

VÝSLEDKY FISH ANALÝZY U
NEMOCNÝCH S MM
ZAŘAZENÝCH VE STUDII
CMG 2002

VÝZKUMNÝ GRANT NR/8183-4

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

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

- Multicentrická studie
- Sjednocení a standardizace metodik v cytogenetických centrech
- 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)

Počet vzorků odeslaných na cytogenetické vyšetření (podle data registrace)

	Počet pacientů v CMG 2002	Vzorek ano	%	Vzorek ne	%	neuveдено	%
2002-2003	188	79	42,0	55	29,3	54	28,7
2004-2005	244	172	70,5	69	28,3	3	1,2
2006	98	73	74,5	21	21,4	4	4,1
celkem	530	324	61,1	145	27,4	61	11,5

leden 2004 - prosinec 2006

Pracoviště	Počet pacientů	Vzorek ano	%	Vzorek ne	%
Bratislava	27	17	63.0	10	37.0
Brno	84	63	75.0	21	25.0
Hradec Králové	31	17	54.8	14	45.2
Košice	28	18	64.3	10	35.7
Olomouc	37	32	86.5	5	13.5
Plzeň	43	37	86.0	6	14.0
Praha FNKV	31	23	74.2	8	25.8
Praha VFN	50	38	76.0	12	24.0
ostatní	11	0	0.0	11	100.0
celkem	342	245	71.6	97	28.4

MOLEKULÁRNĚ CYTOGENETICKÁ ANALÝZA

Do konce roku 2006 byla molekulárně cytogenetická analýza provedena celkem u **312 pacientů** s MM zařazených do studie CMG 2002 (59.0%).

plná dřeň: 34x (10,9%)

plasmocyty: 278x (89,1%)

imuno 267x

macs 11x

METODY

- Konvenční cytogenetická analýza (a/nebo mFISH)
- Interfázická FISH (I-FISH)

vzorky kostní dřeně

imunoflorescenčně značené plasmatické buňky

monoklonální protilátky (VECTOR Laboratories™)

