

Molekulárně cytogenetické vyšetření pacientů s mnohočetným myelomem na OLG FN Brno

Filková H., Oltová A., Kuglík P., Vranová V., Kupská R.,
Stražilová J., Hájek R.

OLG FN Brno, PŘF MU Brno, IHOK FN Brno

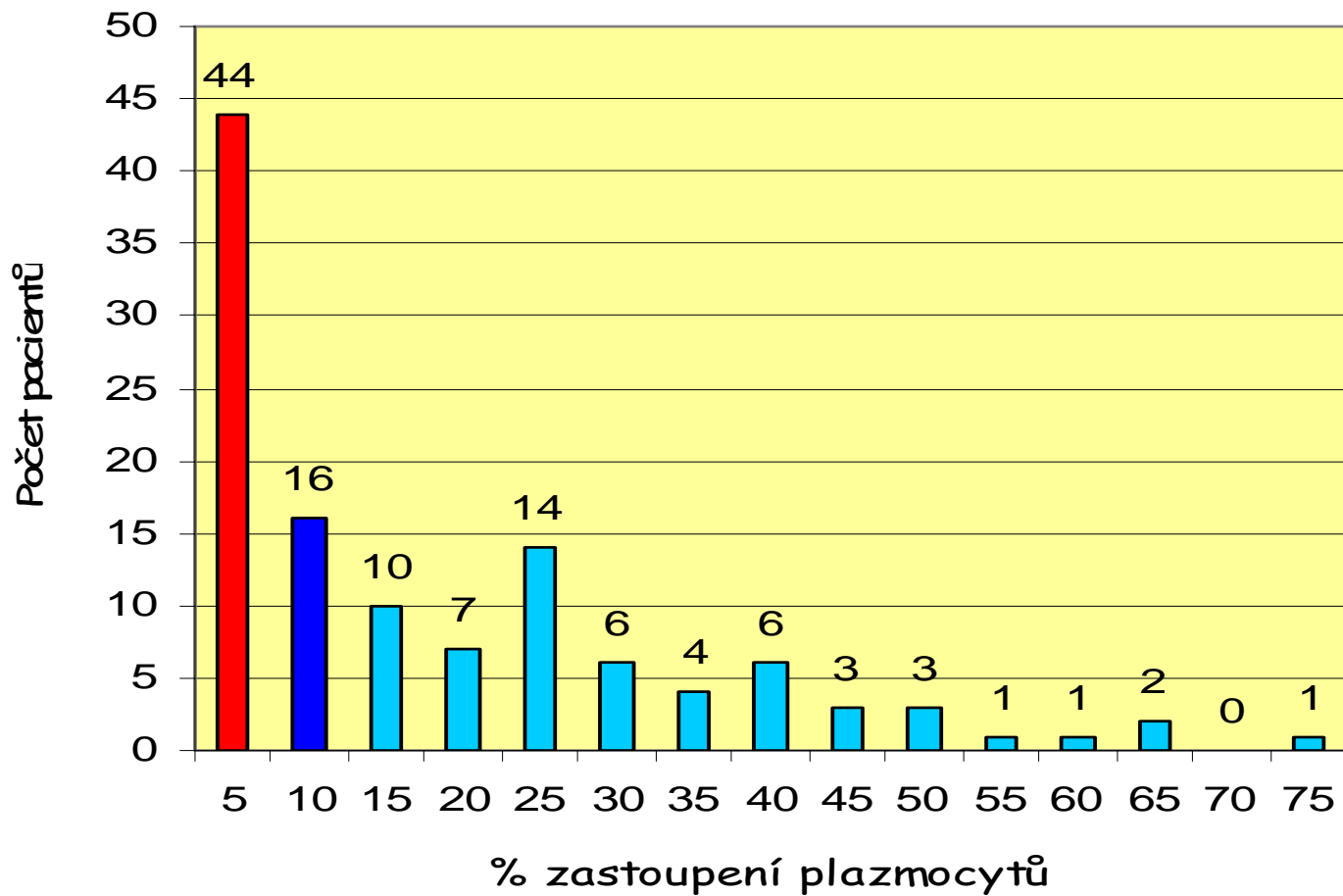


Používané metody cytogenetického vyšetření pacientů s MM na OLG FN Brno (2002 -2005)



- ④ KD ⇒ klasická cytogenetika, SKY, HR - CGH
- ④ MACS ⇒ imunomagnetická separace plazmatických buněk + FISH
- ④ FICTION ⇒ molekulárně cytogenetická analýza značených plazmatických buněk na základě detekce lehkých řetězců kappa, lambda (Ahman,G.J. at al, 1998)

