

IX SIMPOSIO

Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica

Avances de las técnicas
citogenéticas y moleculares
en el diagnóstico de las
hemopatías malignas

Patrones variantes de FISH en mieloma múltiple

Manuela Fernández Guijarro

Servicio de Genética.
Hospital Universitario 12 Octubre

Organiza:



Sociedad Española de
Hematología y Hemoterapia
Fundación Española de
Hematología y Hemoterapia

www.gcecgh.org

 #gcecgh

IX SIMPOSIO

Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica

Avances de las técnicas citogenéticas y moleculares
en el diagnóstico de las hemopatías malignas

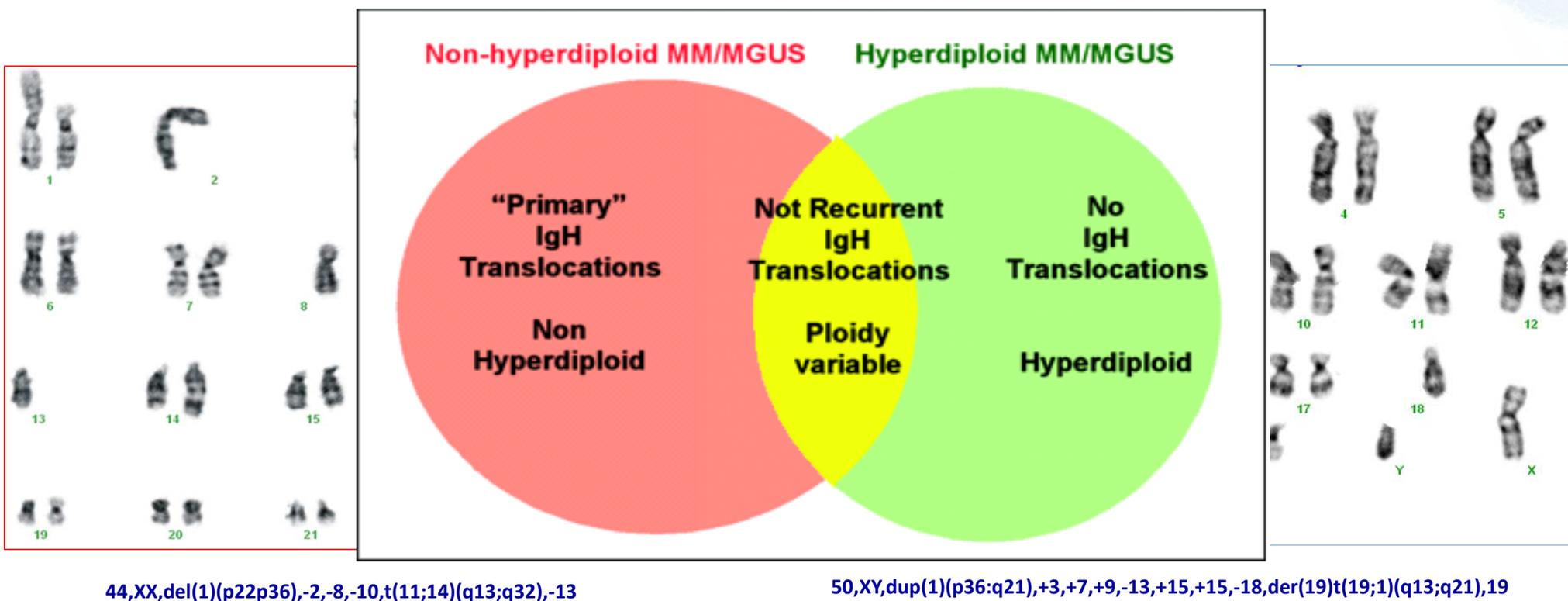
NO CONFLICTOS

INDICE

- **¿Qué sabemos del Mieloma Múltiple?**
- **Pruebas genéticas básica en el Mieloma Múltiple**
- **Estudio de anomalías primarias en mieloma:**
 - ❑ **Alteraciones del gen IGH. Modelos variantes y su valor pronóstico.**
 - ❑ **Translocación 11;14. Modelos variantes y su valor pronóstico.**
 - ❑ **Translocación 14;20, translocación 6;14**
- **Estudio de Anomalías secundarias en mieloma:**
 - ❑ **Alteraciones del gen MYC**
 - ❑ **Delección 13q**
- **Conclusiones**

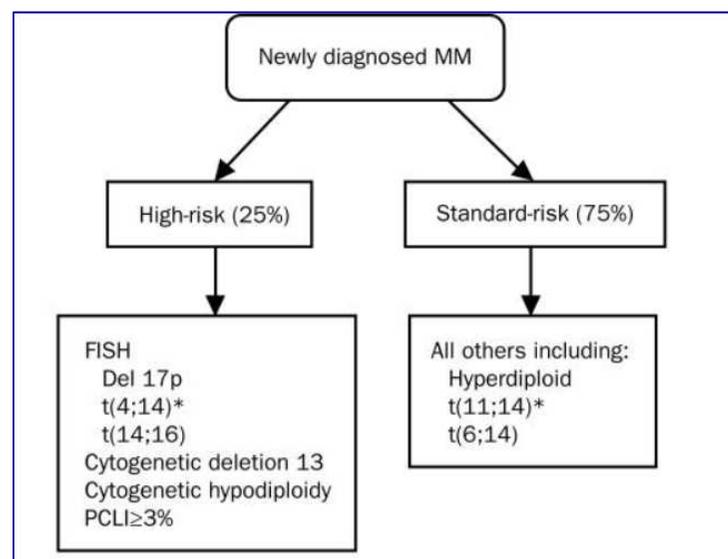
➤ ¿QUÉ SABEMOS DEL MIELOMA MÚLTIPLE?

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas, con **una gran heterogeneidad genética** que se ve reflejada en el pronóstico de los pacientes y en la respuesta al tratamiento.



➤ PRUEBAS GENÉTICA BÁSICAS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

Panel básico de determinaciones genéticas. International Myeloma Working Group(IMWG)



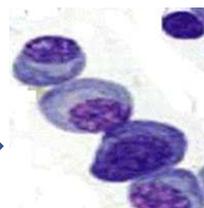
Momento diagnóstico

- ❖ t(4;14)
- ❖ t(14;16)
- ❖ *t(14;20) < 2%
- ❖ *t(6;14)
- ❖ 17p13(TP53)
- ❖ 1p32(CDKN2C)/1q21(CKS1B)
- ❖ t(11;14)
- ❖ Trisomías

Mieloma doble HIT: 2 alteraciones de alto riesgo
Mieloma triple HIT: 3 o más alteraciones de alto riesgo

➤ PRUEBAS GENÉTICA BÁSICAS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

¿Qué hacemos en el H. U 12 De Octubre?



CD138+

Momento diagnóstico:

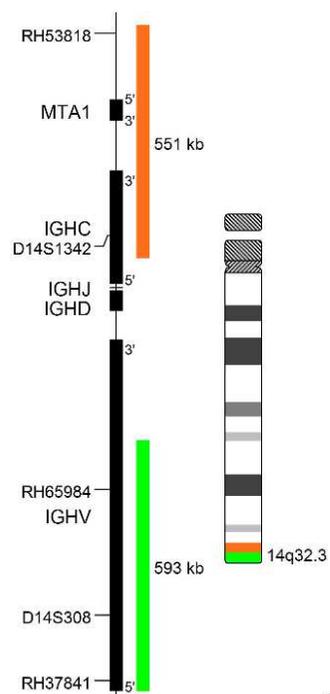
- ❖ **Delección 17p13**
- ❖ **IGH** ➔ POSITIVO
- ❖ **1p32(CDKN2C)/1q21(CKS1B)**
- ❖ **Delección 13q**
- ❖ **CCND1**

- t(4;14)
- t(14;16)
- t(11;14)
- t(14;20)
- t(6;14)

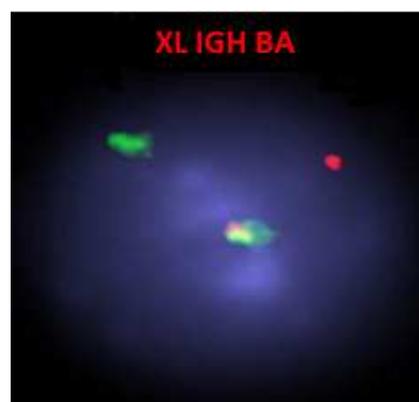
ESTUDIO DE ANOMALÍAS PRIMARIAS EN MIELOMA

Alteraciones del gen IGH. Modelos variantes

Sonda XL IGH BA
MetaSystems.

