



PSDTA Mieloma Multiplo

Allegato 2 : Analisi citogenetiche

**A cura del Gruppo di Studio Mieloma Multiplo
Rete Oncologica Piemonte e Valle d'Aosta**

Anno di pubblicazione 2022

OGGETTO:

Algoritmo operativo del laboratorio di Citogenetica relativamente all'analisi FISH nei pazienti affetti da Mieloma Multiplo (MM) alla diagnosi nei diversi centri regionali.

Citogenetica del Mieloma Multiplo

Alla spiccata eterogeneità del Mieloma Multiplo in termini di presentazione clinica, di prognosi e di risposta alla terapia, corrisponde una altrettanto variegata eterogeneità citogenetico-molecolare. Già dagli stadi iniziali (MGUS e SMM) la comparsa e l'accumulo di specifiche aberrazioni cromosomiche accompagnano la genesi e la progressione del Mieloma, determinandone le caratteristiche fenotipiche e di aggressività (Tab.1).

Tab. 1 Anomalie citogenetiche ricorrenti nel MM, MGUS e SMM.

| Anomalia Citogenetica | Gene/i Coinvolti | Significato Prognostico |
|---|-------------------------|--------------------------------|
| Traslocazione t(11;14) | <i>CCND1</i> | Neutra |
| Traslocazione t(4;14) | <i>FGFR3/MMSET</i> | Sfavorevole |
| Traslocazione t(6;14) | <i>CCND3</i> | Sfavorevole |
| Traslocazione t(14;16) | <i>MAF</i> | Sfavorevole |
| Traslocazione t(14;20) | <i>MAFB</i> | Sfavorevole |
| Iperdiploidia (tris. 3,5,7,9,11,15,19,21) | | Favorevole |
| Aumento del n° di copie 1q | | Sfavorevole |
| Delezione 1p | <i>CDKN2C</i> | Sfavorevole |
| Delezione 17p | <i>TP53</i> | Sfavorevole |
| Aumento del n° di copie 8q | <i>MYC</i> | Neutra |
| Traslocazione 8q | <i>MYC</i> | Sfavorevole |

Le anomalie citogenetiche, per la loro stretta associazione con la prognosi, sono state incorporate in diversi sistemi di stratificazione del rischio nel MM. Sebbene le aberrazioni cromosomiche valutate comprendano perlopiù la delezione 17p13.1 (*TP53*), la traslocazione t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) e l'incremento del numero di copie/amplificazione 1q, non c'è un perfetto accordo tra i diversi sistemi di stratificazione del rischio, come si può apprezzare dalla tabella 2.

Tab. 2 Anomalie citogenetiche valutate nei diversi sistemi di stratificazione del rischio nel MM.

| Staging | Anomalie citogenetiche valutate in FISH |
|--|--|
| International Staging System (ISS) | - |
| Revised International Staging System (RISS) | <u>Alto rischio:</u> del 17p e/o t(4;14) o t(14;16) <u>Rischio standard:</u> altre anomalie cromosomiche |
| International Myeloma Working Group (IMWG) Risk Staging | <u>Basso rischio:</u> ISS stadio I o II in assenza t(4;14), del(17p) e <i>gain</i> 1q <u>Rischio intermedio:</u> casi che non rientrano nel basso o alto rischio <u>Alto rischio:</u> ISS stadio II o III e t(4;14) o del(17p) |
| mSMART Risk Staging | <u>Rischio Standard:</u> Iperdiploidia e/o t(11;14), <u>Rischio intermedio:</u> t(4;14) o <i>gain</i> 1q <u>Alto rischio:</u> t(14;16) o t(14;20) o del(17p) |
| R2-International Staging System (R2-ISS) | del 17p e/o t(4;14) e/o <i>gain</i> 1q |

Analisi FISH nel Mieloma Multiplo alla diagnosi: Algoritmo operativo

Al momento attuale la tecnica *gold standard* per l'identificazione delle anomalie cromosomiche nel MM è la FISH, per la cui corretta esecuzione e valutazione sono state proposte indicazioni e raccomandazioni da diversi gruppi di lavoro, che, seppure con minime variazioni, considerano obbligatorio eseguire l'analisi FISH su plasmacellule purificate o su campioni arricchiti in plasmacellule con tecniche immunomagnetiche, citofluorimetriche o immunoistochimiche e non su sangue midollare *in toto*. In particolare, il "Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders" e le "European recommendations and quality assurance for cytogenomic analysis of haematological neoplasms" forniscono indicazioni precise e dettagliate sull'intero processo, dalla fase pre-analitica fino all'emissione del referto citogenetico.