AMCA Anti-Human kappa chain

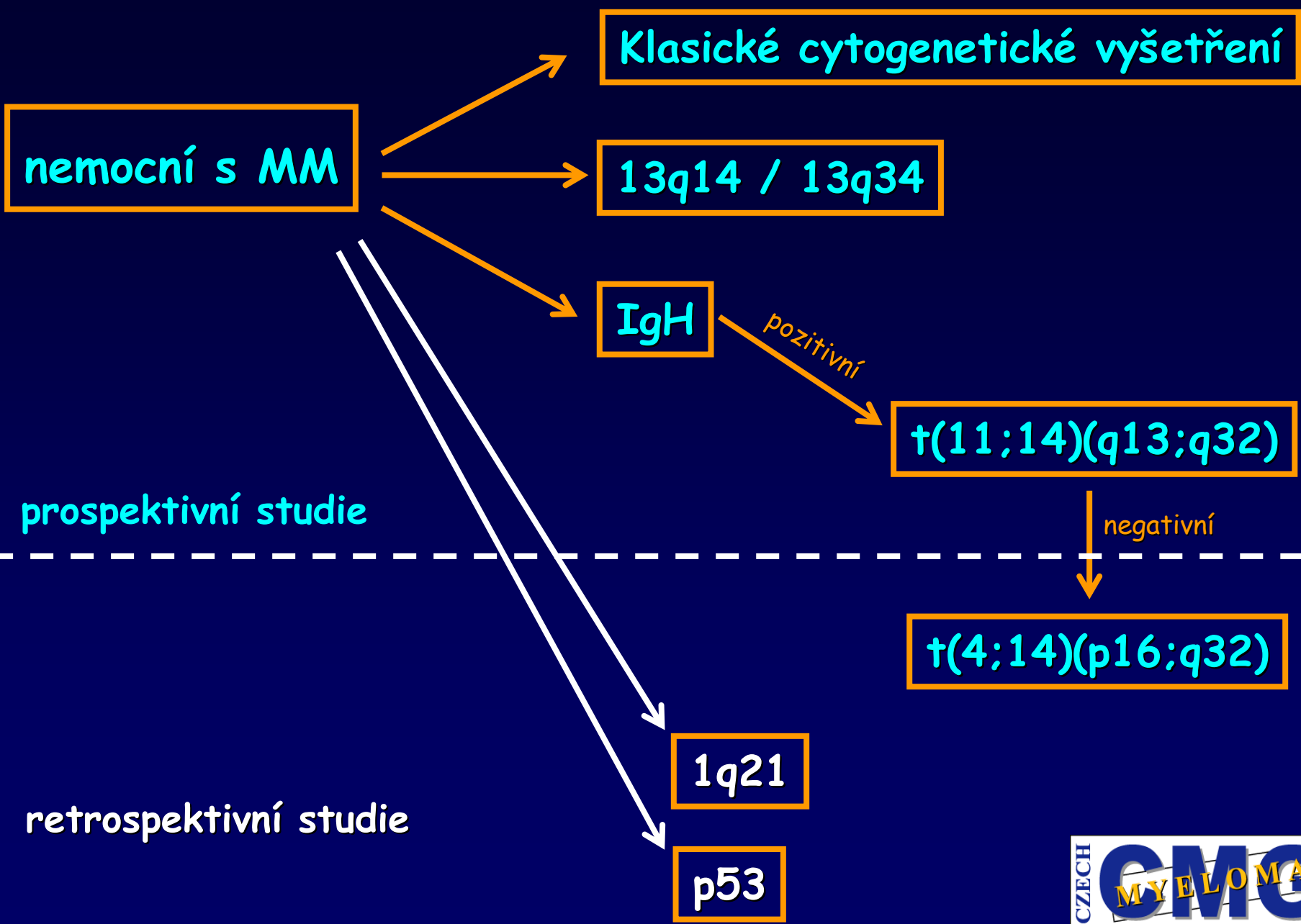
AMCA Anti-Human lambda chain

DNA sondy (Abott Vysis™):

LSI 13q14 (Rb1) / LSI 13q34

LSI IgH

LSI t(11;14)(q13;q32), atd.



SOUBOR NEMOCNÝCH S MM

267 pacientů

průměrný věk: 56.2 let

medián 57.0 let

rozmezí: 33-82 let

Isotyp

kappa	167
lambda	88
kappa/lambda	2
neurčený	10

Klinické parametry

	věk	% PB	albumin	β_2 microglobulin	hemoglobin	LD
N platné	226	195	202	191	205	199
N nedefinováno	1	32	25	36	22	28
průměr	56,20	27,95	36,49	5,77	108,23	5,9
medián	57,00	23,60	36,45	3,89	109,00	5,50
sm.odchylka	7,06	20,02	6,82	6,19	19,26	2,95
minimum	33	,00	15,50	1,18	63,00	1,00
maximum	82	100,00	50,30	54,95	161,00	23,43

PB - plasmatické buňky, LD - laktát dehydrogenáza

Pearson χ^2 test, nonparametric Mann-Whitney rank-sum test, Kaplan Meier test, Mantel-Cox test

KONVENČNÍ CYTOGENETICKÁ ANALÝZA:

Celkem vyšetřeno: 267 pacientů

Úspěšné vyšetření: 217x (81.3%):

- normální nález: 170 nemocných (78.3%)
- patologický nález: 47 nemocných (21.7%)

Chromosomové aberace:

aneuploidie: 15x

jednoduchá strukturní přestavba: 1x

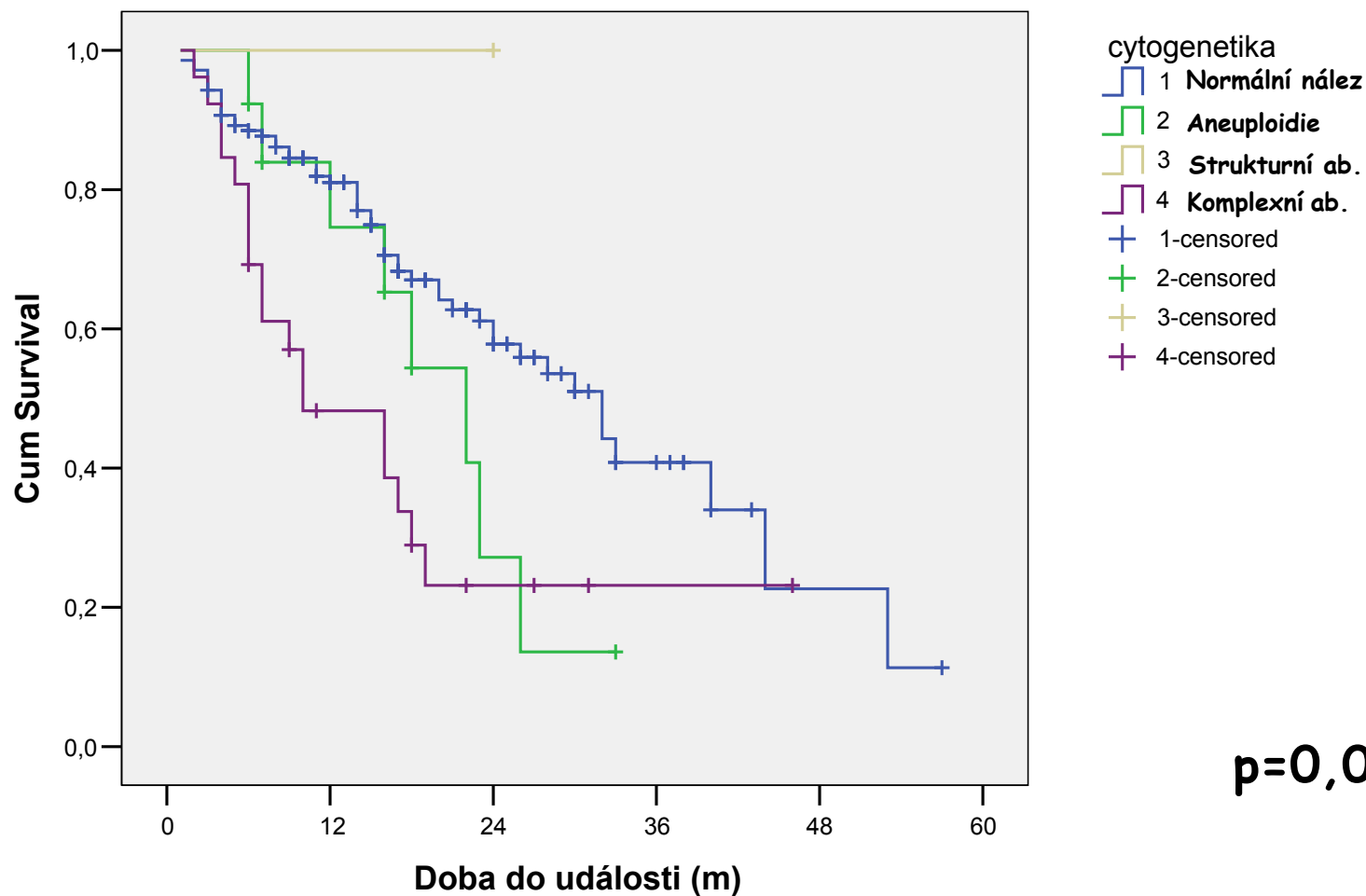
komplexní aberace: 31x

Neúspěšné vyšetření (0 mitos / nehodnotitelné): 46x (17.2%)

Nedokončené vyšetření: 4x (1.5%)

