

# Molekulárně cytogenetická detekce chromozomálních abnormalit 1q21 u mnohočetného myelomu a jejich prognostický význam

Pavel Němec

doc. MUDr. Roman Hájek, CSc.

doc. RNDr. Petr Kuglík, CSc.

Oddělení lékařské genetiky (OLG) FN Brno

Oddělení klinické hematologie (OKH) FN Brno

Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie (LEHABI)

Integrované laboratoře biomedicínských technologií MU Brno (ILBIT)



# Studie popisující abnormality chromozomu 1 u mnohočetného myelomu

Sawyer et al., 1995

Abnormality 1q časté v metafázních jádrech MM

Avet-Loiseau et al, 1997

1q amplifikace detekována zhruba u 45% MM

Sawyer et al., 2005

Tandemové duplikace, jumping translokace 1q21 časté u MM

Smajda et al, 2001, Shaughnessy et al., 2003 et 2005

Amplifikace 1q21 u MM spojena se špatnou prognózou

Inoue et al., 2004

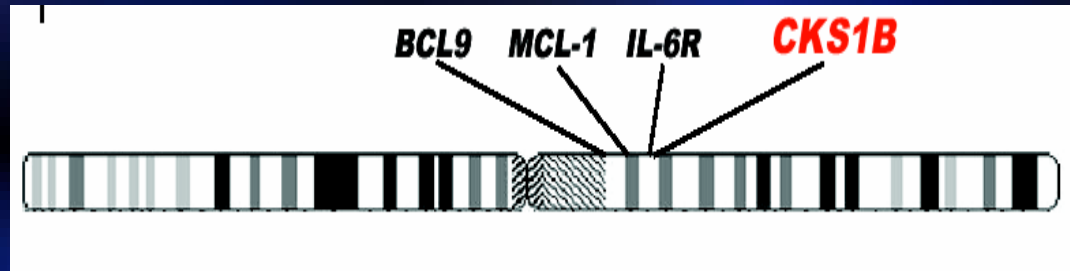
Zvýšená exprese genů v amplifikované oblasti 1q12-1q22 spojena se vznikem rezistence k terapeutickým agens

