Клиническая онкогематология. 2025;18(4):315–25

ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-4-315-325

Гены метилирования ДНК при множественной миеломе: что мы уже знаем и как это можно использовать?

Д.А. Чебыкина, Е.В. Мотыко, А.Н. Кириенко, Д.В. Кустова, О.Б. Крысюк, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

Clinical oncohematology. 2025;18(4):315–25

ONCO clinical HEMATOLOGY

LYMPHOID TUMORS

https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-4-315-325

DNA Methylation Genes in Multiple Myeloma: What We Already Know and How It Can Be Used?

D.A. Chebykina, E.V. Motyko, A.N. Kirienko, D.V. Kustova, O.B. Krysiuk, S.V. Sidorkevich, I.S. Martynkevich

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

РЕФЕРАТ

АКТУАЛЬНОСТЬ. За последние 20 лет значительно расширился арсенал диагностических методов и инновационных подходов к анализу генома и транскриптома опухолевых клеток. Однако остается малоизученным значение аберрантных паттернов метилирования ДНК или генов, модифицирующих метилирование ДНК, в патогенезе развития множественной миеломы (ММ) и механизмах дальнейшего прогрессирования опухоли. Определение мутаций методом секвенирования следующего поколения (NGS) в генах, связанных с рецидивом заболевания и/или лекарственной резистентностью, позволяет идентифицировать новые мишени для лекарственной терапии.

ЦЕЛЬ. Изучить молекулярно-генетический ландшафт и прогностическую значимость выявленных мутаций в генах, определяемых с помощью технологии NGS, у пациентов с ММ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В настоящее проспективное исследование включены данные 45 пациентов с ММ, получавших лечение в гематологической клинике Российского НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА (Санкт-Петербург) в период с 2011 г. по настоящее время. Медиана возраста пациентов составила 60 лет (диапазон 38–81 год). Всем больным проведен мутационный скрининг с использованием NGS-панели, состоящей из 118 генов. Материалом исследования были клетки аспирата костного мозга. Комплексное изучение генетического статуса включало также стандартное кариотипирование и FISH-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Соматические мутации в генах *DNMT3A* и *TET2*, регулирующих метилирование ДНК, не оказы-

ABSTRACT

BACKGROUND. The last 20 years have seen a substantial evolution of diagnostic methods and innovation approaches to analyzing genome and transcriptome of tumor cells. Underresearched, however, is the value of aberrant patterns of DNA methylation or methylation-modifying genes in the pathogenesis of multiple myeloma (MM) development and in the mechanisms of tumor progression. Mutation detection by next-generation sequencing (NGS) in disease relapse- and/or drug resistance-associated genes provides the basis for identifying novel targets for drug therapy.

AIM. To analyze the molecular genetic landscape and prognostic value of NGS detected mutations in the genes of MM patients.

MATERIALS & METHODS. This prospective study enrolls 45 MM patients treated at the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology (Saint Petersburg) from 2011 to the present. The median age of patients was 60 years (range 38–81 years). All patients received mutation screening using a NGS panel with 118 genes. The cells of bone marrow aspirate were subjected to the analysis. A comprehensive study of genetic status included also the standard karyotyping and FISH analysis.

RESULTS. Somatic mutations in DNA methylation regulatory genes *DNMT3A* and *TET2* had no significant impact either on objective response or long-term survival rates. However, in case of somatic mutations detected in gene *NOTCH1* or *ATM,* the 3-year progression-free survival was 27.3 % (95% confidence interval [95% CI] 8.0–83.5 %) *vs.* 59.0 % (95% CI 42.3–82.9 %) without these mutations, the 3-year

© «Практическая медицина» 2025. Данная статья распространяется на условиях «открытого доступа», в соответствии с лицензией CC BY-NC-SA 4.0 («Attribution-NonCommercial-ShareAlike» / «Атрибуция-Некоммерчески-СохранениеУсловий» 4.0), которая разрешает неограниченное некоммерческое использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии указания автора и источника. Чтобы ознакомиться с полными условиями данной лицензии на русском языке, посетите сайт: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.ru

вали значимого влияния на частоту объективного ответа и показатели отдаленной выживаемости. Вместе с тем в случае детекции соматических мутаций в гене *NOTCH1* или *ATM* 3-летняя выживаемость без прогрессирования составила 27,3 (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 8,0–83,5 %) *vs* 59,0 % (95% ДИ 42,3–82,9 %) при отсутствии данных мутаций, 3-летняя общая выживаемость — 64 (95% ДИ 42,7–96,4 %) и 95 % (95% ДИ 87–100 %) соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Мутационный статус генов метилирования ДНК не влияет значимо на частоту противоопухолевого ответа и показатели отдаленной выживаемости пациентов с ММ. Однако истинный потенциал паттернов метилирования ДНК и генов, участвующих в модификации метилирования ДНК, еще не определен. Необходимы дальнейшие исследования в этой области для стратификации рисков и коррекции терапевтической тактики. Возможно, со временем использование агентов, модулирующих метилирование ДНК, войдет в арсенал лечебных средств при ММ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: множественная миелома, хромосомные перестройки, секвенирование нового поколения, гены метилирования ДНК, *DNMT3A, TET2*.

Получено: 4 июня 2025 г.
Принято в печать: 6 сентября 2025 г.

Для переписки: Дарья Александровна Чебыкина, ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; тел.: +7(812)309-79-81; e-mail: daria.chebikina@yandex.ru

Для цитирования: Чебыкина Д.А., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н. и др. Гены метилирования ДНК при множественной миеломе: что мы уже знаем и как это можно использовать? Клиническая онкогематология. 2025;18(4):315–25. doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-4-315-325.

overall survival was 64 % (95% CI 42.7–96.4 %) and 95% (95% CI 87–100 %), respectively.

CONCLUSION. Mutation status of DNA methylation genes has no significant impact either on antitumor response or on long-term survival rates in MM patients. However, genuine potential of of DNA methylation patterns and DNA methylation-modifying genes has not yet been evaluated. Further studies need to be conducted in this field to stratify the risks and to improve the treatment strategy. DNA methylation-modulating agents may eventually join the arsenal of therapeutic options for MM.

KEYWORDS: multiple myeloma, chromosome aberrations, next-generation sequencing, DNA methylation genes, *DNMT3A, TET2*.

Received: June 4, 2025
Accepted: September 6, 2025

For correspondence: Daria Aleksandrovna Chebykina, 16 2-ya Sovetskaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; Tel.: +7(812)309-79-81; e-mail: daria.chebikina@yandex.ru

For citation: Chebykina D.A., Motyko E.V., Kirienko A.N., et al. DNA Methylation Genes in Multiple Myeloma: What We Already Know and How It Can Be Used? Clinical oncohematology. 2025;18(4):315–25. (In Russ). doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-4-315-325.

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) составляет примерно 10 % среди всех опухолевых заболеваний системы крови, характеризуется крайней гетерогенностью своих проявлений и, несмотря на большое число инновационных терапевтических возможностей, по-прежнему признается неизлечимой. Это требует постоянного изучения биологии опухоли, поиска новых прогностических маркеров и персонализированных терапевтических подходов.