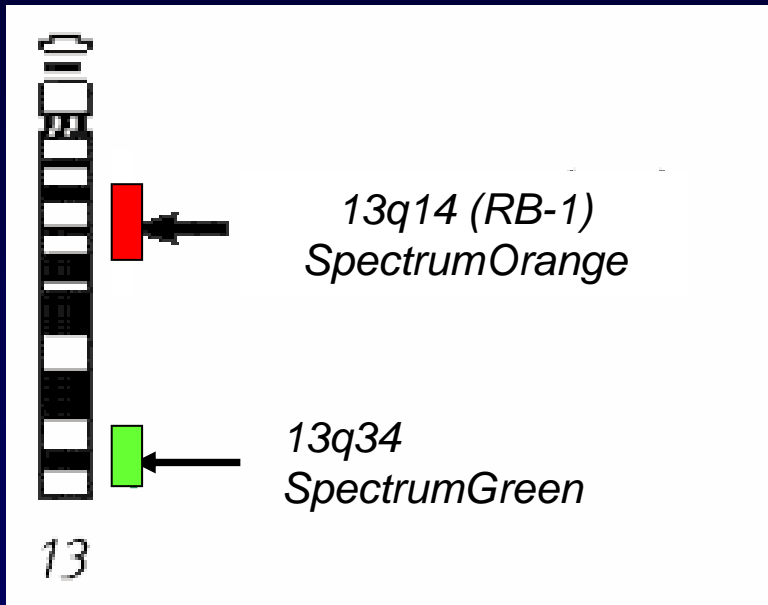
Cytogenetické nálezy - analýza EFS

Survival Functions

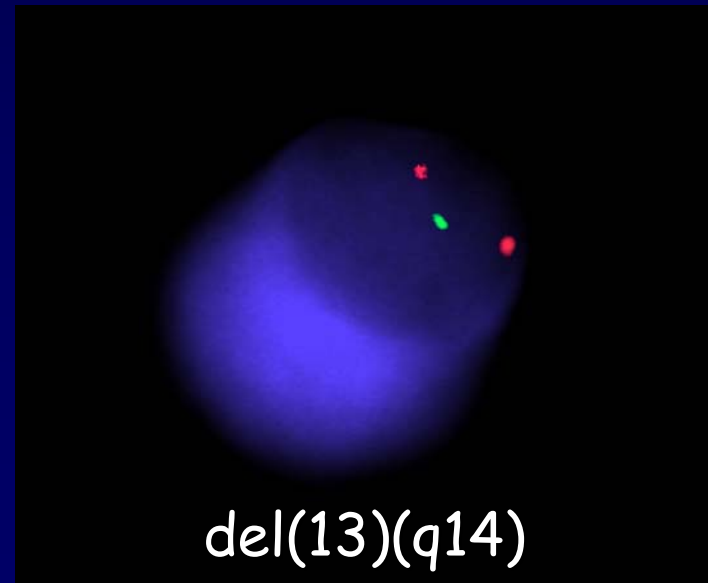
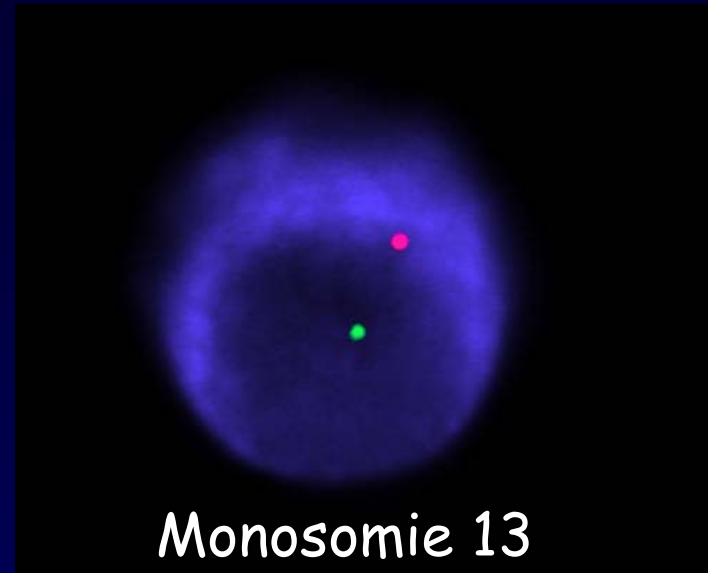


p=0,002

Detekce del(13)(q14) / monosomie 13



LSI 13q14(RB-1)/13q34
ABBOTT-VYSIS™



I-FISH: 13q14/13q34

Celkem vyšetřeno: 264 pacientů

Úspěšné vyšetření 253x (95,8%) / neúspěšné vyšetření 7x (2,7%)

Nedokončené vyšetření 4x

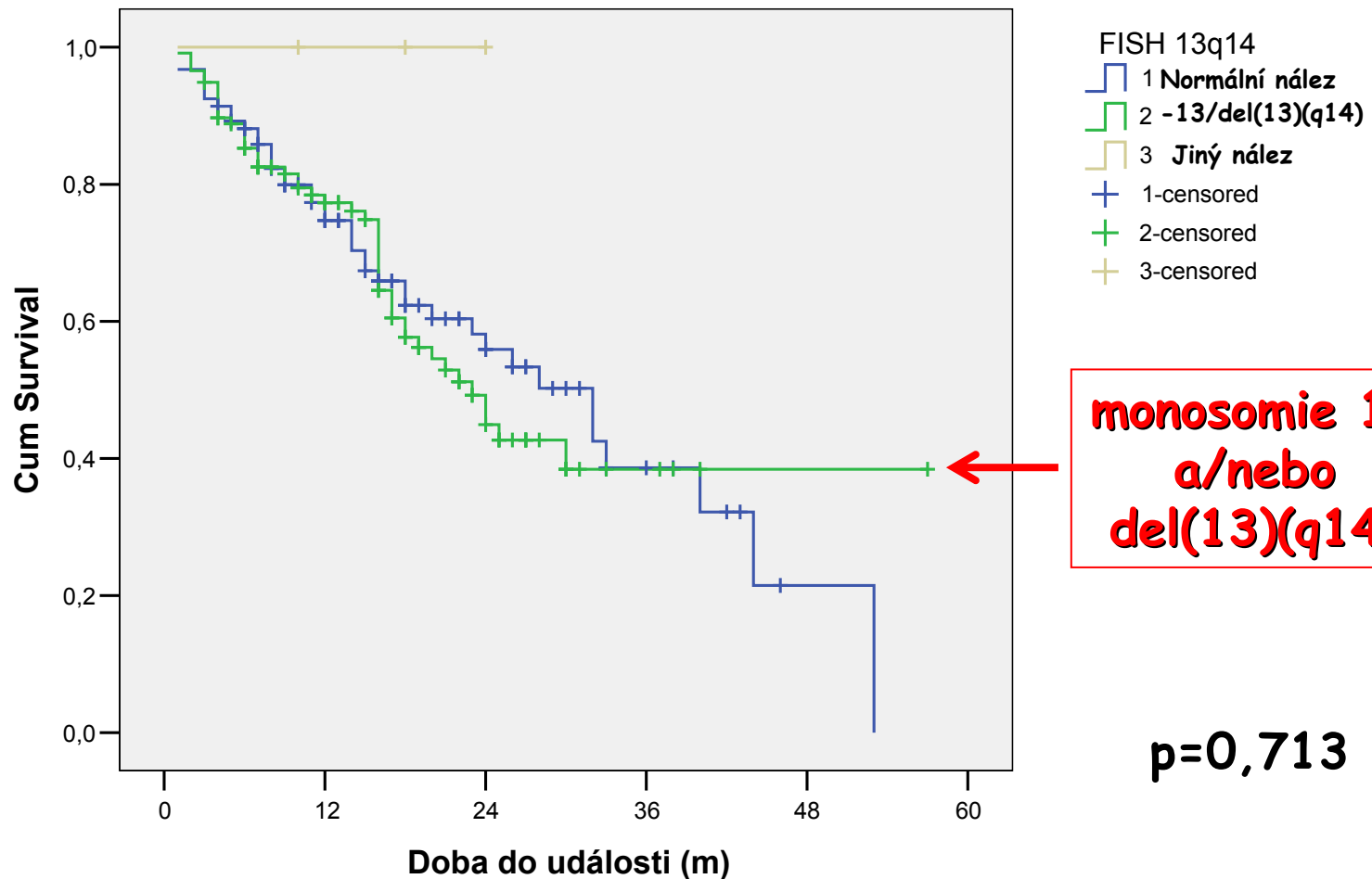
Normální nález: 120x (47,4%)

