

**PRACA POGŁĄDOWA – Review Article**

BARBARA PIEŃKOWSKA-GRELA<sup>1</sup>, JAN MACIEJ ZAUCHA<sup>2</sup>

**Zaburzenia cytogenetyczne i molekularne w szpiczaku plazmocytowym**

**Cytogenetic and molecular aberrations in plasma cell myeloma**

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Cytogenetyki, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa  
Kierownik: Dr n. med. Barbara Pieńkowska-Grela

<sup>2</sup>Zakład Propedeutyki Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik: Dr hab. Janusz Kruszewski, prof. GUMed

---

**STRESZCZENIE**

Przebieg szpiczaka plazmocytowego jest zróżnicowany. Badania cytogenetyczno-molekularne pozwalają na wyodrębnienie kilku podtypów, różniących się przebiegiem klinicznym i rokowaniem. Główny podział szpiczaka definiuje dwie jego główne postaci: hiperdiploidalną (H-MM) i nie-hiperdiploidalną (NH-MM). Postać hiperdiploidalna, cechująca się obecnością trisomii niektórych chromosomów, wskazuje bardziej indolentny przebieg. Postać nie-hiperdiploidalna obejmuje przypadki charakteryzujące się zwykle agresywniejszym przebiegiem choroby i obecnością translokacji *IGH*. Do najważniejszych translokacji z zaangażowaniem genu *IGH* należą: t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16;q32) i t(14;16)(q32;q23). Progresja szpiczaka w obu postaciach wiąże się z pojawianiem się nowych aberracji genetycznych takich jak delecje chromosomów 13q i 17p oraz zaburzenia chromosomu 1 (delecja 1p i amplifikacja 1q). Należy do nich również aktywacja *NF-κB*, *MYC* czy mutacje *KRAS*. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań pozwoliły na opracowanie molekularno-cytogenetycznej klasyfikacji szpiczaka oraz zaleceń diagnostyki molekularno-cytogenetycznej, przydatnych w codziennej praktyce i badaniach klinicznych.

**SŁOWA KLUCZOWE:** Szpiczak plazmocytowy – Genetyka – Cytogenetyka – Klasyfikacja molekularna

**SUMMARY**

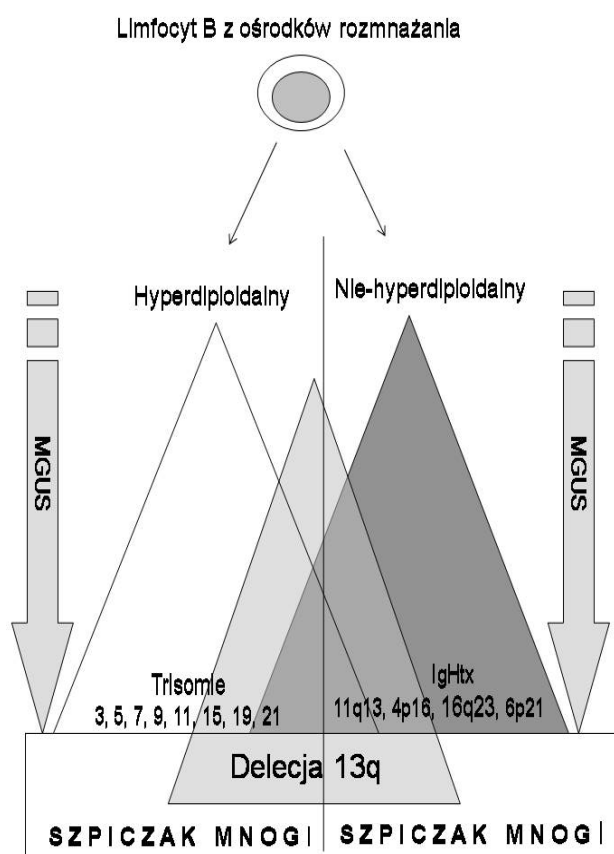
Clinical course of plasma cell myeloma is heterogenous. Molecular cytogenetic tests identified several subtypes of the disease, that are associated with unique clinicopathological features and dissimilar outcome. Specifically, myeloma can be divided into hyperdiploid and non-hyperdiploid subtypes. Hyperdiploid myeloma is characterized by a more indolent form of the disease and the presence of trisomies. In contrast the non-hyperdiploid type is mainly composed of cases harboring *IGH* translocations, generally associated with more aggressive course. The three main *IgH* translocations are the t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16;q32) and t(14;16)(q32;q23). Several genetic factors responsible for disease progression have been identified including deletions of chromosomes 13 and 17 and abnormalities of chromosome 1 (1p deletion and 1q amplification). Other factors include activation of *NF-κB*, *MYC* and *KRAS* mutations. These data underlie molecular classification of myeloma subtypes and provide recommendations for genetic testing in daily practice and clinical trials.

**KEY WORDS:** Plasma cell myeloma – Genetics – Cytogenetics – Molecular classification

**WSTĘP**

Szpiczak plazmocytowy (ang.: *plasma cell myeloma*, *multiple myeloma*, MM) jest nieuleczalną chorobą, powstającą w wyniku nowotworowego rozrostu komórek plazmatycznych, któremu towarzyszy ich akumulacja w obrębie szpiku kostnego i produkcja charakterystycznego białka monoklonalnego. Morfologicznemu podobieństwu przypadków szpiczaka towarzyszy ogromne zróżnicowanie przebiegu choroby: część pacjentów ginie zaledwie w kilka tygodni od postawienia diagnozy, inni przeżywają ponad 10 lat. Obecnie wiadomo, że takie kliniczne zróżnicowanie wynika w znacznej mierze z odmiennego wzoru zmian genetycznych, prezentowanych w określonych podtypach choroby.

Zdefiniowanie specyficznych zaburzeń cytogenetycznych w szpiczaku nie było łatwe ze względu na niewielką liczbę zmian widocznych w konwencjonalnym badaniu cytogenetycznym [1]. Początkowo, w większości przypadków (50–70%) stwierdzano kariotyp prawidłowy [2]. Komórki plazmatyczne mają słabą zdolność proliferacji, a ich odsetek w szpiku dostarczanym do badania jest niewielki, co w znacznej mierze utrudnia przeprowadzenie analizy kariotypowej. Dodatkowo, część aberracji chromosomowych występujących w komórkach szpiczakowych nie jest widoczna w klasycznym badaniu cytogenetycznym. Przykładem takiej zmiany jest translokacja  $t(4;14)(p16.3;q32)$ , gdzie wzajemnemu przemieszczeniu ulegają niewielkie, morfologicznie podobne fragmenty chromosomów 4 i 14, co w obrazie prążkowym pozostaje nieuchwytnie [3]. Aberrentne kariotypy, często z licznymi odstępstwami od obrazu prawidłowego, ujawniają się głównie u pacjentów w zaawansowanych stadiach choroby.



