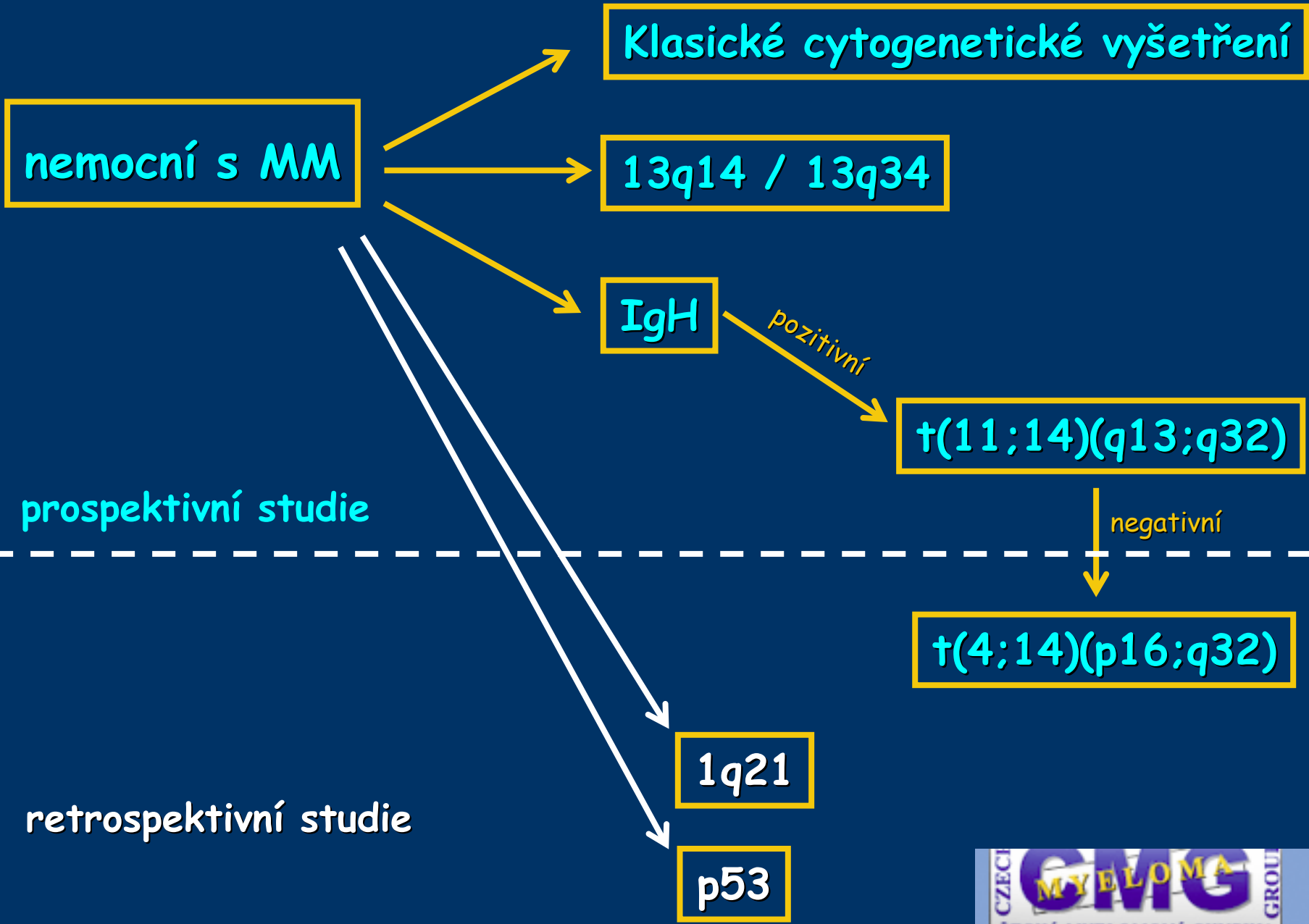


**Molekulárně cytogenetická analýza
značených plasmatických buněk a
prognostický význam klonálních
chromosomových aberací u mnočetného
myelomu.**

Výzkumný grant IGA MZ ČR NR/8183-4

Cíle studie:

- Sjednocení a standardizace metodik v jednotlivých cytogenetických centrech.
- Zjištění frekvence a prognostického významu nejvýznamnějších specifických chromosomových aberací v imunofluorescenčně značených plasmatických buňkách u homogenní skupiny nemocných s MM zařazených do studie CMG 2002.



Frekvence chromosomových aberací v celém souboru

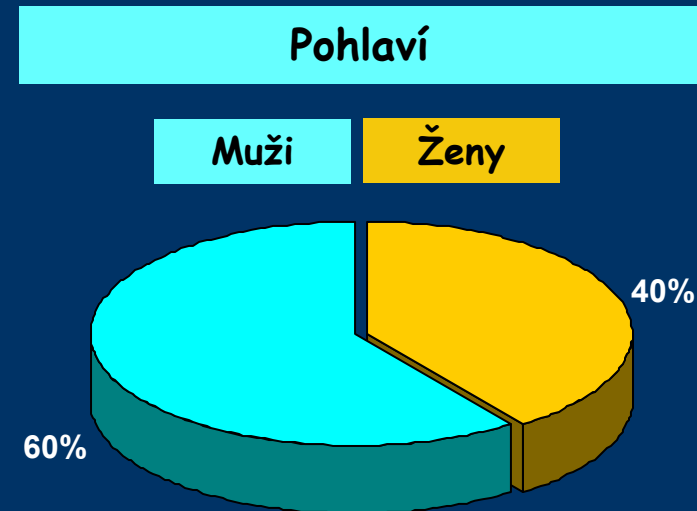
- V letech 2004-2006 celkem vyšetřeno 677 nově diagnostikovaných pacientů s MM konvenční cytogenetickou analýzou a metodou cIg-FISH (221 pacientů následně zařazeno do studie CMG 2002 - 32.6%)
 - ✓ Konvenční cytogenetická analýza prokázala chromosomové aberace u 22.4% pacientů, 77.6% pacientů mělo normální nález.
 - ✓ Metodou cIg-FISH prokázány chromosomové aberace u 83.7% nemocných s MM.

Prognostický význam chromosomových aberací ve studii CMG 2002

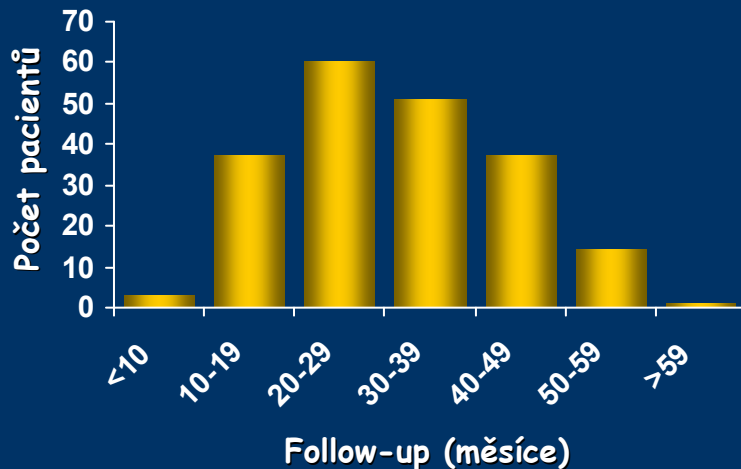
- ➔ Do souboru pro závěrečnou statistickou analýzu zahrnuto **208 pacientů** zařazených do studie CMG 2002 do konce roku 2005 (→ dostatečně dlouhá doba sledování).

