами. Это происходит вследствие распространения опухолевой плазматической клетки за пределы костного мозга гематогенным путем.

Экстрамедуллярная плазмоцитома при ММ — фактор крайне неблагоприятного прогноза, характеризующийся, как правило, нестойким противоопухолевым ответом (или отсутствием такового), агрессивным течением, крайне неблагоприятными показателями

выживаемости, несмотря на весь спектр современной противоопухолевой терапии. Экстрamedулярное поражение при ММ является редким событием — 1,7–4,5 % в дебюте заболевания [7]. Такая частота встречаемости не позволяет набрать большую когорту пациентов — в литературе представлены результаты исследований плазмцитом на малых выборках больных [5, 8, 9]. Сложности в изучении патогенеза экстрamedулярного поражения при ММ обусловлены не только тем, что экстрamedулярная плазмцитома — казуистическое явление. В случае если диагноз ММ верифицирован, выполнение биопсии плазмцитомы не входит в диагностический алгоритм. Кроме этого, анатомическое расположение плазмцитомы иногда создает технические сложности для выполнения биопсии. Таким образом, всестороннее исследование субстрата плазмцитом на значительной когорте лимитировано малым объемом диагностического материала.

Для понимания основных процессов канцерогенеза следует помнить о нормальном функционировании клеточного цикла. В норме факторы роста связываются с определенными рецепторами на поверхности клетки, передача информации в ядро осуществляется через ряд биохимических процессов, лежащих в основе каскадной сигнальной трансдукции. Протоонкогенами называют гены, кодирующие белки, в норме участвующие в сигнальных каскадах (например, гены семейства *RAS*, *MYC*, *MAF*). Гены-супрессоры опухоли кодируют белки, контролирующие переход от одной стадии клеточного цикла к другой. Наиболее известные гены-супрессоры — *TP53*, *RBI*, *APC*. Так, ген-супрессор опухоли *TP53* кодирует белок p53 («страж генома»), ответственный за репарацию ДНК и апоптоз [10].

При патологии вследствие накопления мутаций, дефектов митоза, нарушения регуляции критических генов клетка приобретает свойства, отличающие ее от нормальной. Один из механизмов онкогенеза — трансформация протоонкогенов в онкогены вследствие различных aberrаций: точечных мутаций, транслокаций, инсерций, амплификаций. Другим механизмом канцерогенеза является нарушение функции генов-супрессоров опухоли. Наследование мутантного аллеля-супрессора опухоли объясняет семейные случаи некоторых неоплазий.

Патогенез экстрamedулярного поражения при ММ в настоящее время продолжает активно изучаться. В качестве одного из возможных механизмов рассматривается разобщение опухолевой плазматической клетки и стромального микроокружения костного мозга посредством утраты на поверхности миеломной клетки молекул клеточной адгезии (CD56, CD44, VLA-4), хемокиновых рецепторов (CXCR4) [5, 8, 11]. Предполагается участие фермента гепараназы 1 (HPSE1), который разрушает гепарансульфаты внеклеточного матрикса и стимулирует ангиогенез, что приводит к опухолевой диссеминации [12]. Мутации в генах RAS-RAF-MAP-киназного пути также могут быть

триггерами распространения миеломной клетки за пределы костного мозга при формировании плазмцитом [13]. Известно, что у больных ММ с экстрamedулярными плазмцитомами, по сравнению с пациентами без таковых, значительно чаще наблюдаются цитогенетические аномалии высокого риска. Такие aberrации, как t(4;14), амплификация 1q21, встречаются более чем у 50 % больных с экстрamedулярным поражением, а перестройка гена *MYC* и del17p13 — более чем у 35 % пациентов [14–16]. Для сравнения: t(4;14) в общей популяции больных ММ выявляется в 15 % случаев, а частота встречаемости del17p13 не превышает 10 %.

Общим механизмом прогрессии и диссеминации опухолевых клеток при различных неоплазиях является нестабильность генома. Потеря гетерозиготности — проявление генетической нестабильности, характеризующееся утратой одного из аллелей в участках генома, для которых исходно был характерен полиморфизм. Закономерно, что с течением времени происходят усугубление генетических нарушений, увеличение числа вовлеченных локусов с потерей гетерозиготности. Чем дальше эволюционирует опухолевый клон, тем более сложные генетические дефекты определяются в опухолевых клетках. Изменчивость свойств опухоли — необходимый механизм, который позволяет злокачественным клеткам избегать иммунологического надзора, адаптироваться к новым условиям среды. Известно, что с течением времени формируется множество гетерогенных опухолевых клонов с различными генетическими нарушениями, определяющими их способность к метастазированию, инвазии, лекарственной устойчивости. Наиболее агрессивный клон составляет большую часть клеток опухолевого субстрата. Для ММ также характерно генетическое разнообразие опухолевых клонов. Это подтверждается результатами исследования, доказавшими гетерогенность генетических изменений опухолевых клеток, локализованных в анатомически разобщенных областях тела [17]. Стадии симптоматической ММ предшествует длительно протекающая фаза заболевания, называемая моноклональной гаммапатией неясного значения. С течением времени происходит накопление мутаций, приводящих к селекции опухолевого клона, что соответствует переходу моноклональной гаммапатии неясного значения в фазу тлеющей, а затем и симптоматической ММ. Считается, что экстрamedулярное поражение, как и плазмклеточный лейкоз, — результат селекции крайне агрессивного клона опухолевых клеток. Однако сегодня неясно, что является триггером, запускающим такую опухолевую трансформацию, а также не разработаны подходы к терапии, позволяющие говорить об успехе лечения ММ, осложненной экстрamedулярной плазмцитомой.

Таким образом, разностороннее молекулярно-генетическое исследование субстрата экстрamedулярной плазмцитомы является важнейшим базисом

для понимания механизмов утраты связи опухолевой клетки с костномозговой нишей.

**Цель исследования** — изучение молекулярно-биологических характеристик костного мозга, экстрамедуллярной плазмцитомы с помощью различных методов исследования у пациентки с ММ.

### Клинический случай

**Пациентка**, 55 лет, считала себя больной с июля 2021 г., когда отметила появление болевого синдрома, отека правой ноги. По данным ультразвукового исследования вен нижних конечностей выявлен илеофemorальный тромбоз справа, пристеночный тромбоз нижней полой вены. При магнитно-резонансной томографии таза выявлялось объемное инфильтративное новообразование в полости малого таза размером  $130 \times 100 \times 280$  мм с вовлечением внутренних органов. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании биоптата новообразования малого таза обнаружен массивный диффузный инфильтрат из крупных клеток с плазмобластной морфологией, выраженными морфологическими признаками апоптоза. Клетки инфильтрата экспрессировали CD138, MUM1, циклин D1, отмечалась рестрикция  $\lambda$ -цепи. Индекс пролиферативной активности Ki-67 составлял 80 % положительных клеток.

С подозрением на парапротеинемический гемобластоз в сентябре 2021 г. больная поступила в НМИЦ гематологии в тяжелом состоянии, обусловленном анемией, острым повреждением почек, отеком синдромом, инфекционными осложнениями.

Для молекулярно-генетических исследований была выделена ДНК из образцов различной локализации (плазмы крови, CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга, клеток плазмцитомы, клеток буккального эпителия). Профиль коротких tandemных повторов (STR) ДНК из полученных образцов исследовали относительно STR-профиля контрольной ДНК пациентки, выделенной из ее буккального эпителия, методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (набор COReDIS Plus, Гордиз, Россия) с последующим фрагментным анализом. Проведена позитивная иммуномагнитная селекция CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга с использованием моноклонального антитела к CD138 (Miltenyi Biotec, Германия) согласно протоколу производителя. Чистота полученной фракции клеток составила 48 %.

В дальнейшем выполняли флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) полученных клеток с использованием ДНК-зондов для выявления транслокаций 14q32/IgH, t(11;14), 8q14/MYC, делеций 17p13/TP53, 13q14, 1p32, амплификации 1q21 и множественных трисомий (MetaSystems, Германия). Также выполнена сравнительная геномная гибридизация на микроматрице (arrayCGH) ДНК плазмцитомы. Выделение ДНК из клеток плазмцитомы проводили методом фенол-хлороформной экстракции. ArrayCGH была выполнена с помощью микроматрицы высокой плотности, специально разработанной для гематологических заболеваний компании OGT 8x60k+SNP

(Oxford Gene Technology, Великобритания) с использованием платформы Agilent (Agilent Technology, США). Референсная женская ДНК для анализа была взята от компании OGT (Великобритания). Определение вариаций числа копий ДНК (CNVs), кариотипирование проводили по данным измерения интенсивности сигнала с зондов от референсной и исследуемой ДНК, гибридизованных на слайде. Данные обработаны с помощью программы CytoSure™ Interpret Software. Патогенные CNVs оценены в клинической базе DECIPHER v.11.0.