**Ryc. 1.** Cytogenetyczno-molekularny podział szpiczaka plazmocytoowego  
**Fig. 1.** Cytogenetic and molecular pathogenesis of multiple myeloma

Klasyczne badanie cytogenetyczne dobrze ocenia zmiany liczby chromosomów, co pozwoliło na wyodrębnienie dwóch podtypów szpiczaka plazmocytoowego: hiperdiploidalnego (*hyperdiploid multiple myeloma* H-MM) i nie-hiperdiploidalnego (NH-MM) [4, 5]. Podział ten odzwierciedla dwie różne patogenetyczne drogi ekspansji klonalnej plazmocytoów, jednak jego podstawy biologiczne nie są do końca wyjaśnione. Nowsze techniki badawcze, w tym fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (*fluorescent in*

*situ hybridization* FISH), porównawcza hybrydyzacja genomowa (*Comparative Genomic Hybridization* CGH, *array*-CGH) oraz techniki PCR (reakcja łańcuchowej polimerazy), pozwoliły na lepszy wgląd w genetykę szpiczaka i poznanie przebiegu choroby. Za pierwotne zmiany genetyczne uznaje się obecnie specyficzne translokacje z udziałem genu *IGH* i hiperdiploidie (Rycina 1), zaś za cechy związane z progresją uważa się specyficzne delecje czy rzadziej występujące rearanżacje.

### Najważniejsze genetyczne zmiany w szpiczaku plazmocytowym

Zmiany genetyczne, towarzyszące szpiczakowi, stanowią coraz częściej podstawę wyboru terapii [4, 6]. Chociaż zmiany uchwytne w klasycznej analizie kariotypu są widoczne jedynie w ok. 1/3 przypadków, to zastosowanie technik FISH ujawnia obecność aberracji chromosomowych w ponad 90% badanych przypadków. Najczęściej występujące zmiany chromosomowe o znaczeniu rokowniczym zestawiono w tabeli 1, jednak częstość ich występowania, w ocenie różnych ośrodków badawczych bywa zmienna.

**Tabela 1.** Najczęstsze aberracje chromosomowe występujące w szpiczaku plazmocytowym  
**Table 1.** The most common cytogenetic aberrations in multiple myeloma

Aberracja	Częstość
del(13)	48%
Hiperdiploidia	39%
powielenie 1q	35%
<i>CCND1</i> t(11;14)(q13;q32)	21%
<i>FGFR3</i> t(4;14)(p16;q32)	14%
<i>MYC</i> t(8;14)(q24;q32)	13%
<i>TP53</i> del(17p)	11%
<i>C-MAF</i> t(14;16)(q32;q23)	5%
<i>CCND3</i> t(6;14)(p21;q32)	3%
<i>MAFB</i> t(14;20)(q32;q11)	2%

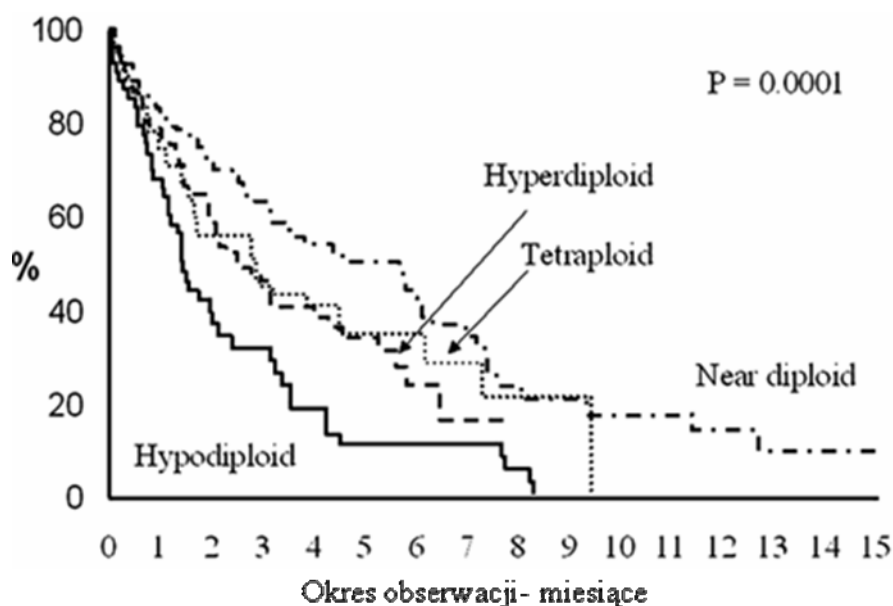
Na podstawie: Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P i wsp. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome Hervé Avet-Loiseau Blood, 109, 3489-3495, 2007 [28]

### Aneuploidie

Aneuploidia, nieprawidłowa liczba kopii chromosomów w komórce, jest charakterystyczną cechą większości szpiczaków [7, 8, 9]. W nowotworowych plazmocytach stwierdza się specyficzne odstępstwa od prawidłowej liczby chromosomów (46 chr/kom). Zmiany takie układają się w określony wzór, odmienny dla dwu głównych typów szpiczaka: hiperdiploidalnego (H-MM) i nie-hiperdiploidalnego (NH-MM) [5]. U części chorych występują powtarzające się trisomie chromosomów 3, 5, 7, 15, 19 i 21 (typ H-MM, od 47 do 57 chr/kom). U innych pacjentów występuje kariotyp hipodiploidalny (< 46 chr/kom), pseudodiploidalny (o prawidłowej liczbie chromosomów, ale z aberracjami strukturalnymi) lub hipotetraploidalny (od 81 do 91 chr/kom). W przypadkach H-MM rzadko występują translokacje angażujące geny łańcuchów ciężkich immunoglobulin *IGH*, charakterystyczne dla drugiej grupy NH-MM [6, 7]. Przypadki NH-MM często wykazują utraty chromosomu 13 (monosomie bądź delecje), a pacjenci z tej grupy gorzej odpowiadają na leczenie, uzyskując krótszy czas remisji i całkowity okres przeżycia [10]. Przyczyna tworzenia się trisomii i ich roli w ewolucji klonalnej MM nie jest jasna, ale wydaje się że niektóre z nich są niezbędne do utrzymania i proliferacji klonu nowotworowego [11]. Badania dotyczące chorych z gammopatią monoklonalną o nieustalonym znaczeniu (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*, MGUS) oraz szpiczaka tłącego się (*smoldering myeloma*, SMM) dowodzą, że dychotomia zmian genetycznych jest widoczna już od bardzo wczesnego etapu rozwoju

choroby [8]. Wydaje się również, że u poszczególnych chorych kategoria ploidii (H-MM vs. NH-MM) jest stała w trakcie przebiegu choroby [12, 13].

Z punktu widzenia klinicysty istotną cechą jest zróżnicowanie rokownicze omawianych grup. Całkowity czas przeżycia chorych z kariotypem hiperdiploidalnym jest znamienne dłuższy niż chorych z niehiperdiploidalnym kariotypem (36,8 vs 18,2 miesiące,  $p < 0,04$ ) [5]. Chorzy z H-MM mają generalnie lepsze rokowanie, zaś najkrótsze okresy przeżycia dotyczą pacjentów NH-MM z kariotypem hipodiploidalnym. Cechy gorszego rokowania wykazuje również grupa z masywnymi zmianami liczby chromosomów (hipotetraploidia), które wynikają z powielenia hipodiploidalnej liczby chromosomów w procesie poliploidyzacji (Rycina 2).



