

Úloha chromozomových aberací v patogenezi monoklonální gamapatie nejasného významu

Mikulášová A.^{1,2,3}, Kuglík P.^{1,2}, Smetana J.^{1,2}, Grešliková H.^{1,2}, Říhová L.^{1,3}, Klincová M.³, Hájek R.^{1,3,4}

¹Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

³Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Brno

⁴Interní hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno

SOUHRN

Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) je prekanceróza spojená s trvale vyšším rizikem vzniku mnohočetného myelomu (MM). Jedním z cílů současného molekulárně genetického přístupu k výzkumu MGUS je identifikace vhodných genetických markerů umožňujících vymezení vysoce rizikových osob s MGUS. Cytogenetickým vyšetřením bylo prokázáno, že již v prekancerózních plazmatických buňkách se vyskytují stejné chromozomové přestavby jako u MM, a to jak strukturní chromozomové abnormality, zejména primární translokace genu *IGH* (14q32), nejčastěji s chromozomovými oblastmi zahrnující geny *CCND1* (11q13), *FGFR3* (4p16) a *MAF* (16q23), tak početní změny určitých chromozomů, např. trizomie chromozomů 3, 5, 7, 9 a monozomie chromozomu 13. Doposud však nebyly identifikovány specifické chromozomové změny, které by dokázaly zcela spolehlivě předvídat riziko nádorového zvratu prekancerózy do plně rozvinutého nádorového stavu. Tato práce shrnuje aktuální poznatky o významu chromozomových aberací v patogenezi MGUS a v transformaci této prekancerózy do plně rozvinutého nádoru.

Klíčová slova: MGUS, monoklonální gamapatie, molekulární cytogenetika, chromozomové aberace

SUMMARY

Mikulášová A., Kuglík P., Smetana J., Grešliková H., Říhová L., Klincová M., Hájek R.: The role of chromosomal aberrations in pathogenesis of monoclonal gammopathy of undetermined significance

Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) is a precancerosis permanently associated with higher risk of progression into multiple myeloma (MM). One of the goals of the current molecular cytogenetic approach is identification of suitable genetic markers which distinguish high-risk MGUS patients. Cytogenetic analysis showed that the same chromosomal abnormalities found in MM, both structural and numerical, are already found in precancerous plasma cells. There are especially primary *IGH* (14q32) translocations, in most cases with chromosomal loci including genes *CCND1* (11q13), *FGFR3* (4p16) and *MAF* (16q23), as well as trisomies of chromosomes 3, 5, 7, 9 and monosomy of chromosome 13. However, specific chromosomal changes that could reliably predict the risk of transition from precancerosis into malignancy have not been identified. This paper summarizes the current knowledge about significance of chromosomal abnormalities in MGUS pathogenesis and in transformation from this precancerosis into tumor.

Keywords: MGUS, monoclonal gammopathies, molecular cytogenetics, chromosomal abnormalities

Úvod

Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) je prekanceróza, která je definována jako přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig) při současném nesplnění diagnostických kritérií mnohočetného myelomu (MM) či jiné příbuzné choroby [1]. Přívlástek „nejasného významu“ již sám naznačuje, že další osud těchto jedinců je nejasný. Jedinci s diagnózou MGUS mají nízké, ale trvale vyšší riziko vzniku nádorové choroby, nejčastěji v podobě MM, s frekvencí transformace asi 1 % ročně. Proto musí být jejich stav pravidelně monitorován s cílem časného zachytu přechodu do nádorového stavu. V současné době se považuje za prokázané, že MGUS předchází všem případům MM [2]. V čase stanovení diagnózy MGUS je tedy důležité rozeznat

ty jedince, u kterých dojde brzy k transformaci do MM, od těch, kteří budou vykazovat dlouhodobě stabilní bezpříznakový stav.

V popředí současného výzkumu patogeneze MGUS je proto snaha porozumět klíčovým mechanismům ovlivňujícím transformaci do MM. V minulosti bylo popsáno několik prognostických faktorů, jež umožňují stanovit riziko vzniku nádorového onemocnění a tedy individuální prognózu u části osob s MGUS, jmenovitě hladinu M-Ig v séru, izotyp těžkého řetězce M-Ig, infiltrace kostní dřeni plazmatickými buňkami, poměr volných lehkých řetězců kappa/lambda (FLC ratio) v séru či poměr fenotypově normálních a abnormálních populací plazmatických buněk v kostní dřeni [3, 4]. Pomocí známých modelů stratifikace rizika je na základě klinických parametrů možné určit skupiny osob s MGUS, u kterých

dochází k vývoji plně rozvinuté nádorové choroby v rozmezí od 0,26 % do 12 % ročně. Avšak vzhledem k nedostatku existence jasných fenotypových či genetických markerů je predikce transformace u jednotlivých osob těžká.