Základní charakteristika souboru

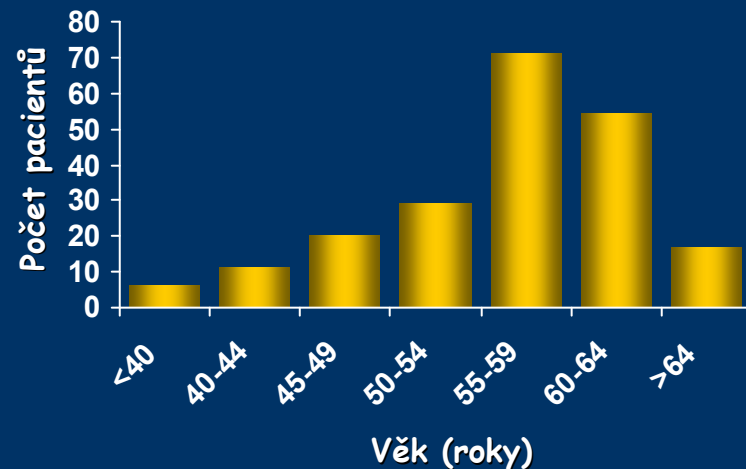
Pohlaví (N = 208)	
Muži	125 (60.1%)
Ženy	83 (39.9%)
Věk (roky) (N = 208)	
Průměr (SD)	56.0 (7.1)
Medián	57.0
95% IS	55.0-57.0
Min – max	32-69
Follow-up (měsíce) (N = 203)	
Průměr (SD)	31.3 (11.7)
Medián	30.4
95% IS	29.7-32.9
Min - max	8.8-64.7



Follow-up



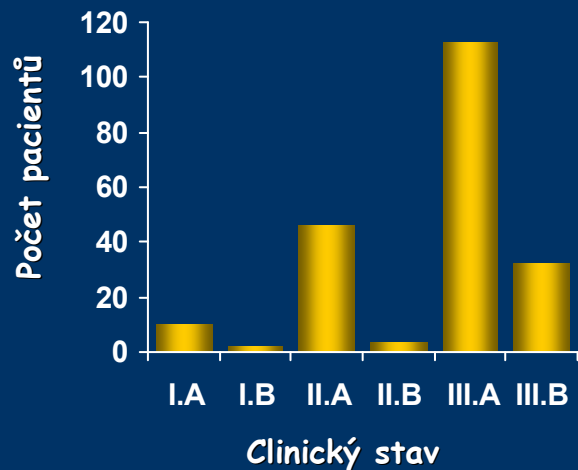
Věk



Základní charakteristika souboru

Klinický stav (N = 208)	
I.A	10 (4.8%)
I.B	2 (1.0%)
II.A	46 (22.1%)
II.B	4 (1.9%)
III	1 (0.5%)
III.A	113 (54.3%)
III.B	32 (15.4%)
Typ paraproteinu (N = 193)	
IgG	124 (64.3%)
IgA	48 (24.9%)
light chains	7 (3.6%)
free chains	6 (3.1%)
B-J	5 (2.6%)
IgM	2 (1.0%)
IgD	1 (0.5%)

Klinický stav (Durie-Salmon)



Typ paraproteinu

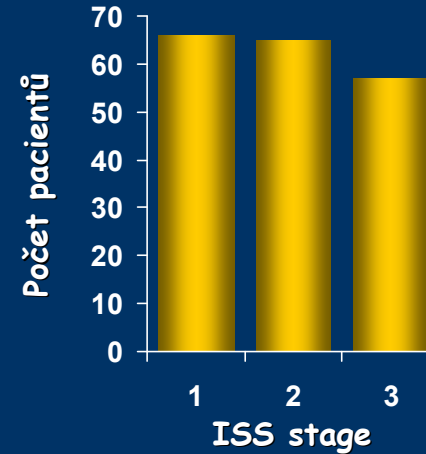


Laboratorní parametry	N	Průměr (SD)	Medián	95% CI	min-max
Albumin (g/l)	194	36.6 (6.7)	36.7	35.7-37.6	21.5-51.0
Haemoglobin (g/l)	201	109.2 (19.6)	110.0	106.4-111.9	63.0-156.0
Calcium (mmol/L)	198	2.48 (0.37)	2.40	2.43-2.53	1.84-3.84
Beta-2 microglobulin (mg/L)	180	5.5 (5.1)	4.0	4.8-6.3	1.2-35.9
CRP (mg/L)	189	15.0 (30.5)	5.0	10.6-19.4	0.0-274.0
MIG-start (g/L)	197	38.2 (21.2)	39.6	35.2-41.1	0.0-87.3
LD (μkat/L)	186	5.9 (3.0)	5.4	5.4-6.3	1.7-23.4

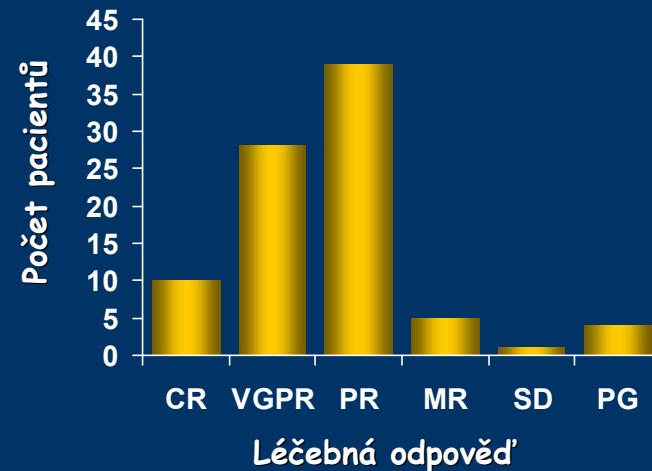
Základní charakteristika souboru

ISS stage (N = 188)	
1	66 (35.1%)
2	65 (34.6%)
3	57 (30.3%)
Léčebná odpověď (6měsíců po transplantaci)	
ORR	77 (88.5%)
CR	10 (11.5%)
VGPR	28 (32.2%)
PR	39 (44.8%)
MR	5 (5.8%)
SD	1 (1.1%)
PG	4 (4.6%)