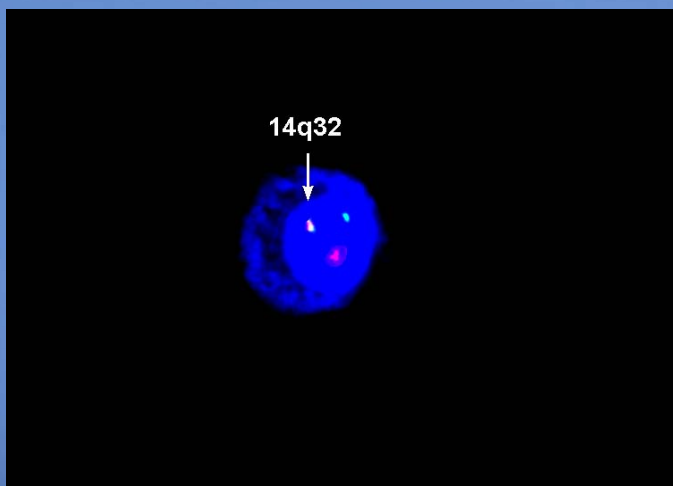
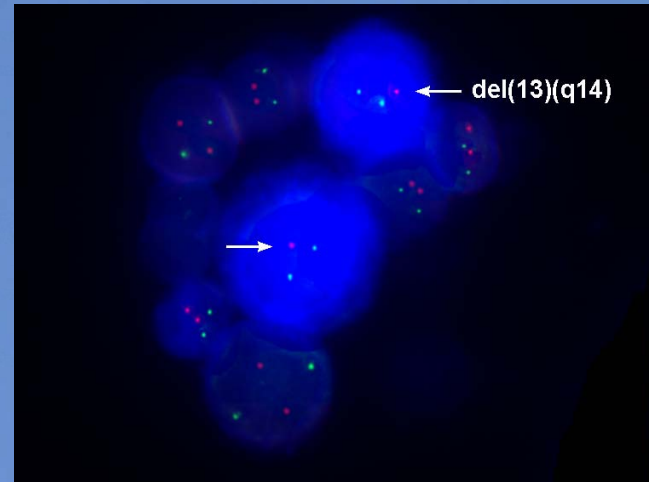
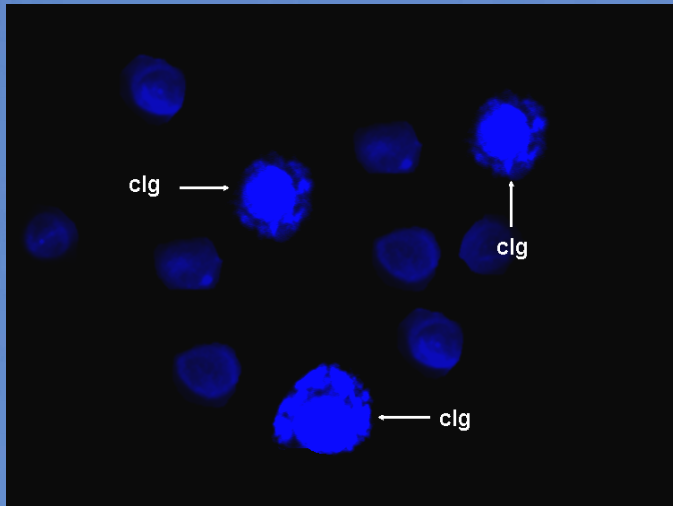
Zastoupení plazmatických buněk v KD vyšetřených pacientů s MM





Molekulárně cytogenetická analýza značených plazmatických buněk

Vyšetření: $\text{del}(13)(q14)$ / monozomie 13

$\text{t}(\text{IgH}) \Rightarrow \text{t}(11;14)(q13;q32)$, $\text{t}(4;14)(p16;32)$



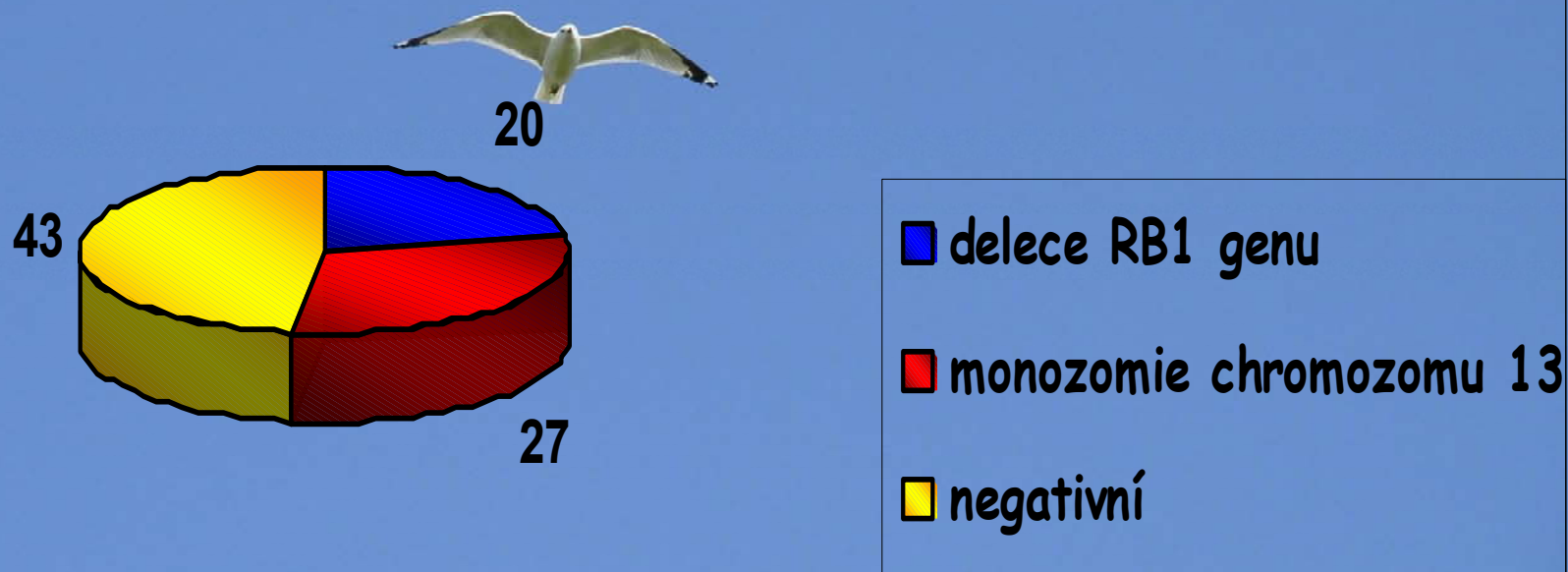
Soubor vyšetřených pacientů s MM
na OLG FN Brno v letech 2003-2005 metodou
imunobarvení

