

# Chromosomové změny v plasmatických buňkách u nemocných s mnohočetným myelomem detekované metodou FISH

Grant IGA NR-8183-4

J. Tajtlová , L. Pavlišťová , Z. Zemanová ,  
K. Vítovská , K. Michalová

ÚKBLD CNC VFN a 1.LF UK Praha

# Klasická cytogenetická analýza

záchyt aberací u 30-50% nemocných

Vyšetřeno 140 pacientů s mnohočetným myelomem

(úspěšnost kultivace 90%, záchyt aberací 25%)

Normální nález	95 pacientů
Patologický nález	31 pacientů
+ mar	2
-y	4
hyperdiploidie	4
hypodiploidie	1
komplexní chrom. přestavby	19

## Limitující faktory:

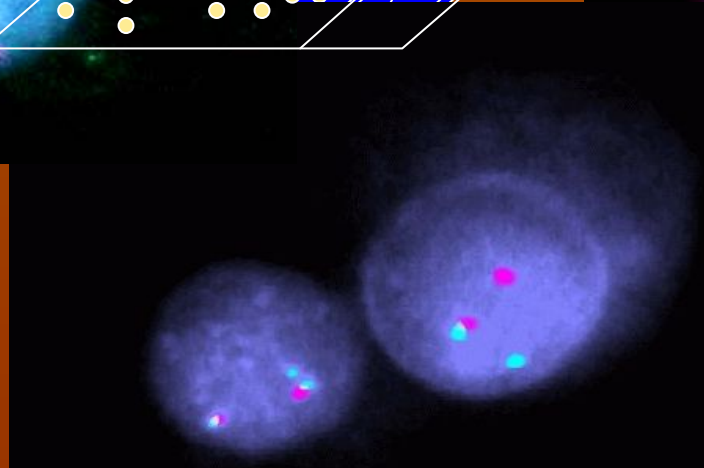
1. snížená proliferace plasmatických buněk in vitro (získané mitosy nereprezentují maligní buněčný klon)
2. Kryptický charakter chromosomových přestaveb

# Princip imunoznačení



Sklo se suspenzí  
z plasmocyty (ethanolová fixace)

The image shows several fluorescence microscopy images of plasma cells. The cells are stained with a blue dye (likely DAPI) to visualize the nucleus. The images show the characteristic morphology of plasma cells, including a large, eccentric nucleus and a prominent nucleolus. The text 'Sklo se suspenzí z plasmocyty (ethanolová fixace)' is positioned above the images.



# Vyšetřený soubor pacientů s MM metodou I-FISH

Celkem vyšetřeno 140 pacientů s MM

žen 58

mužů 82

Věkové rozmezí při prvozáchytu

27-89 (59)

Infiltrace plasmocytů ve vyšetřované KD

0,2-100%

## Isotyp

kappa 75

lambda 51

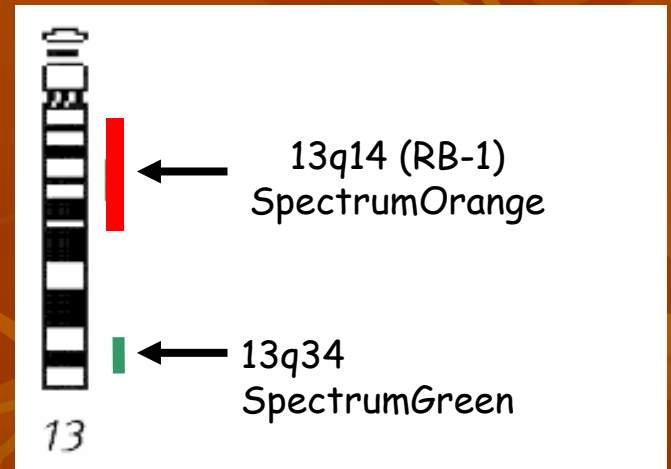
kappa/lambda 3

neurčeno 11

# LSI 13(RB-1)/13q34 (Abbott-Vysis)

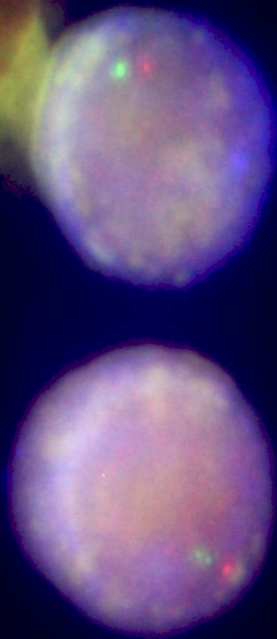
Celkem vyšetřeno 140 pacientů s MM  
Záchyt aberací 13q u 81 pacientů (58%)