Cremer et al., 2005

Rozdělení pacientů do 4 rizikových skupin podle cytogenetické analýzy

# Gen CKS1B v oblasti 1q21

Shaugnessy et al., 2005



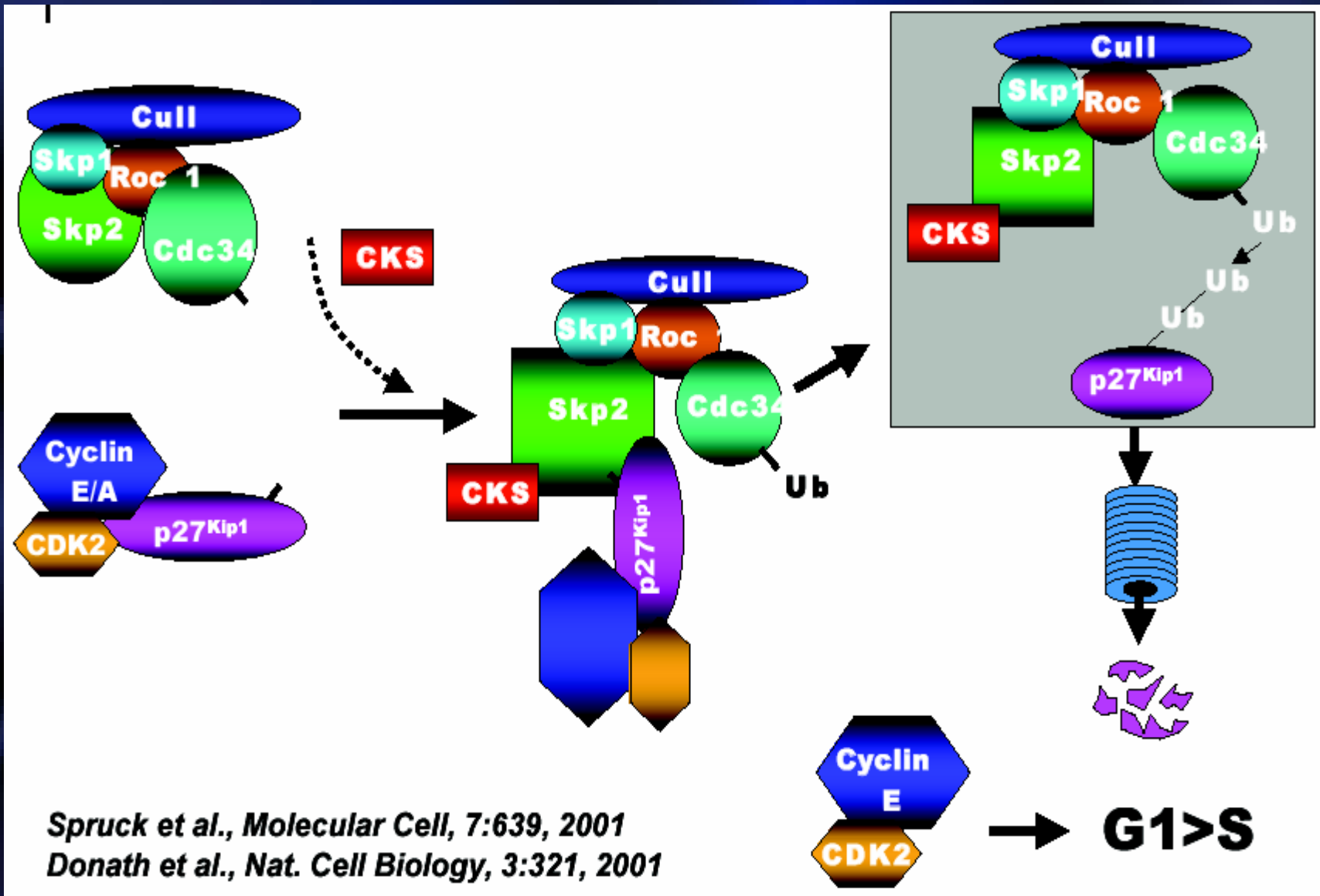
**CKS1** – 19kD protein, významná role v ubiquitin-proteasomové degradaci, kofaktor SCF<sup>Skp2</sup> - ligázy

CKS1 spouští SCF<sup>Skp2</sup> ubiquitinaci p27<sup>Kip1</sup> a jeho následnou degradaci v proteazomu

p27<sup>Kip1</sup> inhibitor cyklin dependentních kináz

„Ubiquitylation of p21 and p27 by SCF<sup>Skp2</sup> also requires an accessory factor called Cks1, which promotes the binding of phosphorylated p27 to Skp2.“