Nové vědecké a technologické pokroky v oblasti genomových a proteomových analýz umožňují stále detailnější poznávání dynamiky a funkčních aspektů jednotlivých nádorových onemocnění. Jedním z cílů současného molekulárně genetického přístupu k výzkumu MGUS je proto identifikace vhodných genetických markerů umožňujících vytvořit lepší ukazatele pro vymezení vysoce rizikových jedinců s MGUS, kteří budou kandidáty na včasnou léčebnou intervenci.

Podle dosavadních poznatků stojí za patogenezi MGUS několik základních, velmi časných a částečně se překrývajících genetických událostí, které vyžadují pro přechod do MM sérii dalších sekundárních genetických a epigenetických jevů na různých úrovních genomu.

Za jeden z nejdůležitějších nezávislých prognostických faktorů u monoklonálních gamapatií je obecně považován nález klonálních chromozomových aberací v plazmatických buňkách kostní dřene. Určení chromozomových změn u MGUS vede k hlubšímu poznání příčin vzniku a vývoje MM a může být užitečné pro stratifikaci jedinců. Současné poznatky o významu chromozomových aberací u MGUS by se daly shrnout do následujících bodů:

1. Bylo potvrzeno, že v plazmatických buňkách osob s MGUS můžeme nalézt stejné genetické subtypy, se kterými se setkáváme u MM - tyto změny však pravděpodobně samy o sobě nejsou dostatečné pro vývoj plně rozvinutého nádorového procesu;
2. Spektrum jednotlivých chromozomových abnormalit nalézáných u osob s MGUS je značně podobné nálezům u pacientů s MM - existuje zde hyperdiploidní subtyp charakteristický četnými trizomiemi tzv. „lichých“ chromozomů (3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 a 21) a menším výskytem translokace genu *IGH*, a non-hyperdiploidní skupina, pro kterou je typická vyšší četnost translokací genu *IGH*;
3. Většina popsaných chromozomových abnormalit u MGUS nenese žádnou či má velmi malou prognostickou hodnotu ve vztahu k transformaci do MM.

Tato práce pojednává o přítomnosti jednotlivých cytogenetických abnormalit a jejich úloze v patogenezi MGUS a transformaci této prekancerózy do nádorové choroby.

Úloha chromozomových aberací v patogenezi monoklonálních gamapatií

Chromozomová instabilita je jednou z vlastností nádorových buněk. Ta se může manifestovat buďto změnami v počtu nebo změnami ve struktuře chromozomů, jako jsou translokace, inverze, delece či amplifikace. Všechny tyto přestavby vedou ve svém důsledku ke změnám v expresi genů, deregulaci buněk a následně v nádorovou transformaci. Je známo, že chromozomové aberace mají významnou prognostickou či predik-

tivní hodnotu u řady krevních nádorových onemocnění a s velkou pravděpodobností tedy hrají důležitou roli i ve vzniku a vývoji monoklonálních gamapatií. Zatímco u řady nádorových chorob bývá základní metodou hodnocení chromozomů klasická neboli konvenční cytogenetická analýza založená na vyšetření karyotypu pomocí G-pruhování, u monoklonálních gamapatií je tento klasický přístup díky nízké proliferativní aktivitě plazmatických buněk *in vitro* málo efektivní [5]. Velkým přínosem pro cytogenetiku monoklonálních gamapatií byl proto rozvoj metod molekulární cytogenetiky, zejména techniky interfázní fluorescenční *in situ* hybridizace (I-FISH), pomocí které je možné vyšetřit specifické chromozomové aberace v nedělicích se plazmatických buňkách identifikovaných v preparátech kostní dřene pomocí imunobarvení či získaných pomocí separačních technik [6, 7].