Monosomie chromosomu 13	43
Delece 13q14	25
Monosomie 13/delece 13q14	6
Jiné nálezy	7

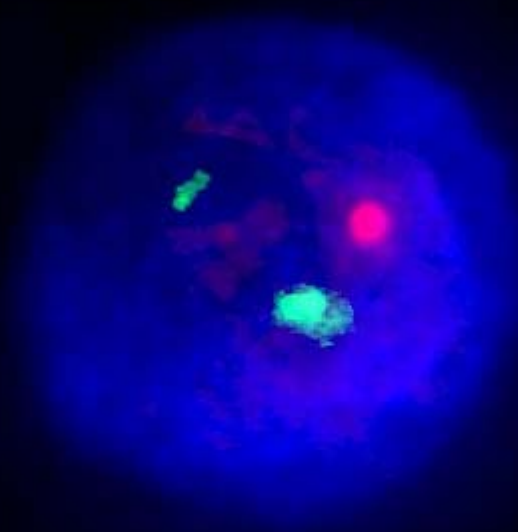


# LSI 13(RB-1)/13q34 (Abbott-Vysis)

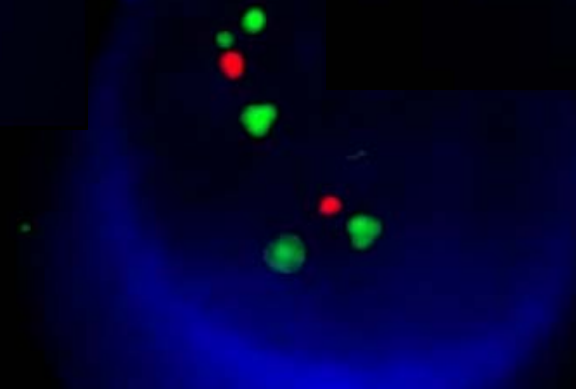
Monosomie 13



Del RB1 genu



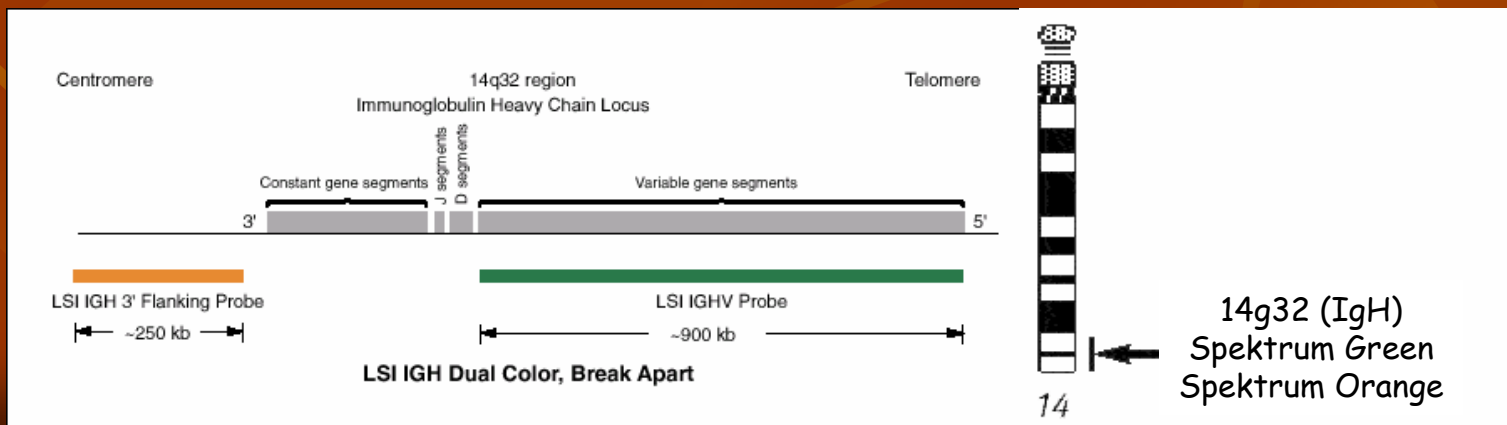
Početní změny