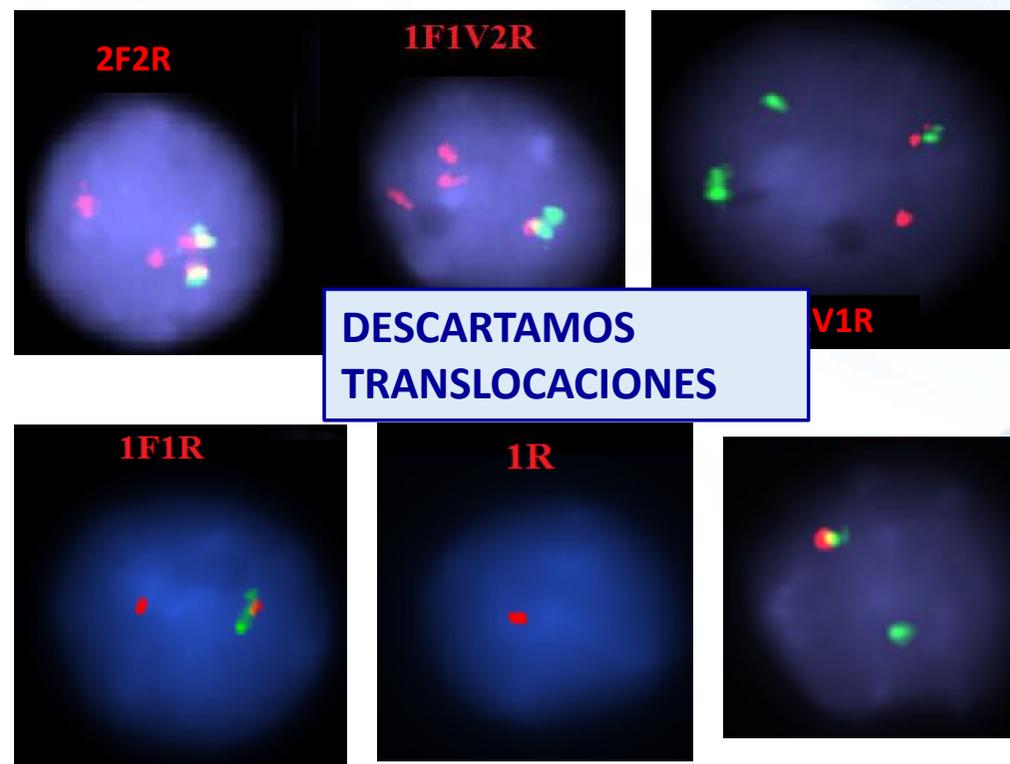


t(IGH)



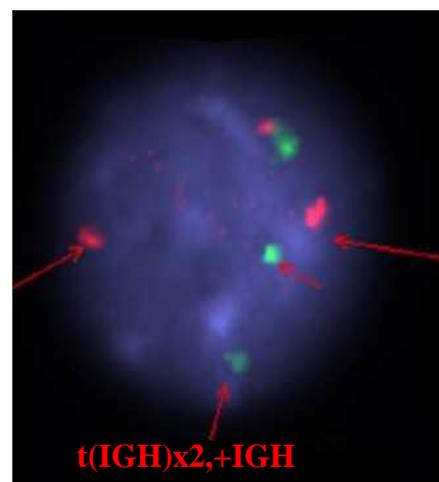
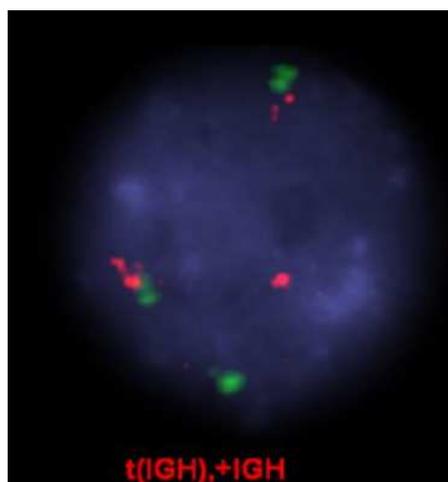
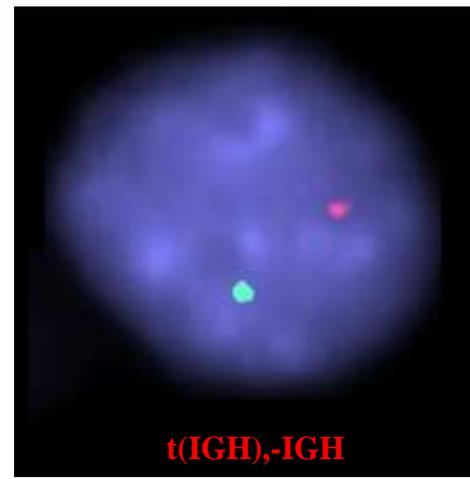
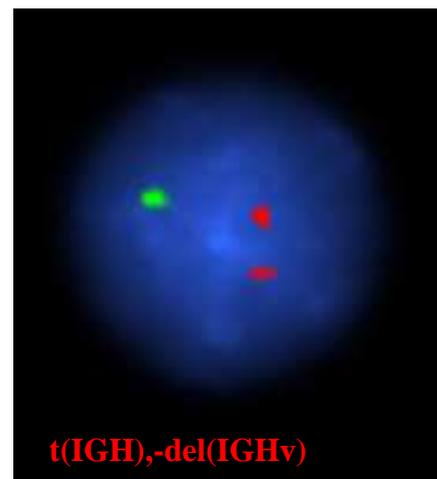
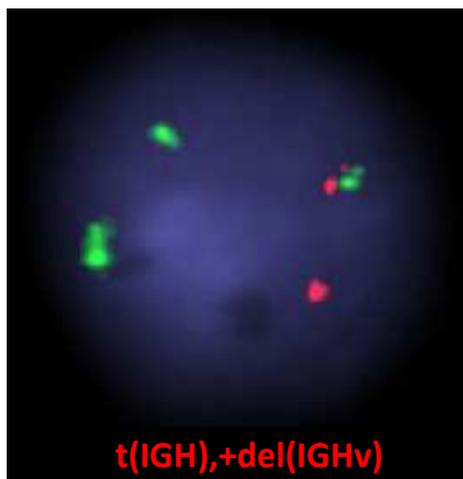
- **t(11;14)IGH-CCND1 [42%]**
- t(4;14)FGFR3-IGH [25%]
- t(14;16) IGH-MAF [9%]
- t(14;20) IGH-MAFB [2%]* 2019
- t(6;14) CCND6-IGH [6%]* 2019
- **Otro partner [6%]**
- No estudiado [15%]

Patrones anómalos



❑ Alteraciones del gen Gen IGH. Modelos variantes

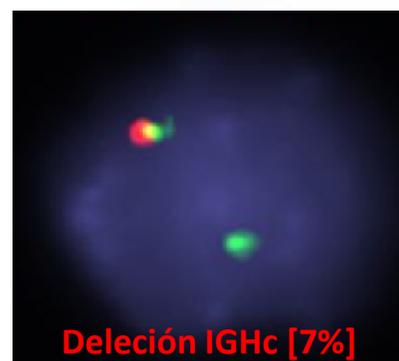
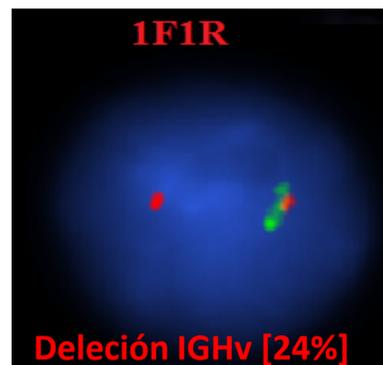
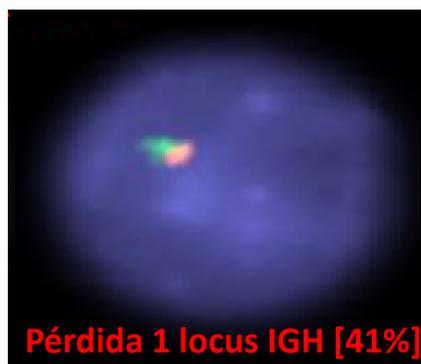
El 15% de los pacientes con t(IGH) tuvieron **ganancias o pérdidas de la región variable o constante del gen IGH o de un locus IGH.**



