

**MIELOMA MÚLTIPLE: RENDIMIENTO DEL ESTUDIO DEL
CARIOTIPO POR TÉCNICAS CONVENCIONALES Y DE
HIBRIDACIÓN *IN SITU* FLUORESCENTE. SIGNIFICADO
PRONÓSTICO DE LAS GANANCIAS DE 1q.**

Trabajo de investigación presentado por:

Cyntia Fabiola Valvert Gamboa

Licenciada en Medicina y Cirugía

Director del trabajo de investigación: Doctor Andrés López Hernández

Coordinadores: Doctora Margarita Ortega Blanco y Doctora Teresa Vallespí Solé

Palabras clave: *Ganancias de 1q, mieloma múltiple, citogenética*

Paraules clau: *Guanys de 1q, mieloma múltiple, citogenètica*

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Barcelona

2011

Dr. Andrés López Hernández Jefe de la Unidad de Linfomas del Hospital Vall d'Hebron, como director y Dra. Margarita Ortega Blanco de la Unidad de Citogenética hematológica del Hospital Vall d'Hebron y Dra. Teresa Vallespí Solé Coordinadora de la Unidad de Citogenética hematológica del Hospital Vall d'Hebron, como tutoras,

CERTIFICAN:

Que Doña Cyntia Fabiola Valvert Gamboa ha realizado el presente trabajo de investigación:
“MIELOMA MÚLTIPLE: RENDIMIENTO DEL ESTUDIO DEL CARIOTIPO POR TÉCNICAS CONVENCIONALES Y DE HIBRIDACIÓN *IN SITU* FLUORESCENTE. SIGNIFICADO PRONÓSTICO DE LAS GANANCIAS DE 1q”

El trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección, autorizando su presentación ante el Tribunal Calificador.

Y para que así conste se extiende el presente certificado.

Barcelona, Agosto 2011.

Vº Bº del director y tutoras del trabajo de investigación

Director:

Tutoras:

Dr. Andrés López Hernández

Dra. Margarita Ortega Blanco

Dra. Teresa Vallespí Solé

ÍNDICE

Glosario de abreviaturas	5
Resumen	7
I. INTRODUCCIÓN AL CONOCIMIENTO ACTUAL DEL MIELOMA MÚLTIPLE	9
1. Concepto	9
2. Mieloma múltiple y otras discrasias de células plasmáticas	9
2.1. Clasificación y criterios diagnósticos	9
2.1.1. Gammapatía monoclonal de significado incierto	9
2.1.2. Mieloma quiescente	9
2.1.3. Mieloma múltiple	9
2.1.4. Macroglobulinemia de Waldeström	10
2.1.5. Plasmocitoma solitario	10
2.1.6. Síndrome de POEMS	10
2.1.7. Amiloidosis sistémica	10
2.1.8. Leucemia de células plasmáticas	10
3. Epidemiología	11
4. Patogénesis	11
5. Manifestaciones clínicas	14
6. Parámetros biológicos	14
7. Alteraciones cromosómicas	15
7.1. Citogenética convencional y FISH	15
7.2. Perfil de expresión genética	16
7.2.1 Ganancias de 1q	16
8. Factores pronósticos	17
9. Sistemas de puntuación. Índices pronósticos	18
9.1. Durie-Salmon	18
9.2. Sistema Internacional de Estadificación (ISS)	18
9.3. Clasificación SMART	18
10. Tratamiento	18
10.1. Criterios de respuesta	20
10.2. Criterios adicionales	20
11. CRITERIOS DE RECAÍDA	21
II. HIPÓTESIS	22
III. OBJETIVOS	24
1. Objetivo primario	24
2. Objetivos secundarios	24

IV.	PACIENTES Y MÉTODOS	25
1.	Pacientes	25
2.	Parámetros biológicos	25
3.	Estudios del aspirado de médula ósea	25
3.1.	Citomorfoloía	25
3.2.	Inmunofenotipo por citometría de flujo	25
3.3.	Citogenética convencional	26
3.4.	FISH	26
4.	Análisis estadístico	26
V.	RESULTADOS	28
1.	Características generales de la serie	28
2.	Estudios citogenéticos:	
2.1	Rendimiento de los estudios de citogenética y de FISH	30
2.2	Alteraciones citogenéticas por CC y por FISH	33
3.	Características generales de los pacientes con ganancias de 1q	34
4.	Datos evolutivos en pacientes con 1q+	35
4.1.	Tipo de respuesta al tratamiento	35
4.2.	Comparación de la supervivencia libre de progresión de los MM tratados con bortezomib en primera línea según la presencia o ausencia de 1q+	36
4.3.	Comparación de la supervivencia de los pacientes tratados con bortezomib en primera línea según la presencia o ausencia de 1q+	37
4.4.	Supervivencia hasta nueva recaída según la presencia o ausencia de +1q en la primera recaída	38
4.5.	Supervivencia de los pacientes según la presencia de +1q al diagnóstico o en recaída	39
VI.	DISCUSIÓN	40
VII.	CONCLUSIONES	43
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	44

Abreviaturas:

ADN: Ácido desoxiribonucleico

β-CAT: β catenina

β²-M: β²microglobulina

CC: Citogenética convencional

CCN: Ciclina

CGH: Hibridación genómica comparada

clg-FISH: Cytoplasmic Immunoglobulin Fluorescence *in situ* Hybridization

CLAD: Ciclofosfamida, doxorubicina liposomal y dexametasona

CM: Componente monoclonal

CP: Célula plasmática

CRAB: Hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia o lesiones óseas

DCP: Discrasia de células plasmáticas

FISH: Fluorescence *in situ* hybridization

Gen Rb: Gen del retinoblastoma

GMSI: Gammapatía monoclonal de significado incierto

Ig: Inmunoglobulina

IGH: Cadena pesada de la inmunoglobulina

IMWC: International Myeloma Workshop Consensus

IMWG: International Myeloma Working Group

ISS: Sistema Internacional de Estadificación

LDH: Lactato deshidrogenasa

MM: Mieloma múltiple

MO: Médula ósea

MP: Melfalan, prednisona

POEMS: Polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, componente monoclonal, piel.