Patologický nález: 133x (52,6%)

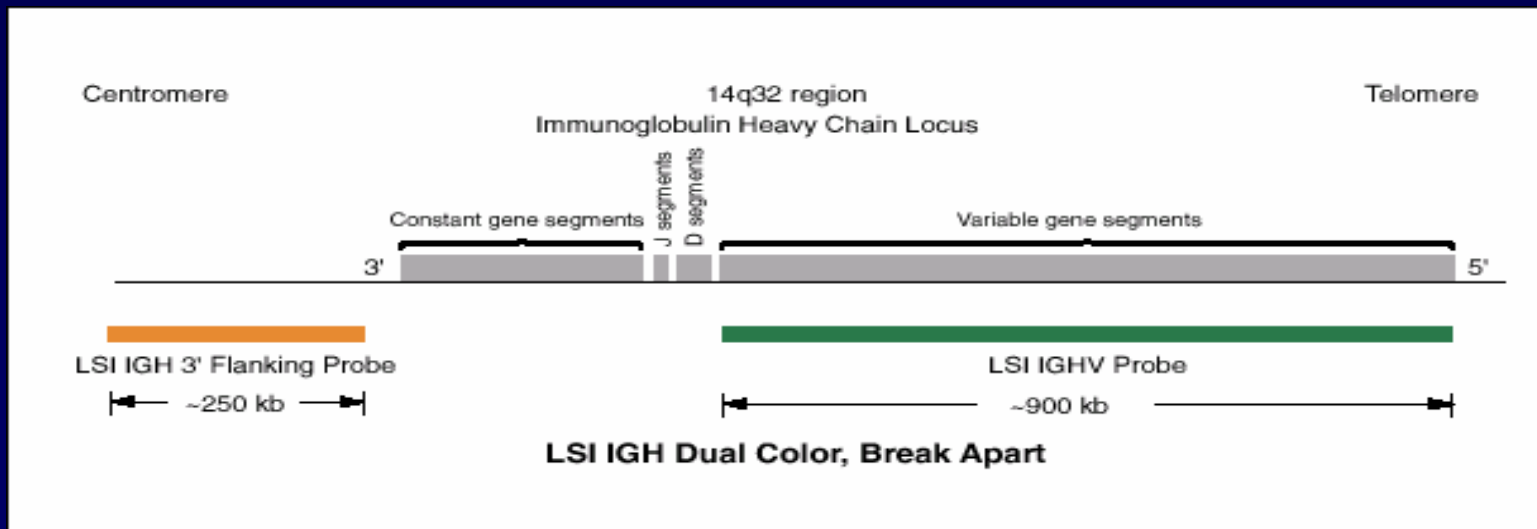
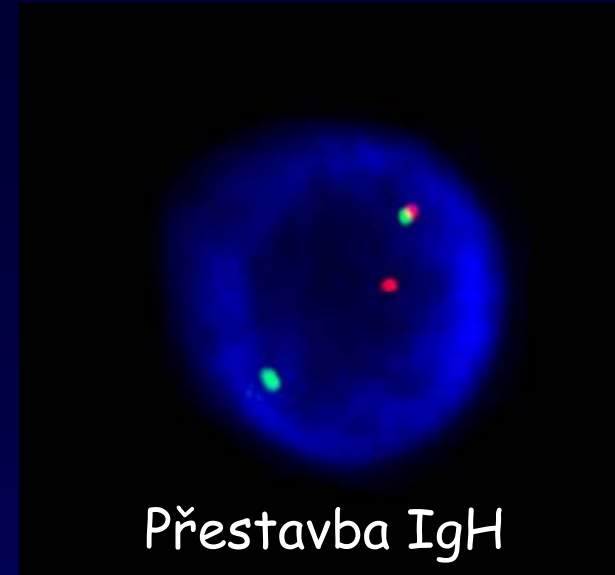
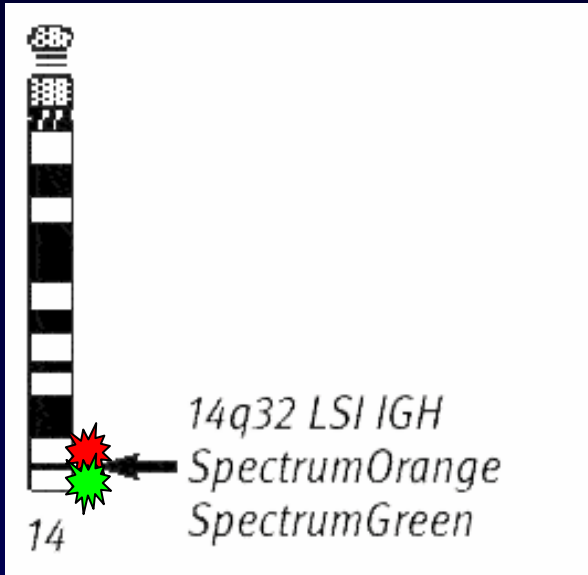
- del(13)(q14): 61x (45,9%)
- monosomie 13: 65x (48,9%)
- del(13)(q14) / -13: 3x (2,2%)
- jiné: 4x (3,0%)