Мутационный профиль генов KRAS, NRAS, BRAF изучали методом секвенирования по Сэнгеру в свободно циркулирующей в плазме ДНК (сДНК плазмы), ДНК из CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга, ДНК плазмцитомы.

При обследовании больной в НМИЦ гематологии в гемограмме выявлены анемия (уровень гемоглобина 77 г/л), тромбоцитопения (количество тромбоцитов  $123 \times 10^9$ /л), количество лейкоцитов  $7,71 \times 10^9$ /л, при этом в лейкоцитарной формуле определялись плазматические клетки (1 %). По данным биохимического анализа крови отмечалось повышение уровней мочевины (18 ммоль/л), креатинина (324 мкмоль/л), общего кальция (2,76 ммоль/л), активности лактатдегидрогеназы (356 Ед/л). В миелограмме плазматические клетки составляли 30 %.

Результат гистологического исследования трепано-биоптата костного мозга: костномозговые полости заполнены гиперклеточным костным мозгом за счет массивных скоплений из зрелых плазматических клеток. При FISH-исследовании CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга в 90 % ядер выявлены t(11;14)(q13;q32), del17p13/TP53, перестройка в локусе 8q24, амплификация 1q21 (от 1 до 4 дополнительных сигналов) и биаллельная делеция CDKN2C/1p32. При иммунохимическом исследовании белков сыворотки крови и мочи выявлялись следовая секреция парапротеина D $\lambda$ , свободные легкие  $\lambda$ -цепи (СПЦ- $\lambda$ ) 392 мг/л, экскреция белка Бенс-Джонса  $\lambda$  (BJ $\lambda$ ) 0,7 г/сут,  $\beta$ 2-микроглобулин составлял 38,8 мг/л.

При компьютерной томографии органов брюшной полости и малого таза в забрюшинном пространстве определялось массивное опухолевое образование с неровным, бугристым контуром, заполняющее весь объем полости малого таза. Суммарный размер опухоли составлял  $170 \times 95$  мм, вертикальная протяженность — до 285 мм (рис. 1).

По данным компьютерной томографии других отделов скелета выявлен распространенный остеодеструктивный процесс, плазмцитомы других локализаций не обнаружены.

Таким образом, результаты обследования позволили установить диагноз: ММ, протекающая с секрецией D $\lambda$ , СПЦ- $\lambda$ , экскрецией BJ $\lambda$ , массивной экстрамедуллярной плазмцитомой забрюшинного пространства с плазмобластной морфологией, распространенным остеодеструктивным процессом; ПИВ стадия по Durie—Salmon, III стадия по ISS (Международной системе стадирования) и R-ISS (Пересмотренной международной системе стадирования); группа высокого цитогенетического риска (del17p13, атр. 1q21).





**Рис. 1.** Компьютерная томограмма органов брюшной полости и малого таза. Красным цветом выделена область поражения. Опухоль инфильтрирует мышцы, мочевой пузырь, матку и правый яичник  
**Fig. 1.** Abdominal and pelvic CT scan. The area of the lesion is marked in red. The tumor infiltrates the muscles, bladder, uterus and right ovary

В сентябре 2021 г. пациентке был проведен первый индукционный курс по схеме VCD (бортезомиб + циклофосфамид + дексаметазон), что способствовало уменьшению азотемии, достижению полного почечного ответа, однако противоопухолевый ответ не достигнут — отмечалось увеличение размера плазмцитомы. Курс терапии осложнился развитием миелотоксического агранулоцитоза, двусторонней пневмонии, инфекции мочевыводящих путей, вызванной полирезистентными микроорганизмами. Проводились массивная противомикробная, заместительная трансфузионная терапия.

С учетом отсутствия противоопухолевого ответа в октябре 2021 г. начат курс VRD (бортезомиб + леналидомид + дексаметазон), однако полноценно реализовать терапию не представлялось возможным — уже на 4-й день курса вновь отмечалось развитие миелотоксического агранулоцитоза, персистировали тяжелые инфекционные осложнения, появились признаки дыхательной, сердечно-сосудистой недостаточности.

В ноябре 2021 г. пациентке начата специфическая терапия даратумумабом, продолжалась сопроводительная трансфузионная, противомикробная, противоотечная терапия.

Несмотря на проводимые мероприятия, прогрессировала полиорганная недостаточность и констатирована смерть больной на фоне рефрактерного течения ММ через 4 мес после возникновения первых клинических проявлений болезни.

С учетом того, что мы столкнулись с редким клиническим наблюдением, субстрат опухоли был изучен различными молекулярно-генетическими методами.

При STR-профилировании сДНК плазмы выявлен 1 locus потери гетерозиготности, расположенный на хромосоме 1 (D1S1656). Отмечено снижение доли аллеля до 45 %, что может рассматриваться как дупли-

кация мажорного аллеля в опухолевых клетках (соотношение мажорный:минорный аллель 2:1). При анализе STR-профиля ДНК, выделенной из CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга, определено 2 aberrантных локуса потери гетерозиготности на хромосомах 1 (D1S1656) и 10 (D10S1248) со снижением доли аллеля до 46 и 45 % соответственно. STR-профиль плазмцитомы выявил 3 локуса потери гетерозиготности: 45 % на хромосоме 1 (D1S1656), 91 % на хромосоме 10 (D10S1248) и 95 % на хромосоме 22 (D22S1045). Потеря аллеля на 90 % может равновероятно рассматриваться либо как делеция, либо как количественно нейтральная потеря гетерозиготности (табл. 1). Таким образом, в сДНК плазмы крови, CD138<sup>+</sup>-клетках костного мозга и плазмцитоме обнаружен одинаковый клон опухолевых клеток с аллельным дисбалансом на хромосоме 1. В ДНК плазмцитомы обнаружено 3 локуса потери гетерозиготности, 2 из которых определялись и в CD138<sup>+</sup>-клетках костного мозга. Вероятно, отсутствие потери гетерозиготности на хромосоме 22 в CD138<sup>+</sup>-клетках костного мозга при обнаружении нестабильности генома этой хромосомы в субстрате плазмцитомы свидетельствует о наличии другого клона опухолевых клеток в очаге, анатомически удаленном от костного мозга.

Далее с целью изучения субстрата плазмцитомы было выполнено молекулярное кариотипирование ДНК клеток плазмцитомы методом arrayCGH. На рис. 2 представлен молекулярный кариотип экстрамедуллярной плазмцитомы.

Как видно из рис. 2, при arrayCGH ДНК плазмцитомы обнаружены различные aberrации на 8 хромосомах: делеция короткого плеча и дупликация длинного плеча хромосомы 1, дупликация длинного и короткого плеча хромосомы 8, делеция длинного плеча хромосомы 10, дупликация длинного плеча хромосомы 11, дупликация короткого плеча и делеция длинного плеча хромосомы 16, делеция короткого плеча хромосомы 17, делеция длинного плеча хромосомы 22 и моносомия по хромосоме X.

На хромосоме 1 выявлена делеция региона p34.3p31.3 длиной 25,59 мегабазы (Мб) в 1 аллеле и делеция локуса 1p32.3 (534,68 килобазы (кб)) в 2 аллелях (рис. 3). Анализ изображения позволяет визуализировать наличие биаллельной делеции локуса 1p32.3 (534,68 кб) (рис. 3, а).