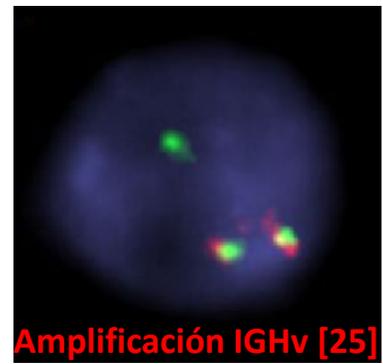
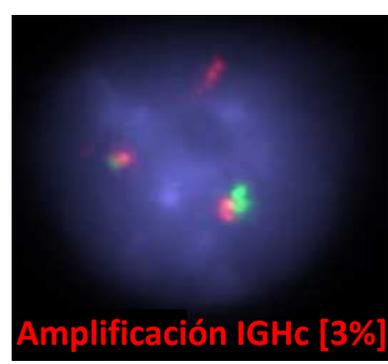
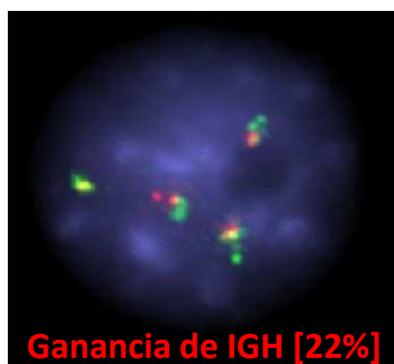
60% ALTERACIONES DE ALTO RIESGO GENÉTICO +1q21, t(4;14), t(14;16) y/o del(17p)

Alteraciones del gen IGH. Modelos variantes

El 20% de los pacientes presentaron modelos anómalos como pérdidas o ganancias de la región variable o constante del gen IGH, ganancia o pérdida del locus IGH



NO DETECTAMOS Tx



Alteraciones del gen IGH. Análisis de modelos variantes

	Del(IGHV) N=26	Del(IGHC) N=7	Del(IGH) N=44	Amplif IGH N=24	Amplif (IGHV) N=2	Amplif(IGHC) N=3
+1q21	12	1	12		1	2
+1q, del(13q)	1	2	7			
+1q21, del(17p), del(13q)	1		2			
Del(13q)			5			
Del(1p) y/o del(13q)			9			
Otras hiperdiploidías				24		1
No otras alter	12	2	10		1	

> 50% presentaron al menos una alteración de alto riesgo genético

¿Qué valor pronóstico pueden tener estos modelos anómalos?



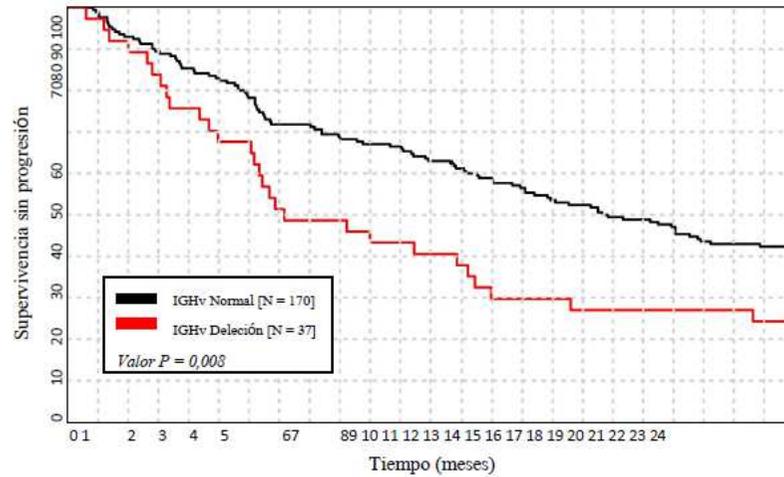
Deletions and amplifications of the IGH variable and constant regions: a novel prognostic parameter in patients with multiple myeloma

Hadas Rabani^a, Mira Ziv^b, Noa Lavi^c, Ariel Aviv^d, Celia Surin^e, Adel Shalata^b, Yariv Haddid^{b,1}, Tamar Tadmor^{f,1,*}

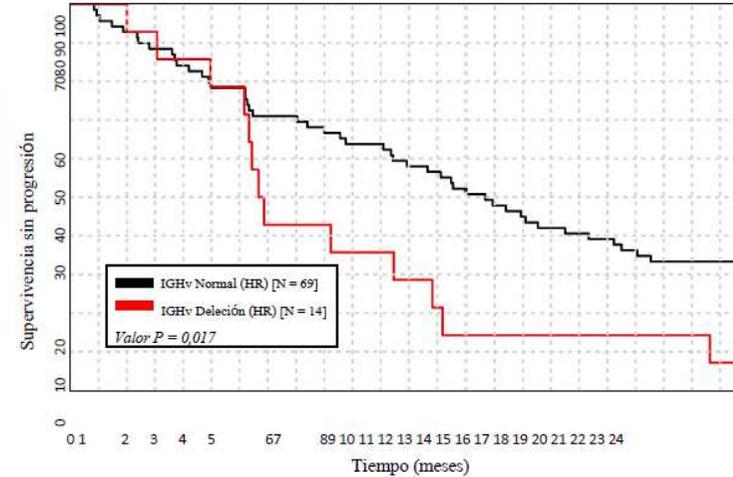


Valor pronóstico de la delección de IGHv y amplificación IGHc

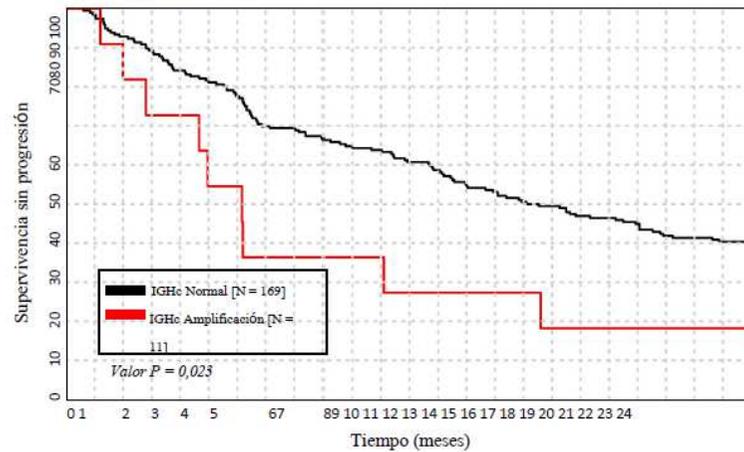
(A) Delección IGHv vs Normal - SLP en 24 meses



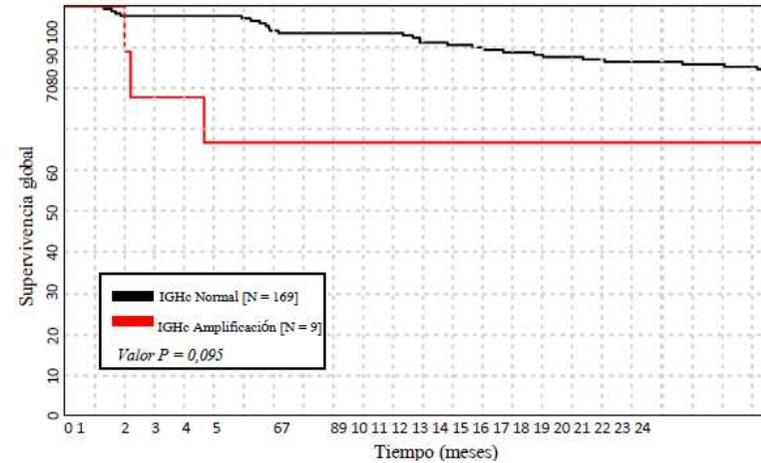
Citogenética de Alto Riesgo - Delección IGHv vs Normal - SLP en 24 meses