К настоящему времени известно, что эпигенетические нарушения, включая глобальное гипометилирование ДНК и локус-специфическое гиперметилирование ДНК, а также аберрантная экспрессия и/или мутации в генах, модифицирующих метилирование ДНК, играют важную роль в развитии ММ, прогрессировании опухоли и возникновении рецидивов. Более того, становится все более очевидным, что в основе генетической гетерогенности опухолевых клонов, обусловливающих лекарственную резистентность, лежат процессы модификации метилирования ДНК. Такая эпигенетическая неоднородность позволяет плазматическим клеткам адаптироваться к проводимому лечению и формировать устойчивость. Несмотря на то что процессы аберрантного метилирования ДНК и/или изменение активности генов, регулирующих метилирование ДНК, являются серьезным препятствием для эффективного лечения ММ, они также могут стать новыми мишенями для терапевтического воздействия [1].

Причины нарушения метилирования ДНК в опухолевых клетках в настоящее время неизвестны, но наиболее вероятным объяснением является нарушение экспрессии и/или изменение активности генов, регулирующих метилирование ДНК. Гиперэкспрессия *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B* может определяться при многих солидных и гематологических опухолях, включая ММ. Кроме того, при ММ также наблюдаются мутации в генах, модифицирующих метилирование ДНК, что коррелирует с более короткой продолжительностью жизни. Хотя мутации в генах эпигенетической регуляции определяются только у 4 % пациентов на момент постановки диагноза, их

Таблица 1. Характеристика пациентов с ММ, включенных в исследование (n = 45)

Показатель	Число пациентов
Пол	
Женщины	23 (51,1 %)
Мужчины	22 (48,9 %)
Медиана (диапазон) возраста, лет	60 (38–81)
Стадирование	
ISS	
I стадия	14 (31,1 %)
II стадия	14 (31,1 %)
III стадия	17 (37,8 %)
Durie—Salmon	
I стадия	2 (4,4 %)
II стадия	10 (22,2 %)
III стадия	33 (73,4 %)
mSMART 3.0	
Группа стандартного риска	29 (64,4 %)
Группа высокого риска	16 (35,6 %)
Ответ на 1-ю линию терапии	
Полный	10 (22,2 %)
Очень хороший частичный	7 (15,6 %)
Частичный	13 (28,9 %)
Стабилизация	5 (11,1 %)
Прогрессирование	1 (2,2 %)
Рецидив	9 (20,0 %)
АутоТГСК в анамнезе	
Есть	22 (48,8 %)
Нет	23 (51,2 %)

mSMART — стратификационная система Мейо для ММ и риск-адаптированной терапии; ISS — Международная система стадирования; аутоТГСК — трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; ММ — множественная миелома.

частота значительно возрастает при рецидиве заболевания, особенно в случае мутаций в генах *DNMT3A* и *TET2*. Напротив, мутации в генах *DNMT1/3B* и *TET1/3* при ММ встречаются реже [2].

Цель настоящего исследования — с помощью технологий секвенирования следующего поколения (NGS) изучить молекулярно-генетический ландшафт при ММ, оценить прогностическую значимость мутаций в генах, регулирующих метилирование ДНК, и их влияние на показатели выживаемости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данное проспективное исследование включено 45 пациентов с ММ, получавших лечение в гематологической клинике Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии ФМБА (Санкт-Петербург) в период с 2011 г. по настоящее время. Медиана возраста больных составила 60 лет (диапазон 38–81 год), соотношение женщин/мужчин было примерно одинаковым (23/22). Медиана наблюдения составила 32,8 мес. (максимальный период 13 лет). Заболевание диагностировано в соответствии с критериями Международной рабочей группы по ММ (IMWG) и текущими рекомендациями Европейского общества медицинской онкологии (2021). Стадирование и оценка риска проводились в соответствии с Международной системой стадирования ММ (ISS) или пересмотренной ее редакцией в зависимости от исходных цитогенетических данных. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Медиана времени наблюдения с момента постановки диагноза до начала первой линии терапии составила 1,8 мес. (диапазон 1,4–3,7 мес.). Кандидатами для проведения высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) были 63,6 % пациентов (n = 28). В качестве первой линии терапии применялись следующие режимы: VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон) — 47,7 % (n = 22), даратумумаб-содержащие схемы — 13,3 % (n = 6), VD (бортезомиб, дексаметазон) — 17,7 % (n = 8), VMP (бортезомиб, мелфалан, дексаметазон) — 8,9 % (n = 4), PAD (бортезомиб, доксорубицин, дексаметазон) — 4,4 % (n = 2). Объективный ответ составил 77,8 %, из них частичный ответ был у 33,3 % больных (n = 15). Рецидив после проведенного лечения отмечался у 9 (20 %) пациентов, прогрессирование — у 1 (2,2 %). В качестве терапии второй линии чаще всего использовались леналидомид-содержащие (24,4 %; n = 11) и даратумумаб-содержащие (22,2 %; n = 10) программы. Варианты лечения пациентов с ММ представлены в табл. 2.

Всем больным проведен мутационный скрининг с использованием NGS-панели зондов к 118 генам на платформе NextSeq Illumina методом парно-концевого чтения. В качестве материала для исследования использовались клетки аспирата костного мозга. Данные секвенирования обрабатывались с применением автоматизированного алгоритма, включавшего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg37), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов нуклеотидной последовательности и фильтрацию вариантов по качеству. Интерпретация клинической значимости пред-

Таблица 2. Различные режимы противоопухолевой терапии у пациентов с ММ (n = 45)

Режим терапии	1-я линия, n = 45	2-я линия, n = 45	3-я линия, n = 44	4-я линия, n = 38	5-я линия, n = 32
Леналидомид-содержащие программы	—	11 (24,4 %)	1 (2,3 %)	—	2 (6,3 %)
Даратумумаб-содержащие программы	6 (13,3 %)	10 (22,2 %)	8 (18,1 %)	3 (8,0 %)	—
VCD	22 (48,8 %)	3 (6,7 %)	1 (2,3 %)	—	—
VD	8 (17,8 %)	1 (2,2 %)	1 (2,3 %)	—	—
VMP	4 (9,0 %)	—	—	—	—
PAD	2 (4,4 %)	—	—	—	—
Другие варианты терапии*	3 (6,7 %)	20 (44,5 %)	33 (75,0 %)	35 (92,0 %)	30 (93,7 %)

* Другие варианты терапии: режимы EloPomD, EloVD, IsaKD, IsaPomEla, IxaPomD, IxaCD, KD, KPD-PACE, MOCCA, PomVD, VD-PACE, вемурафениб.

положительно соматических мутаций проводилась на основе рекомендаций AMP (Ассоциация молекулярной патологии), герминальных мутаций — рекомендаций ACMG (Американский колледж медицинской генетики и геномики). Выявленные варианты нуклеотидной последовательности распределяли на 5 групп: патогенный, вероятно патогенный, неопределенного значения, вероятно доброкачественный, доброкачественный. Попарное сравнение с герминальной ДНК не проводили.

Хордовая диаграмма использовалась для демонстрации перекрытий между генами, связанными с неблагоприятным прогнозом, и генами, потенциально вовлеченными в процессы метилирования.