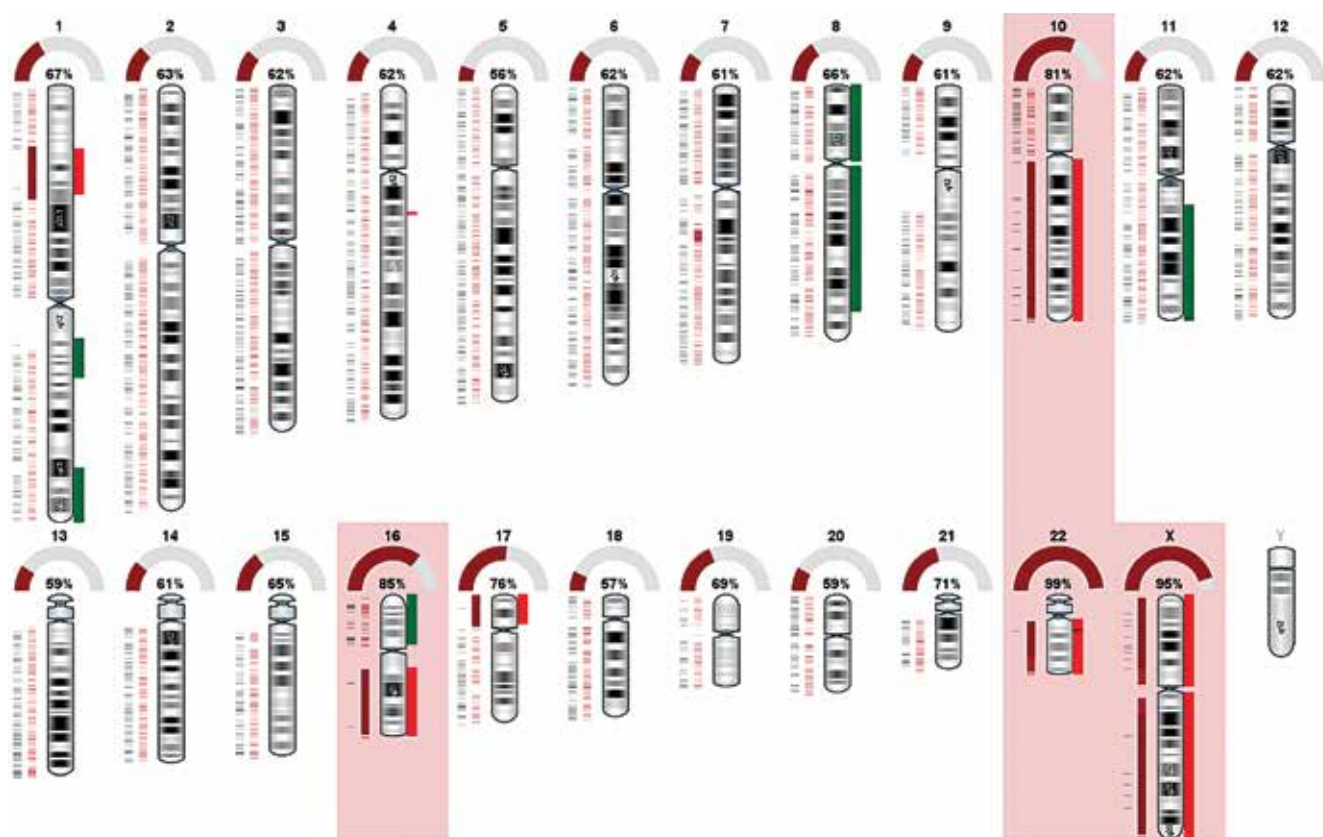
В регионах 1q21.1q24.1 и 1q41q44 обнаружены дупликации длиной 22,36 и 31,11 Мб соответственно. В области 1q21–25 расположено около 500 генов, некоторые из них изучаются как потенциальные участники патогенеза ММ [18]. На хромосоме 8 выявлена дупликация короткого плеча p23.3p11.1 и длинного плеча q11.1q24.21 длиной 43,68 и 82,07 Мб соответственно (задействована вся хромосома). Обнаружена делеция в области длинного плеча хромосомы 10 (q11.21q26.3) (рис. 3, б).

На хромосоме 11 выявлена дупликация значительного участка длинного плеча (q13.3q25) длиной 65,75 Мб. На хромосоме 16 выявлена дупликация всего короткого

**Таблица 1.** Потеря гетерозиготности в STR-маркерах, выявленная в опухолевых клетках различной локализации у больной множественной миеломой  
**Table 1.** Loss of heterozygosity in STR markers detected in tumor cells of different localization in a multiple myeloma patient

Материал Material	STR-локус, % потери гетерозиготности STR locus, % loss of heterozygosity		
	D1S1656 (хромосома 1) (chromosome 1)	D10S1248 (хромосома 10) (chromosome 10)	D22S1045 (хромосома 22) (chromosome 22)
Свободно циркулирующая в плазме ДНК Circulating cell-free DNA	45	—	—
ДНК CD138 <sup>+</sup> -клеток костного мозга DNA of CD138 <sup>+</sup> bone marrow cells	46	45	—
ДНК клеток плазмцитомы DNA of plasmacytoma cells	45	91	95

**Примечание.** STR — короткие тандемные повторы.  
**Note.** STR — short tandem repeats.

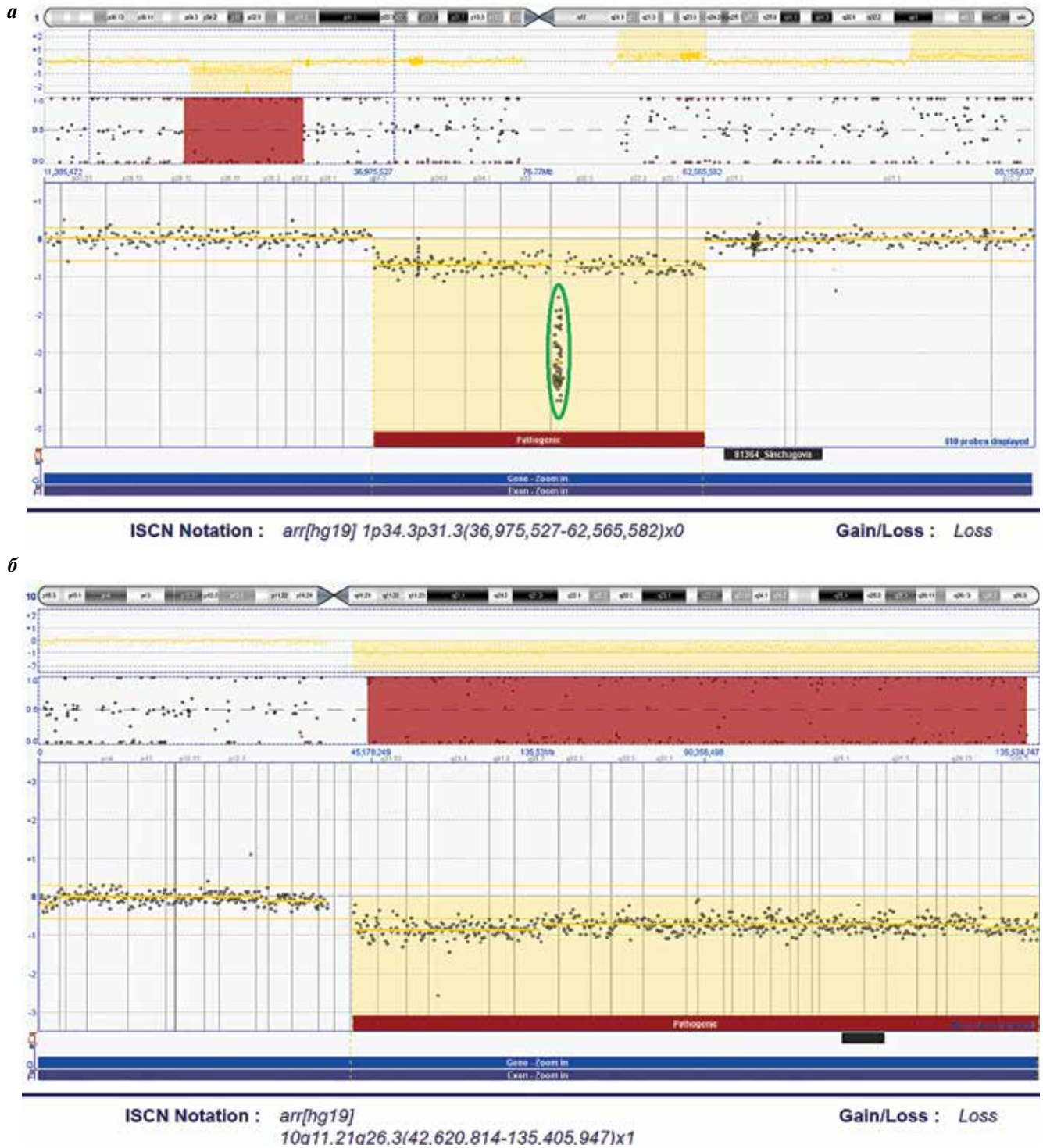


**Рис. 2.** Молекулярный кариотип экстрамедуллярной плазмцитомы. Зеленые столбики — дупликации, алые — делеции, красные — потеря гетерозиготности  
**Fig. 2.** Molecular karyotype of an extramedullary plasmacytoma. Duplications are marked in green, deletions are marked in scarlet, loss of heterozygosity are marked in red

плеча (16p13.3p11.2) 31,77 Мб, а также делеция всего длинного плеча (16q11.2p24.3) длиной 43,54 Мб. Кроме этого, выявлена делеция всего короткого плеча хромосомы 17 (17p13.3p11.2) (рис. 3, в). Безусловно, самым известным геном этого региона является ген-супрессор опухоли *TP53*, расположенный в области 17p13.1. Выявлена сложная перестройка хромосомы 22:

наряду с делецией всего длинного плеча обнаружена дупликация локуса q11.22 (рис. 3, г). Была выявлена моносомия по хромосоме X.