 90 pacientů: muži - 47 ženy - 43
 CMG - 44 pacientů

 věk: 40-82 let

 typ lehkého řetězce: kappa - 51 pacientů
lambda - 39 pacientů

Výsledky vyšetření RB1 genu u pacientů s MM v letech 2003-2004

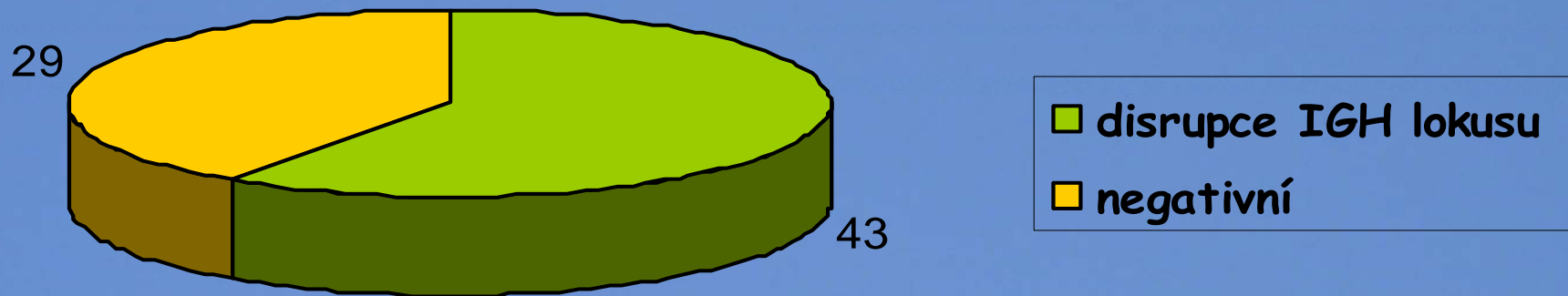


52% pacientů s pozitivním nálezem v oblasti chromozomu 13

z toho 42% pacientů s $del(13)(q14)$

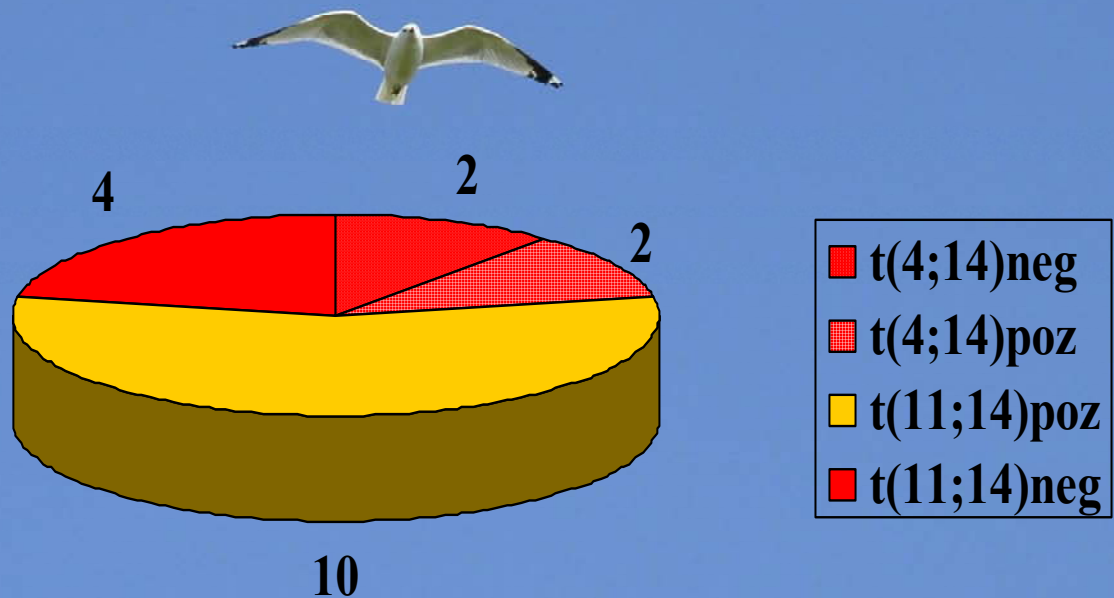
48% pacientů s monozomií chromosomu 13

Výsledky vyšetření IGH genu u pacientů s MM v letech 2003-2004



59% pacientů s přestavbou 14q32 lokusu

Výsledky vyšetření u pacientů s přestavbou 14q32 v letech 2003-2005



55% pacientů s nálezem translokace t(11;14)

45% pacientů bez t(11;14)

z toho 50% pacientů vyšetřeno na t(4;14)

CGH u pacientů s MM

CGH: > 50% buněk s definovanou aberací

HR-CGH: > 10 -15 % buněk s definovanou aberací

Nejčastější změny zachycené pomocí CGH:

zisky (11q, 9q, 15q, 3q)

ztráty (13q, 6q, 16q)



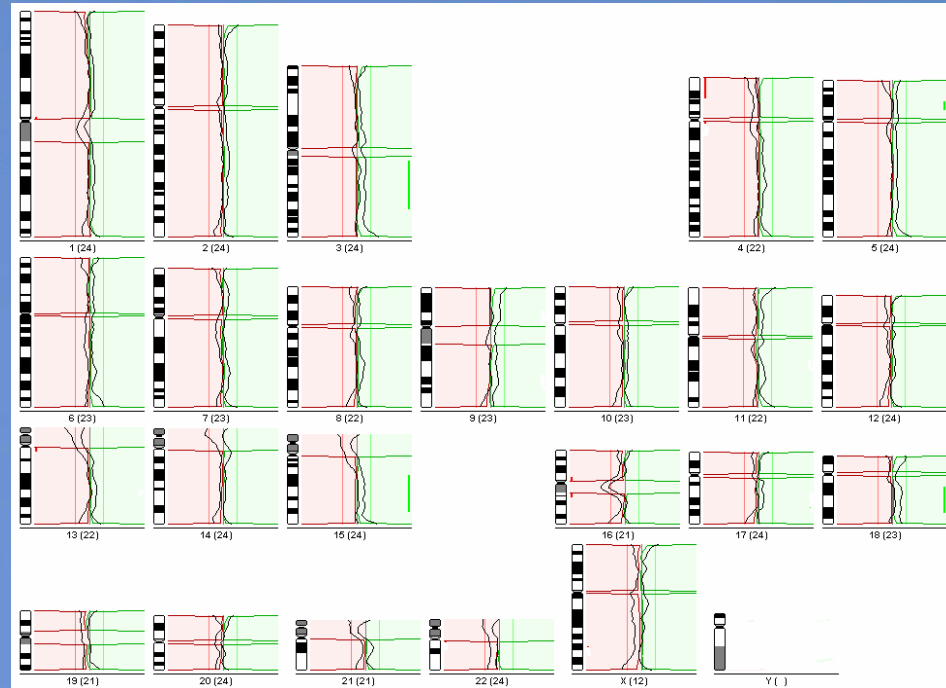
(Liebisch et al., 2003, Gonzales et al., 2004, Gutierrez et al., 2004, Tchinda et al., 2004)