Ryc. 2. Przeżycie chorych z MM w zależności od zmian liczbowych chromosomów.

Zaczerpnięte z Debes-Marun CS i wsp. *Leukemia*. 2003;17:427-436

Fig. 2. Overall survival of patients with multiple myeloma according to chromosomal numbers.

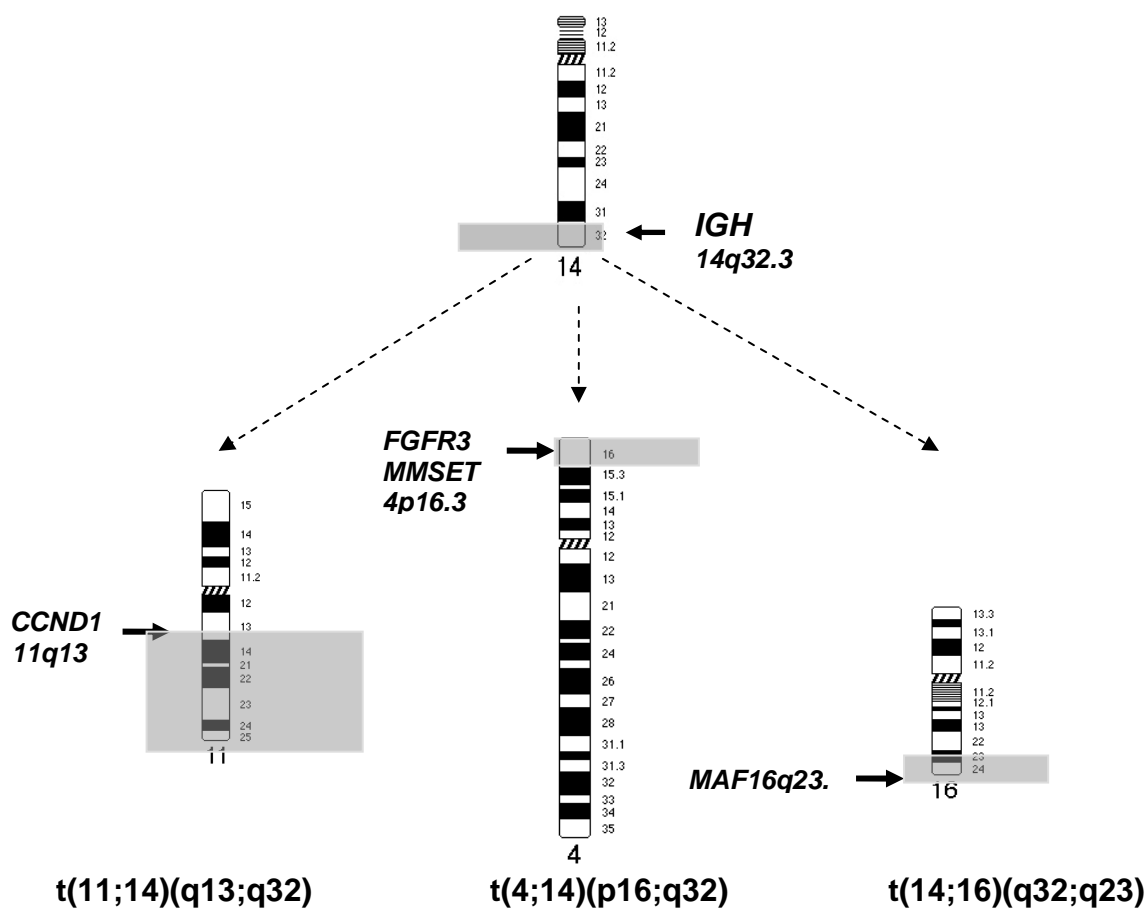
Adapted from Debes-Marun CS et al. *Leukemia*. 2003;17:427-436

Sugeruje się, że u pacjentów H-MM materiał dodatkowych chromosomów utrzymuje nienaruszone geny supresorowe i częściowo równoważy negatywny wpływ innych aberracji chromosomowych, a bardziej indolentny przebieg choroby wynika najprawdopodobniej z większej zależności klonów od mikrośrodowiska szpiku [7, 10]. Ten typ szpiczaka częściej występuje u starszych chorych płci męskiej, z przewagą białka monoklonalnego IgG kappa. W przeciwieństwie do grupy H-MM, częsta obecność IgA i lambda związana jest z niekorzystnym rokowaniem i grupą NH-MM. Poza tym u większości chorych z H-MM występują zmiany kostne, znacznie częściej niż w przypadkach chorych z NH-MM. Przykładowo w grupie z  $t(4;14)(p16.3;q32)$  zmiany kostne występują zaledwie u połowy pacjentów, zaś ich brak stwierdza się w najbardziej agresywnej postaci choroby: białaczce plazmatycznej [14]. Dane te tłumaczą, dlaczego w badaniach klinicznych nigdy nie wykazano negatywnej wartości rokowniczej zmian kostnych.

Użycie technik porównawczej hybrydyzacji genomowej potwierdziło podział szpiczaka na grupy H-MM i NH-MM [9]. Wykazano ponadto, że delecja chromosomu 13 czy powielenie obszaru 1q związane są krótszym przeżyciem [9, 12], natomiast lepsze rokowanie ma wynikać z amplifikacji 5q31.3 [15].

### Translokacje angażujące geny immunoglobulin

Translokacje angażujące geny immunoglobulin w nowotworach komórek plazmatycznych najczęściej dotyczą genu łańcucha ciężkiego (*IGH*, 14q32) i są spotykane u 55–80% pacjentów [12]. W wyniku rearanzacji genu *IGH*, jego wysoce aktywny region regulatorowy modyfikuje aktywność genu partnerskiego, przeniesionego z drugiego chromosomu zaangażowanego w translokację wzajemną. Identyfikacja partnerów genowych, uczestniczących w translokacjach z udziałem *IGH* w komórkach szpiczaka była procesem złożonym. W obrazie kariotypowym tego typu zmiany można wykryć jedynie u chorych obciążonych translokacją  $t(11;14)(q13;q32)$  [16, 17]. Partnerem *IGH* jest tu gen cykliny D1 (*CCND1*), zlokalizowany na chromosomie 11q13. Inne translokacje obejmujące *IGH* były w obrazie kariotypowym niewidoczne lub trudne do uchwycenia (Rycina 3). W dalszych badaniach określono kilka translokacji specyficznych dla MM, angażujących geny *FGFR3* i *MMSET* (4p16.3), *C-MAF* (16q23) oraz *MAFB*(20q11). Te aberracje stanowią w szpiczakach ponad 50% wykrytych rearanzacji *IGH*, pozostałe zaś uznawane są za zmiany wtórne, związane z progresją i w większości należą do grupy aberracji często spotykanych w różnych chłoniakach B-komórkowych.