При анализе данных нами отмечено, что причина потери гетерозиготности в STR-маркерах плазмцитомы подтверждена молекулярным кариотипированием. Так, аллельный дисбаланс, выявленный



**Рис. 3.** Примеры детектируемых вариаций числа копий ДНК (CNVs) в субстрате экстрамедуллярной плазмцитомы методом сравнительной геномной гибридизации на микроматрице (arrayCGH): а – хромосома 1: делеция короткого плеча 1p34.3p31.3; биаллельная делеция локуса 1p32.3 выделена зеленым цветом; б – хромосома 10: делеция длинного плеча 10q11.21q26.3

**Fig. 3.** Examples of CNVs detected in extramedullary plasmacytoma by comparative genomic hybridization on a microarray (arrayCGH) method: а – chromosome 1: deletion of the short arm 1p34.3p31.3; the bi-allelic deletion of the 1p32.3 locus is marked in green; б – chromosome 10: deletion of the long arm 10q11.21q26.3

при STR-профилировании на хромосоме 1 (локализация D1S1656-1q42), соответствует обнаруженной при arrayCGH дупликации 1q41q44. Изменения в STR-маркерах D10S1248 (10q26.3) и D22S1045 (22q12.3), которые

рассматривались равновероятно как делеция или количественно нейтральная потеря гетерозиготности, соответствуют делециям длинного плеча хромосом 10 и 22, выявленным при молекулярном кариотипировании



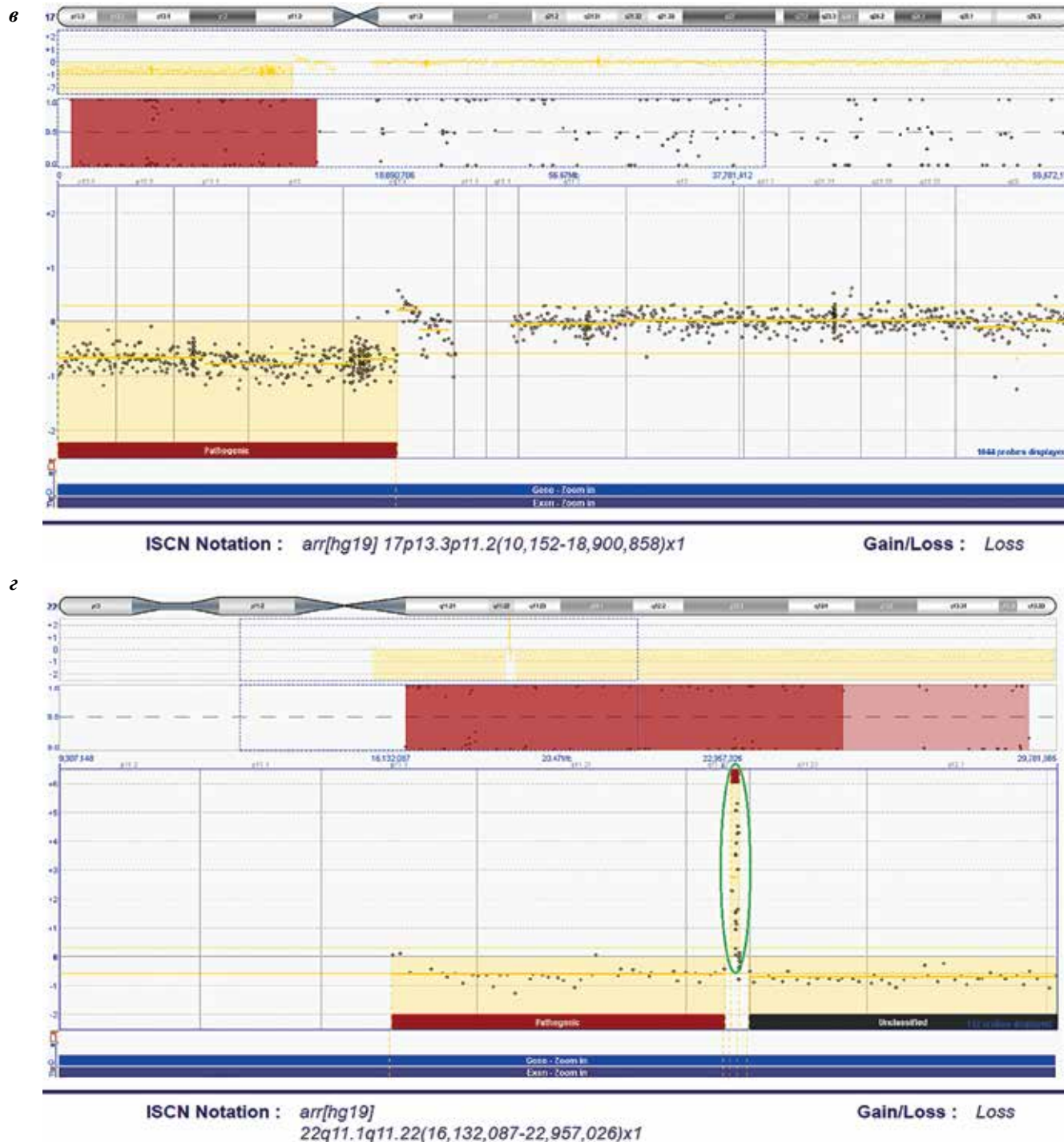


Рис. 3. Окончание: в – хромосома 17: делеция короткого плеча 17p13.3p11.2; г – хромосома 22: делеция длинного плеча в сочетании с дупликацией q11.22 (выделена зеленым цветом)

Fig. 3. The end: в – chromosome 17: deletion of the short arm 17p13.3p11.2; г – chromosome 22: deletion of the long arm in combination with duplication q11.22 (highlighted in green)

плазмоцитомы. В табл. 2 приведено сопоставление aberrаций, выявленных при молекулярном кариотипировании и STR-профилеировании ДНК плазмоцитомы, а также при FISH CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга. FISH-исследование CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга при MM является высокочувствительным методом, необходимым для определения цитогенетического риска.

Как видно из табл. 2, биаллельная делеция локуса 1p32.3, амплификация 1q21, перестройка в локусе 8q24 и del17p13 подтверждены 2 методами и в костном мозге, и в плазмоцитоме. ArrayCGH и FISH-исследование взаимодополняющие методы: молекулярное кариотипирование позволяет одновременно определить множество хромосомных aberrаций, но при этом не удается выявить сбалансированные перестройки хромосом,



Таблица 2. Сопоставление aberrаций в клетках костного мозга и плазмоцитомы, обнаруженных различными методами

Table 2. Comparison of aberrations in bone marrow and plasmacytoma cells detected by various methods