Naši pacienti do konce srpna 2005:

→ 12 pacientů s MM

→ 3 pacienti s infiltrací PB > 10% (16-28%)

→ HR-CGH: 1 pacient negativní, 2 pacienti s klonálními změnami



rev ish enh (3q13.1-q27, 15q15-q24, 18q12-q22)

rev ish dim (4p14-pter)

Kazuistika

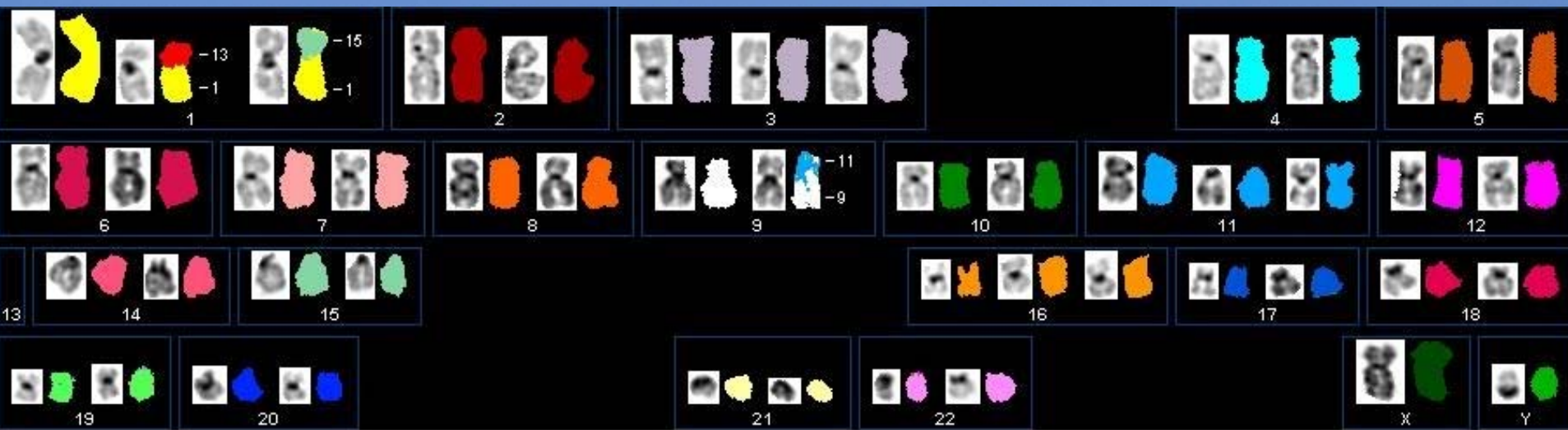
Muž, 60 let, MM, pb 51,6%, IgA lambda

Cytogenetika: 48,XY,+3,der(6),der(1),-13,+16,+mar

FISH: 100% monozomie 13, 14q32 negativní



SKY: 48,XY,der(1)t(1;13),+der(1)t(1;15),+3,der(9)t(9;11),+der(11)del(11p),-13,-13,+16



Onkocytogenetický model (Avet-Loiseau, 2005) rozděluje MM na dva typy::

cytogenetika

t(4;14), t(14;16)
hypodiploidie

t(11;14)
hyperdiploidie

-13,-17p13
normální karyotyp



normální chrom.13,17
abnormální karyotyp

klinické projevy

nižší věk
isotyp IgA
lambda LC
kostní léze
vyšší exprese cyklinu D2
nepříznivá prognóza
kratší doba přežití

vyšší věk
isotyp IgG
kappa LC
absence kostních lézí
vyšší exprese cyklinu D1
příznivá prognóza
delší doba přežití

Nové trendy v cytogenetice myelomů:

1q+ abnormality dlouhých ramen chromosomu 1, především genu *CKS1B* v oblasti 1q21-22, amplifikace genu je asociována s hypodiploidií a špatnou prognózou (*Shaughnessy 2004*)