Ryc. 3. Translokacje z zaangażowaniem genu *IGH* w szpiczaku plazmocytowym. Obszar zacieniony wskazuje fragment chromosomu ulegający przeniesieniu

Fig. 3. Chromosomal translocations with *IGH* gene involvement in multiple myeloma. Selected areas indicate the carried chromosome fragments

Najczęściej (około 15–18% chorych) wykrywaną aberracją, angażującą w szpiczaku gen *IGH*, jest translokacja  $t(11;14)(q13;q32)$ , znana przede wszystkim jako zmiana charakterystyczna dla chłoniaka z komórek płaszczka [18, 19]. Zmiana ta powoduje zwiększenie aktywności cykliny D1, promując aktywność proliferacyjną komórki. Dodatkowo powoduje wzrost aktywności genu *MYEOV* (*myeloma overexpressed gene in a subset of t[11;14]-positive multiple myelomas*), chociaż konsekwencje tego nie są do końca poznane [20]. Dalsze badania wykazały, że  $t(11;14)$  jako aberracja izolowana, nie jest czynnikiem wystarczającym do transformacji komórek plazmatycznych. Obecność przypadków pełnoobjawowego szpiczaka, gdzie translokacja ta jest jedyną dostrzegalną aberracją dowodzi, że dodatkowe zmiany genetyczne, konieczne do zainicjowania klonalnej ewolucji pozostają jak dotąd nieuchwytnie [2, 21]. Przez wiele lat translokację  $t(11,14)$  uważano za wyznacznik bardziej agresywnego przebiegu choroby, podczas gdy w rzeczywistości odzwierciedla ona tylko wyższy status proliferacyjny klonu i masywniejsze zajęcie szpiku. Z występowaniem tej translokacji wiążą się określone cechy kliniczno-patologiczne, takie jak limfoplasmocytoidalna morfologia, czy rozpoznanie białka Bence-Jones'a, powierzchniowa ekspresja CD20 oraz zaangażowanie genów łańcucha lekkiego lambda [18, 22]. Przebieg kliniczny choroby jest zróżnicowany: u większości chorych mało agresywny, u części gwałtowny, co może być tłumaczone różnicami widocznymi w profilu ekspresji genów [23].

Rzadka translokacja  $t(6;14)(p21;q32)$  powoduje zwiększenie aktywności cykliny D3 [24]. Prawdopodobnie konsekwencje kliniczne tej translokacji są podobne jak przy zaangażowaniu cykliny D1, ze względu na niemal identyczny profil ekspresji genów [25].

#### *Translokacja $t(4;14)(p16;q32)$*

Swoista dla szpiczaka translokacja  $t(4;14)(p16;q32)$  nie jest widoczna w klasycznym badaniu cytogenetycznym, a do jej wykrycia niezbędne jest zastosowanie badania FISH lub PCR z użyciem odwrotnej transkryptazy (RT-PCR) [26]. Translokacja ta powoduje zwiększoną ekspresję dwóch genów: receptora 3 czynnika wzrostu fibroblastów *FGFR3* (*Fibroblast Growth Factor Receptor 3*,) oraz genu *MMSET* (*Multiple Myeloma SET domain*) o aktywności metylotransferazy histonów. Obecność hybrydowych transkryptów (*IGH-MMSET* i *MMSET-IGH*), wykrywanych w szpiku i krwi obwodowej może być wykorzystywana do monitorowania choroby [26]. Niemal w 25% przypadków translokacja ma charakter niezrównoważony, ze względu na częste utraty pochodnego chromosomu *der(14)* i w konsekwencji brak ekspresji *FGFR3* [27]. Zmianie tej często towarzyszy delecja bądź monosomia chromosomu 13.

Translokację  $t(4;14)$  stwierdza się u około 15% chorych, często o fenotypie *IgA $\lambda$* , jej występowanie koreluje z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, a chorzy nie odnoszą korzyści z leczenia melfalanem w wysokich dawkach [27, 28, 29]. Zwykle w ciągu roku od wykonania pojedynczej autotransplantacji dochodzi do progresji choroby, która jest oporna na leczenie sterydami i lekami alkilującymi [28, 29, 31]. W tej grupie chorych zastosowanie bortezomibu poprawia w sposób widoczny efekt leczenia, natomiast próby zastosowania inhibitorów *FGFR3* nie przyniosły oczekiwanych korzyści klinicznych [31, 32, 33].

Translokacja  $t(4;14)$  rzadko występuje w MGUS, zaś stosunkowo często w SMM [34, 35, 36], co może tłumaczyć agresywniejszy przebieg choroby progresującej z SMM [37].

#### *Translokacja $t(14;16)(q32;q23)$ i inne dotyczące *MAF**

Do grupy zmian, obejmujących *IGH* należą rzadkie translokacje z zaangażowaniem genów z rodziny *MAF* (*Musculo aponeurotic fibrosarcoma oncogene family*) (2–5% chorych) [38]. Zmiany te nie są widoczne w badaniu kariotypowym, natomiast fuzję *IGH/MAF* można łatwo zidentyfikować w badaniu FISH. Geny *MAF* kodują białka, będące czynnikami transkrypcyjnymi i są zlokalizowane na chromosomach 16q23 (*C-MAF*) i 20q11 (*MAFB*). Rearanżacja z udziałem 16q23 wiąże się z częstszym wystę-

powaniem fenotypu IgA $\lambda$  oraz del(13), a także z bardziej agresywnym przebiegiem choroby [34]. Dane dotyczące przebiegu klinicznego choroby w przypadku występowania innych translokacji *MAF* są skąpe, przypuszczalnie jest on podobny do obrazu związanego z *C-MAF* [34].

### Cytogenetyczne zmiany wtórne i genetyczne cechy progresji choroby

Badania genetyczne są niezmiernie cenne w próbie wyjaśnienia ewolucji klonalnej, jaka dokonuje się w trakcie progresji z MGUS do MM. Wiele zmian genetycznych jest już obecnych nawet przez wiele lat w MGUS. Nie są więc one *per se* wystarczające do pełnej transformacji nowotworowej, która dokonuje się przy udziale innych, wtórnych czynników, zwiększających proliferację i ułatwiających przeżycie komórek nieprawidłowych. Można więc założyć, że czynniki te będą obecne w genetycznych podtypach szpiczaka, choć z różną częstością i w różnych kombinacjach. Ostatecznie zdefiniowanie klinicznego znaczenia części poniżej opisanych zaburzeń wymaga nadal szerszych badań.