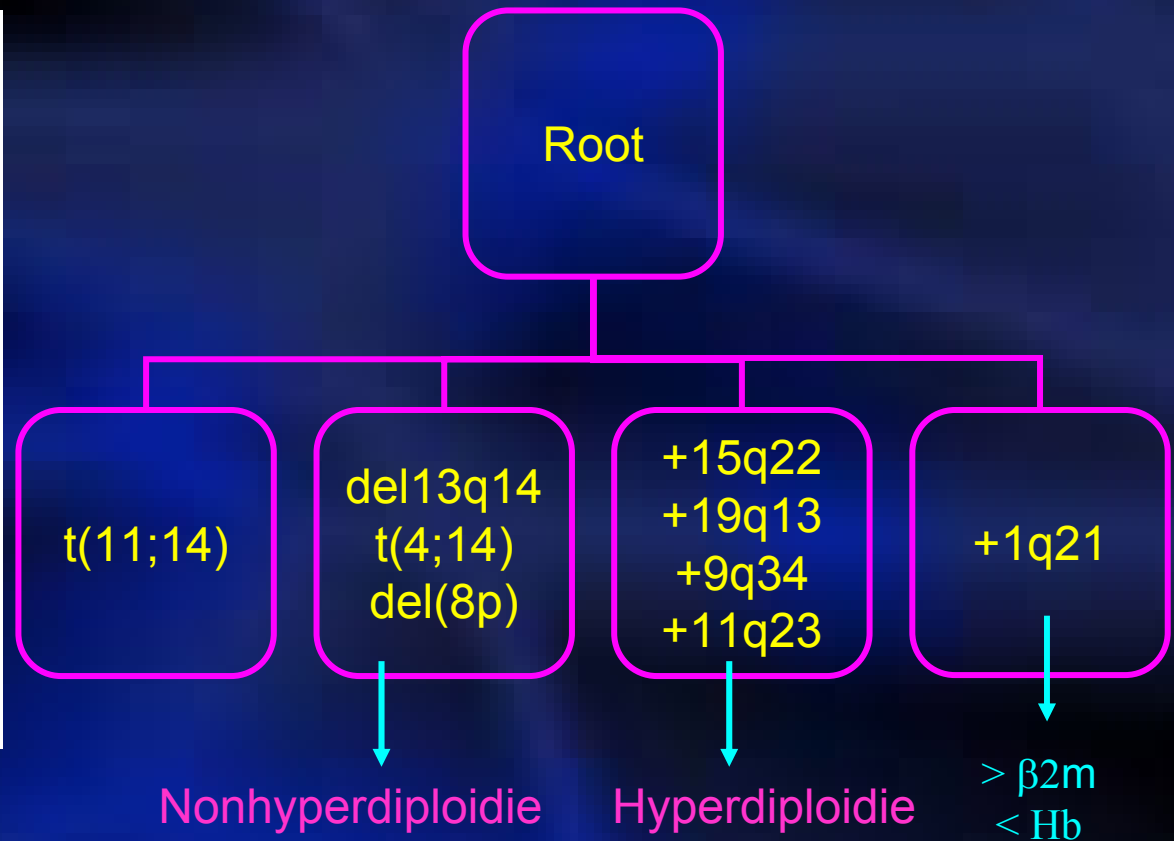
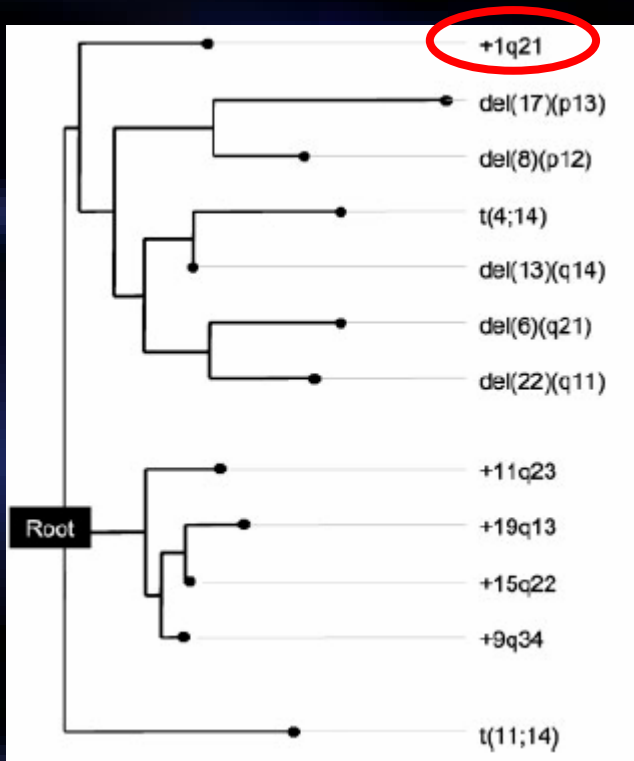
# Ubiquitin–proteasomová degradace p27<sup>Kip1</sup>



# Rozdělení pacientů do 4 skupin podle FISH analýzy

Cremer et al., 2005

*Delineation of distinct subgroups of multiple myeloma and a model for clonal evolution based on interphase cytogenetics*