# LSI IGH (14q32) Dual Color, Break Apart Probe (Abbott-Vysis)

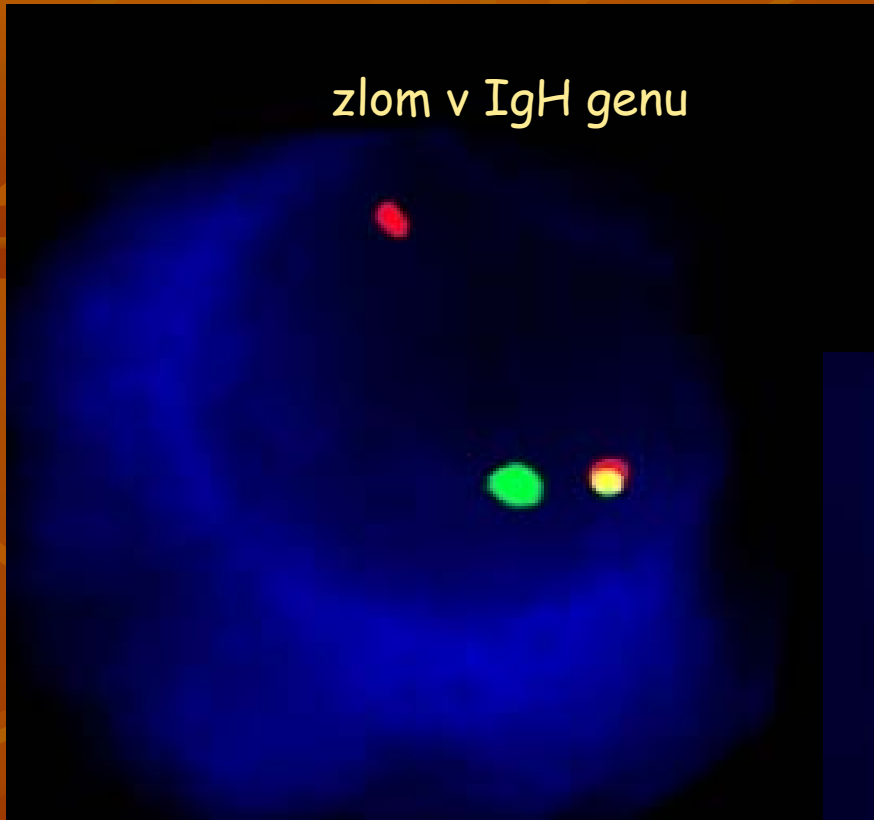
Celkem vyšetřeno 133 pacientů s MM  
 Záchyt přestaveb lokusu IgH u 82 pacientů (63%)

Zlom v IgH genu	33
Delece IgH genu (v.s. -14; Delece V segmentu IgH genu; Delece 3' konce IgH genu)	25
Zlom v IgH genu + další nálezy	15
Jiné nálezy	9