Prognostický význam jednotlivých chromozomových aberací ve skupině monoklonálních gamapatií byl v minulých letech intenzivně studován a potvrzen především u pacientů s MM. Na základě výstupu Evropské myelomové sítě (EMN) je doporučováno provést u nově diagnostikovaných pacientů s MM molekulárně cytogenetické vyšetření základního panelu chromozomových aberací s negativním prognostickým významem. Do této skupiny patří delece genu *TP53*, ztráta chromozomu 13, t(4;14) a t(14;16) [8]. Mezi další specifické změny, jež je doporučeno zařadit do rozšířeného panelu vyšetřovaných chromozomových aberací, patří stanovení hyperdiploidie/non-hyperdiploidie, t(11;14) a abnormality chromozomu 1 (delece 1p a zisk 1q) [9].

Řada prací prokázala, že stejné chromozomové aberace, které se vyskytují u nemocných s MM, jsou nalézány i u jedinců s MGUS, avšak o prognostickém významu těchto změn, stejně tak jako o jejich úloze v transformaci MGUS do nádorové choroby, existují v literatuře rozporuplné názory. V následujících odstavcích shrnujeme současné informace o významu a zastoupení těchto specifických chromozomových odchylek u MGUS.

Chromozomové aberace jako časně události ve vývoji MGUS

Podle dosavadních poznatků existuje u monoklonálních gamapatií několik velmi časných a částečně se překrývajících molekulárně genetických událostí (obr. 1). Patří mezi ně zejména primární translokace zahrnující gen pro těžký řetězec imunoglobulinu (*IGH*), trizomie postihující liché chromozomy a deleční změny chromozomu 13 [10].

Translokace zahrnující gen *IGH*

Translokace postihující gen *IGH* v oblasti 14q32 představují nejčastější strukturní chromozomové přestavby u MGUS i u MM. Pomocí FISH je translokace možné nalézt u 48 % osob s MGUS a až u 73 % pacientů s MM [12]. Již na základě této vysoké četnosti u MGUS i u MM se usuzuje, že jsou tyto translokace časnou událostí ve vzniku monoklonálních gamapatií,

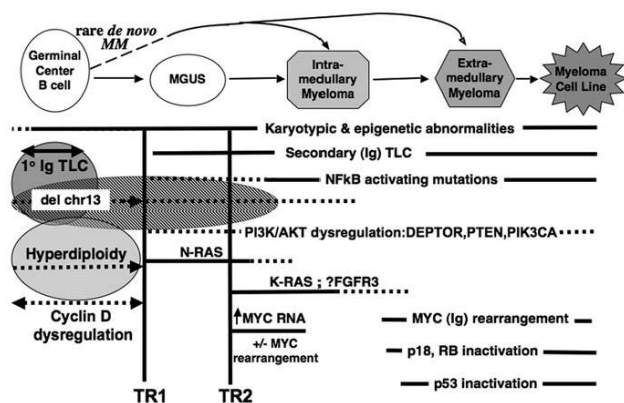


Fig. 1. Molecular pathogenesis of MGUS and MM. Four early and partially overlapping events are shared by MGUS and MM tumors, but it is not clear what other events are necessary for the transition to a pre-malignant MGUS tumor. Some events (e.g. karyotypic abnormalities) probably can occur at any stage of pathogenesis, whereas other events (e.g., p53 inactivation) might occur mainly at late stages of tumor progression. Two events (deletion chr13 and activating *K-RAS* mutations) may be associated with the transition (TR2) from MGUS to MM for some tumors, whereas a third event (increased *MYC* expression and sometimes *MYC* locus rearrangements) may be more universally involved in this transition. Note that *MYC*(Ig) rearrangements can also occur as a late progression event. Adapter from the Zingone a Kuehl [11].

a tedy nedostatečným zásahem pro nádorovou transformaci MGUS do MM [13]. Podstatou významu translokací zahrnující gen *IGH* je změna exprese onkogenů, které se nacházejí v partnerských chromozomových oblastech. Onkogeny se v důsledku translokace dostávají k oblasti zesilovačů transkripce genu *IGH*, což vede k jejich zvýšené expresi. Popsány jsou dva typy translokací: primární a sekundární [10].

