

ACTA REUNIÓN DEL GCECGH

Fecha y Lugar de Reunión: 23 de octubre 2008 (19:00 a 21:00 h). Murcia, Auditorio y Centro de Congresos Víctor Villegas, sala 13.

Asistentes: Miembros del GCECGH.

Orden del día:

1. Introducción (Blanca Espinet)
 2. Programa de evaluación externa de la calidad citogenética en neoplasias hematológicas 2008:
 - Resumen de resultados de citogenética (Javier Grau)
 - Resumen de resultados de FISH (Dolors Costa)
 - Indicaciones sobre la nomenclatura de FISH ISCN 2005 (Dolors Costa)
 3. Programa de garantía de la calidad para los laboratorios clínicos-2009. Hematología. Citogenética Hematológica (Dolors Costa/Gabriela Gutiérrez)
 4. Control de calidad europeo de citogenética hematológica (Eurogentest) (Francesc Solé)
 5. Presentación de la nueva web del GCECGH (Alberto Valiente/Ana Carrió)
 6. Resumen sobre el II Simposium GCECGH. Valencia, 2008 (Rosa Collado)
 7. I Curso de estadística con SPSS. GCECGH. Pamplona, 2009 (M^a José Calasanz/Blanca Espinet)
 8. Propuestas estudios conjuntos
 - Alteraciones citogenéticas en leucemias familiares (Ana Carrió)
 - Documento consenso sobre recomendaciones técnicas en citogenética convencional y FISH de neoplasias hematológicas (Alberto Valiente)
 - Otras propuestas
 9. Ruegos y Preguntas
-

1. Introducción.

Blanca da la bienvenida a todos los asistentes y comenta el orden del día de la reunión.

2. Programa de evaluación externa de la calidad citogenética en neoplasias hematológicas 2008.

→ Resumen de resultados de los módulos de citogenética y FISH (Javier Grau y Dolors Costa)

- 53 centros convocados / 40 centros participantes
- módulo de citogenética convencional: 34 centros participantes
- módulo de FISH: 32 centros participantes
- Concordancia:
 - * módulo de citogenética convencional: 70,58%
 - * módulo de FISH:
 - nomenclatura: 31%
 - resultado: 100%
 - informe: 87,5%

Las fórmulas citogenéticas correctas según el ISCN 2005 fueron:

CASO 1: **46,XY,t(9;22;13)(q34;q11.2;q14q21)**

CASO 2: **48,XY,+8,+8**

CASO 3: **46,XX,t(11;14)(q13;q32),der(20)t(12;20)(q11q13;q13)**

CASO 4: **46,XX,t(8;16)(p11;p13)**

Resultados CASO 1:

t(9;22;13)(q34;q11.2;q14q21) (16 centros)
t(9;13;22)(q34;q21;q11.2) (6)
t(9;22)(q34;q11)t(der(9)t(9;22)(q34;q11);13)(q32;q14) (2)
t(9;22;13)(q34;q11.2;q14?) (1)
t(13;9;22)(q11;q34;q11) (1)
t(9;22;13)(q34;q11;q14),add(7)(p22) (1)
t(9;22)(q34;q11),del(13)(q12-q14) (1)
del(13)(q12q22),?der(22) (1)

Resultados CASO 2:

+8,+8 (31 centros)
+8,+9 (1)
+8,+9,del(20)(q11q13)(1)
+8x2 (1)

Resultados CASO 3:

t(11;14)(q13;q32),der(20)t(12;20)(q11q13;q13) (20 centros)
t(11;14)(q13;q32),add(20)(q13) (6)
t(11;14)(p13;q11),add(20)(q13) (1)
t(11;14)(q13;q32),t(12;20)(q13;q13.3) (1)
t(11;14)(q13;q32),der(20)t(12;20)(q15;q13) (1)
t(11;14)(q13;q32),der(20)t(1?;20)(p31?;q13) (1)
t(11;14)(q13;q32),+der(20)t(12;20)(q12;q13) (1)
t(11;14)(q13;q32),der(20)t(12;20)(q13;q13)dup(12)(q13q24) (1)