# LSI IGH (14q32) Dual Color, Break Apart Probe (Abbott-Vysis)

zlom v IGH genu



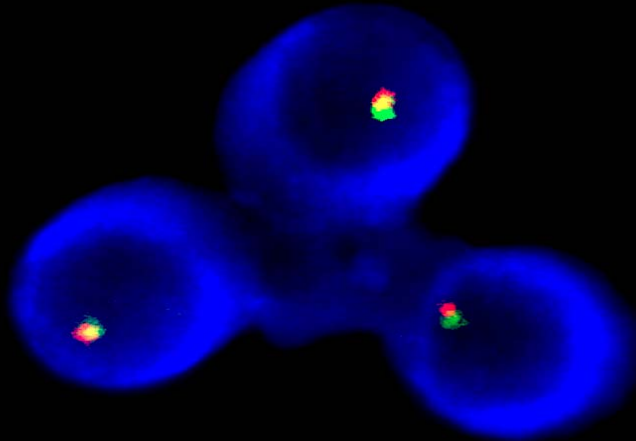
zlom obou alel IGH





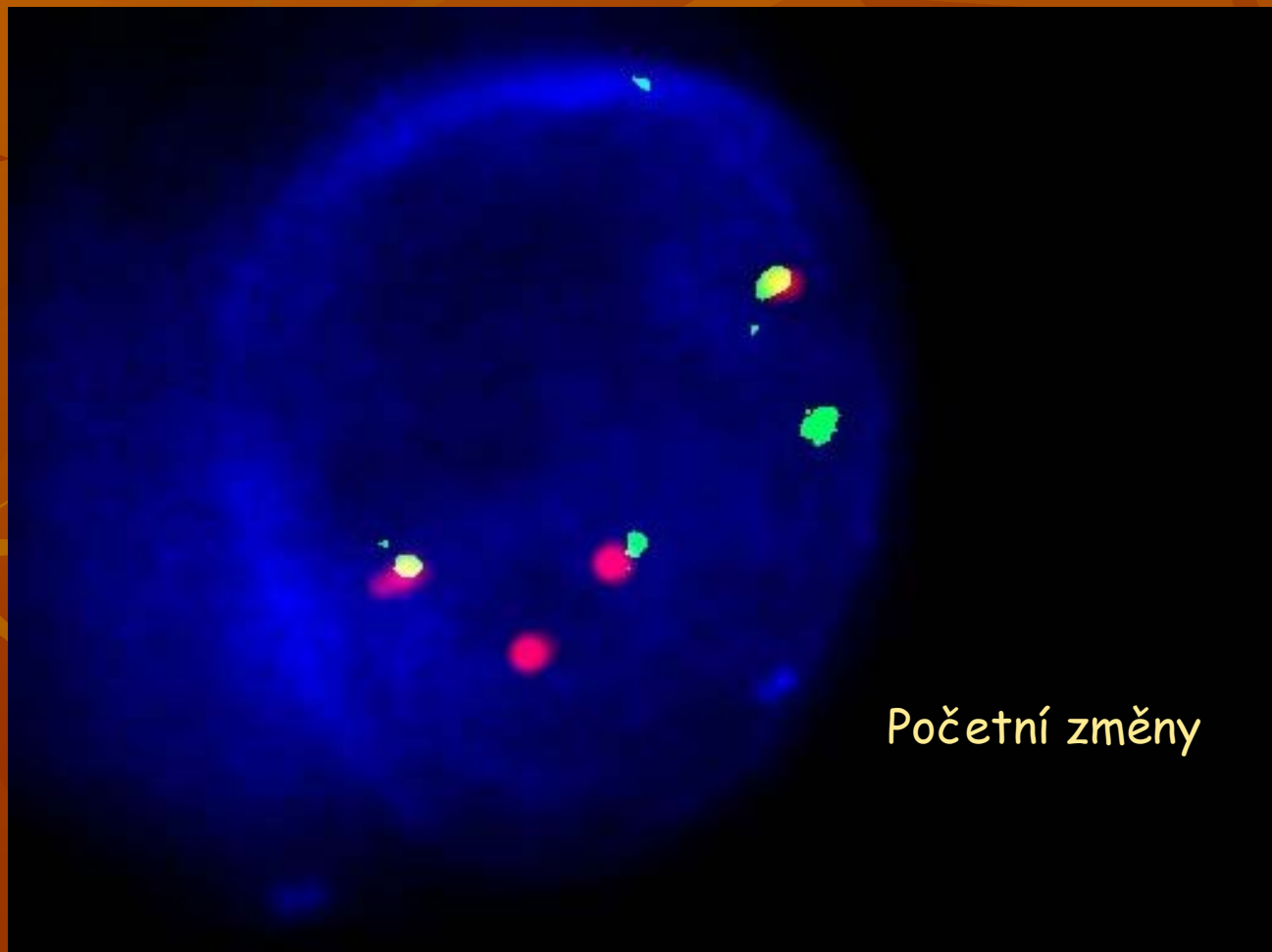
# LSI IGH (14q32) Dual Color, Break Apart Probe (Abbott-Vysis)

del V segmentu



-IgH gen (v.s.-14)

# LSI IGH (14q32) Dual Color, Break Apart Probe (Abbott-Vysis)



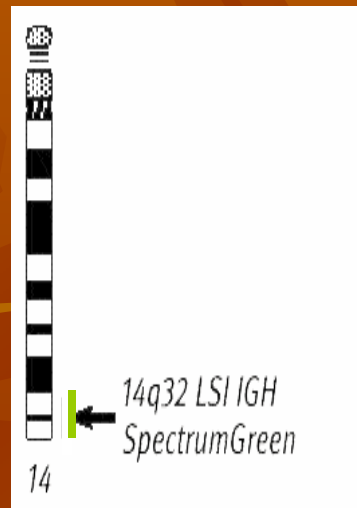
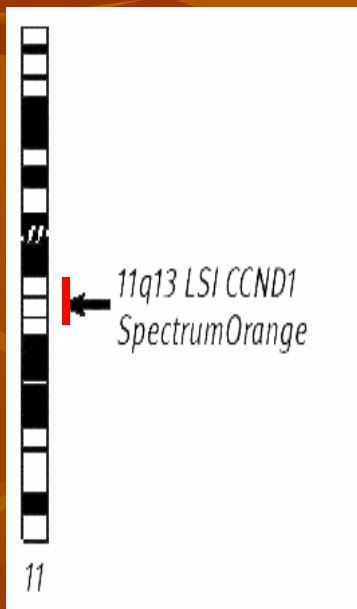
# LSI CCND1/IgH t(11;14) Dual Color/Dual Fusion Probe (Abbott-Vysis)