Primární translokace jsou ve většině případů jednoduché reciproké translokace, jež jsou přítomny ve všech nádorových buňkách jedinců, a postihují gen *IGH* v blízkosti tzv. „switch regionu“. U MM bylo popsáno 7 opakujících se primárních translokací genu *IGH*. Dle typu translokační chromozomové oblasti se rozdělují na tři skupiny [10]. První skupinou jsou translokace postihující geny pro cykliny D v oblastech 11q13 (*CCND1*), 12p13 (*CCND2*) a 6p21 (*CCND3*). Druhou skupinu tvoří translokace zasahující geny *MAF* v oblastech 16q23 (*MAF*), 20q12 (*MAFB*) a 8q24.3 (*MAFA*). Třetí skupina translokací postihuje onkogeny v oblasti 4p16 (*MMSET* a *FGFR3*). Pět z těchto translokačních partnerů (kromě 12p13 a 8q24.3) bylo pozorováno u MGUS. Mezi obecně nejčastější partnerské translokační oblasti u monoklonálních gamapatií patří 11q13, 4p16 a 16q23. **Translokace t(11;14)** se objevuje u 13% případů MGUS a u 16% případů MM [12]. Přítomnost t(11;14) u MM je příznivým prognostickým faktorem [15]. Některé studie však příznivý prognostický význam t(11;14) u MGUS v souvislosti s transformací do MM [6, 17]. **Translokace t(4;14)** je u osob s MGUS popisována u méně než 10% jedinců. [6]. U pacientů s MM se t(4;14) vyskytuje u 14% případů a její přítomnost je spojena s velmi nepříznivou prognózou [18].

Prognostický význam t(4;14) v souvislosti s přechodem MGUS do MM je nejistý. Některé práce se kloní k názoru, že přítomnost t(4;14) souvisí s vyšší pravděpodobností vzniku rozvinuté nádorové choroby, jiné práce ovšem tuto myšlenku vyvrací [12, 14]. **Translokace t(14;16)** je u osob s MGUS vzácným nálezem a u pacientů s MM se vyskytuje asi jen u 2% nemocných [12]. Zatímco je přítomnost t(14;16) u MM spojena s kratším přežíváním při léčbě konvenční chemoterapií, prognostická hodnota ve vztahu k transformaci MGUS do MM je podobně sporná jako je tomu v případě t(4;14).

Sekundární translokace jsou zpravidla přítomny jen v některých nádorových buňkách a jsou často doprovázeny komplexními přestavbami a nebalancovanými změnami (duplikace, delece apod.). Nejčastěji zmiňovaným typem sekundární translokace je translokace zahrnující onkogen *MYC* v oblasti 8q24. Zatímco u osob s MGUS tento typ translokace pravděpodobně nelze nalézt, u pacientů s MM se vyskytuje až u 15% případů [19].

Změny v počtu chromozomů a abnormality chromozomu 13

Monoklonální gamapatie jsou charakteristické vysokou četností změn v počtu jednotlivých chromozomů, tzv. aneuploidií [20, 21]. Trizomie se často objevují u chromozomů 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 a 21. Monozomie postihují nejčastěji chromozomy 13, 14, 16, 17 a 22. Podle celkového počtu chromozomů lze osoby s MGUS i pacienty s MM rozdělit do dvou skupin: hyperdiploidní a non hyperdiploidní [20, 22]. Hyperdiploidie je stav, kdy se v karyotypu plazmatických buněk vyskytuje 47 až 74 chromozomů. Non-hyperdiploidie v sobě zahrnuje další čtyři varianty v počtu chromozomů: hypodiploidie (méně než 44 chromozomů), pseudodiploidie (45 až 46 chromozomů), diploidie (normální počet 46 chromozomů) a tetraploidie (více než 75 chromozomů). Hyperdiploidie, tedy potažmo i non-hyperdiploidie, se u MGUS a u MM vyskytuje v podobném zastoupení (asi 50%) [23]. Non-hyperdiploidní varianta je obecně asociována s vyšším výskytem strukturních chromozomových abe-rací. Bylo ukázáno, že pět základních primárních translokací, tedy t(11;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20) a t(6;14), asociují s non-hyperdiploidí dokonce až u 94% MGUS a 73% MM [14]. Jinak je tomu v případě sekundárních translokací, jako je např. t(8;14), u nichž nebylo prokázáno rozdílné zastoupení mezi hyperdiploidní a non-hyperdiploidní variantou monoklonálních gamapatií, což podporuje hypotézu, že sekundární translokace nejsou časně, ale spíše pozdně vznikající strukturní chromozomové přestavby [24].

