

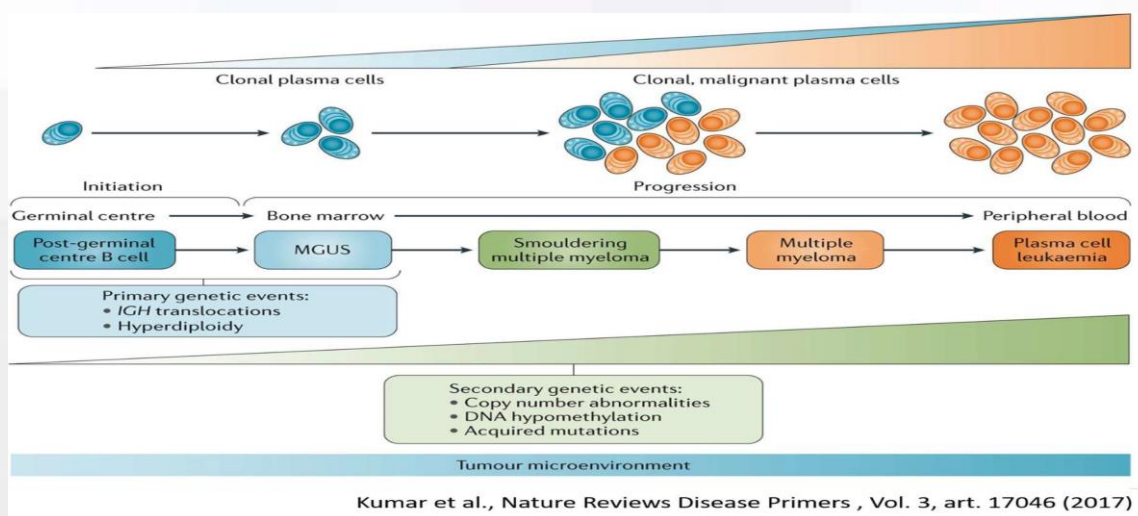
Estudio Genético Mieloma Múltiple

El mieloma múltiple (MM) es un tipo de neoplasia que implica la expansión clonal de las células plasmáticas, un tipo de célula que proviene del linfocito B y es responsable de la producción de anticuerpos. Estas células, cuando se desarrollan de forma anormal e incontrolada en la médula ósea, causan un conjunto de síntomas que incluyen dolor óseo, fatiga, infecciones recurrentes y niveles elevados de calcio en sangre.

Se trata de la tercera enfermedad hematológica maligna en orden de frecuencia, y cada año se diagnostican en España en torno a 3000-3500 nuevos casos. Representa un 2% de las muertes por cáncer y un 20% de las muertes por enfermedades hematológicas malignas[1].

Hay cuatro categorías principales de mieloma:

- Mieloma Asintomático: Pacientes con síntomas inespecíficos que pueden ser atribuidos a otras enfermedades.
- Mieloma quiescente: se caracteriza por presentar sólo un pico de proteína monoclonal estable.
- Mieloma indolente: Acumulación lenta de células plasmáticas aberrantes en médula pero sin daño inmediato o grave.
- Mieloma Múltiple: El diagnóstico se basa en la detección de células plasmáticas aberrantes ($\geq 10\%$ médula ósea) que interfieren con la formación normal de células sanguíneas en la médula, dando lugar a la aparición de anemia y leucopenia; la presencia de paraproteínas y las complicaciones asociadas como lesiones óseas, insuficiencia renal e hipercalcemia.



Normalmente el Mieloma viene precedido por una Gammopatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI). Durante la progresión se van acumulando alteraciones genéticas.

Catlab Informa

Importancia clínica de las alteraciones cromosómicas en Mieloma Múltiple

Las alteraciones cromosómicas tienen gran importancia clínica, ya que influyen en el diagnóstico, pronóstico, estratificación de riesgo y respuesta al tratamiento[2]. A continuación se describen los puntos clave de su relevancia:

Diagnóstico y patogénesis :

Las alteraciones cromosómicas son fundamentales en el desarrollo del MM. Se dividen en eventos primarios y secundarios. Los eventos primarios contribuyen a la inmortalización de las células plasmáticas, y los eventos secundarios a la progresión de la enfermedad.