ISS stage



Léčebná odpověď

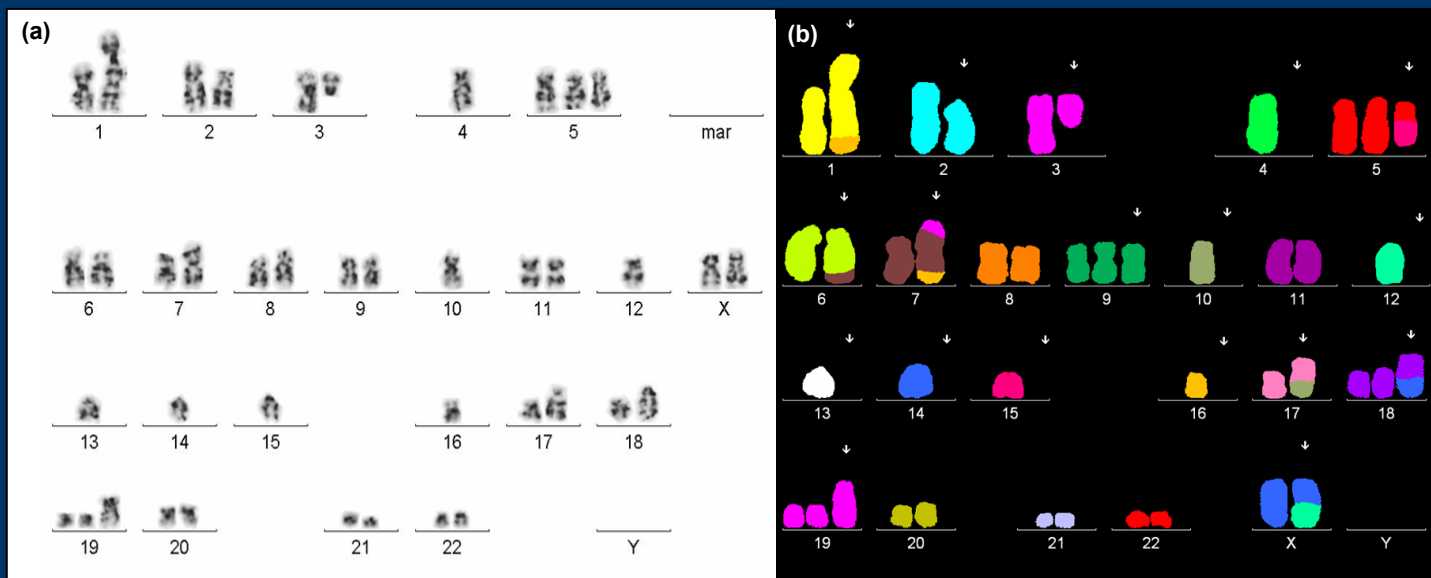


Konvenční cytogenetická analýza

Úspěšné vyšetření: 175x (84.1%):

- patologický nále: 40 nemocných (22.9%)
- normální nále: 135 nemocných (77.1%)

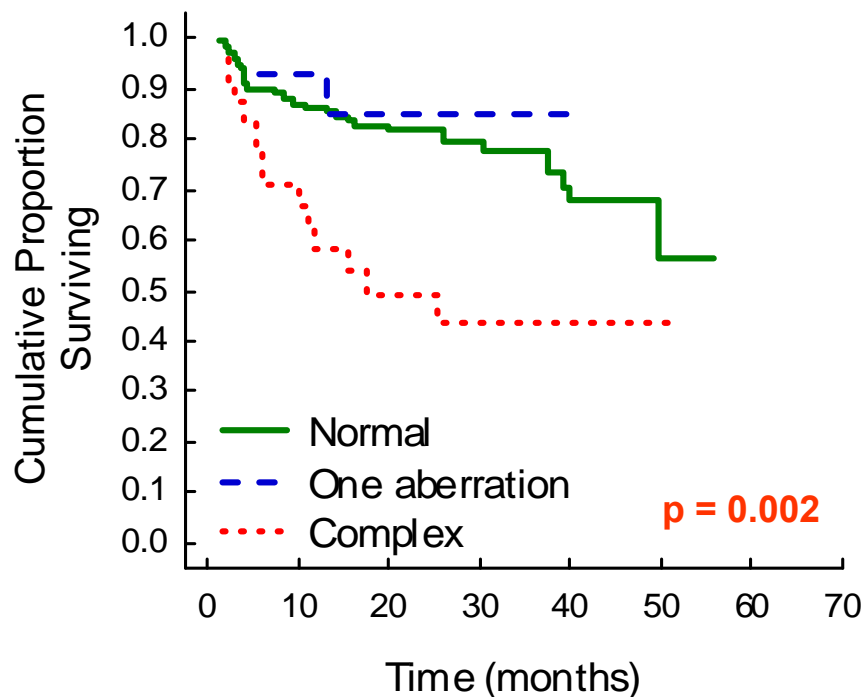
Neinformativní vyšetření: 33x (15.9%)



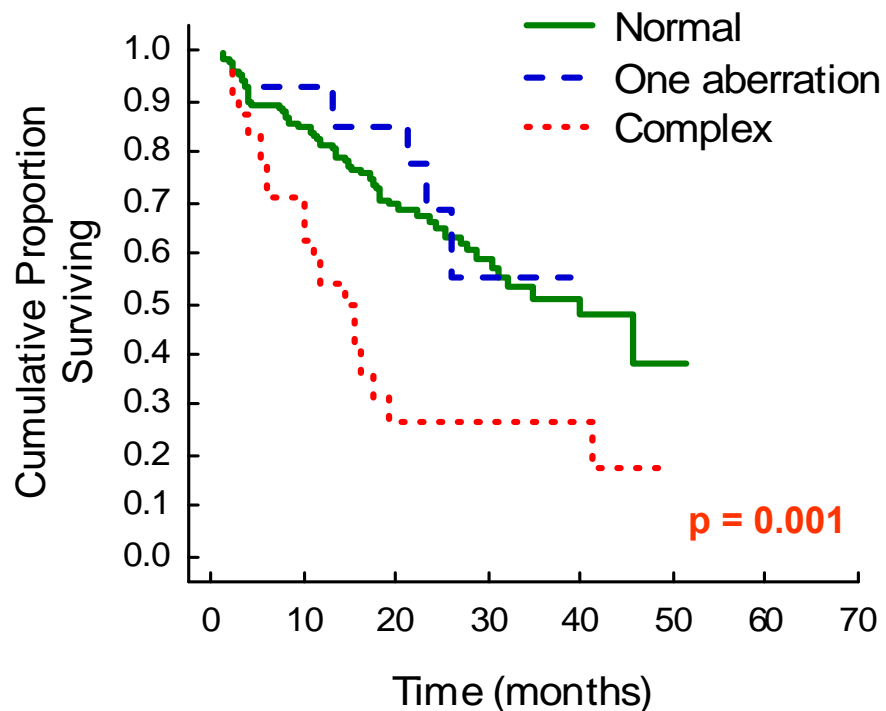
- ✓ Strukturní aberace a/nebo komplexní přestavby karyotypu 26x
- ✓ Aneuploidie 14x

Konvenční cytogenetická analýza

OS



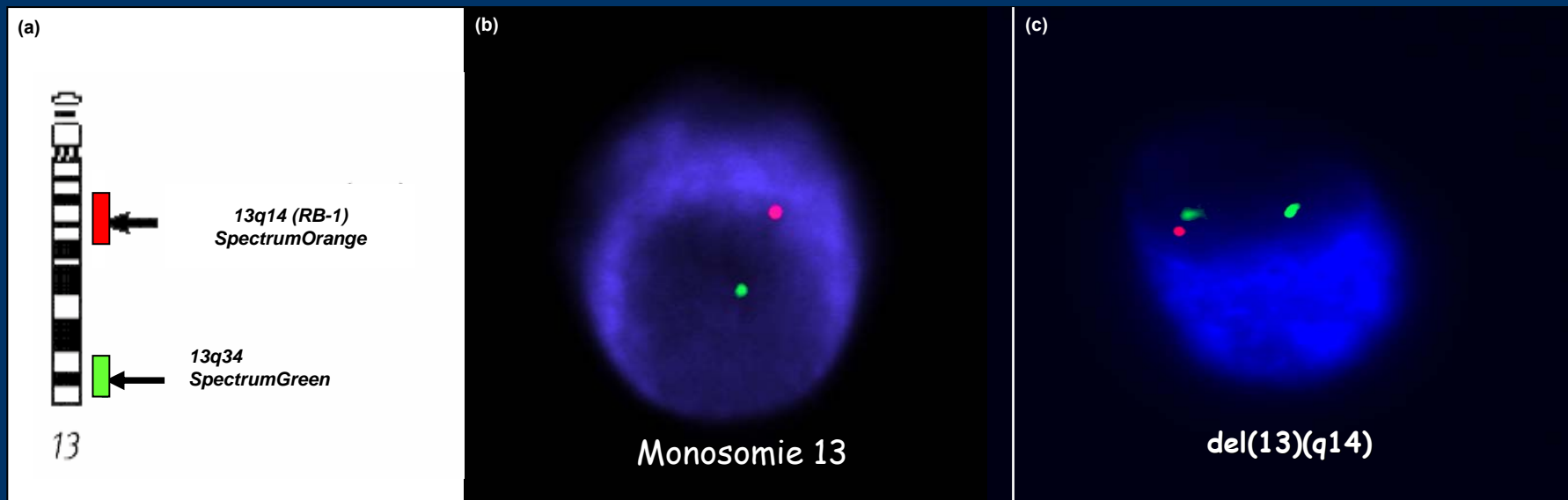
PFS



➔ Analýza délky přežití prokázala **statisticky významně kratší OS a PFS** u pacientů s komplexními aberacemi.