aberace 13q14 - analýza EFS

Survival Functions p = N.S.



Detekce aberací IgH genu



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

I-FISH - přestavby IgH genu

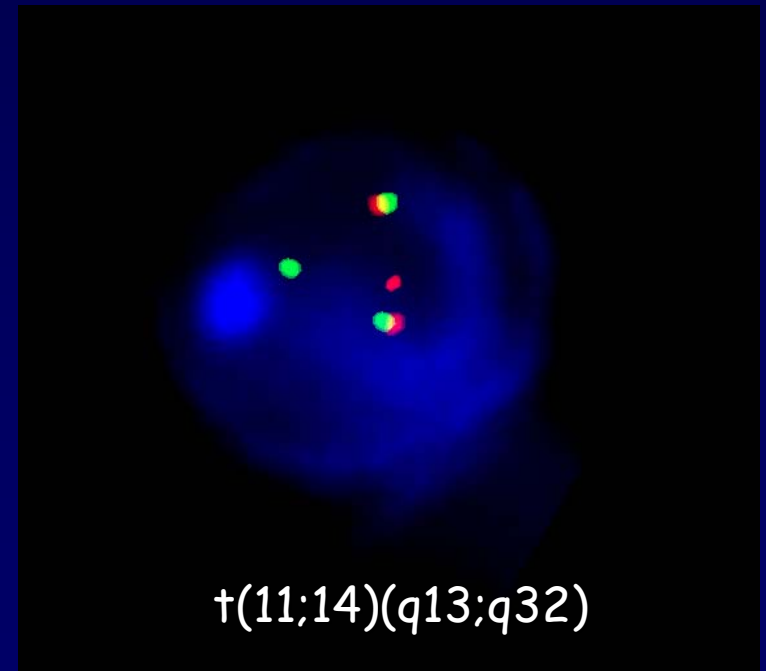
Celkem vyšetřeno:	250 pacientů
Úspěšné vyšetření:	238x (95,2%)
Neúspěšné vyšetření:	8x (3,2%)
Neuzavřené vyšetření:	4x
Normální nález:	110 pacientů (46,2%)
Prokázaná aberace IgH:	128 pacientů (53,8%)
Přestava IgH genu	73x
Delece IgH genu (celková/parciální)	44x
Kombinovaný nález (zlom IgH/delece IgH)	7x
Jiný nález	4x

Přestavby IgH genu

Přestavba celkem prokázána u 80 nemocných (33,6%)