(A) Amplificación IGHc vs Normal - SLP en 24 meses



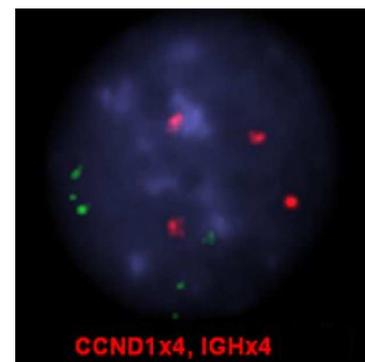
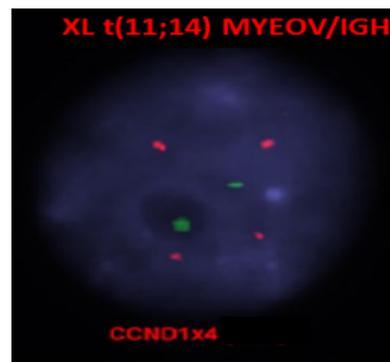
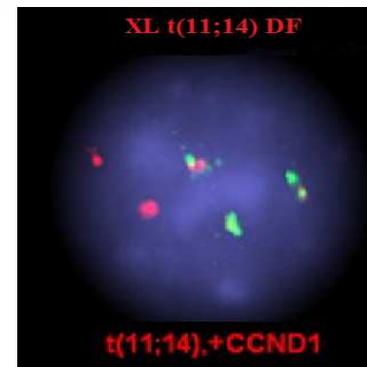
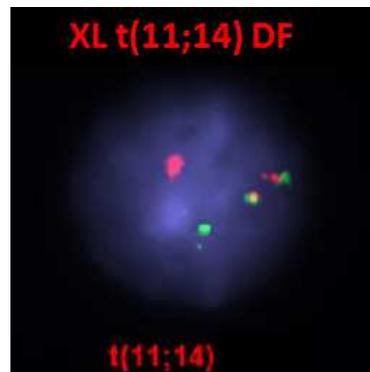
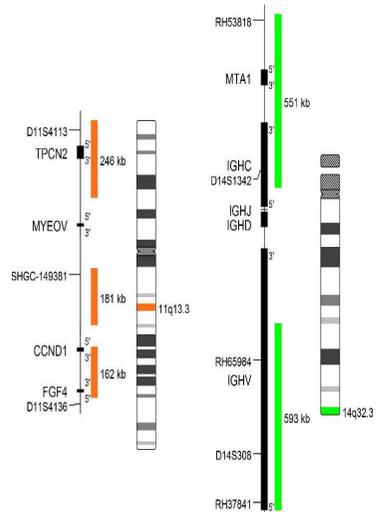
(B) Amplificación IGHc vs Normal - SG en 24 meses



□ Translocación 11;14 (CCND1/IGH). Modelos variantes.

Es la translocación más frecuente (15-20%) y produce la sobreexpresión de Ciclina D1, presentan alta expresión de la proteína antiapoptótica BCL2. **RIESGO ESTÁNDAR.**