Статистический анализ

Для сравнения структуры ответа в зависимости от размера выборки применялись тесты Фишера или χ^2. Для оценки прогностической значимости отдельных мутаций был выполнен однофакторный регрессионный анализ Кокса. С целью повысить достоверность статистического анализа и избежать случайных ассоциаций из анализа были исключены гены, мутации в которых встречались менее чем у 3 пациентов. Для каждого гена рассчитывали отношение рисков (ОР), 95%-й доверительный интервал (95% ДИ) и значение *p*. Полученные результаты были отсортированы по уровню значимости, на форест-графиках отображено 10 наиболее значимых генов (см. рис. 2 и 3). Гены с $p < 0,1$ были включены в многофакторную регрессионную модель Кокса для оценки их независимого вклада в прогностическую модель.

На основе отобранных признаков была сформирована сводная переменная, отражающая наличие у пациента хотя бы одной из неблагоприятных мутаций (ОР > 1; $p < 0,1$). Пациенты, у которых присутствовала такая мутация, были отнесены к группе высокого риска. Сравнительный анализ выживаемости между группами высокого и низкого риска проводился с использованием метода Каплана—Мейера и логрангового критерия.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После проведения молекулярно-генетического исследования методом NGS было выявлено 505 мутаций, среди которых только 6 (1,2 %) имели патогенное клиническое значение и 10 (2 %) — вероятно патогенное. Большинство выявленных мутаций относилось к вариантам с неизвестным клиническим значением (n = 335; 66,3 %). Наибольшая частота мутаций отмечалась в генах *KMT2C* (53 %), *RYR1* (31 %), *KMT2D* (29 %), *ATM* (24 %), *FAT1* (24 %), *CREBBP* (22 %), *APC* (20 %). Для визуализации мутационного ландшафта построен OncoPrint-график, отображающий распределение мутаций по пациентам и генам (рис. 1).

С целью определить гены, связанные с неблагоприятным прогнозом и худшими показателями выживаемости без прогрессирования (ВБП), проведен регрессионный анализ Кокса. Учитывая ограниченный размер выборки, из анализа были исключены гены, мутации в которых встречаются менее чем у 3 пациентов. Полученные результаты были отсортированы по значению *p* и представлены на форест-графике (рис. 2). Далее гены с $p < 0,1$ были включены в многофакторную модель для анализа их независимого прогностического значения при оценке ВБП.

При проведении однофакторного регрессионного анализа Кокса мутации в гене *NOTCH1* наиболее значимо влияли на 3-летнюю общую выживаемость (ОВ) (ОР 6,59; 95% ДИ 1,30–33,30; p = 0,023; рис. 3), а мутации в гене *ATM* — на 3-летнюю ВБП (ОР 3,46; 95% ДИ 1,30–9,17; p = 0,013; см. рис. 2). При анализе выживаемости методом Каплана—Мейера при наличии хотя бы одной мутации в данных генах 3-летняя ОВ составила 64 (95% ДИ 42,7–96,4 %) *vs* 95 % (95% ДИ 87–100 %) (рис. 4).

При выявлении соматических мутаций в гене *NOTCH1* или *ATM* 3-летняя ВБП составляла 27,3 (95% ДИ 8,0–83,5 %) *vs* 59,0 % (95% ДИ 42,3–82,9 %) у пациентов с немутантным статусом данных генов (рис. 5).

При изучении мутаций в генах, регулирующих метилирование ДНК, статистически значимых данных, указывающих на их связь с показателями ВБП и ОВ, не получено. Так, 3-летняя ОВ пациентов при наличии и отсутствии мутаций в гене *TET2* составила 100 (95% ДИ 71,2–95,0 %) и 80,9 % (95% ДИ 68,1–96,2 %) соответственно; при наличии и отсутствии мутаций в гене *DNMT3A* — 83 (95% ДИ 70,8–98,2 %) и 83 % (95% ДИ 58,3–100 %) соответственно (рис. 6).

При построении хордовой диаграммы выявлено отсутствие достоверной связи между мутационным статусом генов метилирования ДНК и генами, мутации в которых потенциально определяют неблагоприятный прогноз течения ММ (рис. 7).

При анализе влияния мутационного статуса генов метилирования ДНК на возможность достижения объективного ответа у пациентов с ММ, получавших противоопухолевую терапию, статистически значимых факторов определить не удалось. Частота достижения полного ответа (ПО) в группе больных с мутацией в гене *DNMT3A* составила 16,7 % (p = 0,937), в гене *TET2* — 20 % (p = 0,251). У пациентов, в опухолевой ткани которых определялось сочетание мутаций в генах *DNMT3A* и *TET2*, ПО составил 20 %, частичный ответ (ЧО) — 40 %, стабилизация — 20 % (p = 0,504). Влияние мутационного статуса генов метилирования ДНК на частоту и глубину противоопухолевого ответа представлено на рис. 8.

В настоящем исследовании проводилась оценка цитогенетических факторов и мутационного статуса, определенного с помощью метода NGS. На основе однофакторного анализа цитогенетических аберраций, выявленных при флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), значимое влияние на показатели ОВ оказывала амплификация локуса 1q21/*CKS1B* (ОР 3,57; 95% ДИ 1,06–11,94; p = 0,039). Показатели ВБП были связаны с t(4;14)(p16.3;q32) (ОР 20,04; 95% ДИ 1,81–221,58; p = 0,014), делецией локуса 13q34/*LAMP1* (ОР 9,03; 95% ДИ 1,46–55,89; p = 0,018). Однако транслокация t(4;14)(p16.3;q32) определялась только у 2 пациентов, в связи с чем была исключена из многофакторного анализа (рис. 9).

При многофакторном регрессионном анализе Кокса, который включал данные цитогенетических исследований и NGS, наиболее значимое патогенное влияние на показатели ВБП оказывали мутации в гене