Anomalías genéticas primarias:

En la fase primaria de la enfermedad, las anomalías genéticas pueden dividirse en dos grandes grupos:

- Mieloma no hiperdiploide: implica reordenamientos del gen *IGH* (14q34) con varios oncogenes, incluyendo *FGFR3*, *CCND3*, *CCND1*, *MAF* y *MAFB* en los cromosomas 4, 6, 11, 16 y 20, respectivamente. Estos reordenamientos primarios yuxtaponen estos oncogenes en la región potenciadora de *IGH*.
- Mieloma hiperdiploide : implica trisomías de los cromosomas 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 y 21, junto con una baja prevalencia de reordenamientos *IGH*.

En una minoría de pacientes, se encuentran reordenamientos de *IGH* y trisomías múltiples.

Anomalías genéticas secundarias:

Las células plasmáticas aberrantes experimentan distintas etapas de evolución a lo largo del tiempo. Las anomalías genéticas que reflejan esta progresión son:

- Deleción de *TP53* (17p13): Es el factor citogenético más importante por el pronóstico, con efecto muy negativo en la supervivencia, enfermedad más agresiva, mayor prevalencia de enfermedad extramedular.
- Anomalías del cromosoma 1 (Pérdida de 1p y/o ganancia de 1q). Las anomalías en ambos brazos del cromosoma 1 se asocian con menor supervivencia.
- Alteraciones gen *MYC* (8q24). Alteración tardía o secundaria en la génesis del MM, asociada a pronóstico adverso.

Estratificación del riesgo:

La Estratificación de riesgo citogenético mSMART desarrollada por la Clínica Mayo (www.msmart.org)[3], clasifica por grupo de riesgo las diferentes anomalías cromosómicas.

Mayo Clinic Risk Stratification for Multiple Myeloma (mSMART)

Risk Group	Percentage of newly diagnosed patients with the abnormality
Standard Risk	60%
Trisomies	
t(11;14)	
t(6;14)	
High Risk	40%
t(4;14)	
t(14;16)	
t(14;20)	
del(17p)	
gain(1q)	
Double-Hit myeloma:	
Any 2 high risk factors	
Triple-Hit myeloma:	
Any 3 or more high risk factors	

Catlab Informa

Pronóstico:

Los pacientes con alteraciones de alto riesgo suelen tener una menor supervivencia y una progresión más rápida de la enfermedad.

Las alteraciones de estándar o bajo riesgo tienen una mejor respuesta a los tratamientos estándar, como los inhibidores del proteasoma o los agentes inmunomoduladores .

Para calcular el pronóstico se consideran varios factores como las **características del paciente** (comorbilidades), la **carga tumoral** (estadio), la **biología de la enfermedad** (alteraciones citogenéticas, aumento de la lactato deshidrogenasa (LDH) y presencia de células plasmáticas en la sangre).y la **respuesta al tratamiento** .

La carga tumoral se valora mediante el estadiaje Durie-Salmon (DSS) y el Sistema Internacional de estadiaje (ISS), basados en los valores de β 2-microglobulina y albúmina séricas.

La biología de la enfermedad se evalúa según la presencia o ausencia de las anomalías citogenéticas consideradas de alto riesgo: t(4;14),t(14;16) y del(17p), el aumento de la lactato deshidrogenasa(LDH) y la presencia de células plasmáticas en la sangre.

En 2015, el Grupo de Trabajo Internacional sobre Mieloma (IMWG), publicó una revisión del ISS (R-ISS)[4], combinando la carga tumoral y la biología de la enfermedad, para conseguir un valor pronóstico personalizado por paciente.