Resultados CASO 4:

t(8;16)(p11;p13) (30 centros)

del(8)(p11.2),add(16)(p13.3) (1)

der(16)? (1)

46,XX,t(8;16)(p11.2;p13.1)[1]/47,sl,+19[2] (1)

En el módulo de FISH:

- 26 centros utilizaron la sonda LSI t(14;18)(q32;q21) IGH/BCL2 Dual Color Dual Fusion

Fórmulas correctas:

- **Short Nomenclature (n=21 centros)**
nuc ish(IGHx3),(BCL2x3),(IGHconBCL2x2)[/]
- **Detailed nomenclature* (n=5 centros)**
nuc ish 14q32(IGHx3),18q21(BCL2x3),(IGHconBCL2x2)[/]

*Detailed nomenclature utilizada en la ISCN 1995 y considerada como opcional a criterio del investigador por la ISCN 2005.

- 6 centros emplearon la sonda LSI BCL2 Dual Color Break Apart

Fórmula correcta: nuc ish(BCL2x2)(5'BCL2sep3'BCL2x1)[/]

Todos los centros han detectado el reordenamiento de BCL2. Sólo 10 centros (31%) la han formulado correctamente, según la normativa ISCN 2005.

→ Indicaciones sobre la nomenclatura de FISH ISCN 2005 (Dolors Costa)

Se recomienda tener cuidado con los siguientes aspectos en la formulación FISH:

- Orden de los genes (cromosomas sexuales, 1-22)
- [Número de células con anomalía/número de células estudiadas] No utilizar porcentajes
- Formular solo el clon anómalo no el normal
- No dejar espacios innecesarios
nuc ish(nuc ish 14q32(

→ Programa de evaluación externa de la calidad citogenética en neoplasias hematológicas. Módulo de FISH (2009) (Dolors Costa)

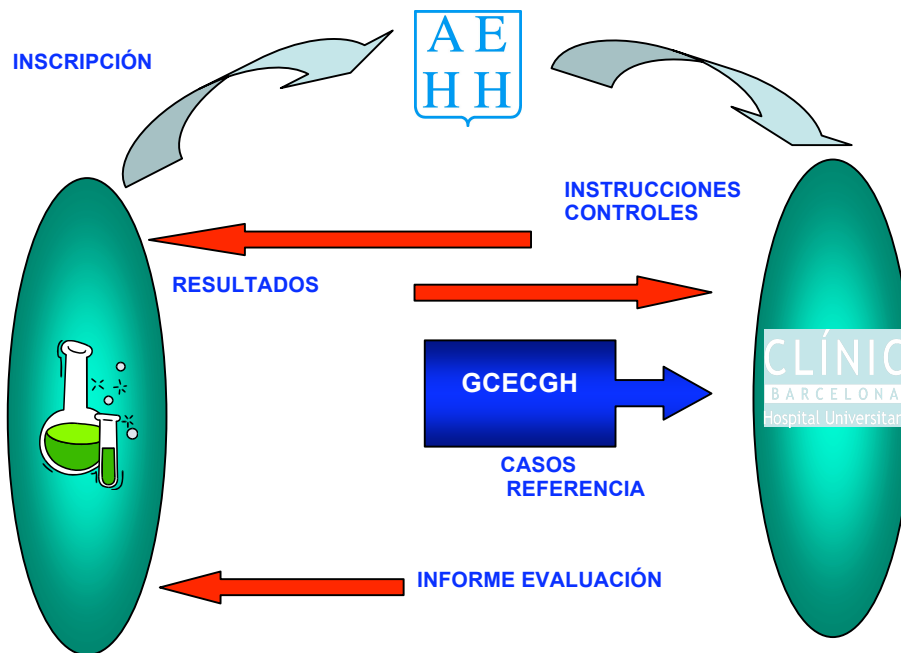
- La evaluación del módulo de FISH se seguirá haciendo desde el GCECGH
- Sonda locus específica para la región 5q31
- Cada laboratorio recibirá un tubo eppendorf con material fijado en Carnoy (100-200µl)
- Período de estudio del 1 febrero al 31 de marzo
- La hoja de datos a rellenar en la que se anotarán el resultado de FISH según el ISCN 2005, estará disponible vía e-mail y/o en la página web del grupo
- Una vez obtenida la información de todos los laboratorios se analizarán los datos recibidos y se remitirá a cada uno de los centros participantes un informe que incluirá:
 - el resultado correcto
 - comentario sobre qué resultado se ha considerado correcto
 - resultado del centro: correcto
incorrecto

3. Programa de garantía de la calidad para los laboratorios clínicos-2009. Hematología. Citogenética Hematológica (Dolors Costa/Gabriela Gutiérrez).