Хромосома Chromosome	ArrayCGH ДНК плазмоцитомы ArrayCGH of plasmacytoma cells DNA	FISH CD138 <sup>+</sup> -клеток костного мозга FISH of CD138 <sup>+</sup> bone marrow cells DNA	STR-профиль ДНК плазмоцитомы STR profile of plasmacytoma cells DNA
1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Делеция региона 1p34.3p31.3</li> <li>• Биаллельная делеция локуса 1p32.3</li> <li>• Дупликация региона 1q21.1q24.1</li> <li>• Дупликация региона 1q41q44</li> <li>• Deletion of the 1p34.3p31.3 region</li> <li>• Bi-allelic deletion of the 1p32.3 locus</li> <li>• Duplication of the 1q21.1q24.1 region</li> <li>• Duplication of the 1q41q44 region</li> </ul>	Биаллельная делеция CDKN2C/1p32 Амплификация 1q21 Bi-allelic deletion of CDKN2C/1p32 1q21 amplification	Дупликация 1q42 1q42 duplication
8	Дупликация региона 8p23.3q24.21 Duplication of the 8p23.3q24.21 region	Перестройка в локусе 8q24 Rearrangement at the 8q24 locus	
10	Делеция региона 10q11.21q26.3 Deletion of the 10q11.21q26.3 region		Делеция 10q26.3 10q26.3 deletion
11	Дупликация региона 11q13.3q25 Duplication of the 11q13.3q25 region	t(11;14)(q13;q32)	
16	Дупликация региона 16p13.3p11.2 Делеция региона 16q11.2q24.3 Duplication of the 16p13.3p11.2 region Deletion of the 16q11.2q24.3 region		
17	Делеция региона 17p13.3p11.2 Deletion of the 17p13.3p11.2 region	del17p13/TP53	
22	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Делеция региона 22q11.1q11.22</li> <li>• Дупликация локуса 22q11.22</li> <li>• Делеция региона 22q11.22q13.33</li> <li>• Deletion of the 22q11.1q11.22 region</li> <li>• Duplication of the 22q11.22 locus</li> <li>• Deletion of the 22q11.22q13.33 region</li> </ul>		Делеция 22q12.3 22q12.3 deletion
X	Моносомия по хромосоме X X monosomy		

**Примечание.** ArrayCGH — сравнительная геномная гибридизация на микроматрице; FISH — флуоресцентная *in situ* гибридизация; STR — короткие tandemные повторы.

**Note.** ArrayCGH — comparative genomic hybridization on a microarray; FISH — fluorescent *in situ* hybridization; STR — short tandem repeats.

а при FISH-исследовании возможно определение только тех aberrаций, к которым использованы флуоресцентные пробы (зонды). Так, в этом клиническом примере t(11;14)(q13;q32) определена только методом FISH ввиду того, что транслокация является сбалансированной аномалией и не выявляется методом arrayCGH. Однако при этом молекулярный кариотип плазмоцитомы демонстрирует множество других aberrаций, не выявленных иными методами. Относительно STR-профилирования можно отметить, что этот метод позволяет на малом количестве ДНК, возможно частично деградированной, определить наличие aberrаций, затрагивающих длинные участки хромосом, при этом является экономически выгодным и относительно простым в выполнении, подходит для рутинного скрининга и анализа ДНК любого качества.

Методом секвенирования по Сэнгеру нами изучался мутационный профиль генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* в опухолевом субстрате различной локализации (сДНК плазмы, костный мозг, плазмоцитома). В субстрате

плазмоцитомы выявлена мутация Q61L гена *NRAS* (rs11554290), при этом в опухолевой сДНК плазмы и в субстрате костного мозга ген *NRAS* не был мутирован. Найденное отличие может свидетельствовать о наличии разных клонов в различных локализациях опухоли у больной.

### Обсуждение

Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует агрессивное течение ММ, протекающей с массивной экстрамедуллярной плазмоцитомой с плазмобластной морфологией. С момента появления клинической симптоматики и до фатального исхода прошло около 4 мес. Тяжелые инфекционные осложнения не позволили реализовать адекватную противоопухолевую программу лечения — даже на фоне стандартной терапии по схеме VCD отмечалось развитие миелотоксического агранулоцитоза. Некоторые эксперты рекомендуют проводить этой категории больных полихимиотерапевтические курсы терапии с включением препаратов

с биологическим механизмом действия (например, VRD-PACE (бортезомиб + леналидомид + дексаметазон + цисплатин + доксорубин + циклофосфамид + этопозид)) [7], однако возможность осуществления такого интенсивного режима в описанном нами случае вызывает сомнение.

В представленном клиническом наблюдении обращает на себя внимание многообразие факторов неблагоприятного прогноза: экстрамедуллярная плазмочитома с плазмобластной морфологией, цитогенетические aberrации высокого риска. При иммунохимическом анализе белков крови отмечалась секреция парапротеина типа D, которая относится к редким случаям ММ (1–2 % наблюдений), характеризуется агрессивным течением, нестойким противоопухолевым ответом, частой ассоциацией с гепатомегалией, лимфаденопатией, экстрамедуллярным поражением, амилоидозом, повреждением почек [19, 20]. Кроме этого, в периферической крови пациентки выявлен 1 % плазматических клеток, что также считается фактором, отрицательно влияющим на прогноз. Так, по данным нескольких работ, при обнаружении даже минимального количества плазматических клеток в гемограмме больных в дебюте ММ результаты терапии значимо хуже по сравнению с таковыми у пациентов без плазматических клеток в крови [21, 22]. По данным FISH-исследования CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга у больной обнаружено 2 цитогенетические aberrации высокого риска — del17p13 и amp.1q21. Согласно классификации клиники Мэйо выявление любых 2 цитогенетических aberrаций, относящихся к высокому риску, служит основанием для констатации double-hit миеломы [23]. Такие пациенты относятся к группе ультравысокого риска.

Обращено внимание на особенности гистологического строения субстрата опухоли у пациентки. Так, опухолевый субстрат костного мозга представлен зрелыми плазматическими клетками, а морфология клеток экстрамедуллярной плазмочитомы характеризовалась плазмобластными формами. Подобная плазмобластная трансформация описана Y. Liu и соавт., которые изучали генетические нарушения в субстрате опухоли у 10 пациентов с ММ с экстрамедуллярными плазмочитомами [9].

Индекс пролиферативной активности в клетках экстрамедуллярной плазмочитомы был высоким и составил 80 %. В целом для ММ характерна, как правило, невысокая пролиферативная активность опухоли — до 15 %, в том числе в клетках с плазмобластной морфологией [24].

Молекулярный кариотип опухоли свидетельствовал о множественных перестройках хромосом. Рассмотрим подробнее обнаруженные aberrации, концентрируясь на некоторых генах, расположенных в зоне выявленных нарушений.

Обнаружены сложные перестройки хромосомы 1. Частые нарушения структуры этой хромосомы обу-

словлены тем фактом, что именно на хромосоме 1 расположено около 30 % так называемых генов высокого риска при ММ: при изучении профиля экспрессии генов (GEP-70) у больных ММ оказалось, что 9 из 51 активированного гена расположены в локусе 1q, 9 из 19 генов, экспрессия которых была снижена, — в локусе 1p [25]. Нами обнаружена биаллельная делеция региона 1p33–32.3. Один из генов, расположенных в этой области, — *FAF1* (Fas Associated Factor 1) — ген, кодирующий белок, который связывается с антигеном FAS и может инициировать/усиливать апоптоз [26]. Другой важнейший ген, расположенный в локусе p32.3, — *CDKN2C* (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2C). Ингибиторы циклинзависимых киназ играют ключевую роль в контроле остановки клеточного цикла и гибели клеток. По данным литературы, инактивация гена *CDKN2C* встречается примерно в 40 % случаев ММ, однако обнаружение гомозиготной делеции — событие редкое (2 %). Показано, что при биаллельной делеции локуса гена *CDKN2C* отмечается наиболее высокая пролиферативная активность ММ [27, 28]. Таким образом, можно заключить, что утрата генов, продукты которых задействованы в апоптозе, является одной из причин бесконтрольной пролиферации опухолевых клеток.