Celkem vyšetřeno 38 pacientů s MM

Záchyt t(11;14) u 18 pacientů (47%)

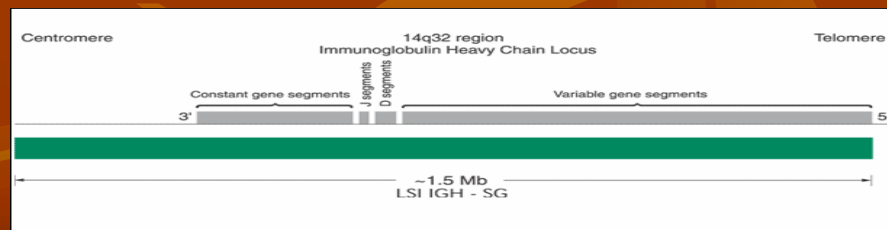
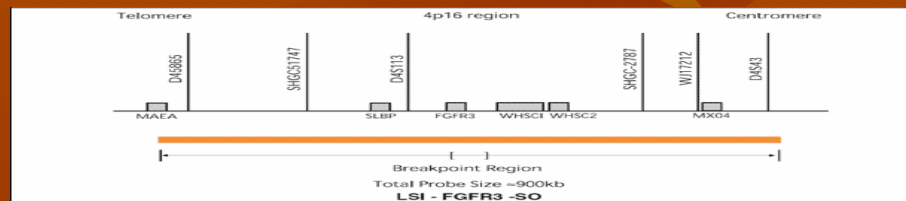
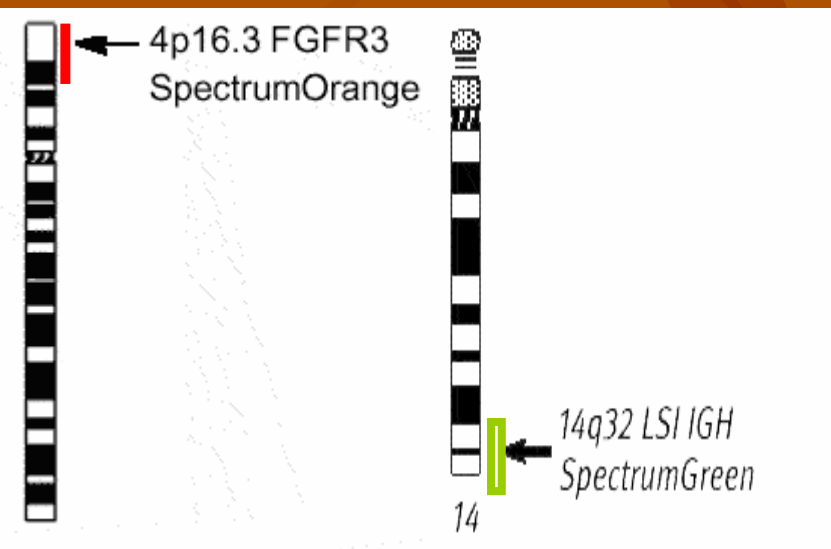
Pozitivní 18

Negativní 20



# LSI IGH/FGFR3 t(4;14) Dual Color/Dual Fusion Probe (Abbott-Vysis)

Celkem vyšetřeno 7 pacientů s MM  
Záchyt t(4;14) u 4 pacientů (57%)  
Pozitivní 4  
Negativní 3



# Mnohobarevná FISH - mFISH

- Pacienty s rozsáhlými změnami v karyotypu vyšetřujeme metodou mFISH. Tato metoda umožňuje identifikovat další početní i strukturní odchylky v karyotypu, které nám neodhalila klasická I-FISH.
- U 9 pacientů, u kterých byly klasickou cytogenetikou nalezeny komplexní přestavby (RZK) - u těchto pacientů byla provedena mFISH  
RZK.....Rozsáhlé Změny Karyotypu

## Klasická cytogenetika

- 46,XY[3]  
46,XY,RZK[19]

- n=53-55 chr.,RZK[18]