- Características:

- Educacional
- Participación voluntaria
- Participación anónima
- Garantía de confidencialidad

- Funcionamiento:



- Objetivos:

1. Herramienta de auto-evaluación en la determinación de la fórmula cromosómica a partir del análisis de las metafases celulares.
2. Implantación de normas internacionales de expresión de resultados (ISCN)

- Desarrollo:

- Fotografías de 20 metafases (JPG, TIFF)
- 1 único caso por envío
- 4 envíos anuales
- Resultados según ISCN
- Fecha límite de respuesta: 10 días naturales desde fecha de envío

- Informe de evaluación:

- Resultado proporcionado por el laboratorio participante.
- Número y porcentaje de cada uno de los resultados diferentes obtenidos.
- GCECGH: Resultado/s correcto/s:
- Valoración del resultado del participante: Correcto / Incorrecto.

Una parte del dinero que se recoja del programa de control de calidad revertirá en el GCECGH.

4. Control de calidad europeo de citogenética hematológica (Eurogentest) (Francesc Solé).

- Coordinador: Ross Hastings (Inglaterra)
- Países participantes: Finlandia, Francia, Alemania, Holanda, Italia, España, Inglaterra y Chipre
- Control de calidad en citogenética prenatal y constitucional (todos los países)
- Control de calidad en citogenética hematológica (Checoslovaquia, España y Francia; pendiente de Alemania)

- Controles de calidad prenatal y postnatal: programa piloto durante el 2007-2008
Citogenética + FISH
 - ISCN
 - Descripción cariotipo
 - Comentario
 - Valoración final durante la próxima reunión del grupo en Madrid, 29-31 de Octubre, 2008.
- COMITÉ DE MIEMBROS ASESORES DE HEMATOLOGÍA/ONCOLOGÍA:
 - Ros Hastings, Rod Howell, Nicole Dastugne, Birthe Moehlendick/Reiner Siebert, Francesc Solé y Zuzanna Zemanova
- **PROGRAMA PILOTO:**
 - Gratuito: registro al Eurogentest (100 euros): www.eurogentest.org
 - Casos de neoplasias hematologicas (LLA y LMA)
 - Orientación diagnóstica
 - Fotos de 20 metafases
 - Fotos de imágenes de FISH (se puede elegir que técnica de FISH se quiere aplicar)
 - Coste de las técnicas

* Categorías de valoración: cariotipo, descripción e interpretación:

- Cariotipo (3 puntos):
 - Cariotipo correcto (3 puntos)
 - Incorrecto (0 puntos)
 - Parcialmente correcto (menos 2 puntos)
- Descripción (1 punto para cada sección, total 3 puntos):
 - a) Nomenclatura ISCN:
 - ISCN correcto? Sí (1 punto)
 - Incorrecto (menos 1 punto)
 - Otros errores ISCN
 - b) Descripción ISCN:
 - Adecuado (1 punto)
 - Incompleto (máximo menos 1 punto)
 - c) Seguimiento de las guías de recomendación (nombrar sondas,...):
 - Sí (1 punto)
 - No (menos 1 punto)

- Interpretación (3 puntos):
 - Correlación con la indicación diagnóstica
 - Indicar si el cariotipo es sugestivo de una determinada enfermedad
 - Indicar si es necesario un seguimiento
 - Limitaciones del resultado
 - Indicación del pronóstico
 - Referir a consejo genético (para pre y postnatal)