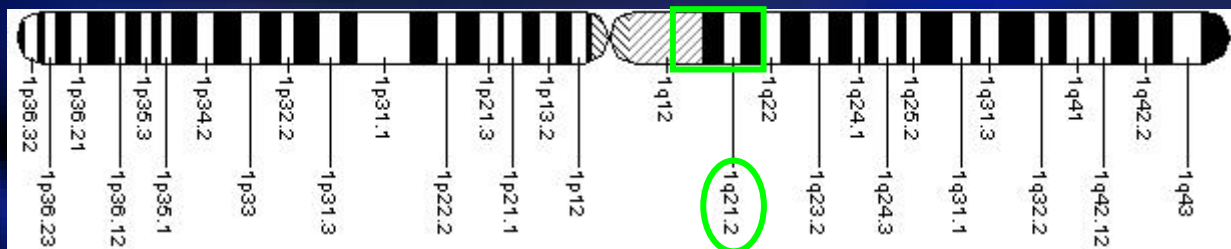


# Soubor pacientů vyšetřených sondou 1q21/8p21

1q21/8p21 - komerčně dostupná sonda (Q-Biogene)

Zdravá buňka: dva zelené signály 1q21 a dva červené signály 8p21

Patologická buňka: obvykle  $\geq 3$  zelené signály a/nebo 1 červený signál



Vyšetřeno celkem: 12 pacientů

Neinformativních výsledkek: 2

Normální nález 1q21: 1

Patologický nález 1q21: 9

Normální nález 8p21: 6

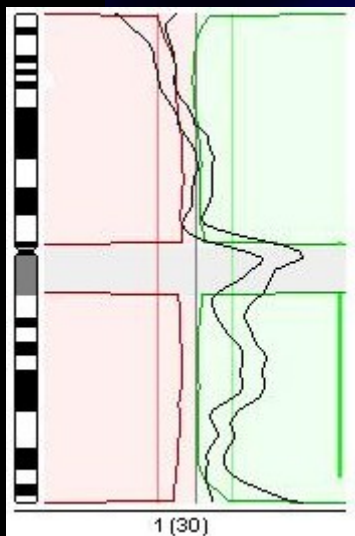
Patologický nález 8p21: 4

Absolutní počet MM buněk s amplifikací 1q21 (suma z 6 pacientů)