- 46,XX[1]/n=41/43  
chr.,RZK[7]

- 48-49,XY,RZK[22]

## mFISH

46,XY[1]  
46,XY,der(13)t(1;13)(p21;p11.2),der(14)t(11;14)(?;q32) [12]  
47,XYidem,+7 [1]/49,XY,idem,+7,+8,+9[ 5]

46,XY[4]/ 47,XY,+Y[1]  
54-55,XY,der(1)t(1;15),der(1)t(1;X),+2,  
+der(3)ins(3;19),der(4)t(4;11),del(5)(q),+del(5),+der(5)t(5;15),  
der(6)t(1;3;6;18;19),der(7)t(1;3;7;18;19),+9,+del(11)(q),  
-13,der(14)t(12;14),+17,+18,+der(19)t(19;20),+der(19)t(19;20)der(20)  
t(3;5;20),der(20)t(6;20),-21,der(21)t(21;21),der(X)t(1;X) [3]  
56,XY,der(1)t(1;X),der(1)t(1;15),+der(1)t(1;X),del(2)(p),+der(3)ins(3;19),  
der(4)t(4;11),+del(5),der(6)t(1;6),+der(7)t(1;3;7;19),+9,+del(11)(q),  
der(13)t(5;13;17),der(14)t(12;14),+17,+18,+der(19)ins(19;8)+der(19)  
t(1;2;19),der(20)t(6;20),+der(20)t(5;20),-1,der(21)t(12;21),del(X)(p) [4]

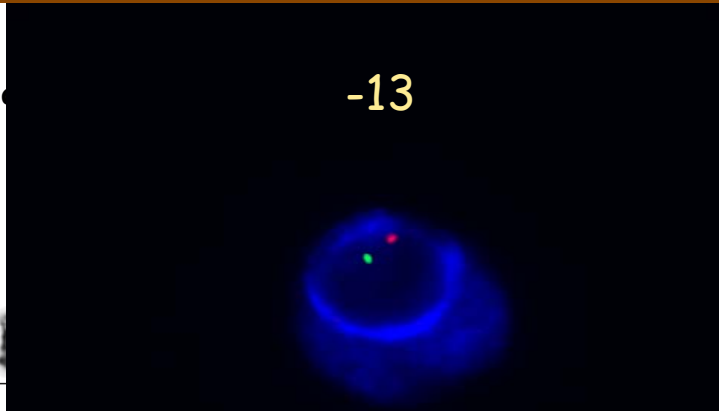
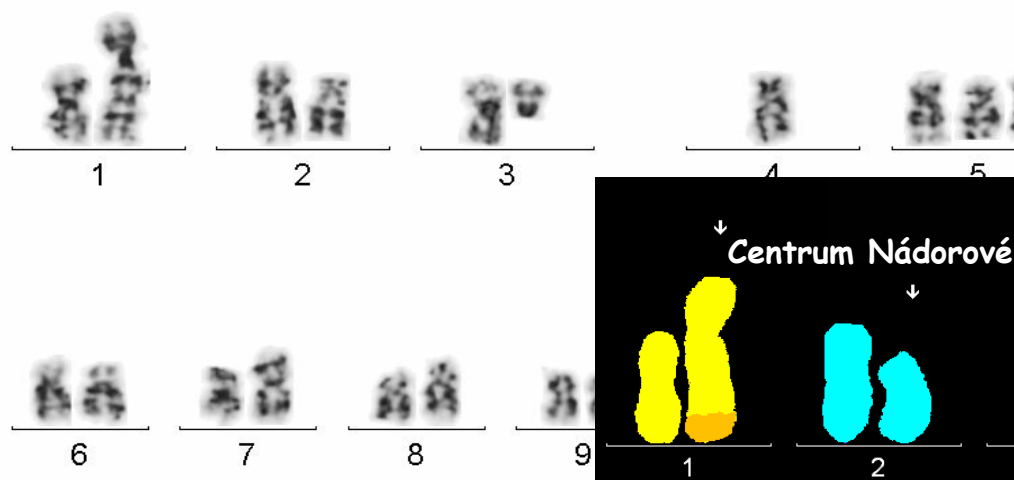
n=43-44,XX,der(1)t(1;16),del(2)(p),del(3)(q12qter),  
-4,+der(5)t(5;15),der(6)t(6;7)t(7;16),der(7)t(7;19),+9,-10,-12,-13,-14,  
-15,der(17)t(10;17),+der(18)t(14;18),+der(19)t(3;19),der(X)t(X;12)[5]