CASO 1

- Análisis de metafases procedentes de medula ósea con alteraciones de los cromosomas 2, 11 y 19, a través de una triple translocación en la cual, parte del brazo corto del cromosoma 2 se transloca al brazo corto del cromosoma 19, el brazo corto distal del cromosoma 19 se transloca al brazo largo del cromosoma 11, y el brazo largo distal del cromosoma 11 se transloca al brazo corto del cromosoma 2.
- Análisis FISH: sonda MLL break-apart (Abbott) que confirma el reordenamiento de MLL (separación de la señal de MLL en el 98% de los núcleos en interfase). La triple translocación se confirmó con la señal 5'MLL (verde) en el derivativo 11 y la señal 3'MLL (roja) en el derivativo 2.
- Los puntos de rotura del brazo largo del cromosoma 11 (11q23) y el brazo corto del cromosoma 19 (19p13.3) son consistentes con esta anomalía, la cual es una variante de la translocación 11;19 que implica a los loci MLL y ENL, frecuente en las LAL de células B infantiles. Los resultados citogenéticos son consistentes con los datos hematológicos del paciente, y son predictivos de un mal pronóstico en niños con LAL-B.

CASO 2

- Análisis de metafases de medula ósea que presentan la inversión del cromosoma 16, inv(16)(p13q22). Los puntos de rotura implicados son 16p13 en el brazo corto y 16q22 en el brazo largo del cromosoma 16 de todas las metafases. Esta anomalía se observa con frecuencia en la leucemia mieloide aguda con componente monocítico y granulocítico asociada con eosinófilos anormales en médula ósea (LAM-M4 variante eosinofílica). Esta anomalía tiene como resultado el reordenamiento CBF β -MYH11 y es predictiva de un pronóstico favorable.

5. Presentación de la nueva web del GCECGH (Alberto Valiente/Ana Carrió)

Se realiza un recorrido por la web comentando sus distintas secciones y haciendo hincapié en el requerimiento de ser miembro de la AEHH para poder acceder a todas ellas.

6. Resumen sobre el II Simposium GCECGH. Valencia, 2008 (Rosa Collado)

El pasado 25 de Abril de 2008 se celebró en Valencia el II Simposium sobre Avances de las técnicas citogenéticas en el diagnóstico de las hemopatías malignas, conjuntamente con la celebración de la Jornada de avances en el diagnóstico y tratamiento de la hemopatías malignas, organizados por el GCECGH y el Club Citológico de la Comunidad Valenciana respectivamente, en celebración del 25 aniversario de éste último.

Participaron un total de 187 asistentes, distribuidos por comunidades autónomas como sigue:

- Comunidad Valenciana: 77
- Madrid: 8
- Albacete: 4
- País Vasco: 2
- Santander: 1
- Galicia: 1
- Cataluña: 26
- Murcia: 4
- Asturias: 3
- Navarra: 2
- Andalucía: 1
- Castilla-León: 1
- Londres: 1
- Casas Comerciales: 56

Los beneficios fueron de 1320.-€. La razón de tener más asistentes que el año pasado y sin embargo menos beneficios económicos fue debido a que algunas de las casas comerciales que participaron aportando una subvención para los ponentes, invitaron a su vez a numerosos asistentes sin pagar la cuota de inscripción. Además, también asistieron numerosos integrantes del Club Citológico Valenciano que por tratarse de la celebración del aniversario de esta institución no pagaron.

Se señala para la organización de próximos eventos que las personas interesadas en asistir paguen su cuota de inscripción como se hace en cualquier otro simposium, jornada o congreso.

Los beneficios repercuten en el GCECGH, siendo el destino de los fondos:

- Cena miembros del GCECGH (durante el congreso AEHH)
- Curso Control Calidad
- Reuniones/desplazamientos junta GCECGH

La junta del GCECGH cree que es más oportuno que los Simposios se celebren cada dos años, para que de este modo surjan temas novedosos o casos clínicos interesantes; además de no sobreexplotar a las casas patrocinadoras.

EL III Simposium GCECGH se celebrará en Madrid en el año 2010, organizado por el Dr Juan C. Cigudosa y colaboradores (CNIO).