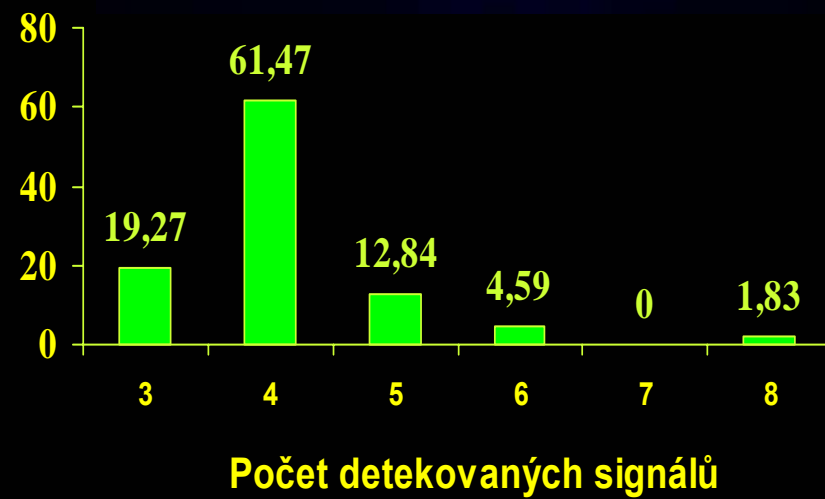
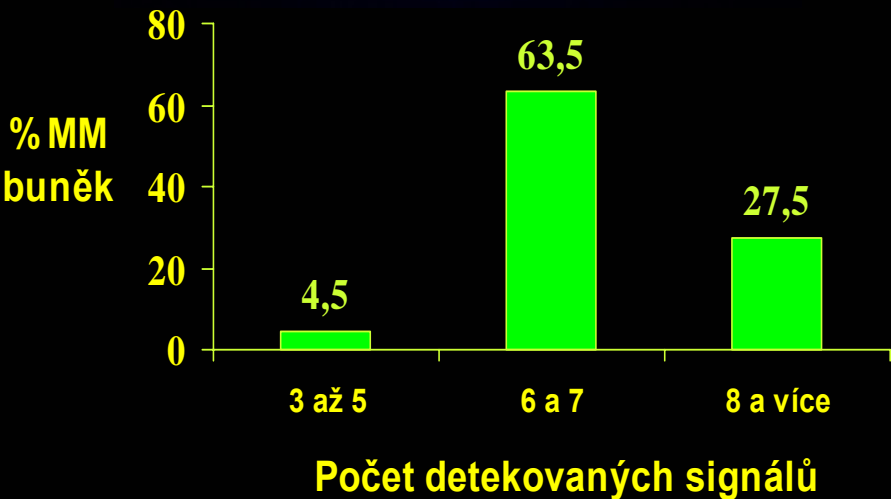
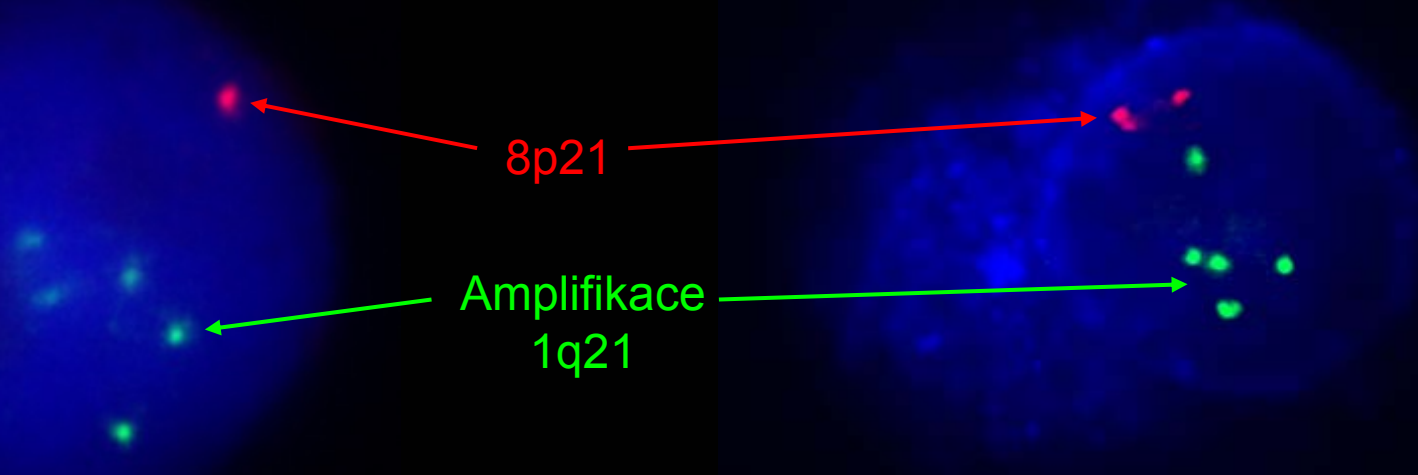