#### *Delecje chromosomu 13*

Utraty materiału genetycznego chromosomu 13, występujące u niemal u połowy chorych z MM, były pierwszymi zdefiniowanymi aberracjami o niekorzystnym znaczeniu rokowniczym [39, 40]. W przeciwieństwie do submikroskopowych del(13), obserwowanych w przewlekłej białaczce limfocytowej, w szpiczaku częściej występują monosomie i delecje masywne, obejmujące zwykle obszary odpowiadające lokalizacji genu *RB-1* (46%), *D-13S319* (39%), a także q21 i q34 [41, 42]. Początkowo uznawano, że obszar delecji nie wpływa na rokowanie, jednak obecnie przeważa przekonanie, że czynnikiem pogarszającym rokowanie jest obecność masywnej delecji 13q, o wielkości ujawniającej się w klasycznym badaniu kariotypu [41, 43]. Bezpośredni wpływ zaburzeń chromosomu 13 na rokowanie trudno jest ocenić, gdyż zmiana ta często współwystępuje z innymi aberracjami wysokiego ryzyka, jednak przyjmuje się obecnie, że izolowana delecja chromosomu 13 nie ma ostrego znaczenia prognostycznego [32, 34, 35].

#### *Delecje 17p13 i inaktywacja białka TP53*

Podobnie jak w innych nowotworach, delecja regionu 17p13 (lokalizacja genu *TP53*) wiąże się w MM z niekorzystnym rokowaniem [45, 46]. Zmiana ta, obecna u około 10% chorych, często związana jest z występowaniem hiperkalcemii, guzów plazmocytarnych, zajęciem ośrodkowego układu nerwowego oraz krążącymi plazmocydami we krwi obwodowej, czyli z cechami świadczącymi o bardzo agresywnej postaci choroby [28, 30, 34, 47]. Inaktywację *TP53* stwierdza się niemal we wszystkich przypadkach białaczki plazmatycznej [48]. Transplantacja allogenicznych komórek układu krwiotwórczego, pozwalająca uzyskać remisję u około 50% chorych z innymi zaburzeniami cytogenetycznymi, nie jest zwykle skuteczna w przypadku obecności del(17p) [49].

#### *Zaburzenia chromosomu 1*

Nieprawidłową morfologię chromosomu 1 obserwuje się w MM stosunkowo często (20–30% przypadków) [9, 50]. Dodatkowy materiał 1q obserwuje się głównie w klonach z t(4;14) i t(14;16) lub o wysokim indeksie proliferacyjnym [51, 52]. Znaczenie prognostyczne amplifikacji 1q21 nie jest oczywiste, a negatywne konotacje związane z tą aberracją wynikać mogą z jej współwystępowania z translokacjami o złym rokowaniu i z aktywną proliferacją [53, 54, 55]. Aberracja ta nie jest specyficzna dla szpiczaka, występuje także w innych nowotworach hematologicznych i niektórych guzach litych [56].

### Zaburzenia genu *MYC*

Translokacje obejmujące gen *MYC* (lokalizacja 8q24) w MM dotyczą niemal 15% chorych: w MGUS występują rzadko, w chorobie zaawansowanej występują u około 44% pacjentów, a w grupie chorych z NH-MM odsetek ten sięga 90%. Uważa się, że zaburzenia dotyczące genu *MYC* (zwykle *C-MYC* bardzo rzadko *N-MYC* lub *L-MYC*) pojawiają się przy progresji związanej z mniejszą zależnością plazmocytów od podścieliska szpiku [57]. Nadekspresja *MYC* uznawana jest generalnie za czynnik pogarszający rokowanie, choć istnieją rozbieżne opinie dotyczące wartości rokowniczej tej cechy w MM [28, 37].

### Zaburzenia *p16* i *p18*

Geny *p16INK4A* i *p18INK4C*, będące genami inhibitorów kinaz cyklozależnych, odgrywają istotną rolę w regulacji białka RB. Gen *RB* bierze udział w kontroli przejścia cyklu komórkowego G1/S, a zaburzenie jego funkcji może prowadzić do niekontrolowanej proliferacji. Inaktywację genu *P16*, zachodzącą głównie w wyniku metylacji, stwierdza się niemal u 50% chorych z MM, nie ma jednak przekonujących dowodów, aby utrata funkcji genu *P16* odgrywała istotną rolę w patogenezie szpiczaka [58, 59, 60]. Natomiast inaktywacja genu *p18INK4C*, krytycznego dla rozwoju prawidłowych plazmocytów, najprawdopodobniej odgrywa rolę istotną w zwiększonej proliferacji komórek szpiczakowych [61, 62]. Bialleliczne delecje genu *P18* (lokalizacja w 1p) obserwowano u 10% chorych z MM [63].

### Delecje 12p

Obecność delecji w obszarze krótkiego ramienia chromosomu 12 stwierdza się w różnych typach nowotworów hematologicznych, w tym u 12% chorych ze szpiczakiem [15, 64]. Wielkość obszaru delecji jest zmienna, jednak zawsze obejmuje gen *CD27*, którego niska ekspresja jest wiązana z gorszą prognozą [12, 15].

### Delecje 16q

Delecje 16q występują u około 20% chorych ze szpiczakiem [65]. Bialleliczne delecje zlokalizowanego w tym obszarze genu *WWOX*, pozwalają wiązać gorsze rokowanie z jego utratą [64]. Obserwuje się również kombinacje delecji lub mutacji 16q z utratami 17p lub 13q, zaś szczególnie złe rokowania zmiana taka miałaby nieść w obecności t(4;14) [64].

### Zaburzenia *NF-κB* i mutacje *RAS*

Czynnik jądrowy  $\kappa B$  (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, *NF-κB*) aktywuje ekspresję szeregu genów odpowiedzialnych za nieswoistą i adaptacyjną odpowiedź immunologiczną, apoptozę i cykl komórkowy. W komórkach szpiczakowych zwiększona aktywność *NF-κB* wydaje się mieć charakter zmiany wtórnej, skutkując wydłużeniem czasu przeżycia plazmocytów [66, 67]. Zmiana aktywności *NF-κB* może mieć znaczenie w przewidywaniu odpowiedzi na zastosowanie inhibitorów proteasomów (np. bortezomib), działających poprzez zahamowanie aktywacji tego genu [67]. Wyzwaniem pozostaje kwestia łatwej i wiarygodnej identyfikacji chorych ze zwiększoną aktywacją *NF-κB* w codziennej praktyce.

Za inną istotną klinicznie cechą uważany jest status mutacyjny genów z rodziny *RAS* [68, 69]. Progresja MGUS do MM i bardziej agresywny przebieg choroby wydaje się być związany z zaburzeniami *KRAS*, szczególnie u chorych z t(11;14)(q13;q32) [70].



## Współczesna klasyfikacja szpiczaka

Celem molekularno-cytogenetycznej klasyfikacji, opracowanej i zaproponowanej przez Międzynarodową Grupę Roboczą ds. Szpiczaka (*International Myeloma Working Group, IMWG*) [12], jest nie tylko podsumowanie stanu obecnej wiedzy dotyczącej zaburzeń genetycznych i molekularnych w szpiczaku plazmocytowym, ale próba oceny ich znaczenia prognostycznego. Klasyfikacja ta jest zarazem podziałem klinicznie użytecznym jak i możliwym zastosowania w warunkach polskich.