7. I Curso de estadística con SPSS. GCECGH. Pamplona, 2009 (M^a José Calasanz/Blanca Espinet)

- Título del curso: I Curso de metodología de investigación clínica y estadística con SPSS
- Organizador: GCECGH
- Patrocinador: Celgene
- Fechas y lugar: 18 al 22 de Mayo 2009, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, Pamplona
- Horarios: 9-13:30 y 15:00-19:30 (curso de 40 horas)
- Nº de asistentes: 40 alumnos
- Coordinadora: Blanca Espinet
- Profesores:
Cesar Picó. Director Adjunto de Investigación Clínica. Celgene España
Jose Luís Bueno. Director médico Oncohematología Pivotal (CRO)
Magdalena Ruiz. Hematóloga. Hospital de Leganés, ExPharmaMar
M^a José Calasanz. Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra
Marta García Granero. Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra
1 o 2 profesores invitados para sesiones puntuales del Departamento de Epidemiología y Salud Pública de la UN
- Inscripción: 300 Euros, a beneficio del GCECGH
- Curso acreditado por SEAFORMC y auspiciado por AEHH

La inscripción del curso será aproximadamente por el 10 de Enero de 2009. Como las plazas son limitadas se sugiere que el plazo de inscripción se abra primero para los miembros del GCECGH, y pasado un plazo se abra para todos los que quieran asistir.

PROGRAMA DEL CURSO

Día 1: 18 de mayo

- Metodología de la investigación
- Generación y validación de hipótesis
- Ensayos clínicos: Principios para el análisis de los resultados. Endpoints. Fases de desarrollo
- Factores pronósticos y predictivos
- Marcadores subrogados
- Introducción Meta-análisis

Día 2: 19 de mayo

- Conceptos básicos de Estadística
- Descriptiva
- Las distribuciones normal y lognormal. Otras distribuciones. Normalidad

- Intervalos de confianza
- Creación de una base de datos con SPSS15
- Descriptiva con SPSS 15, exportación de tablas de resultados a Word

Día 3: 20 de mayo

- Concepto de test de hipótesis: hipótesis nula y alternativa
- Diagrama de flujo de elección de el test adecuado
- Tests de hipótesis paramétricos y no paramétricos (1 y 2 muestras)
- Breve descripción de métodos para 3 o más muestras
- Regresión y correlación
- Tests básicos con SPSS 15

Día 4: 21 de mayo

- Tests de chi-cuadrado: contingencia 2x2 (Fisher) y McNemar
- Concordancia: índice kappa
- Análisis de supervivencia: Kaplan-Meier, test de *Log-rank*
- Introducción a la regresión de Cox
- Concordancia con SPSS 15
- Análisis de supervivencia con SPSS 15

Día 5: 22 de mayo

- Cálculo del tamaño muestral en un proyecto de investigación
- Concepto de confusión y de interacción
- Aplicación practica sobre un modelo de Regresión logística
- Lectura crítica del análisis estadístico de artículos científicos
- Instrucciones sobre como elaborar el análisis estadístico de un trabajo de investigación
- Presentación de los resultados estadísticos en un artículo científico
- Tareas que van desde la base de datos a la elaboración de las tablas

Material didáctico: al empezar el curso se entregará un CD o *pendrive* con todo el material didáctico del curso.

Al finalizar el curso habrá autoevaluación y encuesta de satisfacción.

Los participantes: aportarán bases de datos para trabajar y propondrán artículos científicos para discutir a nivel estadístico.

8. Propuestas estudios conjuntos:

- Alteraciones citogenéticas en leucemias familiares (Ana Carrió)

Se estudiarán mediante arrays y SNPs muestras procedentes de individuos de 1er grado con neoplasias hematológicas y alteraciones citogenéticas.

- Documento consenso sobre recomendaciones técnicas en citogenética convencional y FISH de neoplasias hematológicas (Alberto Valiente)

Las doctoras Carmen Sanzo y Sonia Santillán se encargarán de este proyecto realizando en primer lugar una encuesta para saber exactamente qué tipo de metodología estamos utilizando en cada grupo y a partir de este punto desarrollar el documento consenso.

El Dr Jesús M. Hernández hace referencia al documento consenso de *Leukemia Net* y a los redactados por el grupo inglés.