➤ XL t(11;14) MYEOV/IGH MetaSystems

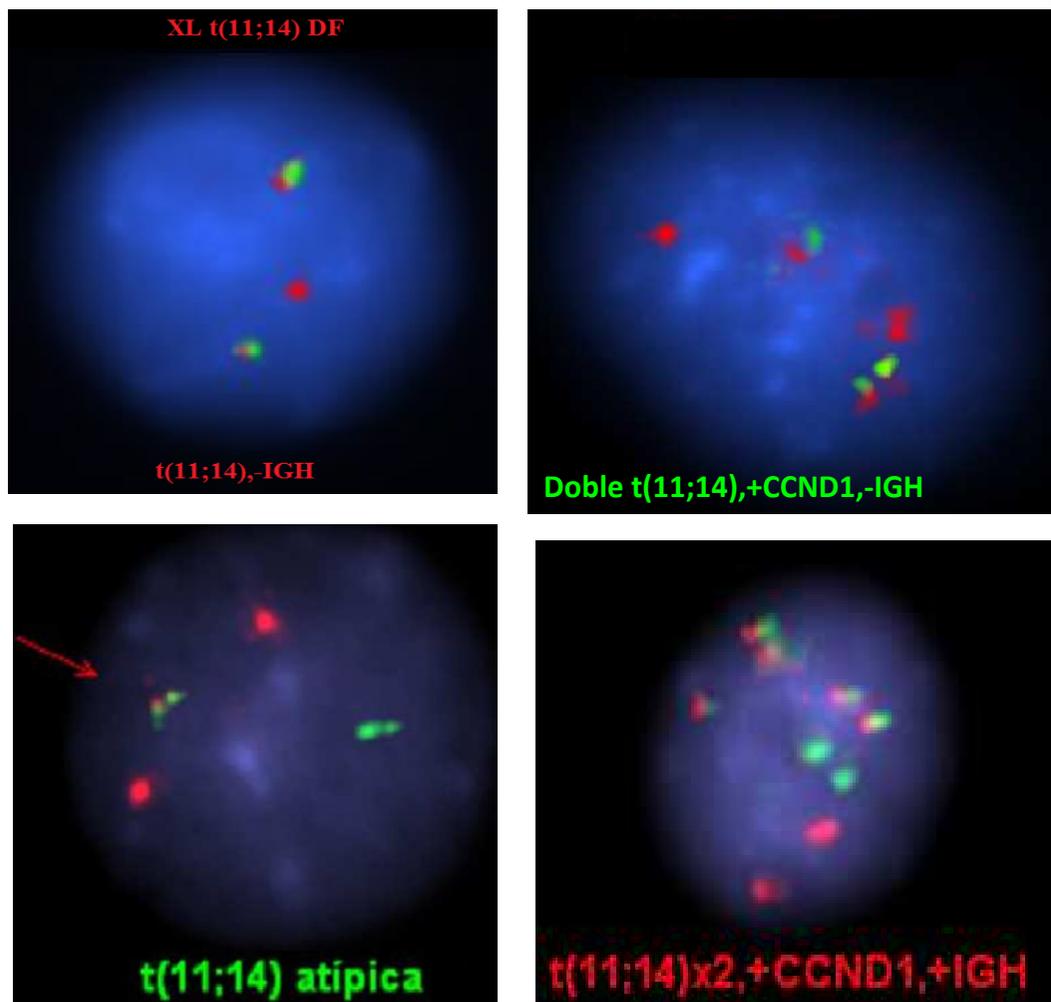


➔ **2F2R1V [12%]. Siempre asociada a otras anomalías de alto riesgo**

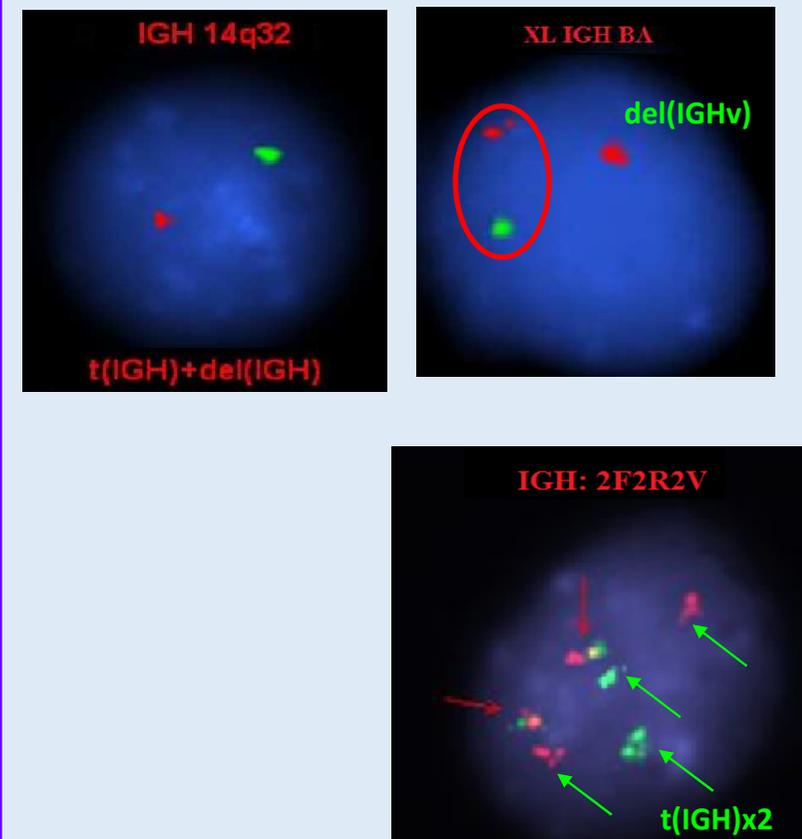
➔ **SUGESTIVO DE UN MODELO HIPERDIPLOIDE ??**

❑ Translocación 11;14. Modelos variantes.

10 % de los pacientes con t(11;14) presentaron modelos atípicos

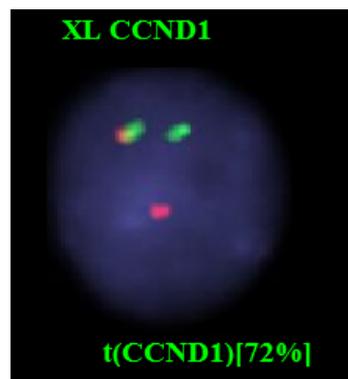
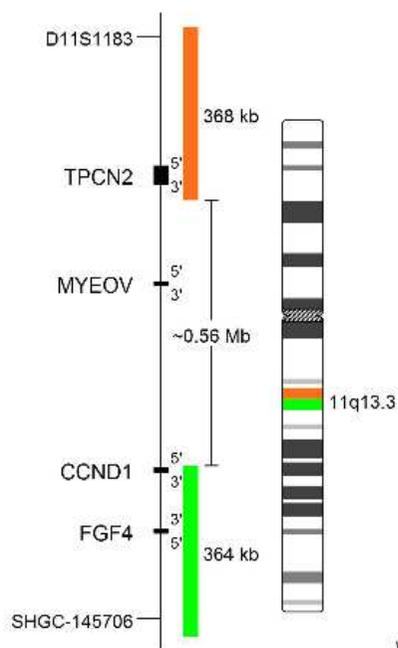


Modelos anómalos de la IGH

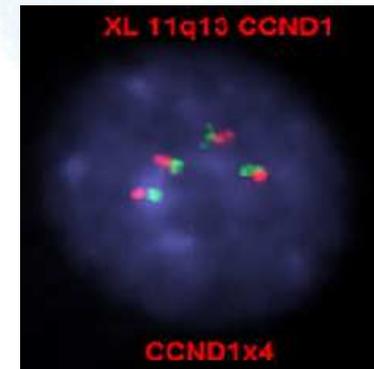
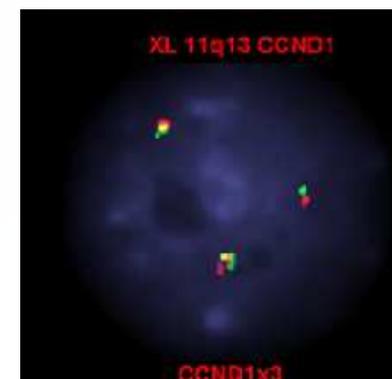
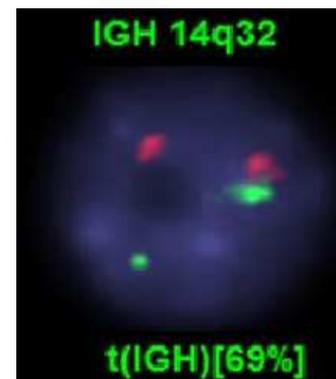


Translocación 11;14. Modelos variantes

Sonda XL CCND1 Break Apart MetaSystems

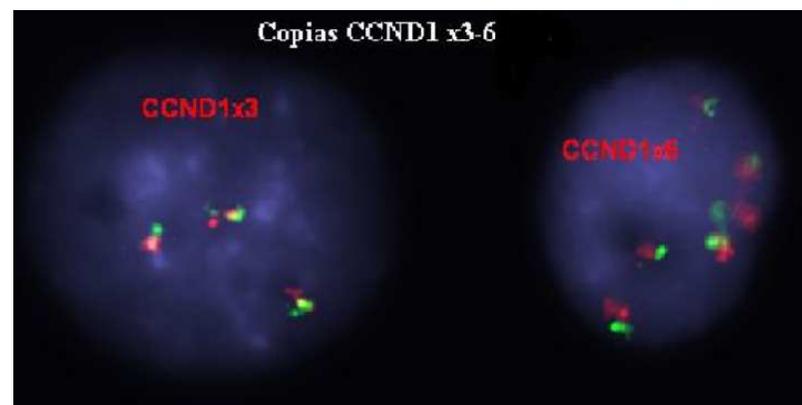
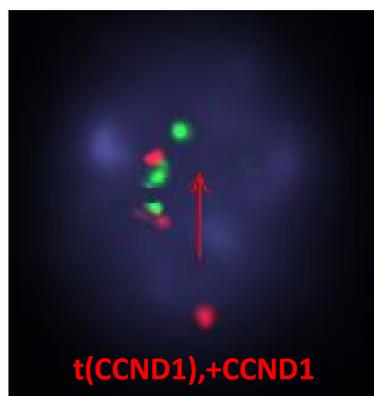


=



Detectar la t(11;14)

Copias extras del gen CCND1[18%]



Identificar diferentes líneas clonales

➤ Translocación 11;14. Análisis de los resultados

	t(11;14) n=69
Alt 1q y/o otras alto riesgo	22
Del(17p) y/o del(1p)	8
t(4;14)	1
del(13q)	5
Solo t(11;14)	33

45%



DIFERENTES RESPUESTA AL TRATAMIENTO

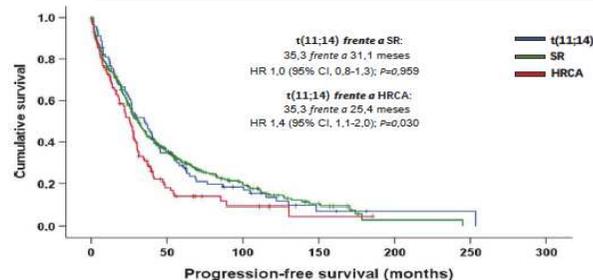


Fig. 2 Supervivencia libre de progresión por grupo citogenético. SR riesgo estándar, HRCA anomalías cromosómicas de alto riesgo, HR hazard ratio, CI intervalo de confianza.