**Tabela 2.** Klasyfikacja molekularna szpiczaka plazmocytwego opracowana przez Międzynarodową Grupę Roboczą ds. Szpiczaka [12]

**Table 2.** Molecular classification of multiple myeloma according to International Myeloma Working Group [12]

Podtyp	%	Cechy kliniczne i laboratoryjne
<b>Hiperdiploidalny</b>	<b>45</b>	Przebieg mniej agresywny, IgGκ, starsi chorzy
<b>Nie-hiperdiploidalny</b>	<b>40</b>	Przebieg bardziej agresywny, IgAλ, młodszy chorzy
Translokacje cyklin D t(11;14)(q13;q32)	<b>18</b>	Zwiększenie ekspresji <i>CCND1</i> , rokowanie lepsze, zmiany kostne, dwa podtypy w GEP
t(6;14)(p21;q32)	2	Zwiększenie ekspresji <i>CCND3</i> , rokowanie prawdopodobnie takie same jak <i>CCND1</i>
t(12;14)(p13;q32)	<1	Rzadki
Translokacje MMSET t(4;14)(p16;q32)	<b>15</b>	Zwiększenie ekspresji <i>MMSET</i> , Zwiększenie ekspresji <i>FGFR3</i> w 75%, złe rokowanie przy konwencjonalnym leczeniu, zmiany kostne rzadko
Translokacje MAF t(14;16)(q32;q23)	<b>8</b>	Choroba agresywna
t(14;20)(q32;q11)	5	Agresywny przebieg potwierdzony przez 2 badania
	2	Jedno badanie wykazujące agresywny przebieg
Translokacje MYC t(8;14)(q24;q32)	1	Wpływ na przebieg jeszcze nieudokumentowany, prawdopodobnie agresywny
<b>Niesklasyfikowane</b>	<b>15</b>	Różne podtypy, niektóre się nakładają

**Tabela 3.** Stratyfikacja ryzyka szpiczaka wg Mayo Clinic.[78]

**Table 3.** Risk stratification of multiple myeloma according to Mayo Clinic. [78]

Wysokie ryzyko (25%)	Standardowe ryzyko (75%)*
Jakikolwiek czynnik z: t(4;14) w FISH t(14;16) lub t(14;20) w FISH Delecja 17p13 w FISH Delecja 13 lub hipodiploidia w analizie metafaz Indeks znakowania plazmocytwów >3.0	Nieobecność czynników wysokiego ryzyka z obecnością: Hiperdiploidii t(11;14) w FISH t(6;14) w FISH

\* Za „prawdziwie” chorych z grupy niskiego ryzyka powinni być uważani tacy, u których genetycznym markerem niskiego ryzyka towarzyszą laboratoryjne i kliniczne cechy nie agresywnej choroby takie jak: β2 mikroglobulina <5.5 mg/l, LDH<250 i/lub indeks znakowania plazmocytwów <1.0. Podobnie obecność β2 mikroglobuliny<3.5 mg/l u chorych wysokiego ryzyka genetycznego może wskazywać na mniej agresywny przebieg choroby.

Za niezbędne minimum badań genetycznych wykonywanych w momencie rozpoznania grupa uważa panel FISH umożliwiający identyfikację źle rokujących chorych poprzez detekcję t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) i delecji 17p13 w plazmocytach [12]. Szerszy panel powinien dać możliwość oznaczenia zaburzeń chromosomu 1, utraty 12p oraz powielenia 5q, określenia ploidii, a także wykrycia t(11;14)(q13;q32) i innych translokacji *IGH*. Wartość prognostyczną tych zaburzeń należy rozpatrywać w połączeniu z parametrami klinicznymi. Przykładowo, stężenia β2 mikroglobuliny moduluje znacznie prognostyczne t(4;14)(p16;q32)[28] czy amplifikacji 5q31.3 [13]. Dlatego w praktyce klinicznej

pomocnymi pozostają zalecenia Mayo Clinic identyfikujące chorych wysokiego ryzyka (Tabela 3) [71, 72]. Obecnie, ze względu na poprawę wyników leczenia, osiągniętą przy zastosowaniu nowoczesnych terapii, pacjentów z t(4;14) i del(13) klasyfikuje się do grupy o pośrednim rokowaniu [73].

### Zalecenia dotycząc technik diagnostycznych

Klasyczne badanie cytogenetyczne (kariotypowanie) pozwala na wykrycie aberracji chromosomalnych zaledwie u 30–40% chorych, a część z aberracji istotnych prognostycznie leży poniżej progu detekcji tej metody. Dlatego w diagnostyce genetycznej szpiczaka zaleca się wykorzystanie metody FISH, pozwalającej na wykrycie aberracji strukturalnych zrównoważonych (translokacji) i niezrównoważonych (delekcji), tak w metafazach jak i w jądrach interfazowych. Należy pamiętać, że przypadku podjęcia cytogenetycznej analizy szpiczaka, niezbędne jest wyodrębnienie plazmocytów z badanej populacji komórek szpiku. Plazmocyty do badania powinny zostać lub oznakowane za pomocą przeciwciał łańcuchów lekkich immunoglobulin (c-Ig-FISH), dla ich identyfikacji w mikroskopie fluorescencyjnym lub wyizolowane za pomocą technik immunomagnetycznych (przeciwciała antyCD138 ze sprzężonymi nanocząsteczkami magnetycznymi) [72]. Rekomendacje dotyczące wykonywania badań genetyczno-molekularnych zaproponowane przez grupę IMGG przedstawiono w Tabeli 4. Częstość powtarzania badań genetycznych nie jest sprecyzowana, ale wydaje się rozsądne je powtórzyć w momencie progresji choroby.

**Tabela 4.** Zalecenia Międzynarodowej Grupy Roboczej ds. Szpiczaka dotyczące typu i częstości wykonywania badań molekularno-cytogenetycznych u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym

**Table 4.** Recommendations IMGG (*International Myeloma Working Group*) for molecular-cytogenetic testing in patients with multiple myeloma

Na podstawie: Fonseca i wsp. *Leukemia* 2009;23:2210-2221 [12]

Typ badania	Częstość wykonywania badań
Minimalny panel FISH [t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del(17)(p13)] *	Jednorazowo (przy rozpoznaniu)
Rozszerzony panel FISH [t(11;14)(q13;q32), del(13q), ploidia, aberracje 1q] #	Jednorazowo (przy rozpoznaniu)
GEP	Może być powtarzany
aCGH/SNP	Jednorazowo (przy rozpoznaniu)

\* – badanie o uznanym znaczeniu

# – badanie sugerowane

FISH – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*

GEP – gene expression profile

aCGH – array comparative genomic hybridization

aSNP – array single nucleotide polymorphism

### PODSUMOWANIE

Praktycznym celem określenia pierwotnej zmiany genetycznej w nowotworze jest, teoretycznie możliwe, stworzenia ukierunkowanej terapii takiej, jaką stało się zastosowanie inhibitorów kinazy BCR/ABL w przewlekłej białaczce szpikowej. Niestety, żadna z poznanych w szpiczaku zmian genetycznych nie jest uniwersalna, tak więc stworzenie skutecznej terapii celowanej pozostaje tu nadal kwestią przyszłości.