Monozomie je u MGUS i u MM nejčastěji popisována u chromozomu 13 [6, 20]. Četnost monozomie chromozomu 13 u MGUS je udávána různá. Některé studie popisují u MGUS podstatně nižší četnost této chromozomové aberace než u MM (asi 21%), jiné však udávají četnost srovnatelnou (50%) [6, 12]. Zda je tedy ztráta chromozomu 13 časnou událostí nebo je zapojena do procesu transformace MGUS do MM

není zcela jasné. Určité vysvětlení podává práce, která poukazuje na to, že ztráta chromozomu 13 je u MGUS i u MM silně a velmi podobně asociována s t(4;14) (~90 %) a t(14;16) (~70 %), zatímco v případech t(11;14) je asociace velmi slabá a různá u MGUS (4 %) oproti MM (40 %) [14]. Tyto nálezy naznačují, že monozomie chromozomu 13 je pravděpodobně časnou událostí u jedinců nesoucích t(4;14) či t(14;16), avšak událostí zapojenou do transformace MGUS do MM u jedinců nesoucích t(11;14).

Monozomie chromozomu 13 je nejčastější změnou postihující tento chromozom [25]. V některých případech však nemusí docházet ke ztrátě celého chromozomu, ale jen k delecím určitých oblastí [26]. Důležitou oblastí, která bývá u chromozomu 13 ztracena, je oblast zahrnující významný nádorový supresorový gen *RB1* (13q14). Výskyt, a tedy i prognostický význam, delece genu *RB1* je u MGUS podobně sporný jako je tomu u ztráty celého chromozomu (20 % nebo 45 %) [13, 17]. U MM se delece genu *RB1* vyskytuje asi u 50 % nemocných [27].

Genetické abnormality zapojené do transformace MGUS do nádorové choroby

Zatímco u MM byly popsány některé získané genetické změny, jež mají souvislost s postupným vývojem nádorového onemocnění, např. homozygotní delece genu *CDKN2C* (1q32), inaktivace genu *TP53* (17p13) či přestavby genu *MYC* (8q24), u MGUS zůstávají genetické zásahy související s transformací do nádorového stavu nejasné [9]. Jak již bylo zmíněno výše, nepříznivou prognózu mají osoby s MGUS nesoucí současně ztrátu chromozomu 13 a t(11;14) popř. t(6;14) [14]. Určitou podezřelou strukturální aberací je zmnožení sekvence v oblasti 1q21 zahrnující gen *CKS1B*, která se vyskytuje asi u 15 % osob s MGUS a přibližně u 50 % pacientů s MM [28, 29].

Významným genem, u kterého se předpokládá úloha v transformaci MGUS do MM, je onkogen *MYC*, jehož význam prokazuje např. studie na myšším modelu MGUS, u kterého aktivace *MYC* vedla k rychlému přechodu do MM [30]. Deregulace *MYC* je často způsobena translokací tohoto genu například s genem *IGH* či s některým z genů pro lehký řetězec imunoglobulinu (*IGK* – kappa, *IGL* – lambda) [19]. Předpokládá se však, že aktivace *MYC* může být také důsledkem aktivačních mutací v genech *RAS*, což podporuje studie na modelu fibroblastových buněčných linií, u kterých zvýšení aktivity *RAS* vyústila v následnou aktivaci *MYC* [31].

Určitá role se předpokládá u aktivačních mutací již zmíněných genů rodiny *RAS*, tedy *KRAS* (12p12) a *NRAS* (1p13). Zatímco u MGUS byla popsána pouze mutace *NRAS* (7 %), u MM jsou popisovány mutace v obou genech, a to v podobné četnosti (15 %) [11]. Tyto nálezy naznačují, že úloha genů *NRAS* a *KRAS* v onkogenezi není rovnocenná, jak se dříve předpokládalo, a že změny genu *KRAS* mohou být zapojeny do transformace MGUS do MM [32].

Lze tedy shrnout, že současné poznatky o úloze genetických abnormalit v transformaci MGUS do MM či jiného nádorového onemocnění jsou značně nedostatečné a pro potvrzení významu dnes podezřelých genů jsou potřeba další studie.

Nový pohled na problematiku transformace MGUS do MM přináší práce, které se zaměřují nejen na studium přítomnosti chromozomových aberací, ale zejména na samotnou proporcii abnormálních plazmatických buněk nesoucí tyto aberace. U osob s MGUS se vyskytuje významně menší proporce geneticky abnormálních plazmatických buněk než je tomu u pacientů s MM (obr. 2) [33]. Samotná transformace MGUS do MM je tedy nejspíše důsledkem klonální expanze určitého klonu geneticky abnormálních plazmatických buněk. Lze uvažovat, že samotné riziko přechodu MGUS do MM může být posuzováno i na základě procentuálního zastoupení geneticky abnormálních buněk.