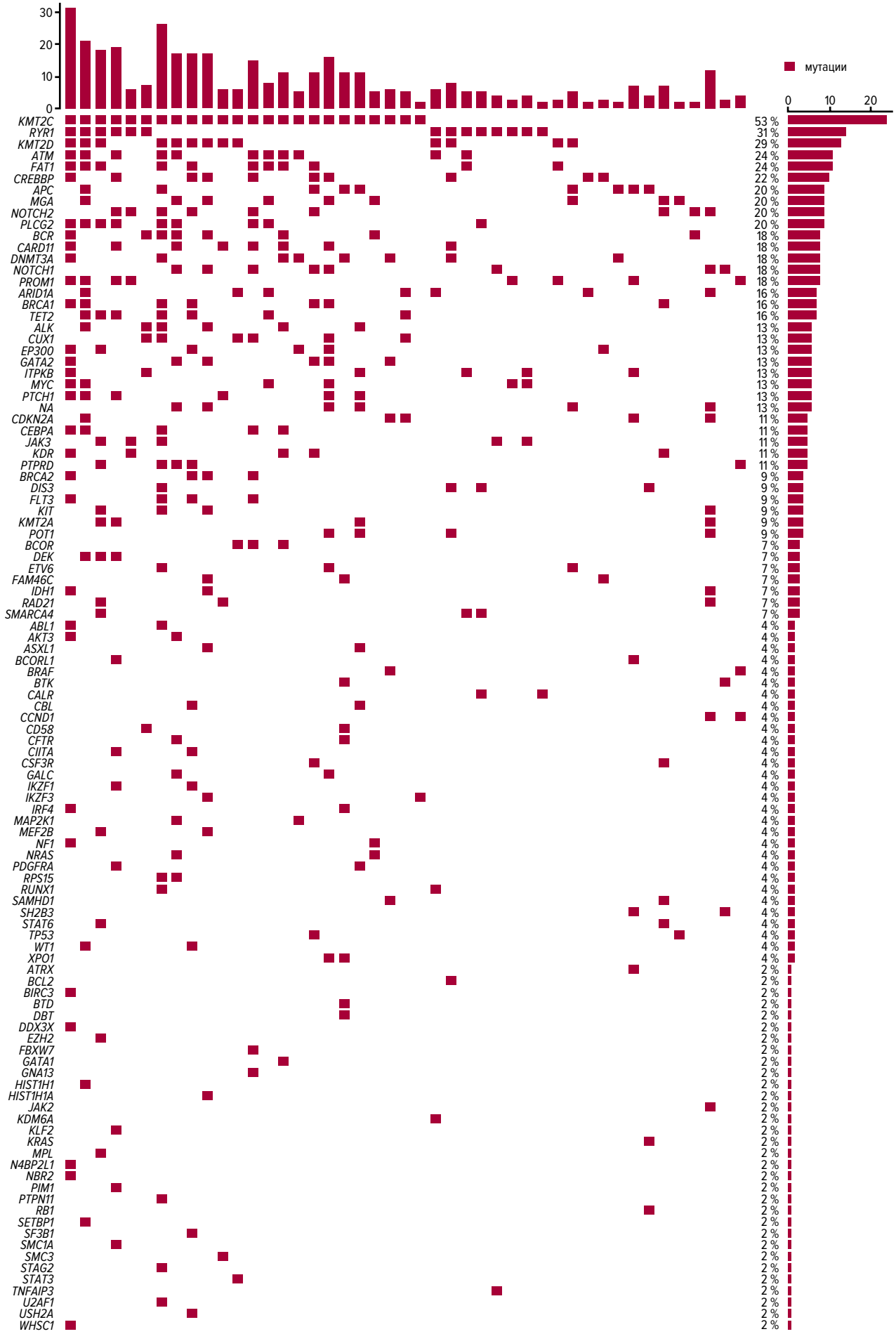

Рис. 1. Онкокарта мутаций в исследуемой группе пациентов с ММ

Fig. 1. Oncomap of mutations in the study group of MM patients

Ген	ОР (95% ДИ)	p
ATM	3,46 (1,30–9,17)	0,013
ARID1A	2,36 (0,75–7,39)	0,140
NOTCH1	2,11 (0,68–6,59)	0,199
CREBBP	2,00 (0,69–5,75)	0,201
ITPKB	2,25 (0,64–7,92)	0,205
BCR	0,43 (0,10–1,87)	0,258
EP300	1,99 (0,56–6,99)	0,285
APC	0,46 (0,11–2,04)	0,310
KMT2C	0,62 (0,24–1,63)	0,334
CEBPA	0,42 (0,06–3,18)	0,402

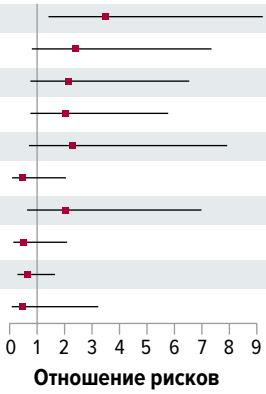

Рис. 2. Однофакторный регрессионный анализ Кокса по оценке ВБП у пациентов с ММ
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

Fig. 2. Univariate Cox regression analysis of PFS in MM patients
95% ДИ — 95% confidence interval; OP — hazard ratio.

Ген	ОР (95% ДИ)	p
NOTCH1	6,59 (1,30–33,30)	0,023
EP300	3,91 (0,71–21,51)	0,117
ATM	3,28 (0,66–16,27)	0,146
GATA2	3,26 (0,59–17,87)	0,173
FAM46C	3,50 (0,40–30,30)	0,255
SMARCA4	2,99 (0,35–25,76)	0,318
PTPRD	2,90 (0,33–25,64)	0,337
KMT2D	0,46 (0,05–3,99)	0,485
CREBBP	1,82 (0,33–9,97)	0,488
JAK3	1,88 (0,22–16,24)	0,564

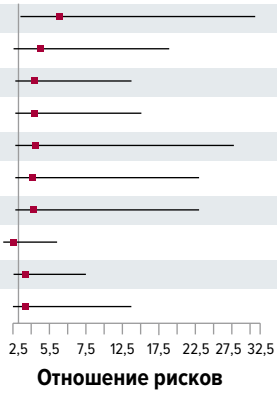

Рис. 3. Однофакторный регрессионный анализ Кокса по оценке ОВ у пациентов с ММ
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

Fig. 3. Univariate Cox regression analysis of OS in MM patients
95% ДИ — 95% confidence interval; OP — hazard ratio.

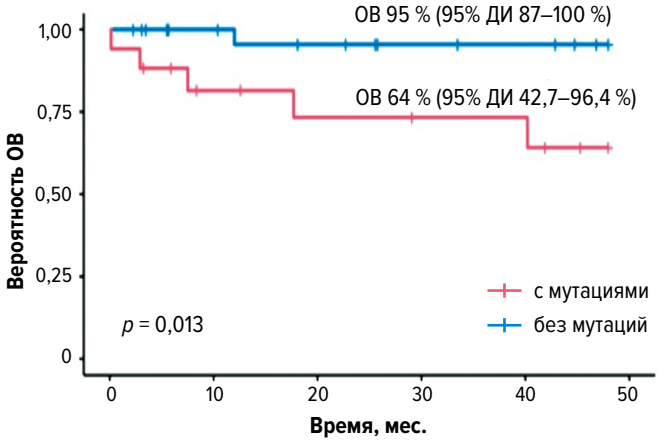

Рис. 4. Общая выживаемость пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса генов *ATM* и *NOTCH1*
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОВ — общая выживаемость.

Fig. 4. Overall survival of MM patients depending on the mutation status of *ATM* and *NOTCH1*
95% ДИ — 95% confidence interval; OB — overall survival.

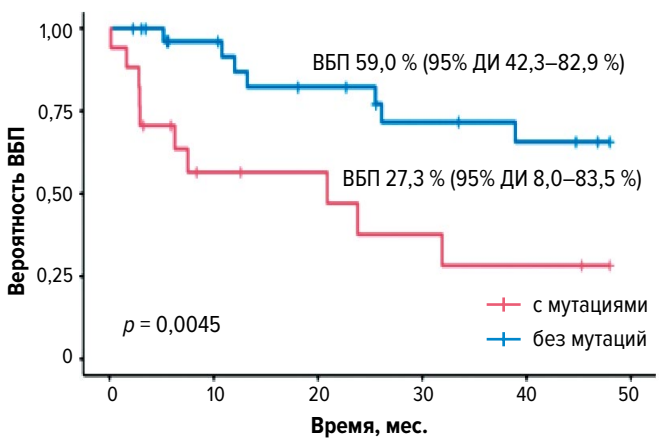

Рис. 5. Выживаемость без прогрессирования пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса генов *ATM* и *NOTCH1*
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ВБП — выживаемость без прогрессирования.

Fig. 5. Progression-free survival of MM patients depending on the mutation status of *ATM* and *NOTCH1*
95% ДИ — 95% confidence interval; ВБП — progression-free survival.