Также на хромосоме 1 выявлена дупликация локуса 1q21. Одним из наиболее известных и важных для патогенеза ММ генов этого региона является ген *CKS1B* (CDC28 protein Kinase regulatory Subunit 1B). Белок CKS1B связывается с каталитической субъединицей циклинзависимых киназ, формируется убиквитинзависимый комплекс p27<sup>kip1</sup>–SCF и инициируется убиквитинзависимый протеолиз [29]. Гиперэкспрессия белка CKS1B способствует избыточному разрушению белка p27<sup>kip1</sup>, что приводит к повышенной пролиферации клеток. В норме ген, кодирующий белок p27<sup>kip1</sup>, является геном-супрессором опухоли — белок p27<sup>kip1</sup> участвует в блокировании перехода фазы G1 в фазу S клеточного цикла. Доказано, что в клетках ММ высокий уровень экспрессии белка CKS1B обратно коррелирует с уровнем экспрессии белка p27<sup>kip1</sup>. В эксперименте на клеточных линиях миеломы человека, гиперэкспрессировавших CKS1B, продемонстрировано, что подавление экспрессии CKS1B приводило к активации p27<sup>kip1</sup> и, как следствие, к ингибированию роста клеток [30]. Кроме *CKS1B* в регионе 1q21 расположены следующие гены, рассматриваемые в качестве кандидатов-участников патогенеза ММ: *BCL9* (клеточный рост), *ANP32E* (эпигенетическая дисрегуляция), *MCL1* (антиапоптоз), *PSMD4* (снижение эффекта ингибиторов протеасомы), *IL6R* (усиление эффекта интерлейкина 6), *ILF2* и *ADAR* (ПНК-метаболизм) [18]. Продукт гена *PSMD4* (proteasome 26S subunit ubiquitin receptor) — субъединица 19S протеасомного комплекса — компонента 26S протеасомы. В исследованиях показано, что при высокой экспрессии гена *PSMD4* отмечались худшие показатели выживаемости из-за снижения

противоопухолевого эффекта ингибиторов протеасом, причем уровень экспрессии *PSMD4* коррелировал с количеством копий *1q21* [31, 32].

Ген *NRAS*, мутация которого выявлена в плазмочите, но не в костном мозге и не в опухолевой сДНК плазмы, также расположен на хромосоме 1, в регионе *1p13.2*. Несмотря на то что активирующие мутации онкогенов семейства *RAS* довольно часто обнаруживаются при ММ, данные литературы о роли и механизме их возникновения противоречивы. Есть сведения о том, что при наличии мутации в гене *NRAS* (но не *KRAS*) отмечается снижение чувствительности опухоли к монотерапии бортезомибом [33]. Несмотря на то что мутации в генах *RAS* ассоциируются с более агрессивным фенотипом и неблагоприятными показателями выживаемости, они не так часто обнаруживаются в сочетании с другими биологическими факторами высокого риска, такими как *t(4;14)* и делеция *17p13*. При этом прослежена взаимосвязь мутированного статуса генов семейства *RAS* и наличия *t(11;14)*. В представленном нами случае эта зависимость демонстрируется: у пациентки отмечены наличие *t(11;14)* и мутированный статус гена *NRAS*. Несмотря на то что *t(11;14)* у больных ММ обычно ассоциируется со стандартным риском, ее сочетание с мутацией в генах семейства *RAS* приводит к низким показателям выживаемости пациентов [34].

У пациентки в субстрате плазмочитомы выявлена перестройка хромосомы 8 — дупликация длинного и короткого плеча. На коротком плече хромосомы 8 расположены гены суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (*TRAIL-R1*, *TRAIL-R2*), участвующие в апоптозе клеток. Гены рассматриваются как супрессоры опухоли, нарушение функционирования которых, вероятно, оказывает влияние на патогенез В-клеточных опухолей [35]. На длинном плече хромосомы 8 в регионе *8q24.1* расположен важнейший протоонкоген *MYC*. Продукт гена является транскрипционным фактором, задействованным в процессах роста, пролиферации, апоптоза клеток. Перестройка гена *MYC* наблюдается при широком спектре опухолей человека, так как ген — ключевой участник регуляции клеточного цикла. Согласно данным литературы, различные аберрации хромосомы 8 наблюдаются более чем у трети больных в дебюте ММ, чаще выявляются у пациентов с продвинутыми стадиями заболевания и характеризуются неблагоприятным влиянием на прогноз ММ [36].

Также в субстрате опухоли была выявлена делеция длинного плеча хромосомы 10. В регионе *10q23.31* расположен ген-супрессор опухоли *PTEN* (Phosphatase and TENsin homolog), продукт гена — фосфатаза, являющаяся ингибитором PI3K/АКТ-сигнального пути. Инактивирующая мутация или делеция с вовлечением локуса гена *PTEN* приводит к гиперстимуляции этого сигнального пути, в результате чего экспоненциально увеличивается деление клеток. Мутации гена *PTEN* обнаруживаются при различных опухолях человека:

рак молочной железы, яичников, эндометрия, предстательной железы, злокачественные глиомы, синдром Коудена и др. Изучается влияние мутированного гена *PTEN* и на патогенез онкогематологических заболеваний [37].

На хромосоме 11 выявлено увеличение копийности значительного участка длинного плеча. В регионе *11q13.3* расположен протоонкоген *CCND1*, кодирующий белок циклин D1, который участвует в переходе из фазы G1 в фазу S клеточного цикла. Гиперэкспрессия циклина D1 приводит к бесконтрольному делению клеток. Самая распространенная при ММ транслокация с вовлечением локуса генов тяжелой цепи иммуноглобулина — *t(11;14)(q13;q32)*, при которой протоонкоген *CCND1* попадает под влияние энхансера на хромосоме 14 [38, 39].

Нами обнаружена делеция всего длинного плеча хромосомы 16. В регионе *16q23.2* расположен протоонкоген *MAF* (Avian Musculoaponeurotic Fibrosarcoma oncogene homolog), кодирующий одноименный транскрипционный фактор. Роль этого гена в патогенезе ММ неоднозначна и продолжает изучаться. Известно, что ген *c-MAF* активирует *Cyclin D2*, что способствует клеточной пролиферации. Кроме этого, ген является важным участником взаимодействия между опухолевыми клетками и клетками стромы, опосредуя свое действие через интегрины. Так, ген *c-MAF* повышает экспрессию интегрин  $\beta 7$  — адгезивной молекулы, которая в комплексе с интегрином  $\alpha E$  на опухолевой клетке взаимодействует с Е-кадгеринном, находящимся на поверхности стромальной клетки костного мозга. Результат взаимодействия приводит к повышению выработки фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) как опухолевой, так и стромальной клетками костного мозга. VEGF, в свою очередь, создает благоприятную для опухоли микросреду, активируя неоангиогенез [40]. В эксперименте на клеточных линиях ММ методом полимеразной цепной реакции в реальном времени было показано, что частота встречаемости гиперэкспрессии гена *c-MAF* составляет 46 % [41]. По данным китайских авторов, у 30,5 % больных ММ отмечалась экспрессия белка *c-MAF* в костном мозге иммуногистохимическим методом [42]. При этом только у 5–7 % пациентов с ММ встречается *t(14;16)(q32;q23)* — транслокация с вовлечением локуса гена тяжелой цепи иммуноглобулина и *c-MAF*, являющаяся цитогенетической аберрацией высокого риска [43]. По данным литературы, делеция с вовлечением локуса гена *c-MAF* встречается примерно у 15 % пациентов с впервые диагностированной ММ [44]. С учетом биологической роли гена, заключающейся в усилении взаимодействия между опухолевой клеткой и клеткой стромы, можно предполагать, что гиперэкспрессия гена *c-MAF* и его одноименного белкового продукта более характерна для ММ, протекающей без плазмочитом. Дальнейшее изучение этого вопроса позволит подтвердить или опровергнуть эту гипотезу.



На хромосоме 22 обнаружена дупликация региона q11.22. В этом локусе расположены группа генов, кодирующие  $\lambda$ -цепи иммуноглобулинов *IGLV2–5*, а также ген *PRAME* (PReferentially Expressed Antigen in Melanoma), одноименный продукт которого является одним из драйверных белков канцерогенеза [45].

Кроме этого, в субстрате плазмоцитомы была выявлена делеция длинного и короткого плеча X-хромосомы. Перестройки X-хромосомы с большим количеством точечных мутаций в сравнении с аутосомами часто встречаются при различных опухолях. При ММ описаны мутации раково-тестикулярных антигенов, расположенных на X-хромосоме [46]. В недавней работе бельгийских авторов, включившей 162 пациента с ММ, выявлена высокая частота изменений X-хромосомы (полная или частичная делеция X-хромосомы обнаружена у 47 и 17 % пациентов соответственно) [47]. Важно отметить, что в регионе Xq28 расположены гены *IKBKGI* и *IRAK1*, участвующие в NF- $\kappa$ B – сигнальном пути, играющем ключевую роль в патогенезе ММ.