cIg-FISH: del(13)(q14) / monosomie 13

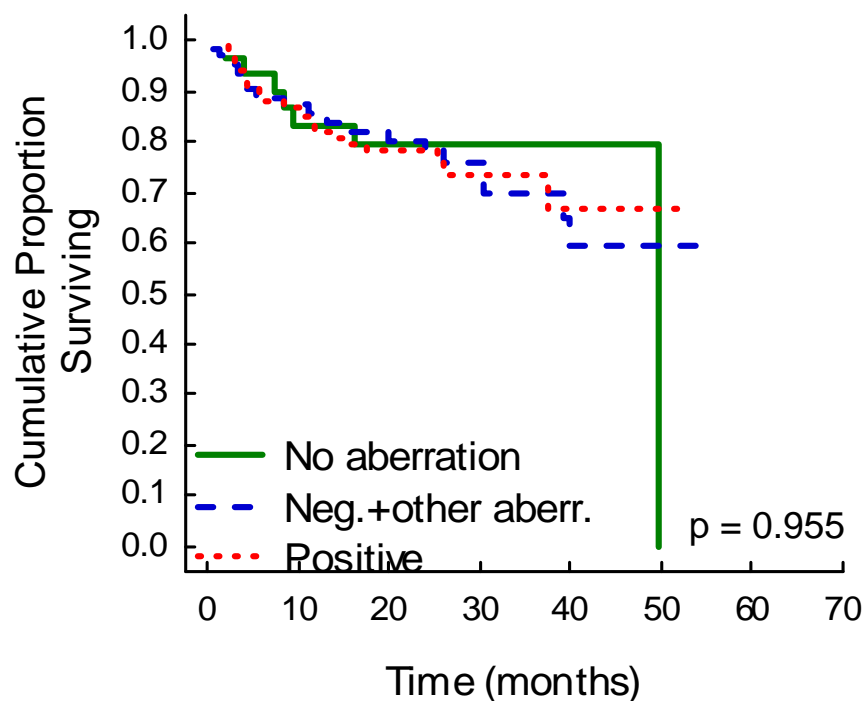
➔ Aberace 13q14 prokázány u 52.9% pacientů



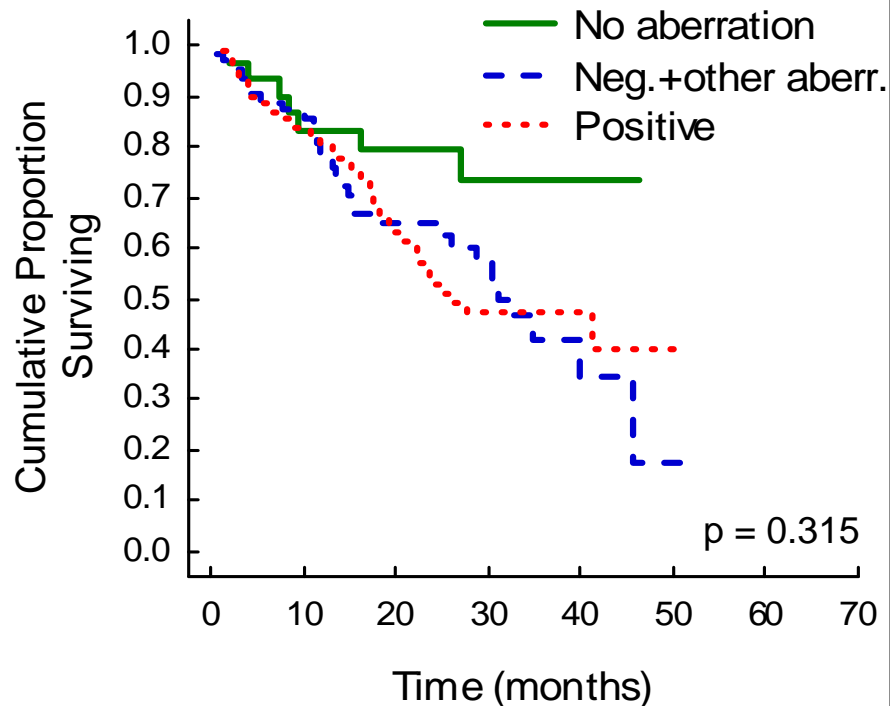
LSI® RB1 (13q14) / LSI® 13qter (Abbott-Vysis)

cIg-FISH: del(13)(q14) / monosomie 13

OS



PFS

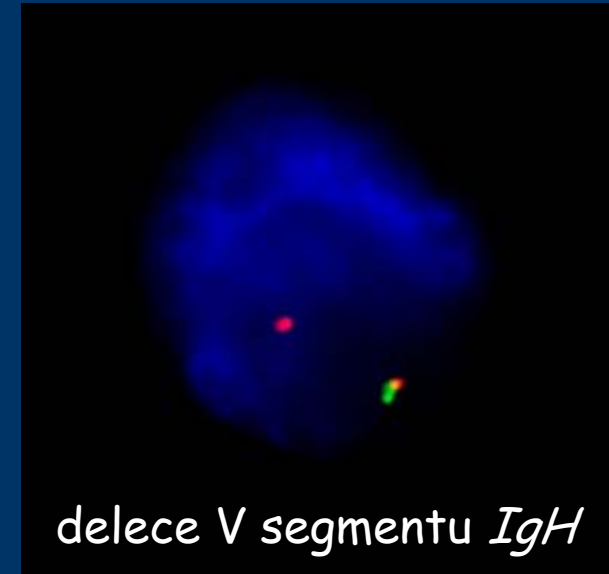
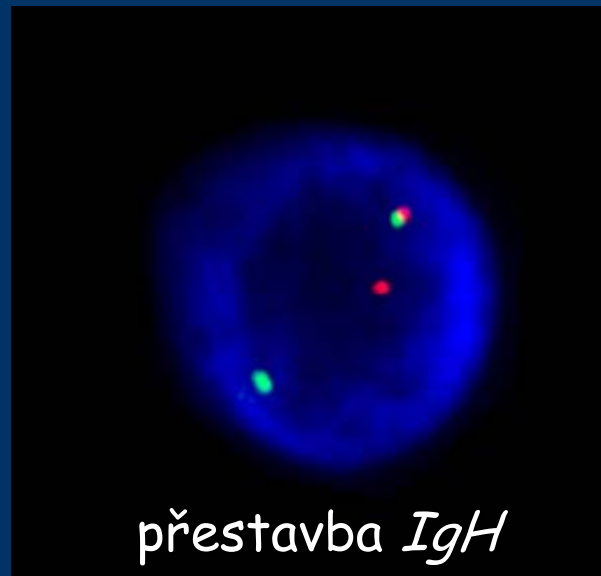
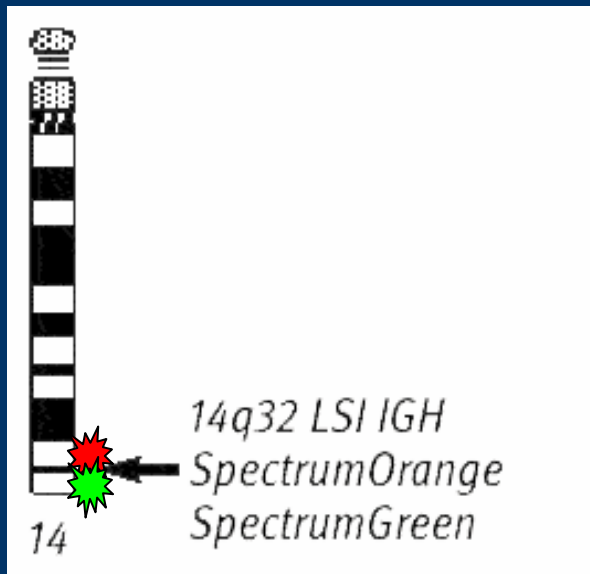