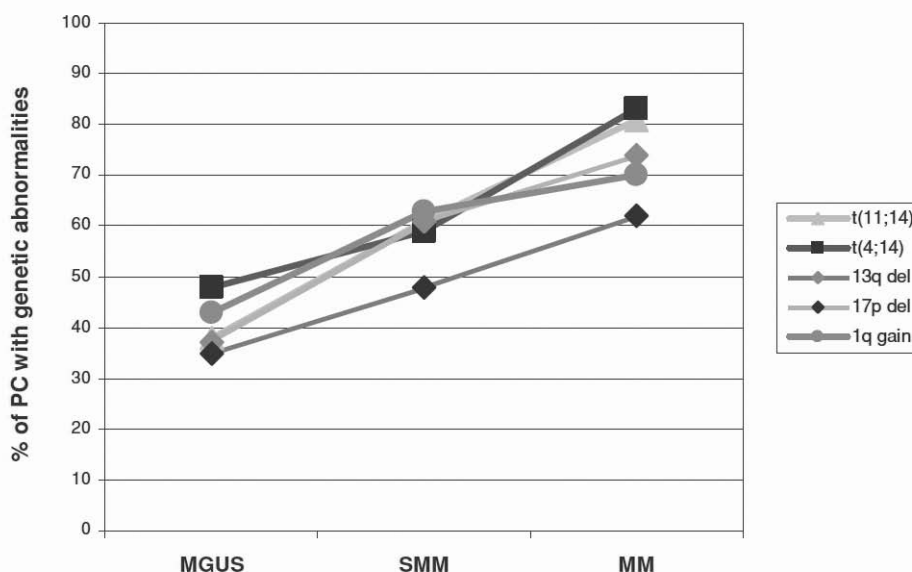


Fig. 2. Median percentage of PCs with genetic abnormalities in MGUS, smouldering MM (SMM), and MM. The number of PCs-bearing cytogenetic abnormalities increases from MGUS to SMM and to MM. Adapted from the López-Corral et al. [33].

Existence klonální heterogenity a klonální expanze byla také tématem několika studií, jež byly prezentovány na konferenci ASH v roce 2011. Za zmínku jistě stojí práce španělské skupiny, která pomocí speciální mikročipové technologie (SNP-array) prokázala, že během transformace MGUS do MM dochází ke změnám cytogenetického profilu a ke klonální selekci a expanzi určitého geneticky abnormálního klonu, který je přítomen již ve fázi MGUS jako jeden z několika minoritních klonů (obr. 3) [34].

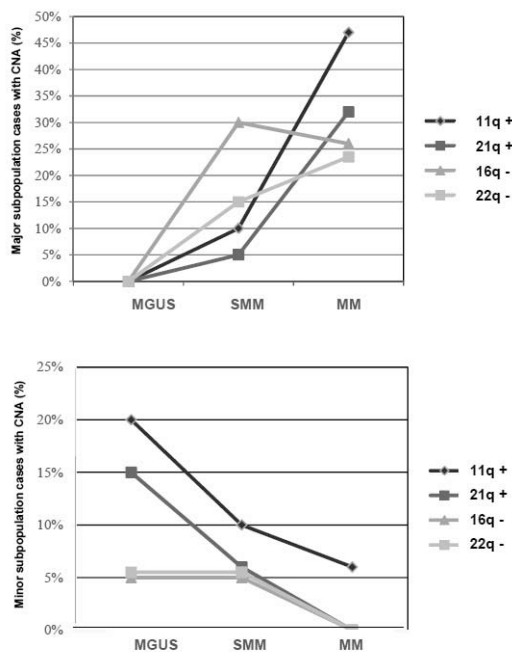


Fig. 3. The subclones analysis in MGUS, SMM and MM. Percentage of MGUS, SMM and MM cases with copy number abnormalities (11q gain, 21q gain, 16q del and 22q del) as major and minor subclones. Adapted from the López-Corral et al. [34].

