

HODNOCENÍ CYTOGENETICKÝCH A  
FISH NÁLEZŮ U NEMOCNÝCH  
S MNOHOČETNÝM MYELOMEM  
VE STUDII CMG 2002.

ORGANIZACE VÝZKUMNÉHO GRANTU  
NR/8183-4.

# KLONÁLNÍ CHROMOSOMOVÉ ABERACE U MNOHOČETNÉHO MYELOMU (MM).

**Klasické G-pruhovací techniky** → až 40% nemocných může mít patologický cytogenetický nálezn.

Přibližně u 60% případů je klasické cytogenetické vyšetření neinformativní - v kultivaci nalézáme pouze hematopoetické buňky s normálním karyotypem.

**Interfázická FISH (I-FISH)** → patologický nálezn až u 90% nemocných

**Molekulárně-cytogenetická analýza plasmatických buněk**  
(imunofluorescenční značení, separace)

## I. Numerické změny u MM- aneuploidie:

➔ Vyskytují se asi u 2/3 pacientů

Modální počet chromosomů je jeden z nejdůležitějších prognostických faktorů u nově diagnostikovaných pacientů s MM.

Hypodiploidie - nejčastěji monosomie 8 (případně částečná ztráta 8p21), 13, 14 a X; chybět může i kterýkoliv další chromosom

- špatná prognóza

Hyperdiploidie - trisomie 3, 5, 7, 9, 11, 15 a 19

- lepší prognóza

## II. Strukturní přestavby u MM- translokace:

➔ nejčastěji zahrnují *IgH* lokus v oblasti 14q32; méně často *IgL* lokus v oblasti 22q11

$t(11;14)(11q13;14q32)$  - 13-20% nemocných; příznivá prognóza

Další časté partnerské chromosomové oblasti: 1p13, 1q21, 3p11, 4p16, 6p21, 6p25, 7q11, 7q32, 8q24, 11q13, 11q23, 12q24, 13q22, 16q23, 16q24, 18q21, 21q22, 22q11, atd. - nepříznivá prognóza

Obvykle kryptické přestavby - nelze je detekovat klasickou metodou

## II. Strukturní přestavby u MM - delece:

$del(13)(q14)$  - významný prognostický ukazatel; různý rozsah delece, často rozsáhlá ztráta v oblasti 13q14-13qter nebo ztráta celého chromosomu (**monosomie 13**) - horší až střední prognóza

GRANT IGA MZ ČR NR 8183-4 (2004-2007):

MOLEKULÁRNĚ-CYTOGENETICKÁ ANALÝZA ZŇAČENÝCH  
PLASMATICKÝCH BUNĚK A PROGNOTICKÝ VÝZNAM  
KLONÁLNÍCH CHROMOSOMOVÝCH ABERACÍ U MM.

- Multicentrická studie
- Vyšetření velkého homogenního souboru nemocných s MM
- Analýza imunofluorescenčně značených plasmatických buněk metodou I-FISH
- Detekce nejčastějších a prognosticky nejvýznamnějších chromosomových změn - tj. aberací 13q14 a 14q32, translokace t(11;14)(q13;q32)

# První rok studie - 2004

- ➔ Sjednocení a standardizace metodik v cytogenetických centrech (zavedeny jednotné postupy pro imunofluorescenční značení plasmatických buněk a následné I-FISH analýzy)
- ➔ Vypracován jednotný formulář pro záznam cytogenetických a molekulárně-cytogenetických nálezů
- ➔ vyšetřeno celkem 212 nemocných s MM konvenční cytogenetickou metodou a 193 nemocných metodou I-FISH

# KONVENČNÍ CYTOGENETICKÁ ANALÝZA:

Celkem vyšetřeno: 212 pacientů

z toho v CMG 2002: 93 pacientů (43,9%)

Úspěšné vyšetření 165x (80,5%):

- normální nález u 115 nemocných (69,7%)

- patologický nález u 50 nemocných (30,3%)

Chromosomové aberace:

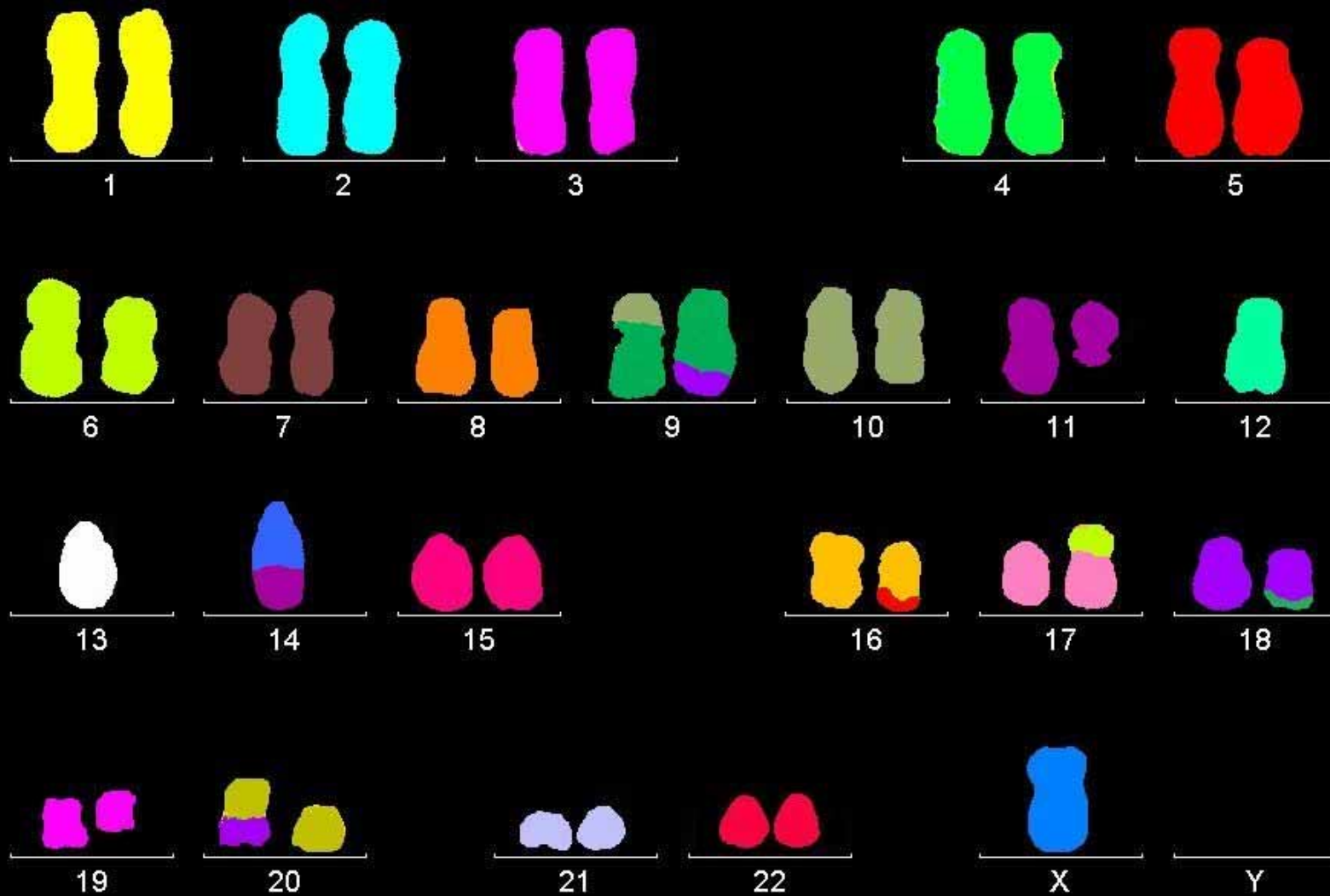
strukturní nebo komplexní přestavby: 33x

aneuploidie: 17x

del(13)(q14) / monosomie 13: 15x

ztráta gonosomů X/Y: 14x

Neúspěšné vyšetření (0 mitos / nehodnotitelné): 40x (19,5%)