# Distribuce FISH signálů 1q21 v myelomových buňkách pacientů

1039/05 FISH

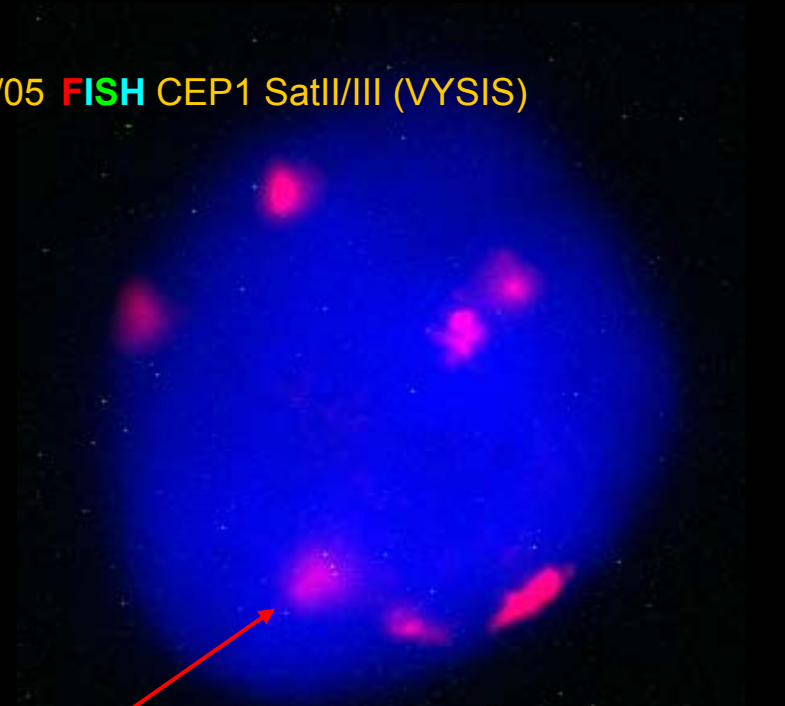


904/05 FICTION



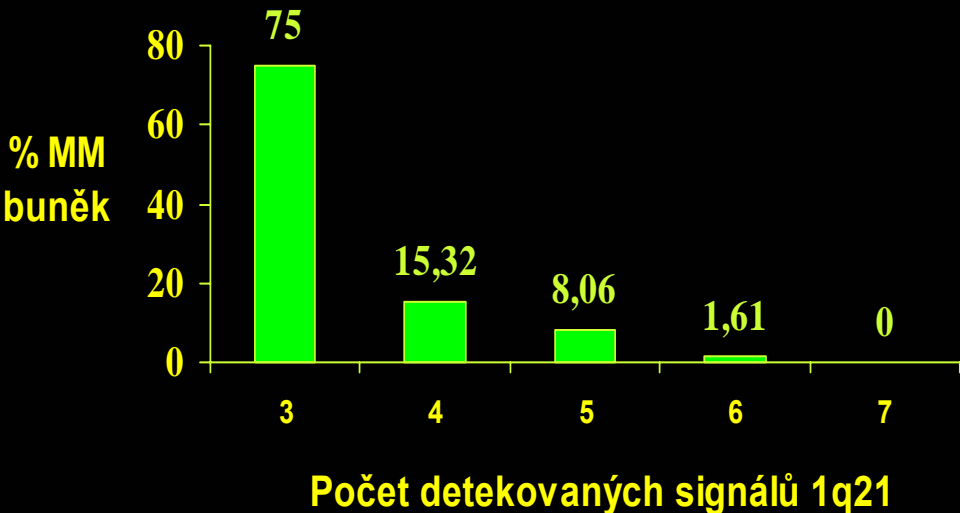
# Porovnání distribuce **FISH** signálů **1q12** a **1q21** u téhož pacienta

183/05 **FISH** CEP1 SatII/III (VYSIS)



Sat II/III 1q12

K amplifikaci dochází nejen v oblasti **1q21** ale amplifikuje se celý segment **1q12-1q21**