- Proyectos en SMD (Francesc Solé)

- **FISH 5q.** GCECGH y Celgene. PROYECTO TERMINADO
Artículo publicado: Mallo M, Arenillas L, Espinet B, Salido M, Hernández JM, Lumbreras E, del Rey M, Arranz E, Ramiro S, Font P, González O, Renedo M, Cervera J, Such E, Sanz GF, Luño E, Sanzo C, González M, Calasanz MJ, Mayans J, García-Ballesteros C, Amigo V, Collado R, Oliver I, Carbonell F, Bureo E, Insunza A, Yañez L, Muruzabal MJ, Gómez-Beltrán E, Andreu R, León P, Gómez V, Sanz A, Casasola N, Moreno E, Alegre A, Martín ML, Pedro C, Serrano S, Florensa L, and Solé F. Fluorescence in situ hybridization improves the detection of 5q31 deletion in myelodysplastic syndromes without cytogenetic evidence of 5q-. *Haematologica* 2008; 93:1001-1008.

- **5Q PROJECT. Estudio de las poblaciones celulares portadoras de 5q- al diagnóstico y después del tratamiento con lenalidomida.** Hospital Vall d'Hebron y Hospital del Mar. Celgene

- **SNP Arrays y perfiles de metilación en pacientes con 5q- tratados con Lenalidomida.** Celgene (IP. Francesc Solé)

- n=50 pacientes con 5q- que recibirán Lenalidomida
- ADN MO (tumor) y ADN linfos T (tejido control)
- SNP arrays 6.0 Affymetrix (Hospital del Mar/Salamanca) y perfiles de metilación (CNIO)
- OBJETIVO: encontrar marcadores genéticos que expliquen la respuesta o no a la Lenalidomida

- ***International Cytogenetics Working Group on MDS. MDS Foundation:***

- idic(21q)-LYNDA CAMPBELL
- idic(X)-BERTIL JOHANSSON
- t(5q) y otros cambios (1q, t(7q), t(11q), 12p-,...): Valor pronóstico de las alteraciones poco frecuentes (<10 casos). DETLEF HAASE/GCECGH
- 5q- que adquieren alteraciones adicionales: estudios de biología molecular (mutaciones de P53): METTE ANDERSEN
- Descripción clínica de los pacientes con 5q- y t(2;11): BERTIL JOHANSSON
- Descripción clínica de casos con clones no relacionados "Unrelated clones": CLAUDIA HAFERLACH
- FISH en medula ósea vs sangre periférica:

Citogenética: cultivo 24-48h de medula ósea y sangre periférica
FISH: Sondas 5, 7, 8, 20 y MLL, TEL/AML1, RB, P53

- Utilización de otras sondas para el diagnóstico citogenético: GORDON DEWALD (colaboración Vysis), LYNDA CAMPBELL

- **Impacto pronóstico de alteraciones adicionales a 5q- en pacientes con síndrome mielodisplásico primario.** M. Mallo, J. Cervera, J. Schanz, B. Espinet, E. Such, E. Luño, C. Steidl, M.L. Martín, U. Germing, I. Granada, M. Pfeilstöcker, J.M. Hernández, T. Noesslinger, M.J. Calasanz, P. Valent, R. Collado, C. Fonatsch, E. Bureo, M. Lübbert, R. Ríos, R. Stauder, E. Arranz, B. Hildebrandt, J.C. Cigudosa, C. Pedro, M. Salido, L. Arenillas, G.F. Sanz, M.A. Sanz, A. Valencia, L. Florensa, D. Haase, F Solé.

Participan: Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH), Grupo Germano-Austriaco de Estudio de SMD y el International Working Group on MDS Cytogenetics (MDS Foundation).

- **Pronóstico de SMD sin mitosis.**
Pacientes con SMD “de novo” sin metafases o con menos de 10 metafases analizadas. Ficha Registro Nacional SMD/GCECGH

9. Ruegos y preguntas:

La junta del GCECGH comenta que sería aconsejable que algún miembro del grupo entrara a formar parte de la junta de la AEHH, como hizo en su día el Dr Solé o el Dr Martínez del grupo de Biología Molecular y así, estar más informados y mejor representados.