Závěr

V současné době existuje velké množství studií, které ukazují, že na molekulární úrovni existuje určitá rozdílnost mezi MGUS a MM, ať už v četnosti různých genetických abnormalit ve skupině jedinců, tak v zastoupení geneticky abnormálních plazmatických buněk u konkrétních osob. Tyto rozdílnosti však nejsou stále dostačující. Zatímco tedy pomocí klinických diagnostických kritérií je stav MGUS od MM striktně rozlišitelný, spolehlivé biologické markery, které by buď jasně prekancerózu od plně rozvinutého nádorového stavu odlišily či předpovídaly transformaci, chybí či jsou sporné. Nedostatečnost v pochopení patogeneze a transformace MGUS do nádorové choroby jistě souvisí i s doposud nepřesnými daty vznikajícími na základně srovnání odlišné skupiny osob s MGUS a pacientů s MM. Budoucnost si tedy žádá především studie, které by provedly analýzu na velkém počtu vzorků od stejných osob s MGUS před a po transformaci do nádorové choroby. Lepší pochopení patogeneze MGUS na genetické úrovni by pak mělo v budoucnu napomoci k vytvoření účinnějšího prognostického panelu a vymezení

vysoce rizikových osob s MGUS, které budou kandidáty pro „preventivní“ léčebnou intervenci, od které se očekává, že přinese možnost, jak oddálit transformaci do nádorového onemocnění, nebo dokáže vzniku nádorové choroby zcela zabránit.

Literatura

- International Myeloma Working Group.** Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br. J. Haematol.*, 2003, roč. 121, č. 5, s. 749-757.
- Landgren, O., Kyle, R. A., Pfeiffer, R. M. et al.** Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*, 2009, roč. 113, č. 22, s. 5412-5417.
- Rajkumar, S. V., Kyle, R. A., Therneau, T. M. et al.** Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, roč. 106, č. 3, s. 812-817.
- Pérez-Persona, E., Vidriales, M. B., Mateo, G. et al.** New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood*, 2007, roč. 110, č. 7, s. 2586-2592.
- Kuglík, P., Vranová, V., Filková, H.** Metody klasické a molekulární cytogenetiky v diagnostice mnohočetného myelomu. *Klin. Onkol.*, 2008, roč. 21, Suppl. 1, s. 198-203.
- Fonseca, R., Bailey, R. J., Ahmann, G. J., et al.** Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2002, roč. 100, č. 4, s. 1417-1424.
- Burešová, I., Čumová, J., Kovářová, L. et al.** Srovnání selekce plazmatických buněk metodami FACS a MACS. *Klin. Onkol.*, 2008, roč. 21, Suppl. 1, s. 195-197.
- Ross, F. M., Avet-Loiseau, H., Drach, J., Hernandez Rivas, J. M., Liebisch, P.** European myeloma network recommendations for FISH in myeloma (Abstract). *Haematologica*, 2007, roč. 92, č. 6, Suppl 2, s. 100-101.
- Fonseca, R., Bergsagel, P. L., Drach, J. et al.** International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*, 2009, roč. 23, č. 12, s. 2210-2221.
- Chng, W. J., Glebov, O., Bergsagel, P. L., Kuehl, W. M.** Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2007, roč. 20, č. 4, s. 571-596.
- Zingone, A., Kuehl, W. M.** Pathogenesis of monoclonal gammopathy of undetermined significance and progression to multiple myeloma. *Semin. Hematol.*, 2011, roč. 48, č. 1, s. 4-12.
- Avet-Loiseau, H., Facon, T., Grosbois, B. et al.** Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood*, 2002, roč. 99, č. 6, s. 2185-2191.
- Kaufmann, H., Ackermann, J., Baldia, C. et al.** Both IGH translocations and chromosome 13q deletions are early events in monoclonal gammopathy of undetermined significance and do not evolve during transition