➔ Prognostický vliv aberací chromosomu 13 na délku přežití **nebyl** ve studii **CMG 2002** **prokázán** (tendence k delšímu PFS u nemocných bez prokázaných chromosomových změn).

cIg-FISH: přestavby *IgH*

➔ Přestavby *IgH* genu prokázány u 58.6% pacientů

Kromě translokací detekovány různé varianty delecí *IgH* genu (pravděpodobně jako důsledek nebalancovaných translokací a/nebo komplexních přestaveb zahrnujících *IgH* gen).

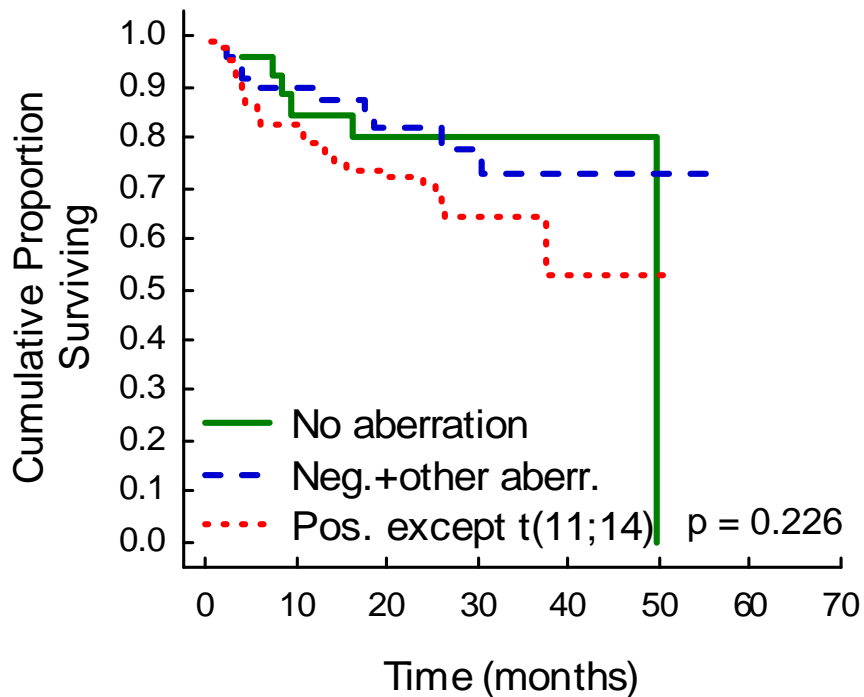


LSI® *IgH* Dual Color Break Apart Rearrangement Probe (Abbott-Vysis)

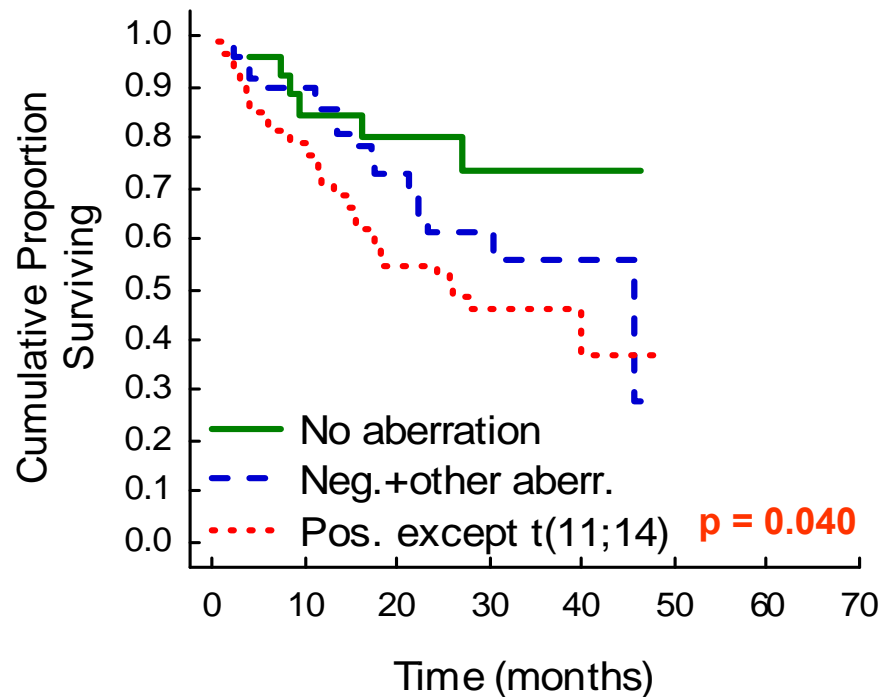
cIg-FISH: přestavby *IgH*

kromě $t(11;14)(q13;q32)$

OS



PFS

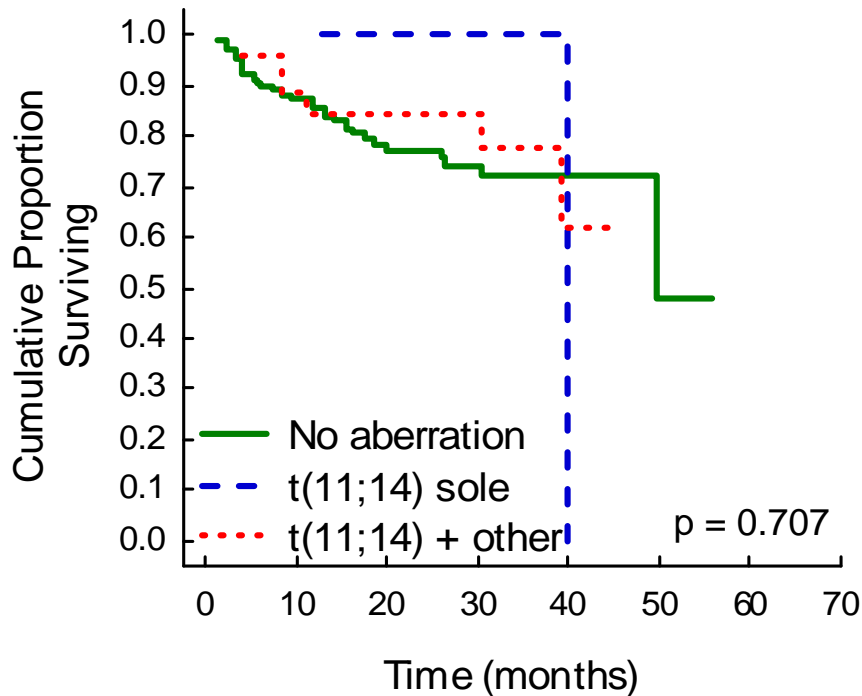


➔ Statistická analýza potvrdila u pacientů s aberacemi *IgH* (translokace/delece) **signifikantně kratší PFS**