42,X,-X,del(6),der(9)t(9;10),der(9)t(9;18),del(10)(q),del(11)(q),-12,-13,-14,der(14)t(11;14),der(16)t(5;16),der(17)t(6;17),del(19)



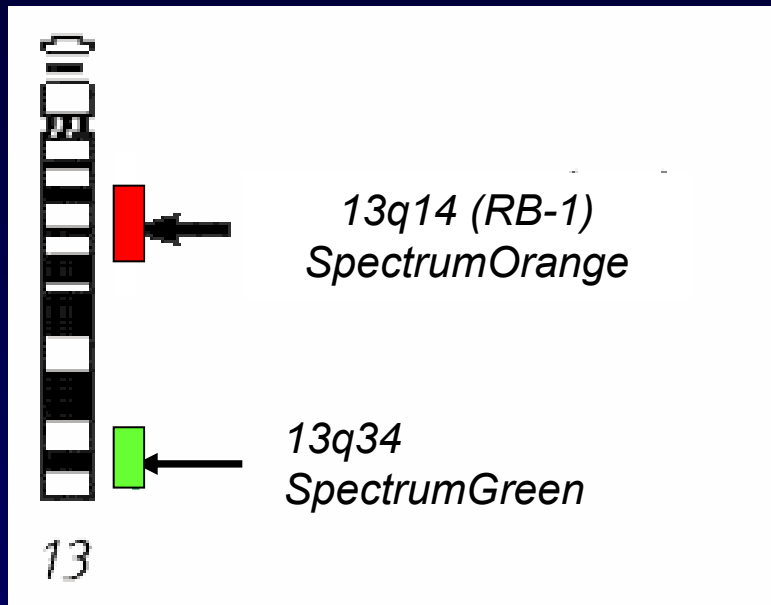
# KONVENČNÍ CYTOGENETICKÁ ANALÝZA:

centrum	celkový počet pacientů	počet pacientů v CMG 2002	cyto-genetické vyšetření	hodnotitelné	nehodnotitelné	normální nález	patologický nález	RZK	aneuploidie	nejčastější aberace	
										delece 13 / -13	-Y / -X
Praha	70	36	68	55	13	38	17	13	4	6	3 / 1
Brno	43	13	42	36	6	29	7	1	6	2	1 / 0
Olomouc	12	12	12	9	3	7	2	0	2	0	1 / 0
HK	27	7	27	27	0	21	6	6	0	3	3 / 1
Plzeň	40	25	36	29	7	12	17	13	4	4	2 / 2
ČB	20	0	20	9	11	8	1	0	1	0	0 / 0
<b>Celkem</b>	<b>212</b>	<b>93</b> <b>43,9%</b>	<b>205</b>	<b>165</b> <b>80,5%</b>	<b>40</b> <b>19,5%</b>	<b>115</b> <b>69,7%</b>	<b>50</b> <b>30,3%</b>	<b>33</b> <b>66%</b>	<b>17</b> <b>34%</b>	<b>15</b>	<b>10 / 4</b>