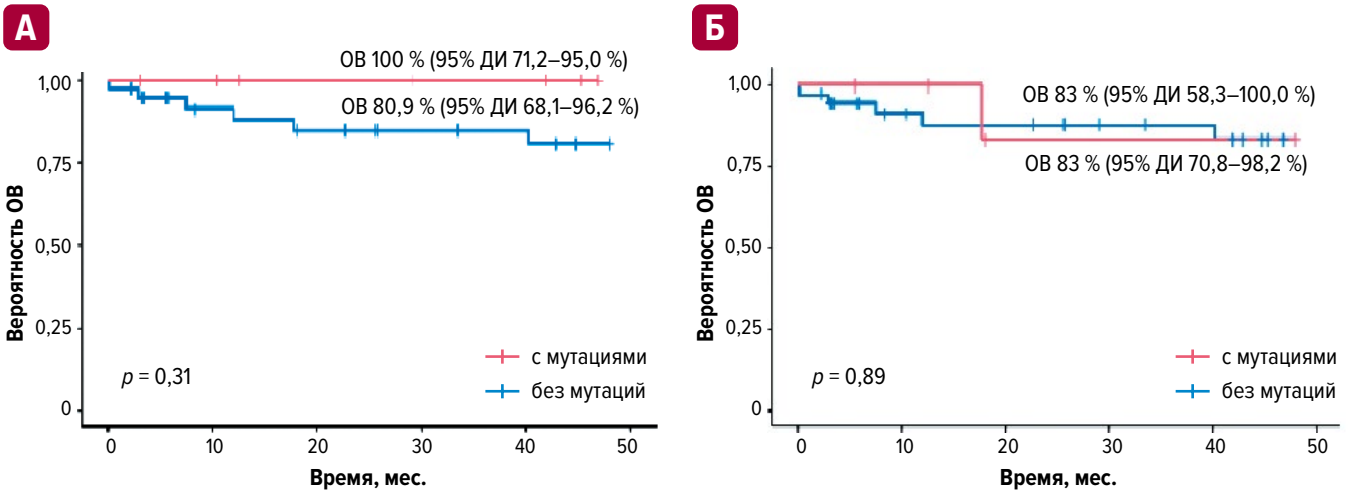

Рис. 6. Общая выживаемость пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса генов (*А*) *TET2* и (*Б*) *DNMT3A*
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОВ — общая выживаемость.

Fig. 6. Overall survival of MM patients depending on the mutational status of genes (*A*) *TET2* and (*Б*) *DNMT3A*
95% ДИ — 95% confidence interval; OB — overall survival.

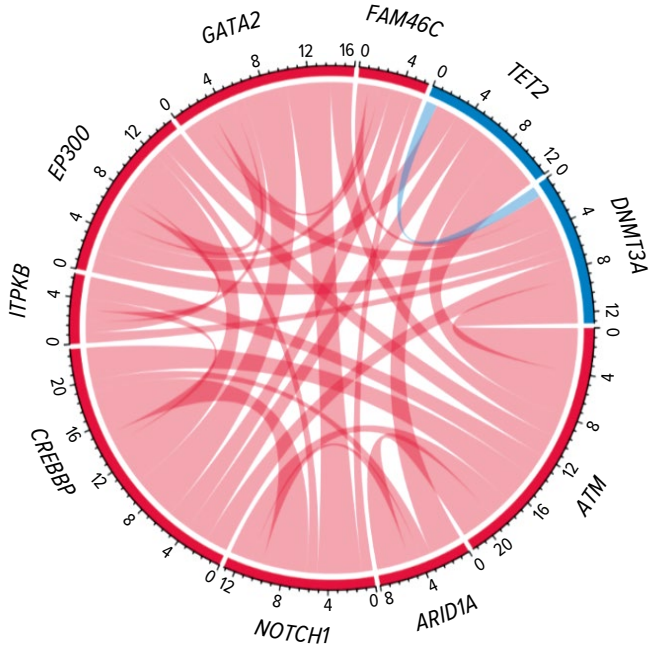

Рис. 7. Хордовая диаграмма взаимосвязи генов, ухудшающих прогноз при ММ

Fig. 7. The chord diagram showing the relation between the genes worsening the MM prognosis

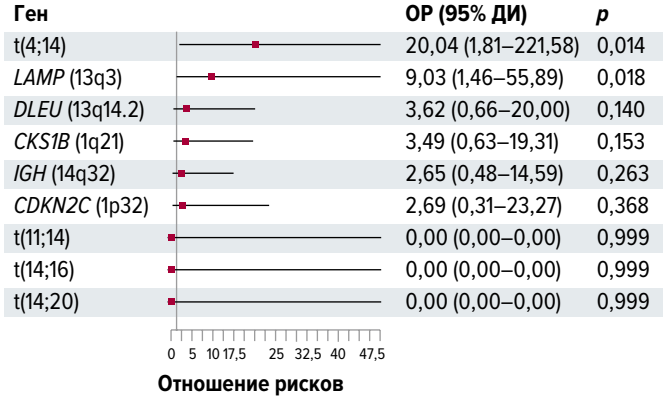

Рис. 9. Влияние цитогенетических аберраций, выявленных при FISH-исследовании, на показатели ВБП у пациентов с ММ (однофакторная регрессия Кокса)

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

Fig. 9. The impact of FISH-identified cytogenetic aberrations on PFS rates in MM patients (univariate Cox regression)

95% ДИ — 95% confidence interval; ОР — hazard ratio.

ATM (ОР 3,04; 95% ДИ 1,07–8,63; p = 0,037), на ОВ — мутации в гене *NOTCH1* (ОР 11,58; 95% ДИ 1,45–92,28; p = 0,021) (рис. 10 и 11).

Использование профиля генетических мутаций для выбора таргетной терапии у молодого пациента с рефрактерным течением ММ (клиническое наблюдение)

Пациент Т., 40 лет, проходил комплексное обследование в январе 2020 г. в связи с нарастанием общей слабости, появлением выраженного болевого синдрома в поясничном отделе позвоночника. При исследовании костного мозга выявлено 43,2 % плазматических клеток с аберрантным иммунофенотипом. По данным КТ определялись множественные очаги литической деструкции позвоночника размером до 20 × 10 мм. При выполнении FISH-исследования костного мозга выявлены следующие нарушения: del(17p) в 20 % плазматических клеток и del(13q) — в 10 %. Показатели функции почек в пределах нормальных значений. Уровень патологического парапротеина составил 45,5 г/л. Диагностирована ММ IgGλ, стадия II по шкале R-ISS, высокий риск по mSMART 3.0.