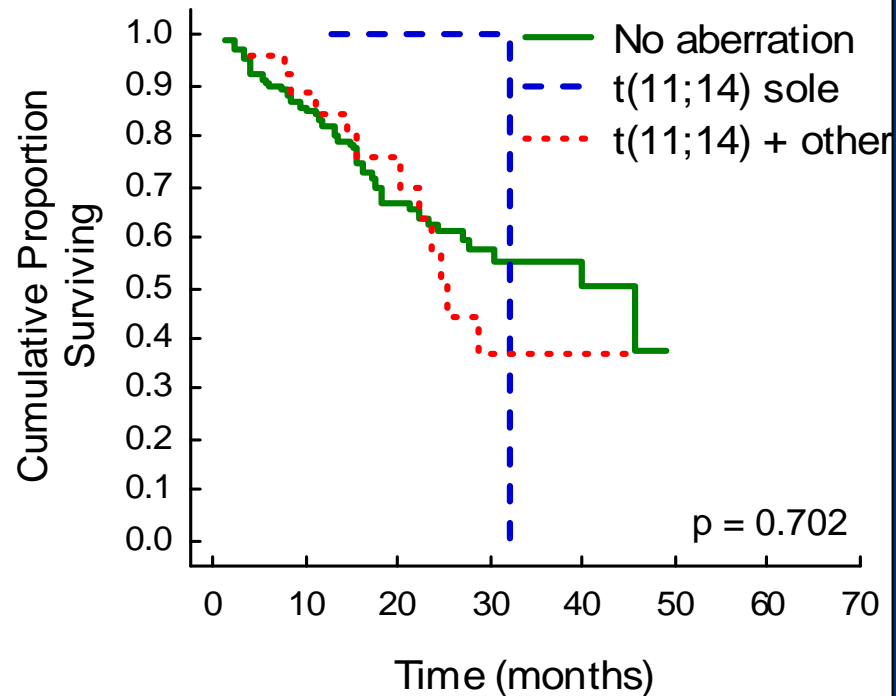
cIg-FISH: t(11;14)(q13;q32)

➔ Translokace prokázána u 18.5% nemocných

OS



PFS



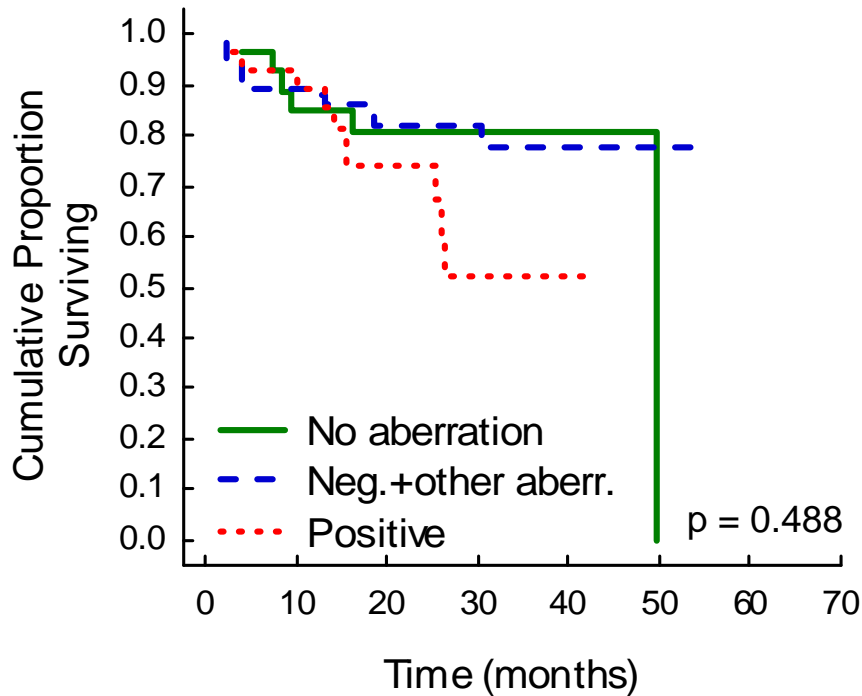
✓ Statistická analýza **nepotvrdila** ve studii CMG 2002 příznivý prognostický význam t(11;14)(q13;q32)

✓ Pouze u tří pacientů translokace jako samostatná změna v karyotypu, v ostatních případech v kombinaci s dalšími chromosomovými aberacemi (→ nepříznivý vliv na prognózu onemocnění).

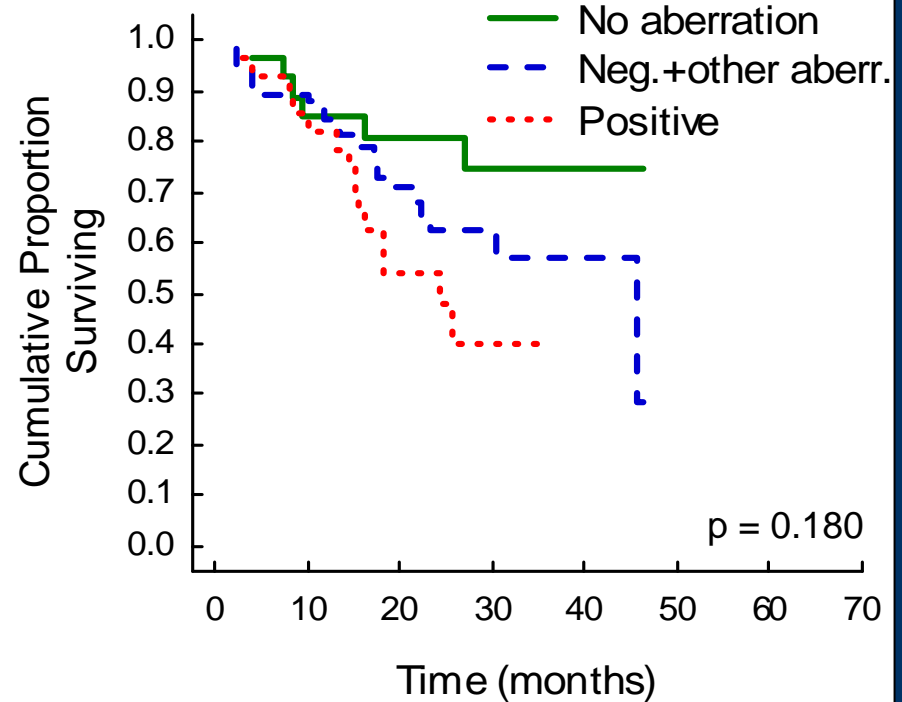
cIg-FISH: t(4;14)(p16;q32)

➔ Translokace prokázána u 15.8% nemocných.