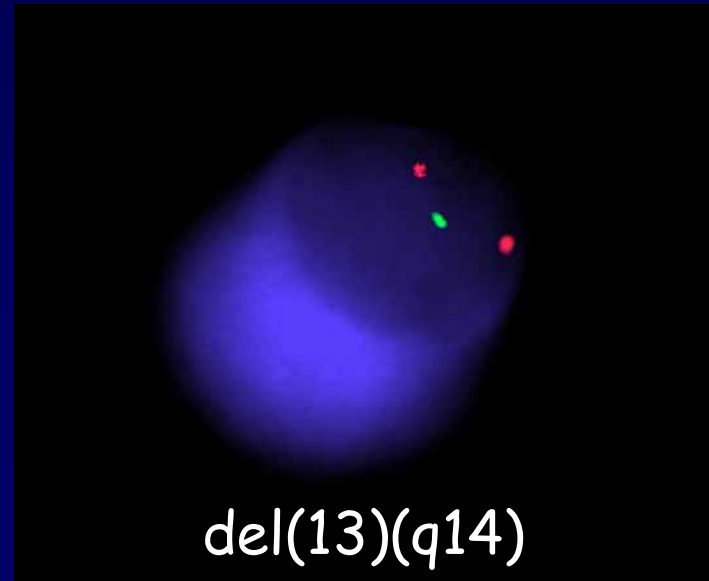
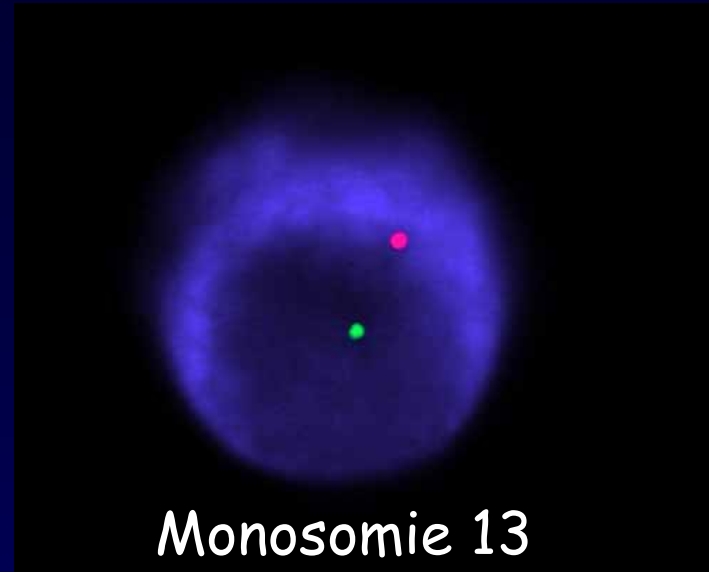
RZK – rozsáhlé změny karyotypu (různé strukturální přestavby, komplexní aberace)

Aneuploidie – různé početní chromosomové odchylky (bez strukturálních aberací)

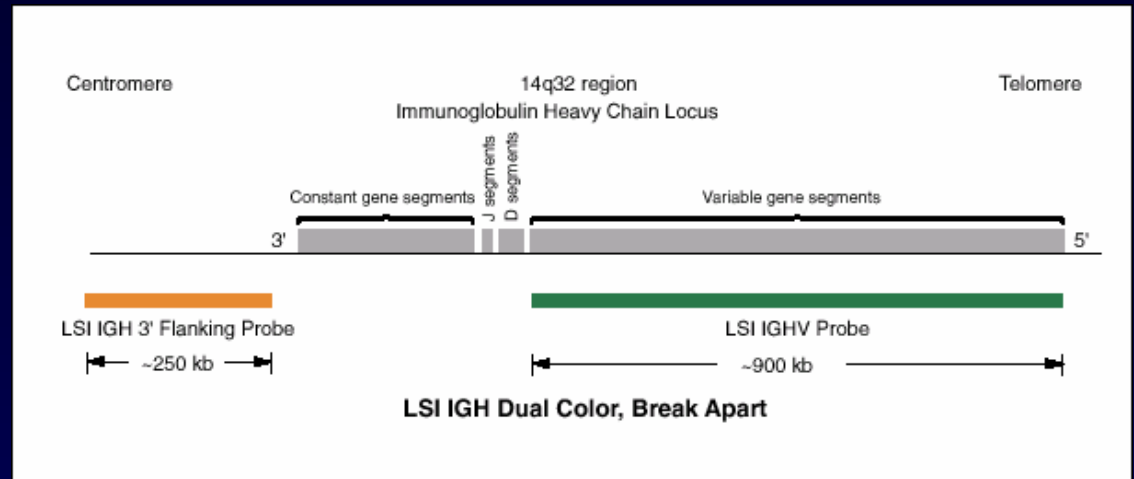
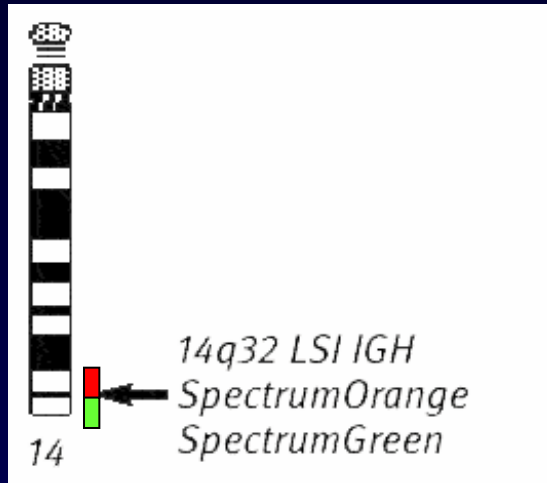
# Detekce del(13)(q14) / monosomie 13