49,XY,susp.del(1)(q41),susp.del(8)(q24),+del(11)(q13),del(13)(q14),der(14)  
(11q14)(q13;a32),del(16)(q12),der(18)t(1;8;18)(q41;q24;p11.3),+der(18)  
t(1;8;18)(q41;q24;p11.3),+21[16]

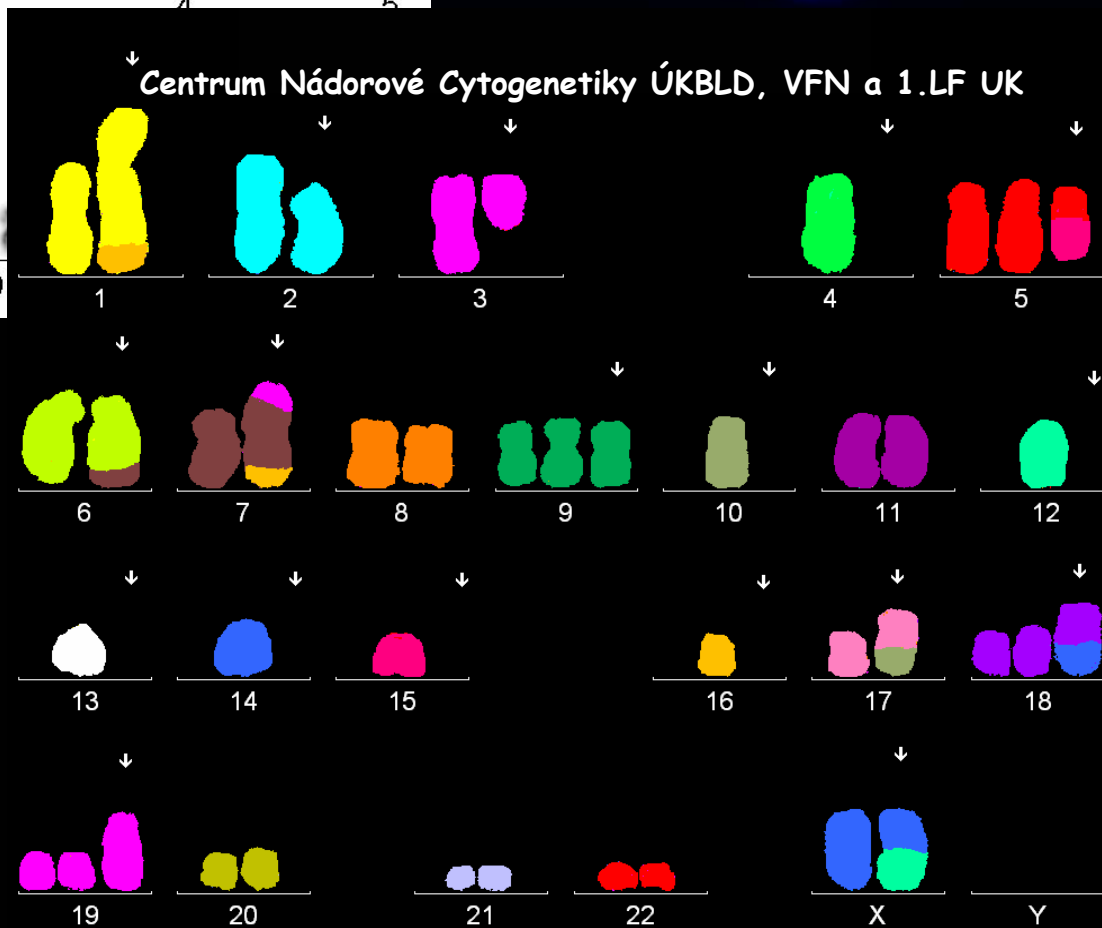
- 46,XY[5]  
48,XY,RZK[10]
  - 46,XY[3]
  - 48,XY,der(1)t(1;15),+del(3),+5,-8,-,+9,der(16)t(1;16),der(17)t(1;17), der(18)t(7;18),+19, der(21)t(8;21) [1]
  - 48,XY,der(1)t(1;15),-+9,der(16)t(1;16),der(17)t(1;17), der(18)t(7;18),+19,der(21)t(8;21), +der(21)t(8;21) [1]
  - 49,XY,idem,+5,der(17)t(1;11;17)[1]
  - 47,XY,der(1)t(1;15),-1,+5,del(6),-8,+9,der(16)t(1;16),-18,der(18)t(7;18),+der(19)t(11;19), der(21)t(1;21),der(2)t(1;22),+der(22)t(8;22)[1]
  