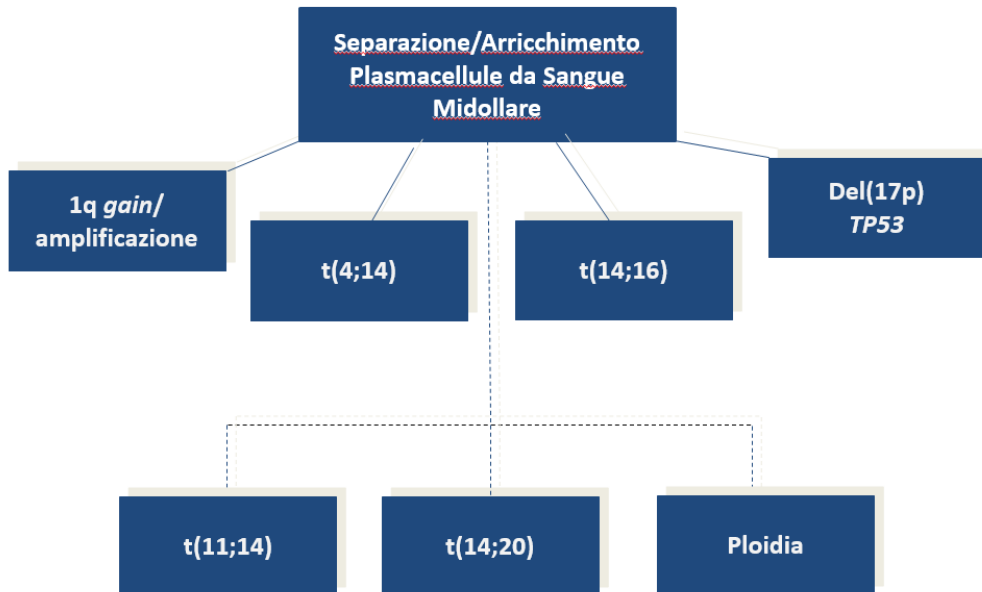
Si raccomanda l'applicazione di un pannello minimo di sonde che comprenda le traslocazioni t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), la delezione 17p13 e l'aumento del numero di copie 1q. Un pannello più esteso di sonde può includere anche le traslocazioni t(11;14)(q13;q32), t(14;20)(q32;q12), e lo studio della ploidia Fig. 1.

Quando possibile, è considerata ottimale l'analisi di 100 nuclei.

Il referto dovrebbe essere il più possibile esaustivo, includendo informazioni metodologiche quali, il metodo utilizzato per la selezione delle plasmacellule, il numero di nuclei analizzati e la percentuale di cellule positive per tipologia di aberrazione cromosomica studiata.

Più controversa è la definizione di un *cut-off* condiviso per le varie anomalie cromosomiche. Nei laboratori di citogenetica i valori soglia di positività sono stabiliti sulla base della media \pm 3SD calcolata su sangue midollare normale, generando quindi valori che possono differire tra i diversi centri. Tuttavia, seppure non identici, risultano piuttosto simili e pertanto un *consensus* è stato raggiunto definendo un *cut-off* per le traslocazioni tra il 10-15% e per le anomalie numeriche tra il 10 e il 20%.

Fig.1 Analisi FISH nel MM: Algoritmo operativo



Referenze:

1. Dimopoulos MA, et al. Multiple Myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021 Mar;32(3):309-322.
2. Moreau P, et al. ESMO Guidelines Committee. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017 Jul 1;28(suppl_4).
3. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020 May;95(5):548-567.
4. Mikhael JR, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013. *Mayo Clin Proc.* 2013 Apr;88(4):360-76.
5. Palumbo A, et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2015 Sep 10;33(26):2863-9.
6. Fonseca R, et al. International Myeloma Working Group. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia.* 2009 Dec;23(12):2210-21.
7. Ross FM, et al. European Myeloma Network. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica.* 2012 Aug;97(8):1272-7.
8. Rack KA, et al. European recommendations and quality assurance for cytogenomic analysis of haematological neoplasms. *Leukemia.* 2019 Aug;33(8): 1851-1867.
9. D'Agostino M, et al. Second Revision of the International Staging System (R2-ISS) for Overall Survival in Multiple Myeloma: A European Myeloma Network (EMN) Report Within the HARMONY Project. *J Clin Oncol.* 2022 May 23;JCO2102614.