LSI 13q14(RB-1)/13q34  
ABBOTT-VYSIS™



# Detekce přestaveb IgH genu



## LSI IgH Dual Color Break Apart Rearrangement Probe ABBOTT-VYSIS™



# I-FISH:

Celkem vyšetřeno 193 pacientů z 212 (91%)

Na plné dřeni: 68x (35%)

Značené buňky: 120x (62%)

Separované buňky (MACS): 5x (3%)

I-FISH na aberace 13q14 vyhodnocena u 192 nemocných

184 úspěšných hybridizací (96%) / 8 neúspěšných hybridizací (4%)

- del(13)(q14): 52x (28%)

- monosomie 13: 48x (26%)

- del(13)(q14) / -13: 5x (3%)

I-FISH na přestavby IgH vyhodnocena u 152 nemocných (72%)

145 úspěšných hybridizací (95%) / 7 neúspěšných hybridizací (5%)

- přestavba IgH genu prokázána 65x (45%)

t(11;14)(11q13;14q32) vyšetřována 24x / prokázána 9x (37%)

# I-FISH:

centrum	FISH celkem	FISH plná dřev	FISH značené buňky	FISH 13q14	NN	delece 13q14	-13	FISH IgH	NN	Pře-stavba IgH	FISH t(11;14)	NN	t(11;14)
Praha	70	24	41 / 5	70 / 4	19	22	20	62 / 7	27	21	10	5	5
Brno	31	11	20	30 / 3	12	5	10	11	7	4	0	0	0
Olomouc	12	0	12	12	5	7	0	12	7	5	5	3	2
HK	24	2	22	24 / 1	17	6	0	11	7	4	0	0	0
Plzeň	36	28	8	36	18	8	10	36	15	20	0	0	0
ČB	20	3	17	20	7	4	8	20	4	11	9	7	2
<b>Celkem</b>	<b>193</b>	<b>68</b>	<b>120 / 5</b>	<b>192 / 8</b>	<b>78</b>	<b>52</b>	<b>48</b>	<b>152 / 7</b>	<b>67</b>	<b>65</b>	<b>24</b>	<b>15</b>	<b>9</b>

NN – normální nález

KN – kombinovaný nález

# HEMATOLOGICKÁ CENTRA:

I. interní klinika VFN a 1.LF UK Praha

I. Špička

OKH FN Královské Vinohrady, Praha

E. Gregora

Interní hematooonkologická klinika FN Brno

Z. Adam

Lékařská fakulta UP Olomouc

V. Ščudla

Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň

M. Schützová

Oddělení klinické hematologie FN Hradec Králové

V. Maisnar

# CYTOGENETICKÁ CENTRA:

Centrum nádorové cytogenetiky ÚKBLD, VFN a 1.LF UK Praha  
Z. Zemanová, K. Michalová

Oddělení lékařské genetiky FN Brno  
A. Oltová, P. Kuglík

Lékařská fakulta UP Olomouc  
M. Holzerová

Ústav lékařské genetiky LF UK a FN Plzeň  
H. Fischlová

Oddělení lékařské genetiky FN Hradec Králové  
J. Rabasová

Oddělení lékařské genetiky Nemocnice České Budějovice  
M. Lehnerová, O. Scheinost