Samostatná přestavba IgH genu	73x
Kombinovaný nález (přestavba/delece IgH)	7x

t(11;14)(q13;q32)	31x
t(4;14)(p16;q32)	24x
t(14;16)(q32;q23)	1x
ostatní	24x



Různé varianty přestaveb IgH genu



Delece IgH genu

Samostatná delece IgH genu celkem prokázána u
44 nemocných

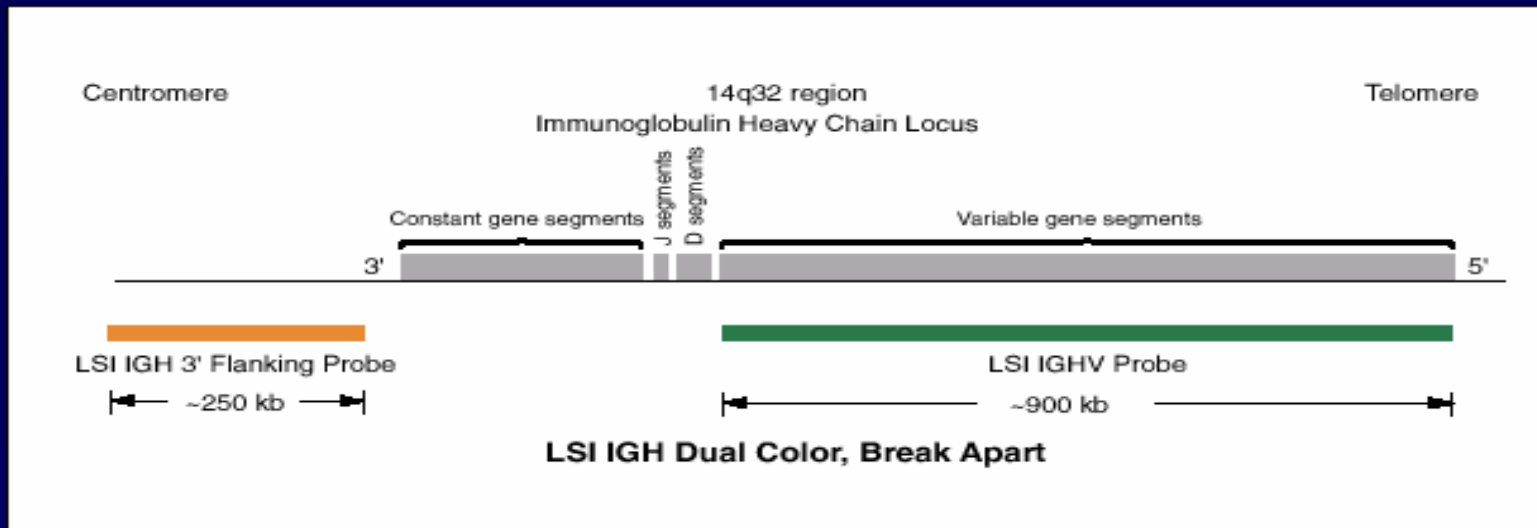
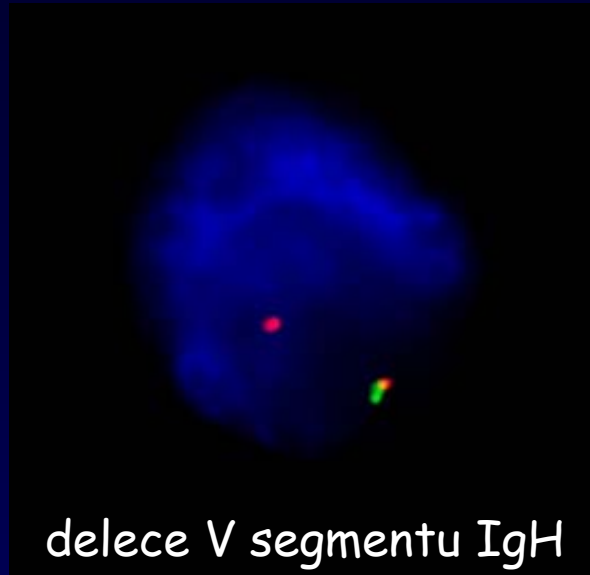
-IgH (monosomie 14/delece 14q32) 22x