- 46,XY[8]  
n=51-59,RZK[11]
  - 46,XY[12]
  - n=28-39 chr., náhodne ztráty
  - 57,XY,+Y t(1;14)(q22;q21),+3,+del(5)(q14),+der(6)del(6)t(1;6;14)(q?q12;q?), der(8)t(8;15),+9,+11,+12,der(13)t(13;14)(q32;?),der(16)t(7;16)(?:q12.1),+17,+19,+19,der(21)r(21)dic(21) [3]
  - 53,XY,+Y t(1;15)(q22;q22),+3,del(6)(q?),+der(7)ins(7;16)(q11.2;?),+9,+11,der(13)t(13;15)(p11.2;?),-16,+17,+19,+19 [1]
  
- 46,XX[15]  
48,XX,RZK[2]
  - 46,XX[16]
  
- 46,XY[20]  
47,XY,+mar[2]
  - 46,XY[9]
  
- 46,XX[2]/n=43  
43chr.,RZK[16]
  - 43,X,-X,del(60,der(9)t(9;10),t(9;18),del(10),del(11),-12,-13,-14,der(14)t(11;14), der(16)t(5;16), der(17)t(6;17),del(19) [3]

Centrum Náborové Cytogenetiky ÚKBLD, VFN

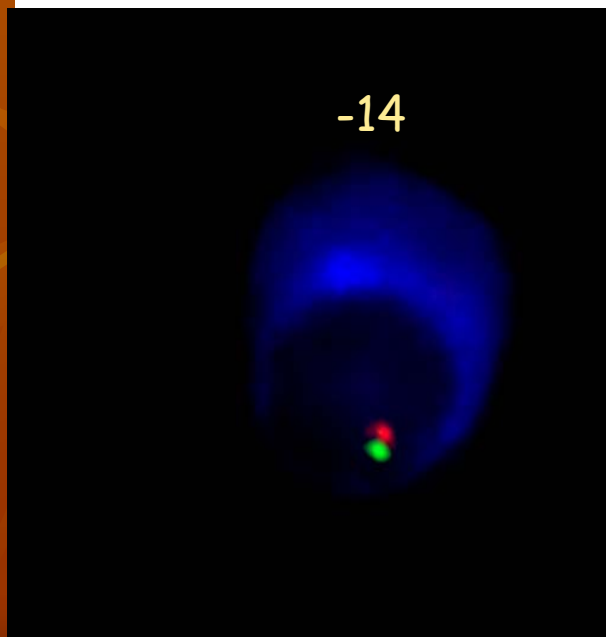
-13



Centrum Náborové Cytogenetiky ÚKBLD, VFN a 1.LF UK



-14





# Závěr I.

- Imunologické značení plasmocytů je metoda, která umožňuje zachytit buňky (plasmocyty) s chromosomovými aberacemi i při nízké infiltraci kostní dřeně
- Všichni pacienti s diagnózou mnohočetný myelom v naší laboratoři, jsou vyšetřeni I-FISH pomocí LSI 13q14/13q34, LSI 14q32 ( při pozitivním nálezu) následuje hledání translokačního partnera LSI sondami IgH/CCND1 a IgH/FGFR3.
- Patologický nález v klasické cytogenetice byl nalezen u 25% pacientů.

## Závěr II.

- Metodou I-FISH jsme prokázali přestavby v oblasti 13q14 u 81 pacientů (58 %).
- Metodou I-FISH jsme prokázali přestavby v 14q32 u 82 pacientů (63 %).
- V současné době se snažíme rozšířit soubor pacientů, v rámci grantu Grant IGA NR-8183-4.
- V budoucnu chceme stanovit význam molekulárně cytogenetických metod pro strategii při léčbě pacientů s mnohočetným myelomem.

# Spolupracovníci

Centrum nádorové cytogenetiky  
UKBLD VFN a 1. LF UK, Praha

Libuše Babická  
Adéla Berková  
Lucie Houšková  
Kateřina Jetelová  
Libuše Folberová  
Hana Grmelová  
Libuše Matuchová  
Jitka Němcová  
Ivana Vlčková

Cytogenetická laboratoř, ÚHKT,  
Praha

Jana Březinová  
Jela Melicherčíková  
Dana Konvalinková  
Jana Limberská  
Lucie Voráčková



**Děkuji za pozornost**