Obecnie uważa się, że szpiczak mnogi jest chorobą heterogenną, składającą się z wielu podtypów, w większości zdefiniowanych przez aberracje cytogenetyczne. Analiza cytogenetyczna, należąca do standardów diagnostycznych wielu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego, staje się więc niezbędna również w diagnostyce szpiczaka plazmocytoowego. Informacje uzyskiwane w testach FISH, pozwalają na szybką identyfikację chorych wysokiego ryzyka. Ze względu na zróżnicowany przebieg kliniczny i rokowanie w poszczególnych podtypach, precyzyjna diagnoza wsparta danymi cytogenetycznymi i molekularnymi, ma już dziś istotne znaczenie w planowaniu optymalnego leczenia.

## PIŚMIENNICTWO

1. Lai J, Zandecki M, Mary J i wsp. Improved cytogenetics in multiple myeloma: a study of 151 patients including 117 patients at diagnosis. *Blood*. 1995; **85**: 2490-2497.
2. Sawyer JR, Waldron JA, Jagannath S i wsp. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple myeloma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 1995; **82**: 41-49.
3. Chesi M, Nardini E, Brents LA, i wsp. Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor 3. *Nat Genet*. 1997; **16**: 260-264
4. Smadja NV, Bastard C, Brigaudeau C, i wsp. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*, 2001; **98**: 2229-2238.
5. Smadja NV, Fruchart C, Isnard F, i wsp. Chromosomal analysis in multiple myeloma: cytogenetic evidence of two different diseases. *Leukemia*. 1998; **12**: 960-969.
6. Debes-Marun CS, Dewald GW, Bryant S, i wsp. Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. *Leukemia*. 2003; **17**: 427-436.
7. Fonseca R, Debes-Marun CS, Picken EB, i wsp. The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood*. 2003; **102**: 2562-2567.
8. Chng WJ, Van Wier SA, Ahmann GJ, i wsp. A validated FISH trisomy index demonstrates the hyperdiploid and nonhyperdiploid dichotomy in MGUS. *Blood*. 2005; **106**: 2156-2161.
9. Carrasco DR, Tonon G, Huang Y, i wsp. High-resolution genomic profiles define distinct clinico-pathogenetic subgroups of multiple myeloma patients. *Cancer Cell*. 2006; **9**: 313-325.
10. Terpos E, Eleutherakis-Papaiakovou V, Dimopoulos MA. Clinical implications of chromosomal abnormalities in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2006; **47**: 803-814.
11. Chng WJ, Kumar S, Vanwier S, i wsp. Molecular dissection of hyperdiploid multiple myeloma by gene expression profiling. *Cancer Res*. 2007; **67**: 2982-298914.
12. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, i wsp. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009; **23**: 2210-2221.
13. Chng WJ, Winkler JM, Greipp PR, i wsp. Ploidy status rarely changes in myeloma patients at disease progression. *Leuk Res*. 2006; **30**: 266-271.
14. Noel P, Kyle RA. Plasma cell leukemia: an evaluation of response to therapy. *Am J Med*. 1987; **83**: 1062-1068.
15. Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F, i wsp. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2009; **27**: 4585-4590.
16. Kwong YL, Lie AK, Chan LC. Translocation (11;14)(q13;q32) and partial trisomy 1q in a case of multiple myeloma. *Am J Hematol*. 1993; **44**: 212-213.
17. Fonseca R, Witzig TE, Gertz MA, i wsp. Multiple myeloma and the translocation t(11;14)(q13;q32): a report on 13 cases. *Br J Haematol*. 1998; **101**: 296-301.
18. Fonseca R, Blood EA, Oken MM, i wsp. Myeloma and the t(11;14)(q13;q32); evidence for a biologically defined unique subset of patients. *Blood*. 2002; **99**: 3735-3741.
19. Fonseca R, Bailey RJ, Ahmann GJ, i wsp. Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2002; **100**: 1417-1424.
20. Janssen JW, Vaandrager JW, Heuser T, i wsp. Concurrent activation of a novel putative transforming gene, myeov, and cyclin D1 in a subset of multiple myeloma cell lines with t(11;14)(q13;q32). *Blood*. 2000; **95**: 2691-2698.
21. Sawyer JR, Lukacs JL, Thomas EL, i wsp. Multicolour spectral karyotyping identifies new translocations and a recurring pathway for chromosome loss in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2001; **112**: 167-174.
22. Garand R, Avet-Loiseau H, Accard F, i wsp. t(11;14) and t(4;14) translocations correlated with mature lymphoplasmacytoid and immature morphology, respectively, in multiple myeloma. *Leukemia*. 2003; **17**: 2032-2035.
23. Zhan F, Huang Y, Colla S, i wsp. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood*. 2006; **108**: 2020-2028.
24. Shaughnessy J, Jr., Gabrea A, Qi Y, i wsp. Cyclin D3 at 6p21 is dysregulated by recurrent chromosomal translocations to immunoglobulin loci in multiple myeloma. *Blood*. 2001; **98**: 217-223.
25. Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, i wsp. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood*. 2005; **106**: 296-303.
26. Chesi M, Nardini E, Lim RS, i wsp. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood*. 1998; **92**: 3025-3034.
27. Keats JJ, Reiman T, Maxwell CA, i wsp. In multiple myeloma, t(4;14)(p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression. *Blood*. 2003; **101**: 1520-1529.
28. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, i wsp. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood*. 2007; **109**: 3489-3495.

29. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, i wsp. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood*. 2005; **106**: 2837-2840.
30. Chang H, Qi XY, Samiee S, i wsp. Genetic risk identifies multiple myeloma patients who do not benefit from autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005; **36**: 793-796.
31. Chang H, Trieu Y, Qi X, i wsp. Bortezomib therapy response is independent of cytogenetic abnormalities in relapsed/refractory multiple myeloma. *Leuk Res*. 2007; **31**: 779-782.
32. Ludwig H, Me. Beksac, J. Bladé i wsp. Current Multiple Myeloma Treatment Strategies with Novel Agents: A European Perspective. *The Oncologist*. 2010; **15**: 6-25.
33. Bisping G, Wenning D, Kropff M, i wsp. Bortezomib, dexamethasone, and fibroblast growth factor receptor 3-specific tyrosine kinase inhibitor in t(4;14) myeloma. *Clin Cancer Res*. 2009; **15**: 520-531.
34. Fonseca R, Blood E, Rue M, i wsp. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood*. 2003; **101**: 4569-4575.
35. Fonseca R, Oken MM, Greipp PR. The t(4;14)(p16.3;q32) is strongly associated with chromosome 13 abnormalities in both multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2001; **98**: 1271-1272.
36. Chng WJ, Santana-Davila R, Van Wier SA, i wsp. Prognostic factors for hyperdiploid-myeloma: effects of chromosome 13 deletions and IgH translocations. *Leukemia*. 2006; **20**: 807-813.
37. Fonseca R, Bergsagel PL. Diagnosis and genetic classification of multiple myeloma, w Treatment of multiple myeloma and related disorders. Red. Rajkumar SV, Kyle RA, Cambridge University Press, Cambridge, 2009, 1-17.
38. Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO, i wsp. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood*. 1998; **91**: 4457-4463.
39. Tricot G, Barlogie B, Jagannath S, i wsp. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with other karyotype abnormalities. *Blood*. 1995; **86**: 4250-4256.
40. Avet-Louseau H, Daviet A, Sauner S, i wsp. Chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol*. 2000; **111**: 1116-1117.
41. Shaughnessy J, Jacobson J, Sawyer J, i wsp. Continuous absence of metaphase-defined cytogenetic abnormalities, especially of chromosome 13 and hypodiploidy, ensures long-term survival in multiple myeloma treated with Total Therapy I: interpretation in the context of global gene expression. *Blood*. 2003; **101**: 3849-3856.
42. Fassas AB, Spencer T, Sawyer J, i wsp. Both hypodiploidy and deletion of chromosome 13 independently confer poor prognosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2002; **118**: 1041-1047.
43. Dispenzieri A, Rajkumar SV, Gertz MA, i wsp. Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-adapted Therapy (mSMART): consensus statement. *Mayo Clin Proc*. 2007; **82**: 323-341.
44. Juge-Morineau N, Harousseau JL, Amiot M, i wsp. The retinoblastoma susceptibility gene RB-1 in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 1997; **24**: 229-237.
45. Drach J, Ackermann J, Fritz E, i wsp. Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood*. 1998; **92**: 802-809.
46. Chang H, Qi C, Yi QL, i wsp. p53 gene deletion detected by fluorescence in situ hybridization is an adverse prognostic factor for patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2005; **105**: 358-360.
47. Chng WJ, Price-Troska T, Gonzalez-Paz N, i wsp. Clinical significance of TP53 mutation in myeloma. *Leukemia*. 2007; **21**: 582-584.
48. Tiedemann RE, Gonzalez-Paz N, Kyle RA, i wsp. Genetic aberrations and survival in plasma cell leukemia. *Leukemia*. 2008; **22**: 1044-1052.
49. Schilling G, Hansen T, Shimoni A, i wsp. Impact of genetic abnormalities on survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Leukemia*. 2008; **22**: 1250-1255.
50. Shaughnessy JD, Jr., Zhan F, Burington BE, i wsp. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. *Blood*. 2007; **109**: 2276-2284.
51. Sawyer JR, Tricot G, Mattox S, i wsp. Jumping translocations of chromosome 1q in multiple myeloma: evidence for a mechanism involving decondensation of pericentromeric heterochromatin. *Blood*. 1998; **91**: 1732-1741.
52. Chang H, Qi X, Trieu Y, i wsp. Multiple myeloma patients with CKS1B gene amplification have a shorter progression-free survival post-autologous stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2006; **135**: 486-491.
53. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, i wsp. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood*. 2006; **108**: 1724-1732.
54. Zhan F, Colla S, Wu X, i wsp. CKS1B, overexpressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1-dependent and -independent mechanisms. *Blood*. 2007; **109**: 4995-5001.

55. Fonseca R, Van Wier SA, Chng WJ, i wsp. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia*. 2006; **20**: 2034-2040.
56. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, i wsp. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood*. 2006; **108**: 1724-1732.
57. Chesi M, Robbiani DF, Sebag M, i wsp. AID-dependent activation of a MYC transgene induces multiple myeloma in a conditional mouse model of post-germinal center malignancies. *Cancer Cell*. 2008; **13**: 167-180.
58. Mateos MV, Garcia-Sanz R, Lopez-Perez R, i wsp. Methylation is an inactivating mechanism of the p16 gene in multiple myeloma associated with high plasma cell proliferation and short survival. *Br J Haematol*. 2002; **118**: 1034-1040.
59. Gonzalez-Paz N, Chng WJ, McClure RF, i wsp.: Tumor suppressor p16 methylation in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Blood*. 2007; **109**: 1228-1232.
60. Dib A, Barlogie B, Shaughnessy JD, Jr., i wsp. Methylation and expression of the p16INK4A tumor suppressor gene in multiple myeloma. *Blood*. 2007; **109**: 1337-1338.
61. Tasaka T, Berenson J, Vescio R, i wsp. Analysis of the p16INK4A, p15INK4B and p18INK4C genes in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1997; **96**: 98-102.
62. Kulkarni MS, Daggett JL, Bender TP, i wsp. Frequent inactivation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p18 by homozygous deletion in multiple myeloma cell lines: ectopic p18 expression inhibits growth and induces apoptosis. *Leukemia*. 2002; **16**: 127-134.
63. Dib A, Peterson TR, Raducha-Grace L, i wsp. Paradoxical expression of INK4c in proliferative multiple myeloma tumors: bi-allelic deletion vs increased expression. *Cell Div*. 2006; **1**: 23.
64. Rodger S, Swolin B, Weinfeld A, i wsp. Cytogenetic abnormalities in acute leukemia complicating melphalan-treated multiple myeloma. *Cancer Genet Cytogenet*. 1990; **48**: 67-73.
65. Jenner MW, Leone PE, Walker BA, i wsp. Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood*. 2007; **110**: 3291-3300.
66. Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y, i wsp. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell*. 2007; **12**: 115-1130.
67. Keats JJ, Fonseca R, Chesi M, i wsp. Promiscuous mutations activate the noncanonical NF-kappaB pathway in multiple myeloma. *Cancer Cell*. 2007; **12**: 131-144.
68. Bezieau S, Devilder MC, Avet-Loiseau H, i wsp. High incidence of N and K-Ras activating mutations in multiple myeloma and primary plasma cell leukemia at diagnosis. *Hum Mutat*. 2001; **18**: 212-224.
69. Rasmussen T, Kuehl M, Lodahl M, i wsp. 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**: 317-323.
70. Chng WJ, Gonzalez-Paz N, Price-Troska T, i wsp. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia*. 2008; **22**: 2280-2284.
71. Fonseca R, Barlogie B, Bataille R, i wsp. Genetics and Cytogenetics of Multiple Myeloma: A Workshop Report. *Cancer Res*. 2004; **64**: 1546-1558.
72. Stewart AK, Bergsagel PL, Greipp PR, i wsp. A practical guide to defining high-risk myeloma for clinical trials, patient counseling and choice of therapy. *Leukemia*. 2007; **21**: 529-534.
73. Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, i wsp. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clin Proc*. 2009; **84**(12): 1095-1110, Revised and update 2010.

Praca wpłynęła do Redakcji 16.08.2010 r. i została zakwalifikowana do druku 15.11.2010 r.

**Adres pierwszego Autora:**

dr n. med. Barbara Pieńkowska-Grela  
Samodzielna Pracownia Cytogenetyki  
Centrum Onkologii - Instytut  
im. M. Skłodowskiej-Curie  
ul. Roentgena 5  
02-781 Warszawa  
barpien@coi.waw.pl