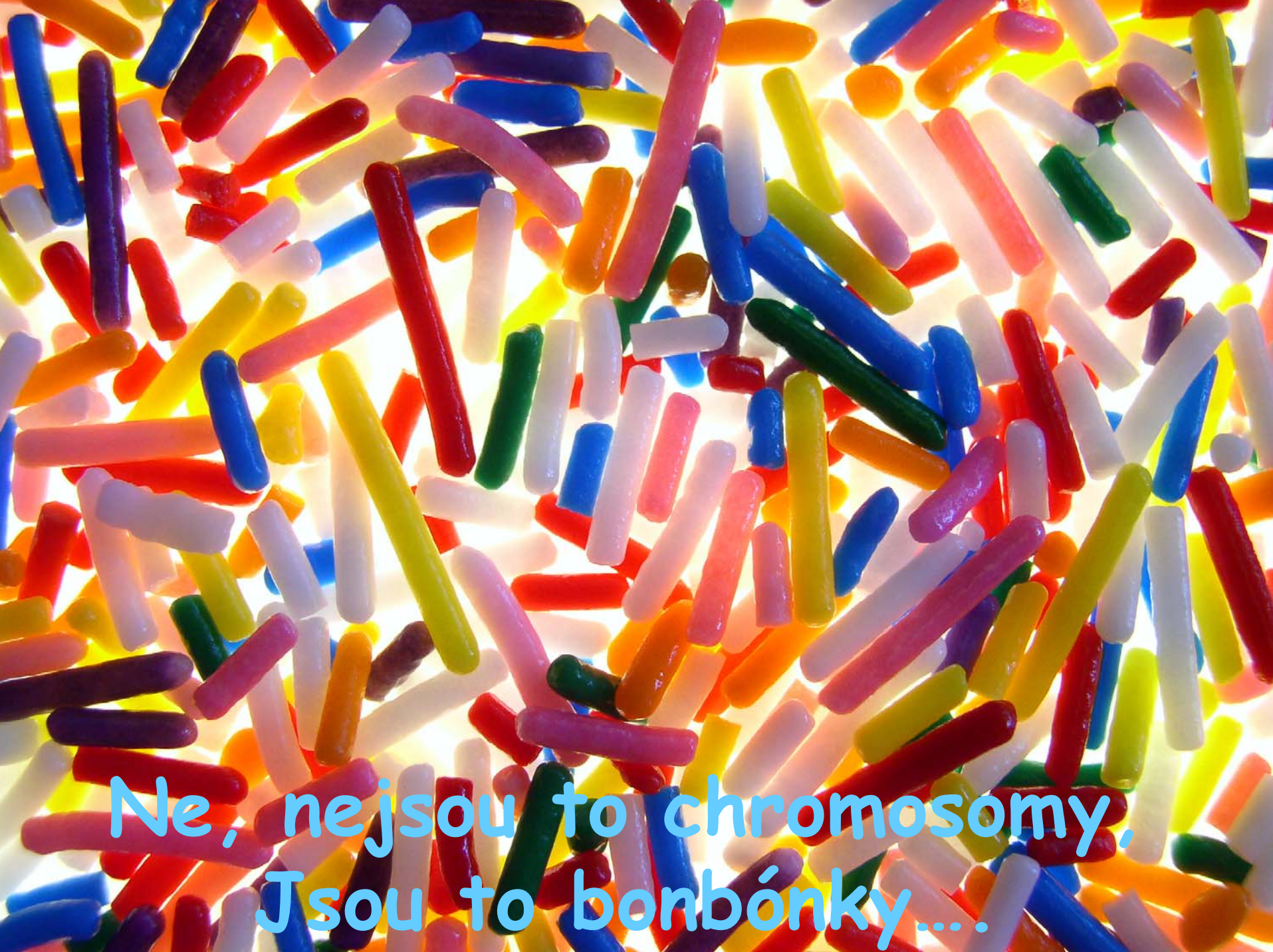
delece 13q14 se často vyskytuje společně s dalšími změnami - jde o translokace $t(4;14)(p16.3;q32)$ -84%

a delece 17p13 -77% (*Harousseau 2005*)

delece 17p13 -spojeno se špatnou prognózou, doba přežití snížena na cca 19 měsíců vs nález bez delece (50měsíců) (*Fonseca, 2005*)



Děkuji za pozornost



Ne, nejsou to chromosomy,
Jsou to bonbónky....