Table 1. Standard Risk Factors for MM and the R-ISS	
Prognostic Factor	Criteria
ISS stage	
I	Serum β_2 -microglobulin < 3.5 mg/L, serum albumin $\geq$ 3.5 g/dL
II	Not ISS stage I or III
III	Serum β_2 -microglobulin $\geq$ 5.5 mg/L
CA by iFISH	
High risk	Presence of del(17p) and/or translocation t(4;14) and/or translocation t(14;16)
Standard risk	No high-risk CA
LDH	
Normal	Serum LDH < the upper limit of normal
High	Serum LDH > the upper limit of normal
A new model for risk stratification for MM	
R-ISS stage	
I	ISS stage I and standard-risk CA by iFISH and normal LDH
II	Not R-ISS stage I or III
III	ISS stage III and either high-risk CA by iFISH or high LDH
Abbreviations: CA, chromosomal abnormalities; iFISH, interphase fluorescent in situ hybridization; ISS, International Staging System; LDH, lactate dehydrogenase; MM, multiple myeloma; R-ISS, revised International Staging System.	

Palumbo et al.(2015)

En 2022, la red Europea de Mieloma (European Myeloma Network) realizó una segunda revisión del ISS (R2-ISS)[5] donde se creó y validó un sistema de puntuación de riesgo basado en los diferentes factores de estratificación ya establecidos en el R-ISS y añadió como anomalía de alto riesgo la ganancia de 1q.

Para garantizar una armonización de criterios uniforme en el estadiaje , en el R2-ISS sólo se utilizan 4 marcadores citogenéticos ampliamente disponibles y considerados de alto riesgo [t(4;14),t(14;16), del(17p) , y ganancia de 1q].

Sin embargo, las guías internacionales recomiendan el estudio de otras anomalías citogenéticas para contribuir a un pronóstico y estrategia terapéutica personalizada[1,2,6,7].

Catlab Informa

Planificación del tratamiento:

La estratificación basada en las alteraciones cromosómicas ayuda a seleccionar tratamientos personalizados [7]:

- *Los pacientes de alto riesgo pueden beneficiarse de terapias más intensivas o combinadas.
- *El uso de inhibidores del proteasoma como el Bortezomib es especialmente beneficioso para los pacientes con del(17p) o t(4;14).
- *Los pacientes con t(11;14) responden mejor a Venetoclax, un inhibidor de BCL-2.

Seguimiento de la enfermedad mínima residual (MRD):

La monitorización de alteraciones cromosómicas con técnicas como la FISH (hibridación in situ fluorescente) es crucial para valorar la persistencia de células tumorales después del tratamiento, en combinación con el estudio por citometría de flujo.

Impacto en investigación y desarrollo de nuevas terapias:

El estudio de las alteraciones cromosómicas lleva al desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a alteraciones moleculares específicas.

Hibridación in situ fluorescente (FISH) en el estudio citogenético de mieloma múltiple

El análisis citogenético convencional (cariotipo), debido, tanto a un grado variable de infiltración de las células plasmáticas en el tuétano, como al bajo índice de proliferación de las células plasmáticas aberrantes, subestima enormemente las potenciales anomalías cromosómicas que se pueden encontrar en MM.

En estas condiciones, las guías internacionales recomiendan un método de enriquecimiento de la muestra en células plasmáticas (CD138+), seguido de la técnica de hibridación in situ fluorescente (FISH), por el análisis de alteraciones cromosómicas en núcleos en interfase.

En Catlab, siguiendo estas recomendaciones, realizamos el siguiente procedimiento:

Muestras y Purificación :

- Se trabaja a partir de muestras de aspirado de médula ósea con conteo por citología de más del 10% de células plasmáticas.
- Las células plasmáticas (CD138+) se purifican por **selección negativa** utilizando anticuerpos monoclonales que se unen a las células no deseadas.
- Las células CD138+, libres y viables se recogen mediante centrifugación en gradiente de densidad.

Cultivo y extracción:

- Las CP se cultivan durante 72 horas y se realiza extracción por procedimiento citogenético, obteniendo células en suspensión.