Delece V segmentu IgH genu 19x

Delece 3' konce IgH genu 3x

Kombinovaný nálezn přestavba/delece IgH 7x

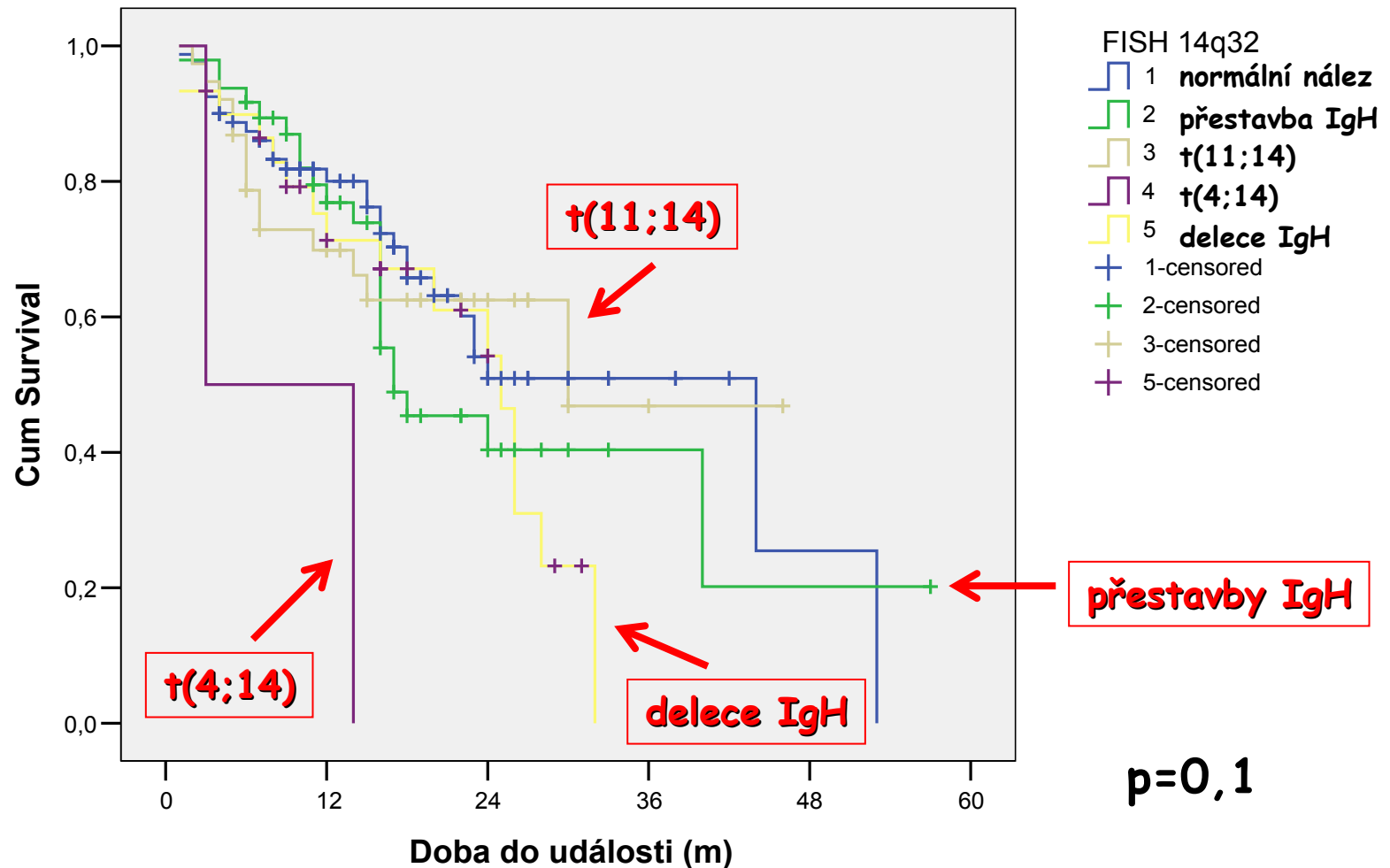
Různé varianty delecí IgH genu



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

aberrace IgH - analýza EFS

Survival Functions $p = 0,1$



Amplifikace 1q21

Celkem vyšetřeno 61 pacientů

(Praha 57x, Brno 4x)

normální nález	21 (35,6%)
aberrace 1q21	30 (64,4%)

amplifikace 1q21	30x (50,1%)
<i>většinou v kombinaci s dalšími aberacemi (87%)</i>	

jiné nálezy	8x
-------------	----

neúspěšná hybridizace	2x
-----------------------	----

Delece p53

Celkem vyšetřeno 127 pacientů

(Praha 59x, Slovensko 38x, Brno 24x, Hradec Králové 6x)

normální nález 74 (58,7%)

aberrace 17p 52 (41.3%)

delece p53 30x (23,8%)

vždy jen v kombinaci s dalšími aberacemi

jiné nálezy 22x

neúspěšná hybridizace 1x

ZÁVĚRY

- ✓ Metodou konvenční cytogenetické analýzy jsme detekovali chromosomové aberace celkem u **21,7%** nemocných s MM
- ✓ Metodou I-FISH jsme prokázali přítomnost chromosomových aberací u **77,3%** nemocných s MM.
- ✓ Aberace **13q** byly detekovány celkem u **52,6%** nemocných.
- ✓ Aberace **IgH genu** byly prokázány celkem u **53,8%** nemocných; kromě translokací byly detekovány různé varianty delecí **IgH genu**.

Chromosomové aberace v plasmatických buňkách jsou často kumulované → vliv na prognózu

HEMATOLOGICKÁ CENTRA:

I. interní klinika VFN a 1.LF UK Praha

I. Špička

OKH FN Královské Vinohrady, Praha

E. Gregora

Interní hematologicko-onkologická 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

Slovensko: KHaO Košice, KHTK Bratislava

CYTOGENETICKÁ CENTRA:

Centrum nádorové cytogenetiky ÚKB LD, VFN a 1.LF UK Praha
Z. Zemanová, K. Michalová, L. Pavlišťová, J. Tajtlová

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

Lékařská fakulta UP Olomouc
M. Holzerová, M. Jarošová

Ústav lékařské genetiky LF UK a FN Plzeň
M. Hrubá

Oddělení lékařské genetiky FN Hradec Králové
J. Rabasová

Slovensko: D. Ilenčíková