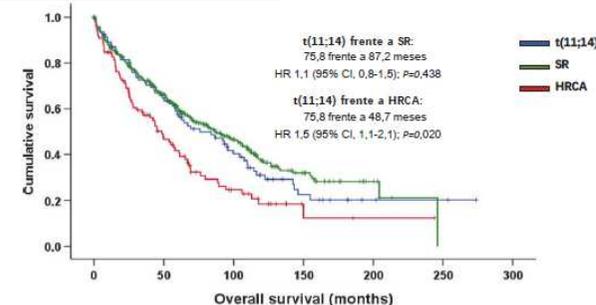
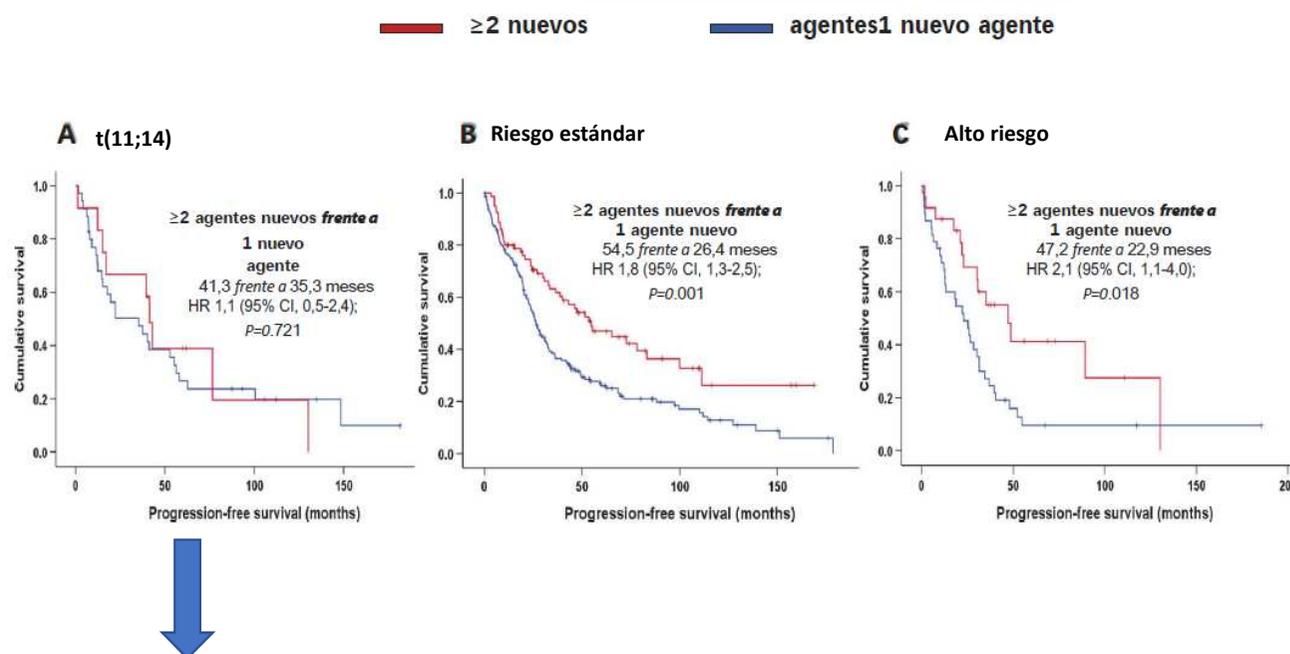


Fig. 3 Supervivencia global por grupo citogenético. SR riesgo estándar, HRCA anomalías cromosómicas de alto riesgo, HR hazard ratio, CI intervalo de confianza.

Figura 5: Efecto de la combinación de al menos dos agentes nuevos en primera línea en la SLP. A) Efecto de la combinación de al menos dos agentes nuevos en primera línea en la SLP en el grupo de t(11;14). B) Efecto de la combinación de al menos dos agentes nuevos en primera línea en la SLP en el grupo de riesgo estándar. C) Efecto de la combinación de al menos dos agentes nuevos en primera línea en la SLP en el grupo de anomalías de alto riesgo

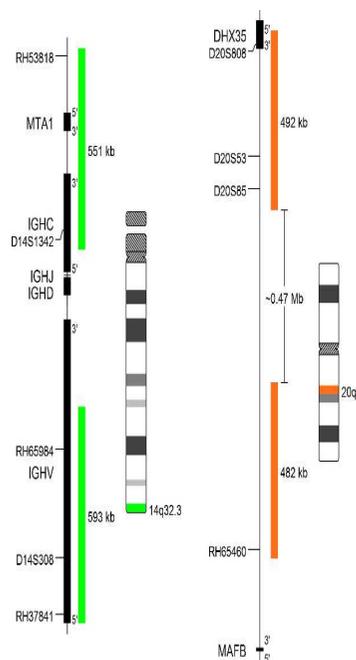


Las células plasmáticas con t(11;14) presentan elevados niveles de la proteína antiapoptótica BCL2, lo que las hace susceptible a un inhibidor de BCL2, como es el **Venetoclax**.

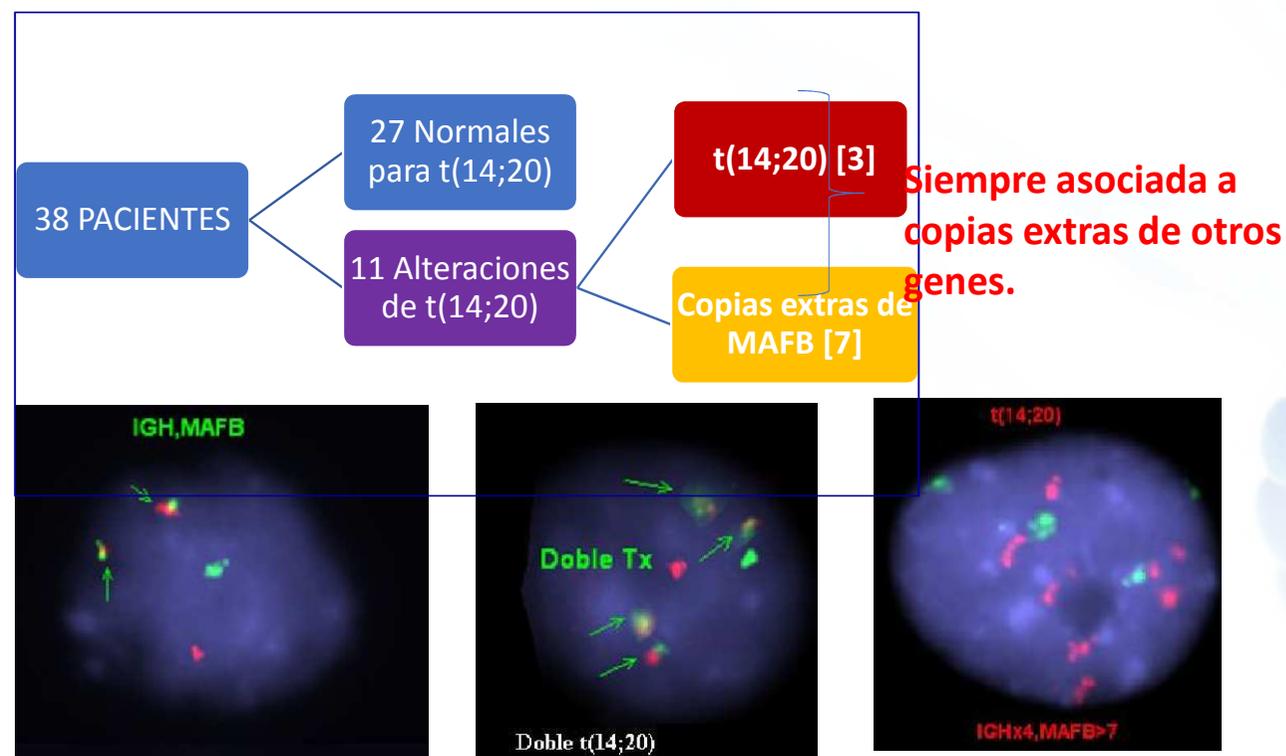
☐ t(14;20)(q32;q12)IGH/MAFB

Junto con la t(14;16) determinan el aumento de expresión de los genes MAF, que lleva a la sobreexpresión de CCND2, promoviendo la proliferación celular y afectando la regulación de la transición G1/S del ciclo celular. **Indicencia (<2%)**. Se considera un factor de **mal pronóstico** en el mieloma, pero se asocia con enfermedad estable a largo plazo en MGUS Y MMS