С февраля 2020 г. инициирована первая линия терапии по схеме VD (бортезомиб, дексаметазон). ЧО был достигнут после 3 курсов лечения в апреле

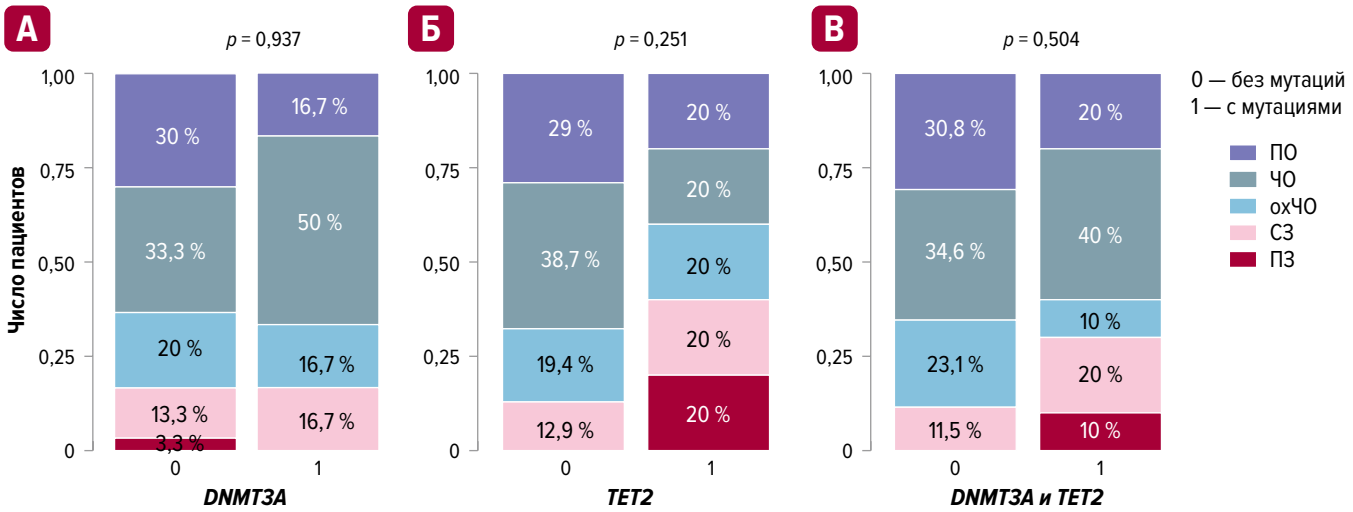

Рис. 8. Влияние мутационного статуса генов метилирования ДНК (*А* — *DNMT3A*, *Б* — *TET2*, *В* — *DNMT3A* и *TET2*) на частоту и глубину противоопухолевого ответа у пациентов с ММ

охЧО — очень хороший частичный ответ; ПЗ — прогрессирование заболевания; ПО — полный ответ; СЗ — стабилизация заболевания; ЧО — частичный ответ.

Fig. 8. Mutation status impact of DNA methylation genes (*A* — *DNMT3A*, *Б* — *TET2*, *B* — *DNMT3A* and *TET2*) on antitumor response rate and depth in MM patients

охЧО — very good partial response; ПЗ — disease progression; ПО — complete response; СЗ — stable disease; ЧО — partial response.

Рис. 10. Влияние цитогенетических аберраций и мутационного профиля пациентов с ММ на показатели ВБП (многофакторная регрессия Кокса)
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

Fig. 10. The impact of cytogenetic aberrations and mutation profile of MM patients on PFS rates (multivariate Cox regression)
95% ДИ — 95% confidence interval; OP — hazard ratio.

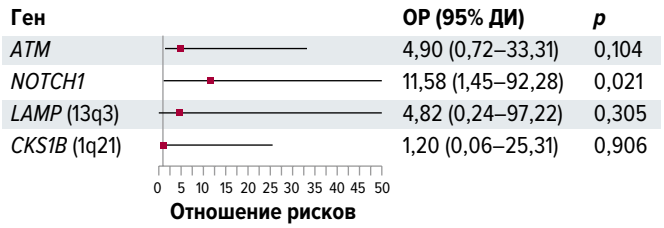

Рис. 11. Влияние цитогенетических аберраций и мутационного профиля пациентов с ММ на показатели ОВ (многофакторная регрессия Кокса)
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

Fig. 11. The impact of cytogenetic aberrations and mutation profile of MM patients on OS rates (multivariate Cox regression)
95% ДИ — 95% confidence interval; OP — hazard ratio.

Таблица 3. Результат исследования генома опухолевых клеток методом NGS у пациента Т.

Ген	Позиция	Вариант последовательности	Доля	Клиническая значимость
KMT2C	chr7:151945225T>C	c.2294A>G	6,33 %	Неопределенного клинического значения
SAMHD1	chr20:35526883T>G	c.1568A>C	6,83 %	Неопределенного клинического значения
CDKN2A	chr9:21971167A>G	c.191T>C	7,04 %	Неопределенного клинического значения
DNMT3A	chr2:25457242C>T	c.2645G>A	33,06 %	Патогенный
GATA2	chr3:128204960G>C	c.481C>G	51,5 %	Доброкачественный

2020 г. Далее в рамках консолидации достигнутого ответа в конце июля 2020 г. выполнена высокодозная химиотерапия с аутоТГСК. При рестадировании у пациента сохранялся ЧО. В сентябре 2020 г. отмечено прогрессирование заболевания с распространенным остеодеструктивным синдромом, появлением экстрамедуллярных плазмоцитом и поражением общих и наружных подвздошных лимфатических узлов. Была инициирована вторая линия терапии по схеме CyBorD (циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон) с достижением ЧО в декабре 2020 г. В феврале 2021 г. выполнена повторная аутоТГСК, при рестадировании у пациента сохранялся ЧО. В августе 2021 г. вновь отмечено прогрессирование ММ, нарастание остеодеструктивного синдрома, распространение экстрамедуллярных плазмоцитом (шейные, забрюшинные, внутритазовые лимфатические узлы, правая наружная запирательная мышца). Третья линия терапии инициирована в сентябре 2021 г. по схеме DaraBorMp (даратумумаб, бортезомиб, метилпреднизолон). Через месяц после начала терапии зафиксирован противоопухолевый эффект, однако с ноября 2021 г. отмечалось постепенное повышение парапротеина в крови, который в декабре уже составил 20,01 г/л, было констатировано прогрессирование ММ. Для изучения молекулярного профиля заболевания проведено секвенирование экзома опухолевых плазматических клеток. Согласно результатам, полученным с использованием технологии NGS, у пациента имела место патогенная мутация в гене *DNMT3A* (табл. 3).

С января 2022 г. больному проводилась четвертая линия терапии по схеме Dara-Pom/Bor/Mp-PACEx2 (даратумумаб, помалидомид, бортезомиб, метилпреднизолон, цисплатин, доксорубицин, циклофосфамид, этопозид). При рестадировании через месяц парапротеин в крови не определялся, в костном мозге инфильтрация плазматических клеток отсутствовала (0,2 %). Результат рестадирования соответствует достижению неподтвержденного очень хорошего ЧО. После 2-го цикла терапии достигнуто клиническое улучшение в виде полного регресса отека правой нижней конечности, по данным МРТ — уменьшение плазмоцитом на более 50 %. В межкурсовой период больной консультирован лучевыми терапевтами; местная лучевая терапия на пахово-подвздошную область признана нецелесообразной ввиду высокого риска прогрессирования ММ в отсутствие системной лекарственной противоопухолевой терапии. В апреле 2022 г. у пациента вновь нарастал отек правой нижней конечности, пальпировались пахово-подвздошные опухолевые узлы. С учетом рефрактерного течения ММ принято решение о проведении альтернативной комбинированной терапии, включавшей таргетные препараты и гипометилирующие агенты: децитабин, изатуксимаб, венетоклакс, третиноин, помалидомид. После 2 курсов достигнут ЧО, отмечался регресс пахово-подвздошного конгломерата. С целью консолидации эффекта больному выполнена CAR Т-клеточная терапия: 14.07.2022 г. (4SCAR BCMA/CD138, 2,8 × 10^8 и 4SCAR19, 2,6 × 10^8) и 02.01.2023 г. (4SCAR-317, 2 × 10^8 и 4SCAR-CS1, 2 × 10^8). Лечение перенес удовлетворительно, нежелательных явлений III степени и выше, включая иммуноопосредованные реакции, не отмечено. В гемограмме анемия легкой степени. Наблюдение за больным продолжается.