По данным цитогенетического исследования костного мозга у пациентки в 75 % ядер выявлена делеция 17p13/*TP53*, при arrayCGH плазмоцитомы обнаружена делеция всего короткого плеча хромосомы 17. Как известно, del17p13 является фактором неблагоприятного риска при ММ и учитывается в системе R-ISS [48]. Однако есть несколько спорных вопросов относительно этой аберрации. Так, длительное время обсуждалось, при выявлении какого количества клеток с del17p13 можно констатировать высокий риск. Согласно метаанализу европейских данных, в который были включены более 1000 пациентов с различным количеством клеток с делецией 17p, наличие del17p13 более чем в 55 % ядер, обнаруженное методом FISH, является фактором, отрицательно влияющим на прогноз ММ [49]. Ориентируясь на эти пороговые значения, del17p13 выявляется у 8 % больных с впервые диагностированной ММ, у этих больных медиана выживаемости без прогрессирования составляет около 1 года, а медиана общей выживаемости не превышает 2–3 года [49].

Другой обсуждаемый сегодня вопрос – сочетание del17p13 и мутированного статуса гена-супрессора опухоли *TP53*. Интересно, что при del17p13 только в трети случаев отмечена мутация 2-го аллеля гена *TP53* [50].

Появляются работы, свидетельствующие о том, что к группе высокого риска следует относить только случаи биаллельной инактивации гена *TP53* [51]. Недавно опубликовано исследование, включившее 121 пациента с del17p13 более чем в 55 % плазматических клеток, у которых изучался статус гена *TP53* методом секвенирования нового поколения (NGS). Авторы подтвердили, что в случае биаллельной инактивации гена *TP53* отмечаются наихудшие результаты выживаемости (медиана выживаемости без прогрессирования 36 мес), однако при делеции 17p13 без мутации 2-го гена *TP53* результаты лечения также значимо хуже по сравнению с группой контроля (медиана выживаемости без прогрессирования 52,8 мес против 152,2 мес) [52].

### Заключение

Множественная миелома, протекающая с экстрамедуллярной плазмоцитомой, является редкой, наименее изученной, агрессивной формой заболевания. Представлен клинический случай fulminантного течения заболевания с длительностью наблюдения 4 мес от момента первых симптомов до смерти. При сопоставлении STR-маркеров сДНК плазмы, CD138<sup>+</sup>-клеток костного мозга, клеток плазмоцитомы наибольшее количество вовлеченных локусов выявлено именно в ДНК плазмоцитомы. Мутация в гене *NRAS* также обнаружена в ДНК плазмоцитомы при отсутствии таковой в костном мозге или в опухолевой сДНК плазмы. Это свидетельствует о присутствии в экстрамедуллярной плазмоцитоме другого клона опухолевых клеток. При молекулярном кариотипировании клеток плазмоцитомы методом arrayCGH выявлены перестройки множества хромосом, что позволяет предполагать участие определенных генов в патогенезе экстрамедуллярного поражения при ММ. Биаллельная делеция локуса 1p32.3, амплификация 1q21, перестройка в локусе 8q24 и del17p13 подтверждены при молекулярном кариотипировании и при FISH-исследовании в костном мозге и плазмоцитоме. Дальнейшее разностороннее молекулярно-генетическое исследование опухолевого субстрата экстрамедуллярной плазмоцитомы необходимо для понимания механизмов патогенеза, что является базисом для разработки персонализированного лечения этой сложной категории пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15(12):e538–48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5
2. Usmani S.Z., Heuck C., Mitchell A. et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica* 2012;97(11):1761–7. DOI: 10.3324/haematol.2012.065698
3. Varettoni M., Corso A., Pica G. et al. Incidence, presenting features and outcome of extramedullary disease in multiple myeloma: a longitudinal study on 1003 consecutive patients. *Ann Oncol* 2010;21(2):325–30. DOI: 10.1093/annonc/mdp329
4. Bladé J., Fernández de Larrea C., Rosiñol L. et al. Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: incidence, mechanisms of extramedullary spread, and treatment approach. *J Clin Oncol* 2011;29(28):3805–12. DOI: 10.1200/JCO.2011.34.9290

5. Weinstock M., Aljawai Y., Morgan E.A. et al. Incidence and clinical features of extramedullary multiple myeloma in patients who underwent stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2015;169(6):851–8. DOI: 10.1111/bjh.13383
6. Rasche L., Bernard C., Topp M.S. et al. Features of extramedullary myeloma relapse: high proliferation, minimal marrow involvement, adverse cytogenetics: a retrospective single-center study of 24 cases. *Ann Hematol* 2012;91(7):1031–7. DOI: 10.1007/s00277-012-1414-5
7. Rosiñol L., Beksac M., Zamagni E. et al. Expert review on soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: definition, disease assessment and treatment considerations. *Br J Haematol* 2021;194(3):496–507. DOI: 10.1111/bjh.17338
8. Dahl I.M.S., Rasmussen T., Kauric G., Husebekk A. Differential expression of CD56 and CD44 in the evolution of extramedullary myeloma. *Br J Haematol* 2002;116(2):273–7. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03258.x
9. Liu Y., Jelloul F., Zhang Y. et al. Genetic basis of extramedullary plasmablastic transformation of multiple myeloma. *Am J Surg Pathol* 2020;44(6):838–48. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001459
10. Mantovani F., Collavin L., Del Sal G. Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death Differ* 2019;26(2):199–212. DOI: 10.1038/s41418-018-0246-9
11. Vande Broek I., Vanderkerken K., van Camp B., van Riet I. Extravasation and homing mechanisms in multiple myeloma. *Clin Exp Metastasis* 2008;25(4):325–34. DOI: 10.1007/s10585-007-9108-4
12. Yang Y., Macleod V., Bendre M. et al. Heparanase promotes the spontaneous metastasis of myeloma cells to bone. *Blood* 2004;105(3):1303–9. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2141
13. Rasmussen T., Kuehl M., Lodahl M. et al. Possible roles for activating RAS mutations in the MGUS to MM transition and in the intramedullary to extramedullary transition in some plasma cell tumors. *Blood* 2005;105(1):317–23. DOI: 10.1182/blood-2004-03-0833
14. Jagosky M.H., Usmani S.Z. Extramedullary disease in multiple myeloma. *Curr Hematol Malig Rep* 2020;15(2):62–71. DOI: 10.1007/s11899-020-00568-3
15. Bhutani M., Foureau D.M., Atrash S. et al. Extramedullary multiple myeloma. *Leukemia* 2020;34(1):1–20. DOI: 10.1038/s41375-019-0660-0
16. Qu X., Chen L., Qiu H. et al. Extramedullary manifestation in multiple myeloma bears high incidence of poor cytogenetic aberration and novel agents resistance. *Biomed Res Int* 2015;2015:787809. DOI: 10.1155/2015/787809
17. Rasche L., Chavan S.S., Stephens O.W. et al. Spatial genomic heterogeneity in multiple myeloma revealed by multi-region sequencing. *Nat Commun* 2017;8(1):268. DOI: 10.1038/s41467-017-00296-y
18. Hanamura I. Gain/Amplification of chromosome arm.1q21 in multiple myeloma. *Cancers (Basel)* 2021;13(2):1–16. DOI: 10.3390/cancers13020256
19. Kim M.K., Suh C., Lee D.H. et al. Immunoglobulin D multiple myeloma: response to therapy, survival, and prognostic factors in 75 patients. *Ann Oncol* 2011;22(2):411–6. DOI: 10.1093/annonc/mdq393
20. Bladé J., Lust J.A., Kyle R.A. Immunoglobulin D multiple myeloma: presenting features, response to therapy, and survival in a series of 53 cases. *J Clin Oncol* 1994;12(11):2398–404. DOI: 10.1200/JCO.1994.12.11.2398
21. Ravi P., Kumar S.K., Roeker L. et al. Revised diagnostic criteria for plasma cell leukemia: results of a Mayo Clinic study with comparison of outcomes to multiple myeloma. *Blood Cancer J* 2018;8(12):116. DOI: 10.1038/s41408-018-0140-1
22. Granell M., Calvo X., García-Guiñón A. et al. Prognostic impact of circulating plasma cells in patients with multiple myeloma: implications for plasma cell leukemia definition. *Haematologica* 2017;102(6):1099–104. DOI: 10.3324/haematol.2016.158303
23. Rajkumar S.V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2020;95(5):548–67. DOI: 10.1002/ajh.25791
24. Xu J.L., Lai R., Kinoshita T. et al. Proliferation, apoptosis, and intratumoral vascularity in multiple myeloma: correlation with the clinical stage and cytological grade. *J Clin Pathol* 2002;55(7):530–4. DOI: 10.1136/jcp.55.7.530
25. Shaughnessy J.D., Zhan F., Burington B.E. et al. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. *Blood* 2007;109(6):2276–84. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038430
26. Menges C.W., Altomare D.A., Testa J.R. FAS-associated factor 1 (FAF1): diverse functions and implications for oncogenesis. *Cell Cycle* 2009;8(16):2528–34. DOI: 10.4161/cc.8.16.9280
27. Leone P.E., Walker B.A., Jenner M.W. et al. Deletions of CDKN2C in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res* 2008;14(19):6033–41. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0347
28. Dib A., Peterson T.R., Raducha-Grace L. et al. Paradoxical expression of INK4c in proliferative multiple myeloma tumors: bi-allelic deletion vs increased expression. *Cell Div* 2006;1:23. DOI: 10.1186/1747-1028-1-23
29. Zhan F., Colla S., Wu X. et al. 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. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038703
30. 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 1:117–26. DOI: 10.1080/10245330512331390140
31. Misiewicz-Krzeminska I., de Ramón C., Corchete L.A. et al. Quantitative expression of Ikaros, IRF4, and PSMD10 proteins predicts survival in VRD-treated patients with multiple myeloma. *Blood Adv* 2020;4(23):6023–33. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002711
32. Shaughnessy J.D., Qu P., Usmani S. et al. Pharmacogenomics of bortezomib test-dosing identifies hyperexpression of proteasome genes, especially PSMD4, as novel high-risk feature in myeloma treated with Total Therapy 3. *Blood* 2011;118(13):3512–24. DOI: 10.1182/blood-2010-12-328252
33. Mulligan G., Lichter D.I., Di Bacco A. et al. Mutation of *NRAS* but not *KRAS* significantly reduces myeloma sensitivity to single-agent bortezomib therapy. *Blood* 2014;123(5):632. DOI: 10.1182/blood-2013-05-504340
34. Chng W.J., Gonzalez-Paz N., Price-Troska T. et al. Clinical and biological significance of *RAS* mutations in multiple myeloma. *Leukemia* 2008;22(12):2280–4. DOI: 10.1038/leu.2008.142
35. Staniek J., Lorenzetti R., Heller B. et al. TRAIL-R1 and TRAIL-R2 mediate TRAIL-dependent apoptosis in activated primary human B lymphocytes. *Front Immunol* 2019;10:951. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00951
36. Mlynarcikova M., Balcarkova J., Mickova P. et al. Molecular cytogenetic analysis of chromosome 8 aberrations in patients with multiple myeloma examined in 2 different stages, at diagnosis and at progression/relapse. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016;16(6):358–65. DOI: 10.1016/j.clml.2016.02.038
37. Wang S.Y., Hao H.L., Deng K. et al. Expression levels of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) and focal adhesion kinase in patients with multiple myeloma and their relationship to clinical stage and extramedullary infiltration. *Leuk Lymphoma* 2012;53(6):1162–8. DOI: 10.3109/10428194.2011.647311
38. Fonseca R., Blood E., Rue M. et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003;101(11):4569–75. DOI: 10.1182/blood-2002-10-3017
39. Abdallah N., Rajkumar S.V., Greipp P. et al. Cytogenetic abnormalities in multiple myeloma: association with disease characteristics and treatment response. *Blood Cancer J* 2020;10(8):82. DOI: 10.1038/s41408-020-00348-5
40. Kienast J., Berdel W.E. C-maf in multiple myeloma: an oncogene enhancing tumor-stroma interactions. *Cancer Cell* 2004;5(2):109–10. DOI: 10.1016/s1535-6108(04)00030-3
41. Chang H., Qi Q., Xu W., Patterson B. c-Maf nuclear oncoprotein is frequently expressed in multiple myeloma. *Leukemia* 2007;21(7):1572–4. DOI: 10.1038/sj.leu.2404669