XL t(14;20) IGH/MAFB MetaSystems



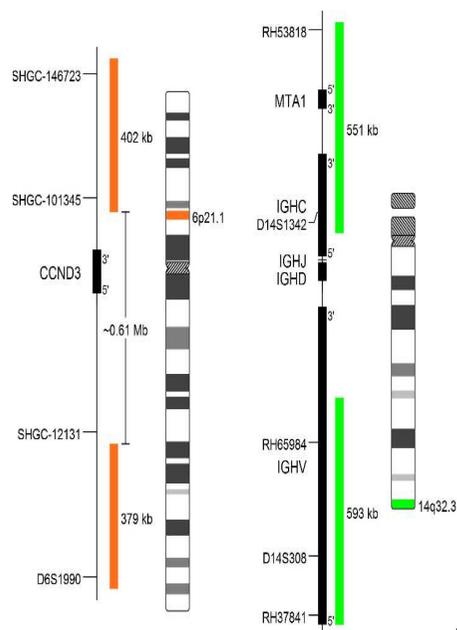
Análisis de resultado de estudio de t(14;20)



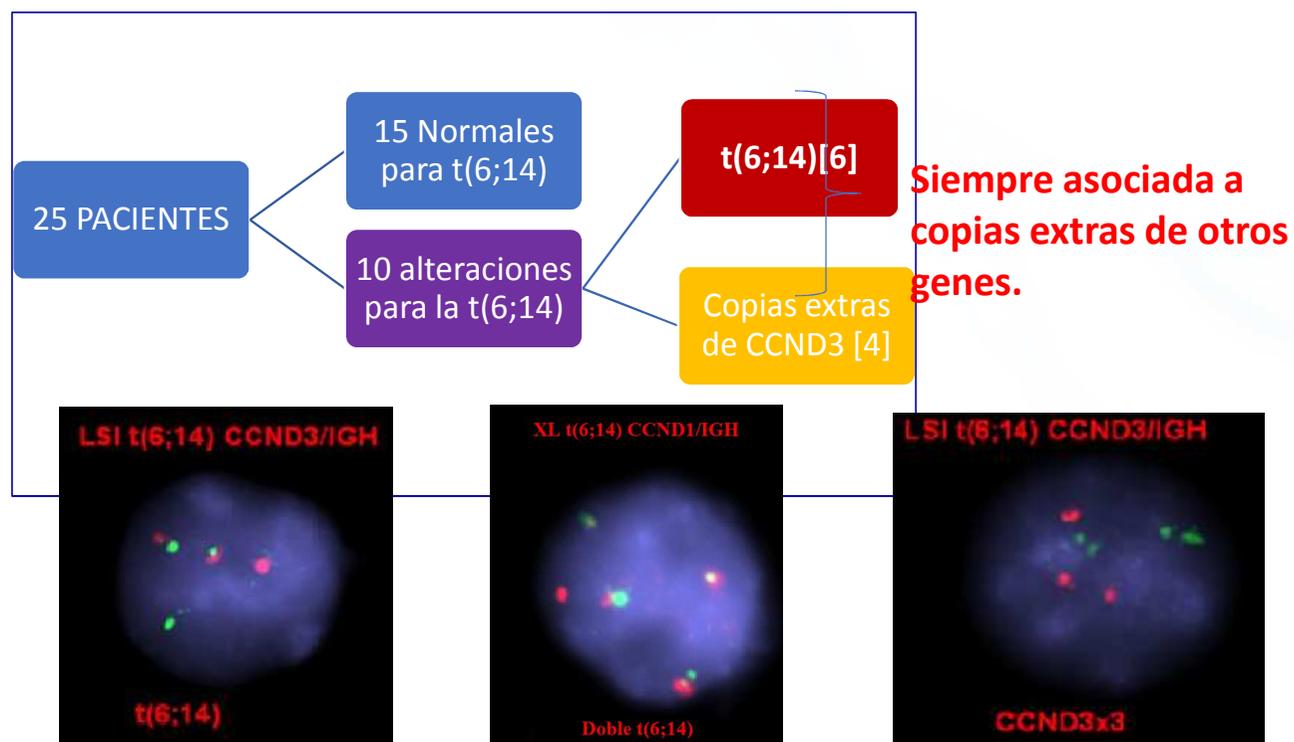
☐ t(6;14)(p21;q32) CCND3/IGH

Yuxtapone el gen CCND3 con el locus del gen IGH, tiene una incidencia de alrededor de un 4-5% en los casos, se asocia a una progresión lenta de la enfermedad aunque hay escasa información clínica. **Riesgo estándar**

XL t(6;14) CCND3/IGH MetaSystems



Análisis de resultados del estudio de t(6;14)

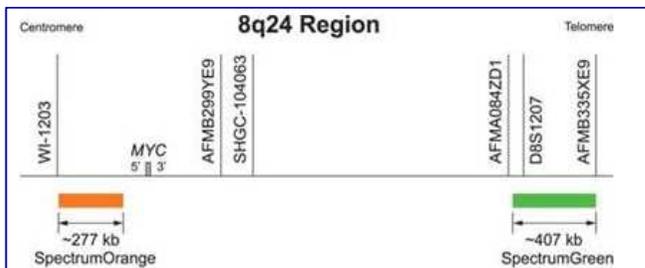


➤ ESTUDIO DE ANOMALÍAS SECUNDARIAS EN MIELOMA

❑ Alteraciones del gen MYC

- El gen MYC (8q24) juega un papel importante en la patogénesis de MM. El aumento de la expresión de c-myc parece estar implicado en la progresión de la gammapatía monoclonal de significado incierto o mieloma múltiple latente a MM.
- Alteraciones de MYC en el 15% de los MM en el momento diagnóstico y hasta el 45% en progresión.
- Durante los años 2013 a 2015 incorporamos al estudio genético las alteraciones del gen MYC y aneuploidías de cromosomas 5, 9 y 15, con el fin de categorizar a los pacientes dentro del grupo Hiperdiploide o No hiperdiploide.

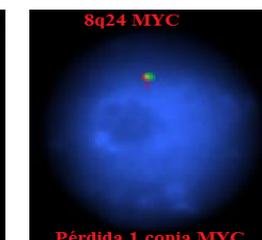
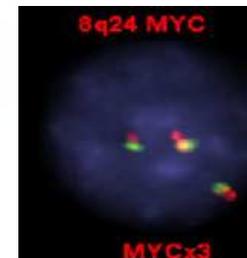
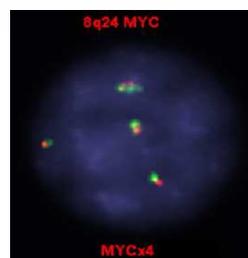
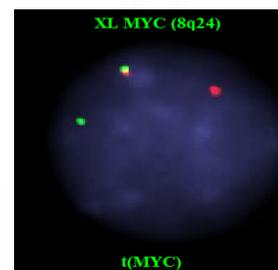
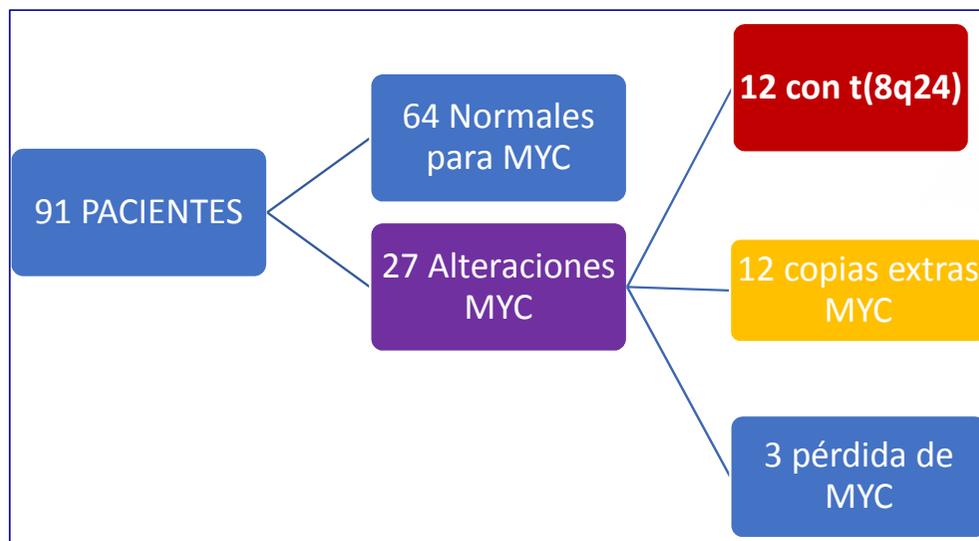
LSI MYC Dual Color BA Vysis



LSI 5' MYC S. Orange. Comienza en el extremo 5' de MYC y se extiende una 260 Kb hacia el centrómero.