OS



PFS

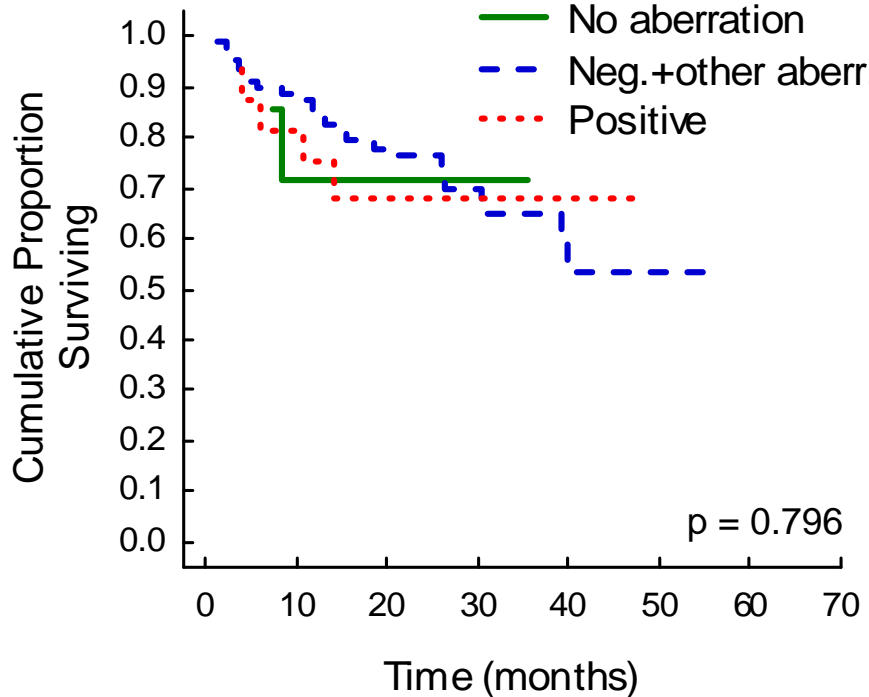


➔ Tendence ke kratšímu OS a PFS u pacientů s prokázanou translokací (pod hladinou statistické významnosti).

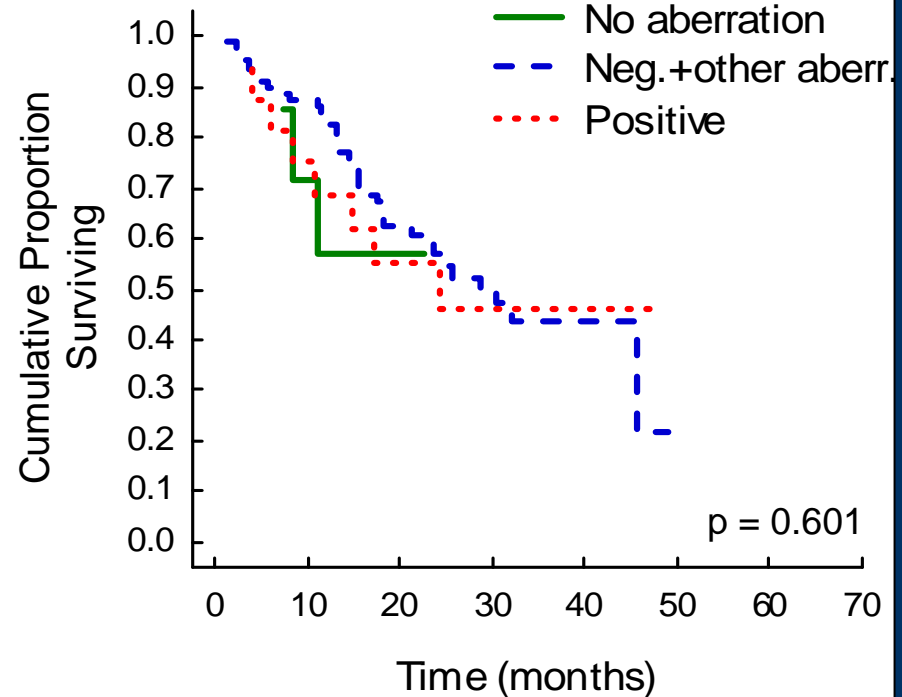
cIg-FISH: delece p53

➔ Delece del(17)(p13) prokázána u 13.1% pacientů

OS



PFS

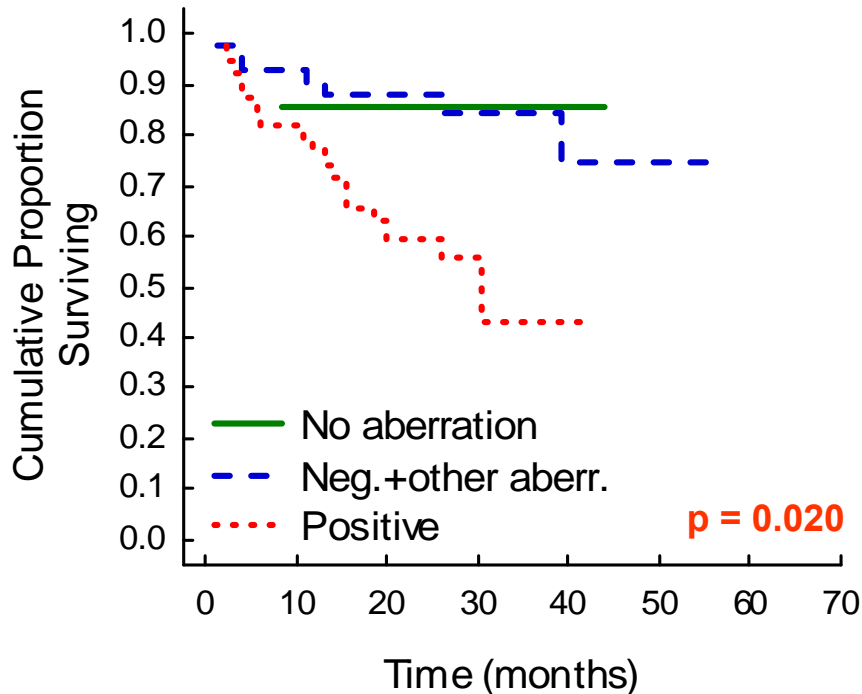


➔ Délka OS a PFS v jednotlivých skupinách se ve studii CMG 2002 statisticky nelišila

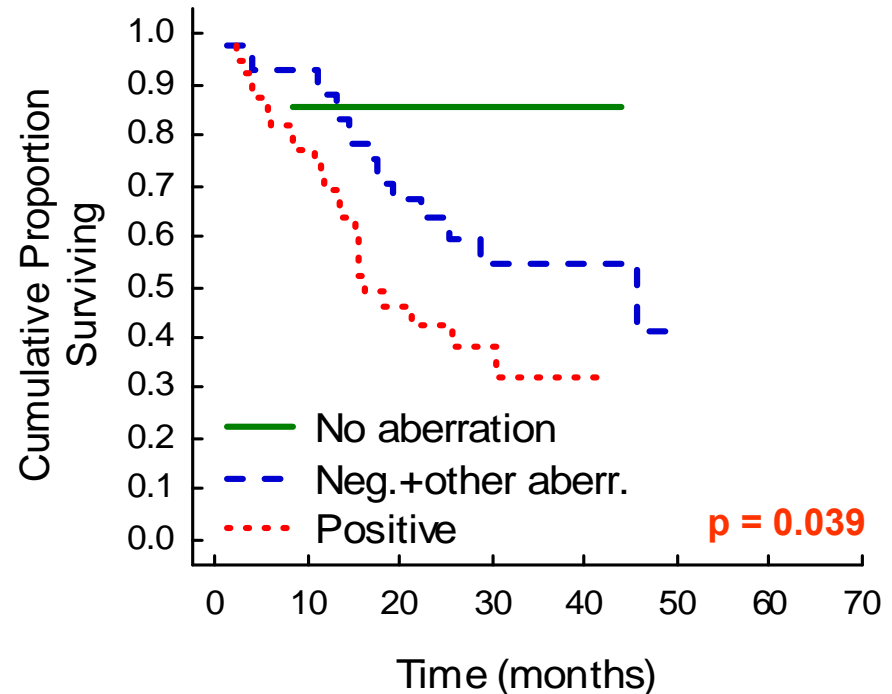
cIg-FISH: zisk (gain) v oblasti 1q21

➔ Zisk chromosomového materiálu v oblasti 1q21 detekován u 37.7% nemocných

OS



PFS



➔ Statistická analýza prokázala **signifikantně kratší dobu OS a PFS** ve skupině pacientů s touto aberací