- to multiple myeloma. *Leukemia*, 2004, roč. 18, č. 11, s. 1879-1882.
14. **Chiecchio, L., Dagrada, G. P., Ibrahim, A. H. et al.** Timing of acquisition of deletion 13 in plasma cell dyscrasias is dependent on genetic context. *Haematologica*, 2009, roč. 94, č. 12, s. 1708-1713.
 15. **Gertz, M. A., Lacy, M. Q., Dispenzieri, A. et al.** 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, roč. 106, č. 8, s. 2837-2840.
 16. **Chang, H., Qi, X. Y., Stewart, A. K.** t(11;14) does not predict long-term survival in myeloma. *Leukemia*, 2005, roč. 19, č. 6, s. 1078-1079.
 17. **Avet-Loiseau, H., Facon, T., Daviet, A. et al.** 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. *Cancer Res.*, 1999, roč. 59, č. 18, s. 4546-4550.
 18. **Avet-Loiseau, H., Attal, M., Moreau, P. et al.** Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*, 2007, roč. 109, č. 8, s. 3489-3495.
 19. **Avet-Loiseau, H., Gerson, F., Magrangeas, F., Minvielle, S., Harousseau, J. L., Bataille, R.** Rearrangements of the c-myc oncogene are present in 15% of primary human multiple myeloma tumors. *Blood*, 2001, roč. 98, č. 10, s. 3082-3086.
 20. **Debes-Marun, C. S., Dewald, G. W., Bryant, S. et al.** Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. *Leukemia*, 2003, roč. 17, č. 2, s. 427-436.
 21. **Drach, J., Angerler, J., Schuster, J. et al.** Interphase fluorescence in situ hybridization identifies chromosomal abnormalities in plasma cells from patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 1995, roč. 86, č. 10, s. 3915-3921.
 22. **Chng, W. J., Van Wier, S. A., Ahmann, G. J. et al.** A validated FISH trisomy index demonstrates the hyperdiploid and nonhyperdiploid dichotomy in MGUS. *Blood*, 2005, roč. 106, č. 6, s. 2156-2161.
 23. **Weiss, B. M., Kuehl, W. M.** Advances in understanding monoclonal gammopathy of undetermined significance as a precursor of multiple myeloma. *Expert Rev. Hematol.*, 2010, roč. 3, č. 2, s. 165-174.
 24. **Dib, A., Gabrea, A., Glebov, O. K., Bergsagel, P. L., Kuehl, W. M.** Characterization of MYC translocations in multiple myeloma cell lines. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 2008, č. 39, s. 25-31.
 25. **Avet-Loiseau, H., Daviet, A., Sauner, S., Bataille, R.** Chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br. J. Haematol.*, 2000, roč. 111, č. 4, s. 1116-1117.
 26. **Shaughnessy, J., Tian, E., Sawyer, J. et al.** High incidence of chromosome 13 deletion in multiple myeloma detected by multiprobe interphase FISH. *Blood*, 2000, roč. 96, č. 4, s. 1505-1511.
 27. **Königsberg, R., Ackermann, J., Kaufmann, H. et al.** Deletions of chromosome 13q in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia*, 2000, roč. 14, č. 11, s. 1975-1979.
 28. **Bochtler, T., Hegenbart, U., Cremer, F. W. et al.** Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood*, 2008, roč. 111, č. 9, s. 4700-4705.
 29. **Hanamura, I., Stewart, J. P., Huang, Y. et al.** 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, roč. 108, č. 5, s. 1724-1732.
 30. **Chesi, M., Robbani, D. F., Sebag, M. et al.** AID-dependent activation of a MYC transgene induces multiple myeloma in a conditional mouse model of post-germinal center malignancies. *Cancer Cell*, 2008, roč. 13, č. 2, s. 167-180.
 31. **Kerckhoff, E., Houben, R., Löffler, S., Troppmair, J., Lee, J. E., Rapp, U. R.** Regulation of c-myc expression by Ras/Raf signalling. *Oncogene*, 1998, roč. 16, č. 2, s. 211-216.
 32. **Haigis, K. M., Kendall, K. R., Wang, Y. et al.** Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon. *Nat. Genet.*, 2008, roč. 40, č. 5, s. 600-608.
 33. **López-Corral, L., Gutiérrez, N. C., Vidriales, M. B. et al.** The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin. Cancer Res.*, 2011a, roč. 17, č. 7, s. 1692-1700.
 34. **López-Corral, L., Sarasquete, M. E., Beà, S., et al.** SNP-Based Mapping Arrays Reveal High Genomic Complexity in Monoclonal Gammopathies: From the MGUS to Myeloma Status. *Blood*, 2011b, roč. 118, č. 21, abstrakt 295.
- Tato práce byla podpořena výzkumnými záměry Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy MSM0021622434 a MSM0021622415, grantem Grantové agentury České republiky GAP304/10/1395 a granty Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví: NT11154-4, NS10406-3 a NT12130-4. Autor práce je stipendista programu Brno Ph.D. talent – financuje statutární město Brno.*
- Do redakce došlo 27. 2. 2012

Adresa pro korespondenci:
 Mgr. Aneta Mikulášová
 Lékařská fakulta, MU
 Kamenice 5 / pavilon A3
 625 00 Brno
 amikulas@med.muni.cz