LSI 3' MYC S. Green. Comienza a 1 Mb del extremo 3' de MYC y se extiende hacia el telómero,

Alteraciones de MYC. Análisis de resultados



92% asociados a
hiperdiploidía 5,9, 15.

Anomalías de MYC y su asociación con el resto de alteraciones citogenéticas

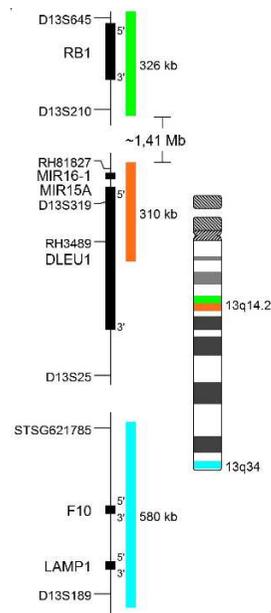
ALT MYC (n=27)	t(4;14) y/o del(TP53) (alto riesgo)	Alt cr 1 (riesgo intermedio)	Hiperdiploidia y otros (riesgo estándar)
t(MYC) (n=12)	2	5	5
Copias Extras (n=12)	4	6	2
Pérdida MYC (n=3)			3

63% asociados a alteraciones de alto riesgo

Delección 13q

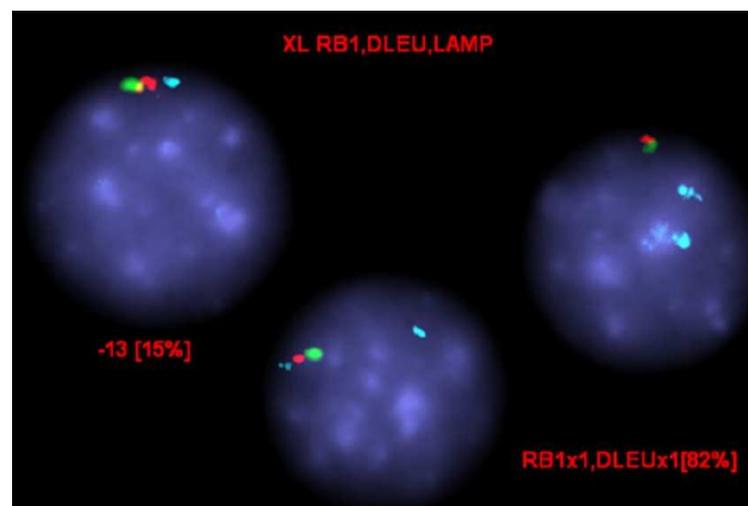
Anomalía secundaria más frecuente, detectada en el **55%** de los casos, involucra al gen supresor de tumor RB1, regulador negativo del ciclo celular. El **valor pronóstico** de esta anomalía ha variado a lo largo de los años. La **del(13q) detectada por FISH** se incluiría en el grupo de **riesgo estándar** y si se detecta por **citogenética** se incluiría dentro del **grupo de alto riesgo**.

XL RB1/DLEU/LAMP MetaSystems

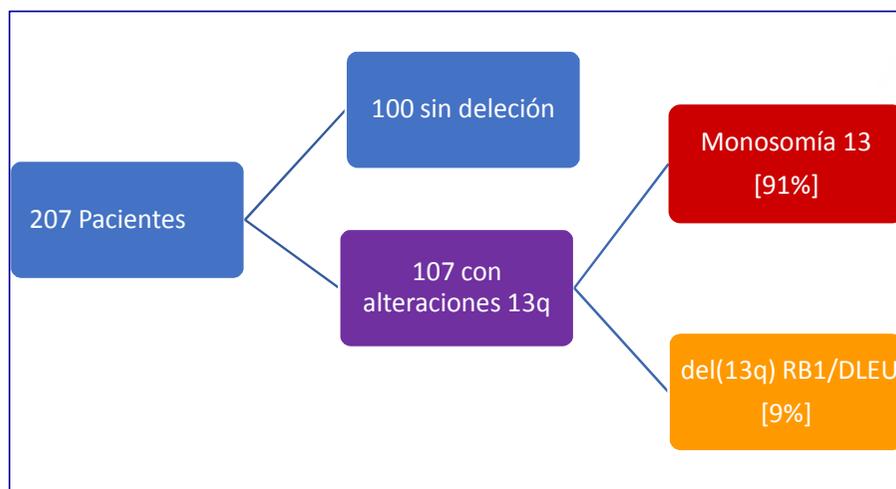


Nos permite detectar:

- Deleciones intersticiales de los genes RB1/DLEU/LAMP
- Monosomía de cr 13
- Diferentes línea clonales, deleciones intersticiales y/o monosomía 13



❑ Deleción 13q. Análisis de resultados



- Del(13q) y su asociación con el resto de alteraciones citogenéticas

	Del 13q / Monosomía 13
Solo +1q	17
+1q junto con t(4;14),t(14;16) y/o del(17p)	28
+1q junto a ganancias de otros genes	16
+1q y t(11;14)	2
Otras alteraciones alto riesgo t(4;14) y del(17p)	23
Otras	18



La del(13q) / monosomía 13 se asocia en el 80% de los casos a alteraciones de alto riesgo

CASO: Mujer de 42 con diagnóstico de MM IgD en 2019. FISH (impronta medular) **NEGATIVO:** t(4;14), del(17p), 1p/1q
 1º línea de tratamiento: VRdx7 (respuesta máxima alcanzada: RP tras 3 ciclos)
 2º línea dentro de EC MMY2040 (Carfilzomib+Daratumumab+Dexametasona) (RC con EMR-, Julio 2020 **PROGRESIÓN**)

INFORME GENETICA

RESULTADOS

POSITIVO-FISH:

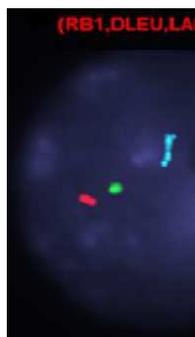
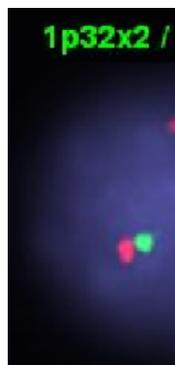
- Delección 17p (TP53)[95%]
- Traslación del gen IGH y pérdida de la otra copia [95%]. Una única copia del gen traslocada
- Monosomía de cromosoma 13
- Delección 8q24(c-MYC)[93%]
- Delección 4p16(FGFR3)

NEGATIVO-FISH:

- t(11;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), t(8;14)
- Copias extras de 1q
- Pérdida de 1p

Descartados todos los partners recurrentes con la IGH. El partner acompañante es desconocido.

LOS MODELOS DE HIBRIDACIÓN OBSERVADOS SE CORRESPONDEN CON UN MIELOMA HIPODIPLOIDE DE ALTO RIESGO .



➤ CONCLUSIONES

- 1- El análisis exhaustivo de las sondas FISH, así como una interpretación adecuada y global de los diferentes modelos de hibridación observados, pueden contribuir una mejor estratificación de los pacientes en los diferentes grupos de riesgo.
2. Sería necesario profundizar en el valor pronóstico de los modelos de hibridación anómalos observados, y analizar el efecto que tienen en la respuesta los diferentes fármacos. (Rabani, et al. Leukemia, 2020).
3. La ampliación de nuevas pruebas genéticas, al panel recomendado por el IMWG, aportarán información adicional que ayudará a definir el pronóstico del paciente de manera más exacta.

Sección de Hematología. S de Genética



**Hospital Universitario
12 de Octubre**

CS
IS
IS



**¡¡ Muchas gracias
por su atención!!**