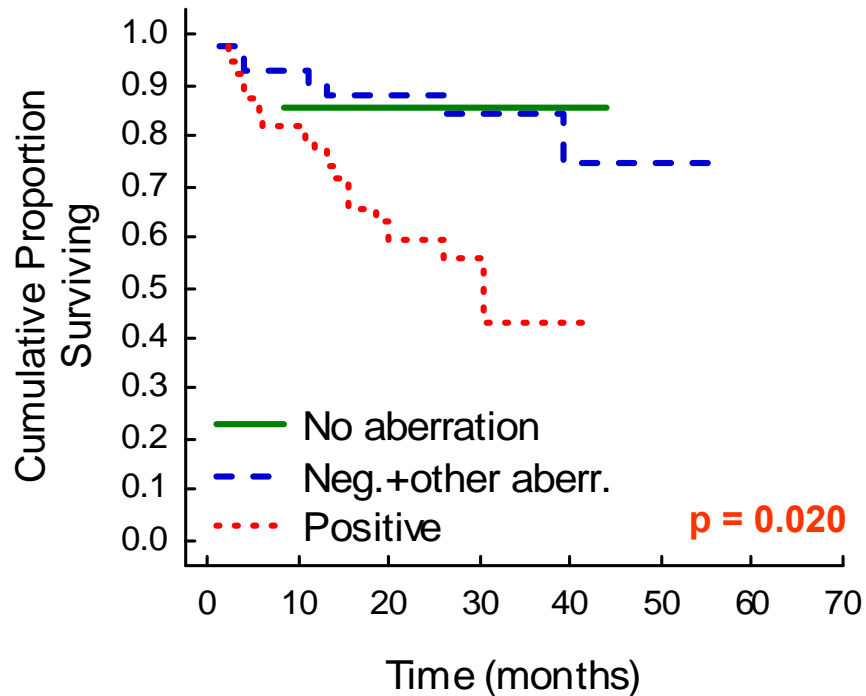
Kumulace chromosomových aberací

Pro nemocné s MM charakteristická vysoká nestabilita genomu plasmatických buněk → kumulace různých chromosomových aberací a/nebo vznik složitých komplexních přestaveb.

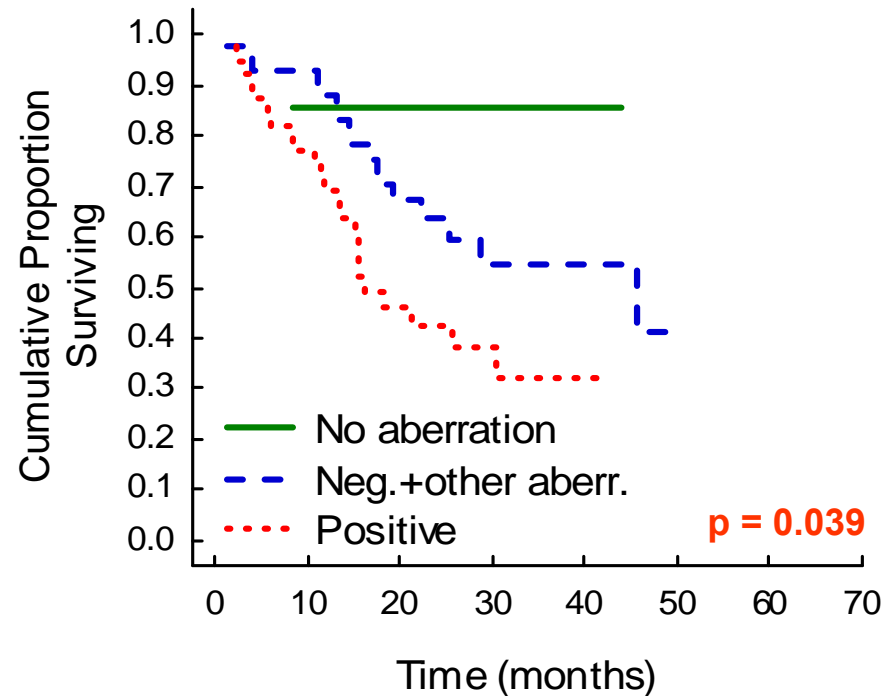
- ✓ Ve sledovaném souboru **patologický nález** prokázán celkem u 174 nemocných z 208 vyšetřených.
- ✓ Pouze u 39 z nich (**22.4%**) detekována některá ze studovaných aberací jako **samostatná změnu** v karyotypu.
- ✓ U ostatních 135 nemocných (**77.6%**) prokázán **současný výskyt dvou a více chromosomových aberací**.

Kumulace chromosomových aberací

OS



PFS



➔ Statistická analýza prokázala **významně kratší OS a PFS** u nemocných s kumulovanými aberacemi.

Závěry

- Komplexní molekulárně cytogenetická analýza značených plasmatických buněk podstatně zvyšuje záchyt chromosomových aberací u nemocných s MM
- Ve studii CMG 2002 jsme jednoznačně prokázali, že přestavby *IgH* genu, získ chromosomového materiálu v oblasti 1q21 a současný výskyt více než dvou aberací jsou spojeny s agresivnějším průběhem a horší prognózou onemocnění
- Neprokázali jsme prognostický význam delece/monosomie chromosomu 13 a příznivý vliv t(11;14)(q13;q32)
- Potvrdili jsme, že chromosomové změny v plasmatických buňkách jsou velmi heterogenní a často dochází k jejich kumulaci → pro přesné stanovení prognózy je proto vždy nutné hodnotit současně všechny aberace přítomné v karyotypu

CYTOGENETICKÁ CENTRA:

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

Oddělení lékařské genetiky FN Brno: P. Kuglík, H. Filková , A. Oltová

Univerzitní centrum výzkumu terapie myelomů, LF MU Brno: P. Němec

Lékařská fakulta UP Olomouc: M. Holzerová, J. Balcárková , M. Jarošová

Ústav lékařské genetiky LF UK a FN Plzeň: M. Hrubá, H. Fischlová

Oddělení lékařské genetiky FN Hradec Králové: J. Rabasová

Oddělení lékařské genetiky, Nemocnice České Budějovice: M. Lehnerová,
O. Schejnost

Statistická analýza: D. Králová, Univerzitní centrum výzkumu
terapie myelomů, LF MU Brno

HEMATOLOGICKÁ CENTRA:

I. interní klinika VFN a 1.LF UK Praha

I. Špička

Interní hematooonkologická klinika FN a LF MU Brno

R. Hájek, Z. Adam

OKH FN Královské Vinohrady, Praha

E. Gregora

III. Interní klinika FN a LF PU Olomouc

V. Ščudla

Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň

M. Schützová

Oddělení klinické hematologie FN Hradec Králové

V. Maisnar