# Souhrn cytogenetických abnormalit u vyšetřených pacientů

Pac.	IgH	Chr. 1q21	Chr. 13q14	G-pruhování
904/05	---	96,5% (3-8)+	---	34~45, XY, rozsáhlé strukturní i numerické změny
1043/05	100%	82,7% (3-6)+	100%	42~43, XY, RZK: der(1),der(2),der(4),-13,-14,-18,-22,[cp8]
1146/05	87,5% t(4;14) 50%	0%	14,3%	46, XY, 1x(-13), 1x der(1)
183/05	0%	84% (3-6)+	100%	48, XY, +3, der(6), der(1), +der(1), -13, +16, +moz[cp9]
640/05	100% t(4;14)	71% (3-6)+	---	Nehodnotitelné
1039/05	90%	99% (3-8)+	100%	42~57, XY, RZK: del(1q), del(1q), del(2q)?, der(4), del(6q), der(6), +7, der(8), der(9), -9, der(11), der(11) [cp5]
101/06	100%	100% (3-4)+	98%	---
35/06	93%	88,71% Delece	100%	---
123/06	---	8,82% 3+	0%	---

# Vyhlídky do budoucna

**1q21/8p21 - komerčně dostupná sonda (Q-Biogene)**

Cena: 17200Kč / 10-20 sklíček

Nevýhody: Neposkytuje kontrolní signál např. oblast 1p (Nelze rozeznat amplifikace od trisomie či „jumping segmental duplications“)

## **Sonda s fluorescenčním značením specifické BAC DNA**

1. Specifický BAC v buňkách *E.coli*
2. Izolace BAC DNA z bakteriálních buněk
3. Přímé či nepřímé fluorescenční značení BAC DNA
4. Hybridizace značené sondy BAC DNA s testovanou DNA v interfázních jádrech **FICTION** / **FISH**

Výhody: Cena, možnost provádět screening dle vlastních požadavků a nejnovějších poznatků

# Poděkování

doc. MUDr. Roman Hájek, CSc., doc. RNDr. Petr Kuglík, CSc.

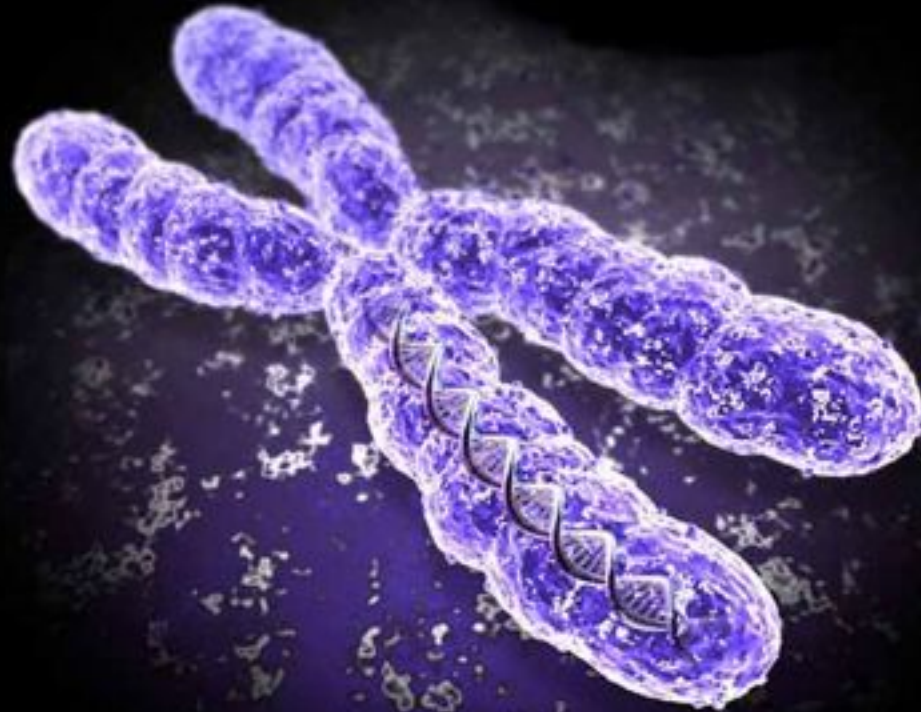
RNDr. Eva Bártová, Mgr. Jana Kroupová

Biofyzikální ústav Akademie věd ČR

RNDr. Alexandra Oltová

Team Lehabi a OLG

# Děkuji za pozornost



E-mail: [78094@mail.muni.cz](mailto:78094@mail.muni.cz)