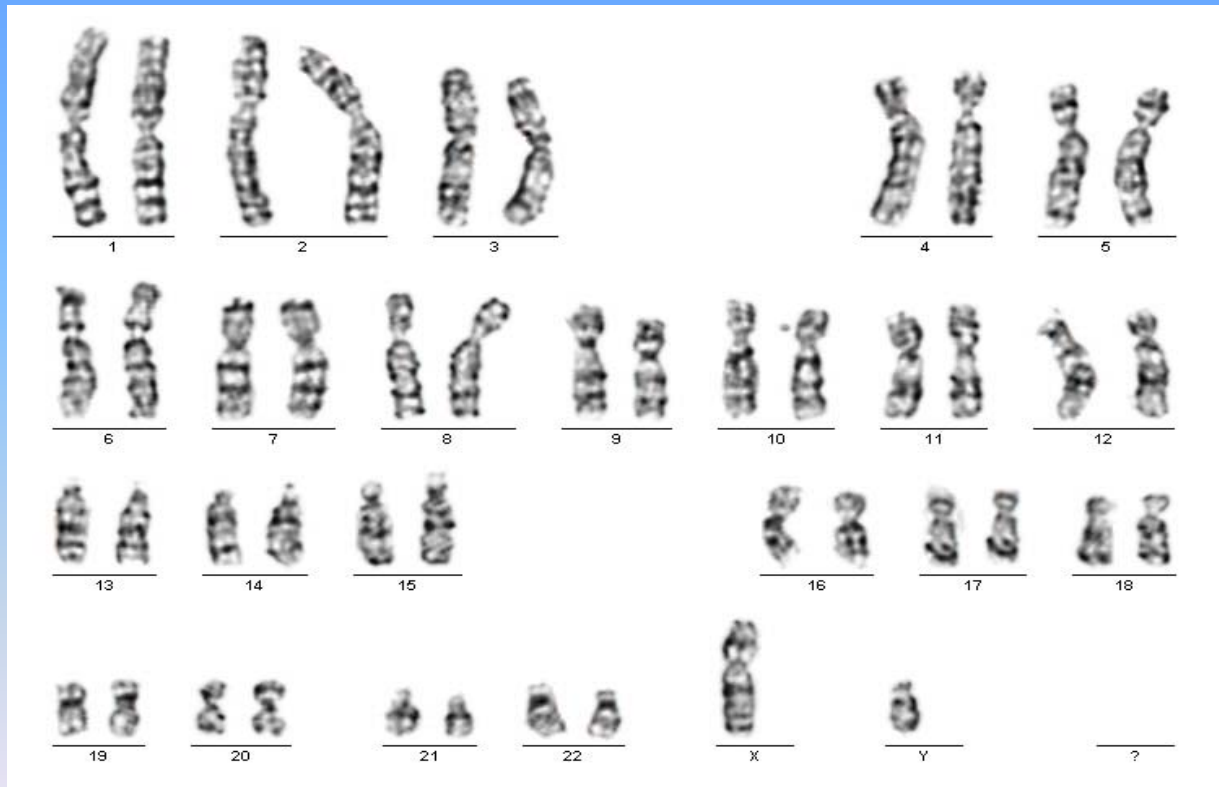


Cytogenetická vyšetření kostní dřeně u pacientů s diagnozou mnohočetný myelom



A.Oltová
OLG FN Brno

46, XY





Program:

Nejčastější prognosticky významné změny

proliferační aktivita

výsledky cytogenetických vyšetření

kazuistiky OLG FN Brno

výsledky molekulární cytogenetiky z OLG FN Brno

(mgr. Filková)

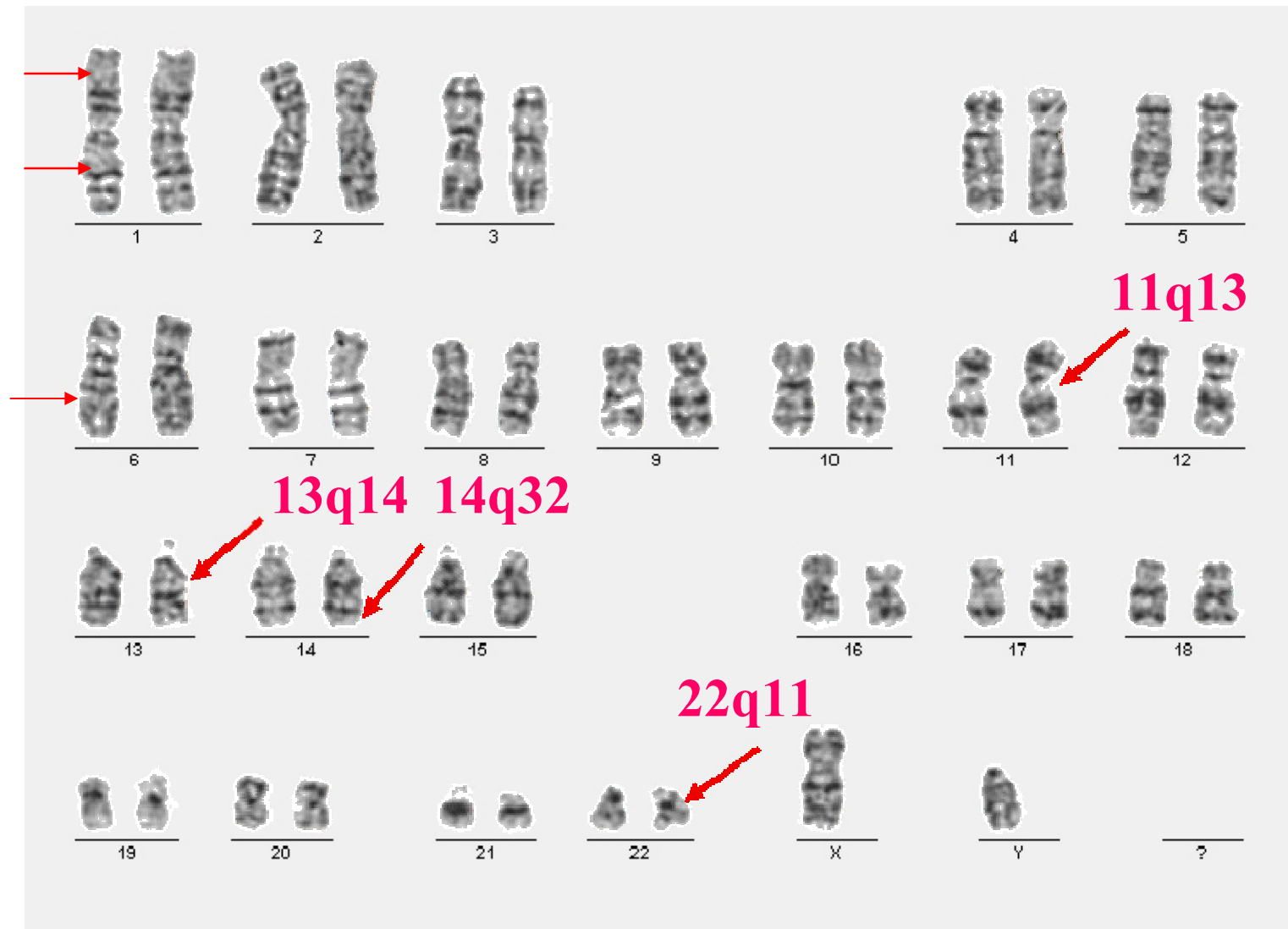


Přehled nejčastějších chromozomálních aberací u MM

Chrom.	Změna	% výskytu
13	-13/del 13q (RB1)	40% 13q14
1	strukt. ab. delece 1p12 ampl 1q21	30-40%
14	přestavby (IGH)	25% 14q32
11	abnormality 11q z toho t(11;14)	20% 11q13
6	abnorm. 6q	10% 15%
22	del 22q11 (IGL)	?
17	del p53	10%
další: 5q, 15q, 7q, 16q, 8p → CGH		

(Panani A.D., 2004, Nilson T., 2005, Guterrez N.C., 2004)

Nejčastější chromosomové aberace u MM



Numerické aberace

Změny ploidie:

špatná: pseudo-, hypo-, tetraploidie

lepší: hyperdiploidie

nejčastější změny: +3, +5, +6, +9, +11, -13, -14, +15, +16, +17, -X

špatná -13, -8

dobrá +9, +6, +17

+11, +16 → častější u mužů

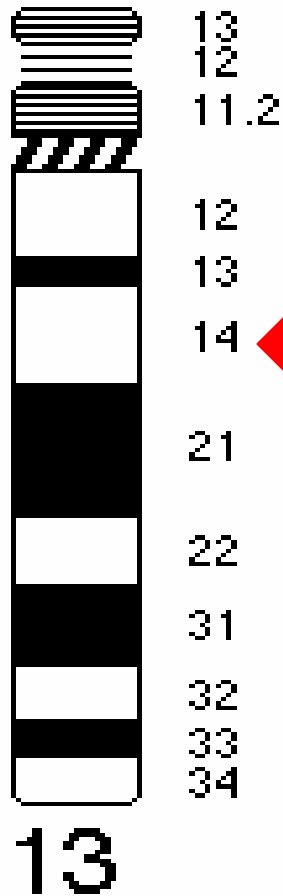
+5 starší pac.

-14 mladší pac.

(Nickenig C. et al., 2001, Nilson T. et al., 2004)



Aberace chromosomu 13



Delece 13q14
monosomie 13

detekce cyto

I-FISH

izolované PB

FICTION

MACS

Delece 13q14

Korelace se špatnou odpovědí na konv. chemo a kratším přežitím MM

RB1 - TU supresor, regulace b.cyklu a diferenciace, AD, LOH, del

nezávislý prognostický faktor mono 13/ del 13

(LOH inaktivace 2. alely - negenetický mechanismus, fosforylace rb-1 proteinu)

del 13q14 vzácně izolovaná aberace

detekce u hyper- i hypodiploidii - prognoza souvisí s ploidií

sekundární změna

del13q rb-1, lokusy D13S319 a D13S272

Aberace chromosomu 14



Detekce: cyto

I-FISH

FICTION

translokační partneri:

11, 4, 6, 16

IgH 14q32

Přestavby 14q32

t(11;14)(q13;q32) IGH / CCND1 13-20%

dobrý prognostický faktor

IGH - těžké řetězce imunoglobulinů

t(4;14)(p16;q32) FGFR3 / IGH 10-13%

velmi špatná prognoza onemocnění

t(14;16) cca 5% - špatná prognoza

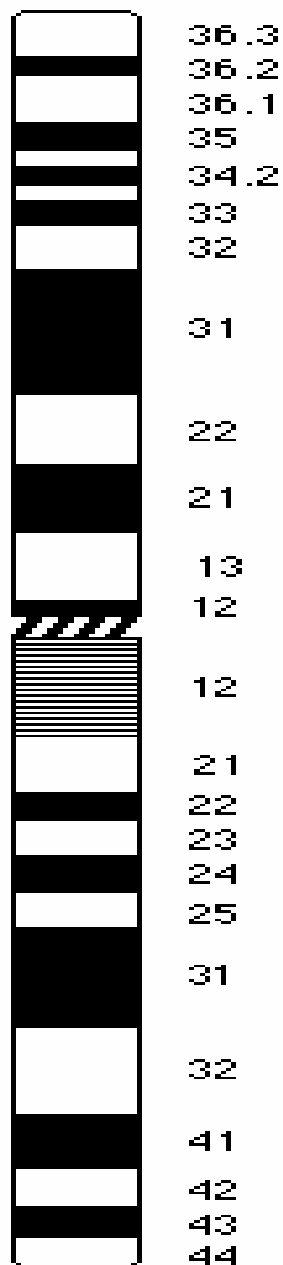
t(6;14) cca 5% - komplexní translokace

Aberace 11q

11q13

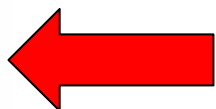
CCND1 (cyklin D1), kontrola b.cyklu G1, G1/S

Aberace chromosomu 1



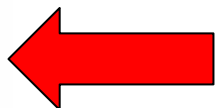
Delece 1p12

zhoršuje prognosu



amplifikace 1q21

špatná prognoza



Přestavby 1q



duplikace 1q/části, translokace, isochromosom
(sekundární změny spojené s progresí onemocnění)

časté změny!!!



translokace 1q: s telomerickými oblastmi 8p, 9p, 12q, 13p,
15p, 17q, 19p, 19q, 21p, 22p



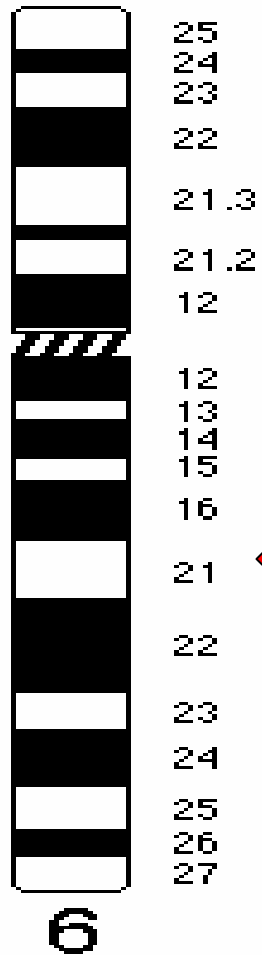
t(1;16)(q;p)

1q amplifikace genů: IL-6 (1q21)

CRP + APCS (1q21-23)