Catlab Informa

Hibridación:

- Los núcleos en suspensión se extienden sobre un portaobjetos y se realiza la técnica de FISH: se marca el material con sondas fluorescentes específicas que emiten luz cuando se unen a las regiones del genoma de interés.
- Se utiliza un panel **MultiFISH** que permite analizar, en un único portaobjetos, las alteraciones cromosómicas más relevantes para el diagnóstico y pronóstico de MM:

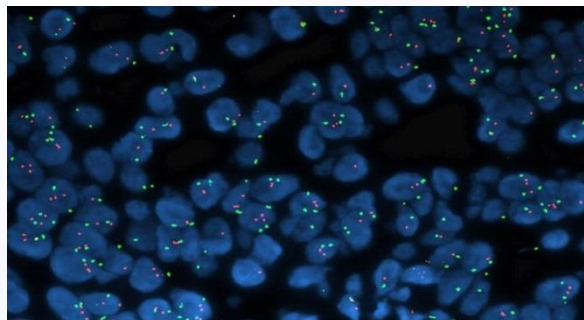
Hiperdiploidía (cromosomas 5, 9 y 15)
Reordenamiento gen <i>MYC</i>
Delección de <i>TP53</i> .
t(14;20) reordenamiento <i>IGH::MAFB</i>
t(4;14) reordenamiento <i>IGH::FGFR3</i>
t(11;14) reordenamiento <i>IGH::CCND1</i>
(14;16) reordenamiento <i>IGH::MAF</i>
t(6;14) reordenamiento <i>IGH::CCND3</i>
Ganancia 1q/ pérdida 1p .



Portaobjetos MultiFISH (CytoCell)

Análisis e interpretación:

Con microscopio de fluorescencia se visualizan las señales de fluorescencia y se interpretan los patrones de hibridación obtenidos.



Imágenes de señales fluorescentes en núcleos interfásicos

Conclusión

En resumen, el mieloma múltiple es una enfermedad hematológica compleja con gran variedad de alteraciones genéticas implicadas en su desarrollo. La técnica de FISH es una herramienta crucial para identificar estas alteraciones, y la realización de la técnica MultiFISH de forma rutinaria contribuye a un diagnóstico más preciso ya una mejor estrategia terapéutica. Gracias al avance en las técnicas genéticas, como la FISH, los clínicos pueden ofrecer tratamientos más personalizados y mejorar los resultados para los pacientes con Mieloma Múltiple

Catlab Informa

Bibliografía

- [1] Kumar S, Rajkumar V, Kyle Retal . *Multiple myeloma* . Nat Rev Dis Primeros 3, 17046(2017). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.46>
- [2] Rajkumar SV. *Multiple myeloma : 2024 update on diagnosis, risk-stratification , and management* . Am J Hematol . 2024;99(9):1802-1824. doi:10.1002/ajh.27422
- [3] Mikhael JR , DingliD , RoyVetal . Mayo Clinic. *Management of newly diagnosed symptomatic múltiple myeloma : updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART)* consenso guidelines 2013.MayoClinProc.2013Apr;88(4):360-76.doi:10.1016/j.mayocp.2013.01.019
- [4] PalumboA , AvetLoiseauH , OlivaSetal . *Revisado International Staging System for Multiple Myeloma : En Report From International Myeloma Working Group* . J Clin Oncol . 2015Sep10;33(26):2863-9.doi:10.1200/JCO.2015.61.2267
- [5] De AgostinoM , CairnsDA , LahuertaJJ etal . *Second Revision de International Staging System (R2 -ISS) para Overall Survival en Multiple Myeloma : En European Myeloma Network(EMN)Report Within the HARMONY Project* . JClinOncol .2022 Oct10; 40(29):3406-3418.doi:10.1200/JCO.21.02614.
- [6] Rack KA, van den Berg E, Haferlach C, et al. *European recomendaciones and quality asurance for cytogenomic analysis of haematological neoplasmos* . Leukemia . 2019;33(8):1851-1867. doi:10.1038/s41375-019-0378-z
- [7] Kumar , Shaji K et al. “ *Multiple Myeloma , Version 2.2024, NCCN Clinical Practice Guidelinas en Oncology* . Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN vol. 21,12 (2023): 1281-1301. doi:10.6004/jnccn.2023.0061

Maria Jiménez

Facultativa de la secció de Genètica

CATLAB

Mòbil: 630649820

Tel: 629610655

mjimenezn@catlab.cat

www.catlab.cat