ОБСУЖДЕНИЕ

Причины нарушения метилирования ДНК в опухолевых клетках в настоящее время пока неизвестны, но наиболее вероятным объяснением может быть аберрантная экспрессия и/или активность в генах, модифицирующих метилирование ДНК. Гиперэкспрессия *DNMT1*,

DNMT3A и *DNMT3B* наблюдается при многих солидных и гематологических опухолях, включая ММ. Кроме того, мутации в генах, регулирующих метилирование ДНК, определяемые при ММ, коррелируют с более короткой продолжительностью жизни пациентов (табл. 4).

В настоящем исследовании мутации в генах *DNMT3A, TET2* не оказывали значимого влияния на формирование объективного ответа и не снижали показатели ОВ и ВБП. Однако следует отметить, что наше исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, это небольшой объем выборки (n = 45), во-вторых — использование таргетной панели, содержащей всего 118 генов. Применение таргетных панелей может не отражать истинную мутационную нагрузку, т. к. в анализ включаются гены, мутации в которых характерны для конкретной нозологии.

Ген *DNMT3A.* Согласно литературным данным, мутации в гене *DNMT3A* часто определяются при различных гематологических злокачественных новообразованиях, включая острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) у взрослых и детей, Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз, миелодиспластический синдром (МДС) и Т-клеточные лимфомы. При ММ мутации в гене *DNMT3A* наблюдаются реже по сравнению с другими заболеваниями. Тем не менее B.A. Walker и соавт. обнаружили, что *DNMT3A* является одним из 63 генов, в которых определяются драйверные мутации на ранней стадии развития ММ [3]. В другом исследовании выявлено наличие патогенной мутации *DNMT3A* на стадии моноклональной гаммапатии неясного генеза [4]. Более того, было показано, что частота мутаций в гене *DNMT3A* увеличивается при рецидиве заболевания. Повышение частоты мутаций в гене *DNMT3A* чаще наблюдается в подгруппе пациентов с транслокацией t(4;14) [5].

Ген *TET2.* Мутации в гене *TET2* часто наблюдаются при разных гематологических опухолях, таких как миелопролиферативные новообразования, хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), диффузная В-крупноклеточная лимфома и ОМЛ. Согласно данным клинического исследования Myeloma XI, мутации в гене *TET2* были выявлены только у 1 % пациентов [5]. Тем не менее в литературе мутации в гене *TET2* рассматриваются как одно из наиболее ранних генетических событий, способствующих развитию ММ. Более того, частота таких мутаций увеличивается при рецидиве заболевания [6]. Важно отметить, что прогностическое значение мутаций в гене *TET2* остается спорным. Согласно опубликованным данным, прогностический потенциал мутаций в гене *TET2* окончательно не изучен, однако C. Pawlyn и другие авторы обнаружили, что мутации в любом из генов, модифицирующих метилирование ДНК (*TET1/2/3, IDH1/2* или *DNMT1/3A/B*), коррелируют с более короткой продолжительностью жизни пациентов с ММ. Следует отметить, что мутации в гене *TET2* часто встречаются в сочетании с мутациями в других генах, таких как *NPM1, FLT3-ITD, FLT3-TKD, RUNX1, CEBPA, CBL* и *KRAS* [7]. Частое сочетание мутаций в гене *TET2* с другими генетическими аберрациями может быть возможным объяснением того, почему прогностический потенциал его остается предметом дискуссий. Помимо мутаций с потерей функции при гематологических опухолях может наблюдаться гиперэкспрессия гена *TET2.*

Таблица 4. Метилирование ДНК и потенциальные биомаркеры, связанные с выживаемостью при ММ

Биологический процесс	Прогностическое значение
Глобальное гипометилирование ДНК	Неблагоприятный прогноз
Эпиаллельные сдвиги	Низкие показатели ОВ при выявлении в момент постановки диагноза
Мутации в любом гене, модифицирующем метилирование ДНК (*TET1/2/3, IDH1/2, DNMT1/3A/3B*)	Снижение показателей ОВ
Снижение регуляции *DNMT3A*	Снижение показателей ОВ
Повышение регуляции *DNMT3A*	Потенциальный маркер прогрессирования заболевания
Избыточная экспрессия *TET2*	Повышение показателей ОВ

ММ — множественная миелома; ОВ — общая выживаемость.

Таблица 5. Обзор гипометилирующих агентов для лечения ММ, находящихся в стадии доклинической разработки

Препарат	Механизм
Азацитидин	Реэкспрессия p16, арест фаз G0/G1, апоптоз, опосредованный каспазой, подавление сигнальных путей IL6 и NFkB
Децитабин	Реэкспрессия p15, p27 и p21, фосфорилирование p38 MAP-киназы, арест фаз G0/G1 и G2/M, индукция повреждения ДНК
Гуадецитабин	Динуклеотид децитабина и дезоксигуанозина, связанный фосфодиэфирной связью. Постепенное расщепление фосфодиэфирной связи приводит к замедлению высвобождения активного децитабинового фрагмента, что продлевает клеточное воздействие препарата
Зебуларин	Снижение уровня экспрессии DNMT3A и DNMT3B, что приводит к уменьшению уровня метилирования ДНК и снижению жизнеспособности клеток ММ
ASTX727	Препарат, сочетающий децитабин с пероральным ингибитором цитидиндезаминазы E7727 (цедазуридин)
GSK126	Подавление миграции опухолевых клеток и ангиогенеза в клеточных линиях солидных опухолей за счет снижения экспрессии VEGF-A
Митрамицин A	Арест фаз G0/G1 и антиангиогенный эффект
Нанаомицин A	Специфическое ингибирование DNMT3B. Снижение глобального уровня метилирования ДНК, индуцирует цитотоксичность и уменьшение количества клеток ММ
EGCG	Ингибиция EZH2, снижение пролиферации и повышение апоптоза, влияние на ферменты DNMT при ММ неизвестно

В настоящем исследовании установлено, что мутантный статус генов неясного клинического значения *NOTCH1* и *ATM* значимо ухудшал прогноз для больных ММ. Так, в группе пациентов, у которых определялись мутации в гене *NOTCH1* или *ATM,* 3-летняя ВБП составляла 27,3 % (95% ДИ 8,0–83,5 %) в сравнении с 59 % (95% ДИ 42,3–82,9 %) у больных без указанных мутаций. При анализе показателей выживаемости методом Каплана—Мейера при наличии

хотя бы одной мутации в данных генах 3-летняя ОВ составила 64 % (95% ДИ 42,7–96,4 %), при их отсутствии — 95 % (95% ДИ 87–100 %).