Aberace chromosomu 6



**Delece v různých
oblastech**

del(6)(q21) - TU supresor

Aberace 6q

del 6q : q12, q15, q23, **q21 !! - AF6**

terminální delecce, kritické geny - TU supresory v 6q21

prognosa závisí na st. onemocnění a dalších cyto
nálezech

hyper x hypodiploidie

Aberace 22q

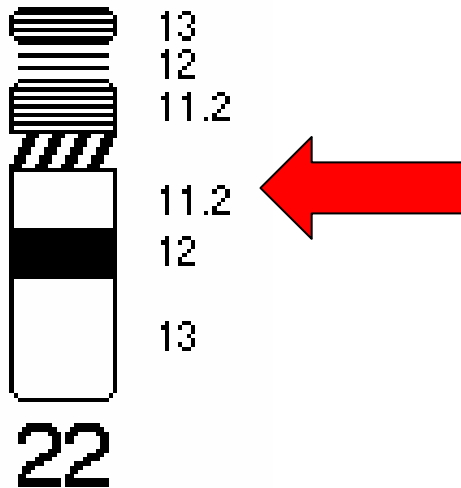
del 22q11 (IGL) špatná progn., kratší přežití po konv.
chemo

současně **del 22q11 + del 13q14** → kratší přežití než obě
samostatně

Aberace chromosomu 22

Delece 22q11

**prognosticky významná
ve spojení s del 13q14**



Soubor doporučených vyšetření u pacientů s MM

(Součást celostátního grantu 8183-4)

I. Klasické cytogenetické vyšetření

II. Imunofluorescenční barvení plasmocytů FICTION

del 13q14

přestavby 14q32 (IgH)



detekce t(11;14)



t(4;14), t(14;16), t(6;14)

Výsledky cytogenetických vyšetření MM na OLG



Období : 1/2002 - 9/2005

počet vyšetření: 236

nehodnotitelné: 18%

patologie: 12%

počet hodnocených mitoz: 5-20



Kazuistika č.1

PB: 51,6%

cyto:48,XY,der(1), +der(1),+3,der(6),-13,+16,+mar (9)

FISH: 100% monosomie 13

t IgH nenalezena

SKY:

**48,XY,der(1)t(1;13),+der(1)t(1;15),+3,der(9)t(9;11),
+der(11)del(11p), -13,-13,+16**

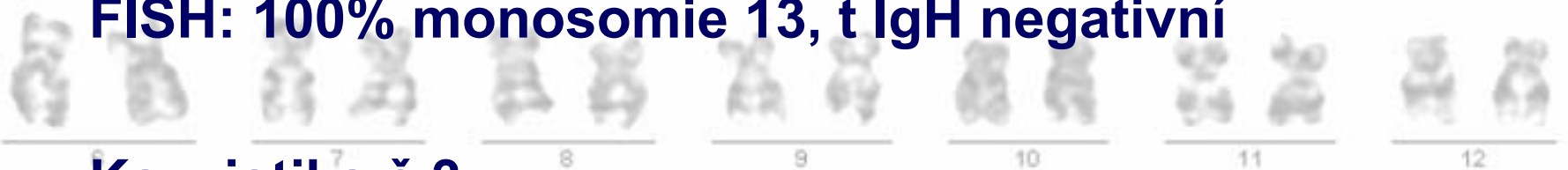


Kazuistika č.2

PB: 48%

cyto: 44,XY,+der(1),-4,der(8)t(8;20),-13,-20

FISH: 100% monosomie 13, t IgH negativní



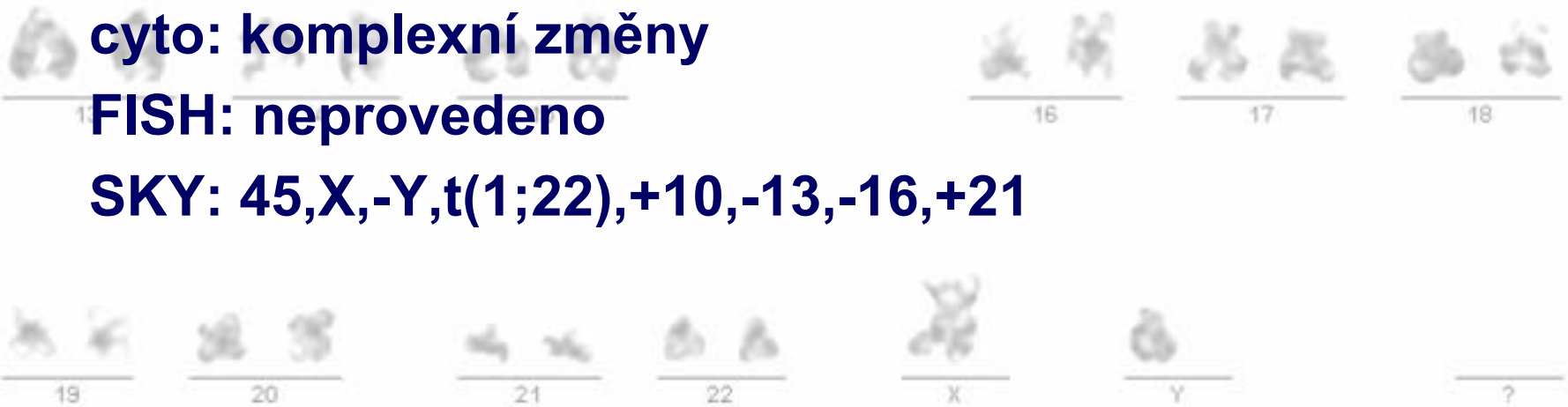
Kazuistika č.3

PB: 0,2%

cyto: komplexní změny

FISH: neprovedeno

SKY: 45,X,-Y,t(1;22),+10,-13,-16,+21



Proliferace buněk MM

Všeobecně nízká proliferační schopnost u všech pacientů

Klasická cytogenetika - základní vyšetření k identifikaci chromosomových aberací u MM

nízký mitotický index

další vyšetření:

kombinace dle množství materiálu

kvality preparátů

očekávaných změn

možností metodik



Těšíme se na další spolupráci,

pracovníci OLG FN Brno