42. Wei G.Q., Wang L.J., Yang H.J. et al. Clinical implications of c-maf expression in plasma cells from patients with multiple myeloma. *Exp Hematol Oncol* 2017;6:16. DOI: 10.1186/s40164-017-0076-3
43. Sawyer J.R. The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 2011;204(1):3–12. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.11.002
44. Rana S., Sreedharanunni S., Panakkal V. et al. 16q23/*MAF* gene deletion is a frequent cytogenetic abnormality in multiple myeloma associated with IgH deletion but significantly lower incidence of high-risk translocations. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2021;21(4):e398–401. DOI: 10.1016/j.clml.2020.11.012
45. Xu Y., Zou R., Wang J. et al. The role of the cancer testis antigen PRAME in tumorigenesis and immunotherapy in human cancer. *Cell Prolif* 2020;53(3):e12770. DOI: 10.1111/cpr.12770
46. De Carvalho F., Vettore A.L., Colleoni G.W.B. Cancer/testis antigen MAGE-C1/CT7: new target for multiple myeloma therapy. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:257695. DOI: 10.1155/2012/257695
47. Sticca T., Caberg J.H., Wenric S. et al. Genomic studies of multiple myeloma reveal an association between X chromosome alterations and genomic profile complexity. *Genes Chromosomes Cancer* 2017;56(1):18–27. DOI: 10.1002/gcc.22397
48. Palumbo A., Avet-Loiseau H., Oliva S. et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;33(26):2863–9. DOI: 10.1200/JCO.2015.61.2267
49. Thakurta A., Ortiz M., Bleuca P. et al. High subclonal fraction of 17p deletion is associated with poor prognosis in multiple myeloma. *Blood* 2019;133(11):1217–21. DOI: 10.1182/blood-2018-10-880831
50. Flynt E., Bisht K., Sridharan V. et al. Prognosis, biology, and targeting of TP53 dysregulation in multiple myeloma. *Cells* 2020;9(2):287. DOI: 10.3390/cells9020287
51. Walker B.A., Mavrommatis K., Wardell C.P. et al. A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia* 2019;33(1):159–70. DOI: 10.1038/s41375-018-0196-8
52. Corre J., Perrot A., Caillot D. et al. del(17p) without *TP53* mutation confers a poor prognosis in intensively treated newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Blood* 2021;137(9):1192. DOI: 10.1182/blood.2020008346

#### Вклад авторов

М.В. Фирсова: разработка концепции и дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ данных, написание текста статьи; Н.В. Рисинская, М.В. Соловьев, М.А. Кислицына: обработка данных, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи; Т.Н. Обухова, А.Б. Судариков, А.М. Ковригина, Л.П. Менделеева: разработка концепции исследования, редактирование и окончательное одобрение рукописи; Е.Е. Никулина, И.А. Якутик, Т.В. Абрамова: проведение исследований, анализ данных.

#### Authors' contributions

M.V. Firsova: concept and design development, review of publications on the article topic, data analysis, article writing; N.V. Risinskaya, M.V. Solovet, M.A. Kislitsyna: data processing, data analysis and interpretation, article writing; T.N. Obukhova, A.B. Sudarikov, A.M. Kovrigina, L.P. Mendeleva: concept development, editing and final approval of the article; E.E. Nikulina, I.A. Yakutik, T.V. Abramova: conducting studies, data analysis.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

М.В. Фирсова / M.V. Firsova: <https://orcid.org/0000-0003-4142-171X>  
 Н.В. Рисинская / N.V. Risinskaya: <https://orcid.org/0000-0003-2957-1619>  
 М.В. Соловьев / M.V. Solovet: <https://orcid.org/0000-0002-7944-6202>  
 Т.Н. Обухова / T.N. Obukhova: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>  
 М.А. Кислицына / M.A. Kislitsyna: <https://orcid.org/0000-0003-3337-2487>  
 Е.Е. Никулина / E.E. Nikulina: <https://orcid.org/0000-0003-3914-8611>  
 И.А. Якутик / I.A. Yakutik: <https://orcid.org/0000-0002-5532-1122>  
 Т.В. Абрамова / T.V. Abramova: <https://orcid.org/0000-0003-3163-4930>  
 А.Б. Судариков / A.B. Sudarikov: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>  
 А.М. Ковригина / A.M. Kovrigina: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>  
 Л.П. Менделеева / L.P. Mendeleva: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов.** Пациентка подписала информированное согласие на публикацию своих данных.

**Compliance with patient rights.** The patient gave written informed consent to the publication of his data.

**Статья поступила:** 03.07.2022. **Принята к публикации:** 12.09.2022.

**Article submitted:** 03.07.2022. **Accepted for publication:** 12.09.2022.