Изучение механизмов эпигенетической регуляции привело в последние годы к поиску различных лекарственных средств, нацеленных на ее специфические звенья. Разрабатываемые препараты направлены на эпигенетические модификации как ДНК, так и гистонов. Основные используемые и дошедшие до клинических исследований препараты представлены в табл. 5 [8, 9]. В клинической практике наиболее успешно применяются два гипометилирующих препарата: децитабин и 5-азацитидин.

Децитабин (5-аза-2′-деоксицитидин) — гипометилирующий агент, аналог дезоксинуклеозида, в малых дозах приводит к деметилированию ДНК. При репликации ДНК это вещество включается в синтезируемые цепи и необратимо связывается с ДНК-метилтрансферазой (DNMT), препятствуя ее дальнейшей активности. Это вызывает неспецифическое деметилирование ДНК, в т. ч. CpG в промоторах генов-онкосупрессоров, что, в свою очередь, приводит к активации их экспрессии. Образование комплекса DNMT1 с децитабином может индуцировать апоптоз или дифференцировку клеток. Децитабин одобрен для лечения больных с МДС. Азацитидин, так же как и децитабин, ингибирует DNMT, но имеет более широкий спектр применения. Показана эффективность препарата при лечении МДС, ОМЛ и ХММЛ [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования последних лет проливают свет на сложный патогенез развития ММ, в частности на принципиальную связь между генетикой, эпигенетикой, аберрантными сигнальными путями. Понимание генетического профиля делает возможным поиск новых алгоритмов персонализированного лечения. ММ представляется динамичным заболеванием как в генетическом аспекте, так и в вопросах меняющихся подходов по оценке прогноза и выбору лечения с учетом биологических особенностей опухоли.

Представленные в настоящей работе результаты подтверждают, что сочетание разных генетических аномалий определяет течение ММ. На основе однофакторного анализа цитогенетических нарушений продемонстрировано наиболее значимое негативное влияние определения амплификации локуса 1q21/*CKS1B* на показатели ОВ (ОР 3,57; 95% ДИ 1,06–11,94; p = 0,039). Снижение показателей ВБП связано с t(4;14)(p16.3;q32) (ОР 20,04; 95% ДИ 1,81–221,58; p = 0,014), делецией локуса 13q34/*LAMP1* (ОР 9,03; 95% ДИ 1,46–55,89; p = 0,018). При многофакторном регрессионном анализе Кокса, включавшем данные цитогенетических исследований и NGS, наиболее значимое патогенное влияние на показатели ВБП оказывали мутации в гене неясного клинического значения *ATM* (ОР 3,04; 95% ДИ 1,07–8,63; p = 0,037), на показатели ОВ — в гене *NOTCH1* (ОР 11,58; 95% ДИ 1,45–92,28; p = 0,021).

В настоящем исследовании продемонстрировано, что мутационный статус генов метилирования ДНК не влияет значимо на частоту противоопухолевого ответа и показатели отдаленной выживаемости пациентов с ММ. Однако истинный потенциал паттернов метилирования ДНК и генов, участвующих в модификации метилирования ДНК, пока не определен. Необходимы дальнейшие исследования в этой области для стратификации рисков и коррекции терапевтической тактики. Возможно, со временем использование агентов, модулирующих метилирование ДНК, войдет в арсенал лечебных средств при ММ.

УВЕДОМЛЕНИЯ / ACKNOWLEDGMENT

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

DISCLOSURE. Authors declare no conflicts of interest.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ. Исследование не имело спонсорской поддержки.

FUNDING. This study received no external financial support.

ВКЛАД АВТОРОВ. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. При этом наибольший вклад распределен следующим образом.
Концепция и дизайн: Д.А. Чебыкина, Д.В. Кустова.
Сбор и обработка данных: Д.А. Чебыкина.
Предоставление материалов исследования: все авторы.
Анализ и интерпретация данных: все авторы.
Подготовка рукописи: Д.А. Чебыкина.
Окончательное одобрение рукописи: И.С. Мартынкевич.

AUTHOR CONTRIBUTION. All authors meet the ICMJE criteria for authorship and declare their special contribution as follows:
Conception and design: D.A. Chebykina, D.V. Kustova.
Data collection and processing: D.A. Chebykina.
Research materials provision: all authors.
Data analysis and interpretation: all authors.
Manuscript writing: D.A. Chebykina.
Final approval of manuscript: I.S. Martynkevich.

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на публикацию.

CONSENT FOR PUBLICATION. Written informed consent for publication was obtained from all patients.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ. Не требуется.

ETHICS APPROVAL. Not required.

ORCID

Д.А. Чебыкина — https://orcid.org/0009-0007-7528-0798

Е.В. Мотыко — https://orcid.org/0000-0002-6052-6472

А.Н. Кириенко — https://orcid.org/0000-0002-2519-306X

Д.В. Кустова — https://orcid.org/0000-0003-4546-5808
О.Б. Крысюк — https://orcid.org/0000-0002-5083-915X
С.В. Сидоркевич — https://orcid.org/0000-0001-9931-9406
И.С. Мартынкевич — https://orcid.org/0000-0001-5958-0490

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hervouet E, Peixoto P, Delage-Mourroux R, et al. Specific or not specific recruitment of DNMTs for DNA methylation, an epigenetic dilemma. Clin Epigenet. 2018;10:17. doi: 10.1186/s13148-018-0450-y.

2. Pawlyn C, Kaiser MF, Heuck C, et al. The spectrum and clinical impact of epigenetic modifier mutations in myeloma. Clin Cancer Res. 2016;22(23):5783–94. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-15-1790.

3. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, et al. Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma. Blood. 2018;132(6):587–97. doi: 10.1182/blood-2018-03-840132.

4. Jirabanditsakul C, Dakeng S, Kunacheewa C. Comparison of clinical characteristics and genetic aberrations of plasma cell disorders in Thailand population. Technol Cancer Res Treat. 2022;21:15330338221111228. doi: 10.1177/15330338221111228.

5. Luzna P, Weiser Drozdkova D, Flodrova P, et al. Global DNA methylation and increased DNMT3A expression in multiple myeloma patients. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2023;167(1):43–9. doi: 10.5507/bp.2022.006.

6. Nojima M, Maruyama R, Yasui H, et al. Genomic screening for genes silenced by DNA methylation revealed an association between RASD1 inactivation and dexamethasone resistance in multiple myeloma. Clin Cancer Res. 2009;15(13):4356–64. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-08-3336.

7. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2012;26(5):934–42. doi: 10.1038/leu.2011.326.

8. Maes K, De Smedt E, Lemaire M, et al. The role of DNA damage and repair in decitabine-mediated apoptosis in multiple myeloma. Oncotarget. 2014;5(10):3115–29. doi: 10.18632/oncotarget.1821.

9. Lavelle D, DeSimone J, Hankewych M, et al. Decitabine induces cell cycle arrest at the G1 phase via p21(WAF1) and the G2/M phase via the p38 MAP kinase pathway. Leukemia Res. 2003;27(11):999–1007. doi: 10.1016/s0145-2126(03)00068-7.

10. He P-F, Zhou J-D, Yao D-M, et al. Efficacy and safety of decitabine in treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia: A systematic review and metaanalysis. Oncotarget. 2017;8(25):41498–507. doi: 10.18632/oncotarget.17241.