RC: Respuesta completa

MBRP: Muy buena respuesta parcial

RP: Respuesta parcial

SE: Error estándar

SG: Supervivencia global

SLP: Supervivencia libre de progresión

TASPE: Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

TTP: Tiempo hasta la progresión

VBMCP/VBAD: Vincristina, BCNU, melfalán, ciclofosfamida, prednisona/ vincristina, BCNU, doxorubicina, dexametasona

VD: Bortezomib y dexametasona

VDD: Bortezomib, doxorubicina liposomal, dexametasona

VMP: Bortezomib, melfalan, prednisona

VTD: Bortezomib, talidomida, dexametasona

RESUMEN

En éste estudio analizamos el rendimiento de las técnicas citogenéticas utilizadas en los protocolos diagnósticos del MM (CC y técnicas de FISH).

En primer lugar caracterizamos la serie de pacientes y los estratificamos en grupos de riesgo según los sistemas de estadificación actuales. Después estudiamos el porcentaje de cariotipos patológicos con cada una de las técnicas y en conjunto, encontrando un 40% de cariotipos patológicos por CC y de estos un 11,5% pertenecían a estudios con recuentos de CP \leq 20% por citomorfología. La técnica de FISH aumentó hasta un 68% los cariotipos patológicos.

También hemos realizado la caracterización de los pacientes con ganancias de 1q y su impacto en la evolución de la enfermedad.

RESUM

En aquest estudi analitzem el rendiment de les tècniques citogenètiques utilitzades en els protocols diagnòstics del MM (CC i tècniques de FISH).

En primer lloc caracteritzem la sèrie de pacients i els estratificats en grups de risc segons els sistemes d'estratificació actuals. Després estudiem el percentatge de cariotips patològics amb cadascuna de les tècniques i en conjunt, trobant un 40% de cariotips patològics per CC i d'aquests un 11,5% pertanyien a estudis amb recomptes de CP $\leq 20\%$ per citomorfologia. La tècnica de FISH va augmentar fins un 68% els cariotips patològics.

També hem realitzat la caracterització dels pacients amb guanys de 1q i el seu impacte en l'evolució de la malaltia

I.INTRODUCCIÓN AL CONOCIMIENTO ACTUAL DEL MIELOMA MÚLTIPLE

1. Concepto

El mieloma múltiple es una neoplasia sistémica de células plasmáticas, caracterizada por la proliferación de una célula plasmática clonal, que produce una proteína homogénea de carácter monoclonal que se libera a la sangre y/o orina.

2. Mieloma múltiple y otras discrasias de células plasmáticas

2.1 Clasificación y criterios diagnósticos

El mieloma múltiple se clasifica dentro de las discrasias de células plasmáticas (DCP). Las DCP incluyen desde procesos indolentes como la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) hasta enfermedades altamente agresivas como la amiloidosis o la leucemia de células plasmáticas. En el año 2002, el International Myeloma Working Group (IMWG) revisó los criterios diagnósticos y la clasificación de las DCP, basándose en los estudios disponibles normalmente de rutina. En el año 2009, Kyle y Rajkumar, de la Clínica Mayo, actualizaron los criterios diagnósticos establecidos por el IMWG definiendo:

2.1.1 Gammapatía monoclonal de significado incierto. Debe cumplir todos los criterios siguientes:

Proteína monoclonal en suero <3 g/dL, células plasmáticas clonales en médula ósea <10% y ausencia de alteraciones como hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia o lesiones óseas (CRAB) que puedan ser atribuidas a un desorden de la proliferación de las CP.

2.1.2. Mieloma quiescente (MM asintomático). Debe cumplir todos los criterios siguientes: proteína monoclonal en suero (IgG o IgA) \geq a 3 g/1dL y/o células plasmáticas clonales en médula ósea \geq a 10% y ausencia de alteraciones como lesiones líticas, anemia, hipercalcemia o fallo renal que se atribuyan a un desorden de la proliferación de CP.

2.1.3. Mieloma múltiple. Debe cumplir todos los criterios siguientes:

CP clonales en MO \geq al 10%. Presencia de CM en suero u orina (excepto en pacientes con MM no secretor) y evidencia de alteraciones que puedan ser atribuidas a la proliferación maligna de células plasmáticas, específicamente: hipercalcemia \geq 11,5 mg/dL o insuficiencia renal con creatinina sérica $>$ a 1,73 mmol/L; anemia (normocítica, normocrómica), entendiéndose como el descenso de la cifra de hemoglobina de 2g/dL por debajo del valor de la hemoglobina habitual del paciente o bien <10g/dL y lesiones óseas: lesiones líticas, osteopenia severa o fractura patológica.

2.1.4. Macroglobulinemia de Waldenström. Deben hallarse los dos criterios:

Gammapatía monoclonal IgM y >10% de infiltración en MO por pequeños linfocitos que exhiben diferenciación de célula plasmática o plasmocitoide y un inmunofenotipo típico (IgM de superficie +, CD5 +/-, CD10-, CD19+, CD20+, CD23-). Debe de excluirse otros síndromes linfoproliferativos, incluyendo la leucemia linfática crónica y linfoma de células del manto.

2.1.5. Plasmocitoma solitario. Debe cumplir todos los criterios:

Biopsia de lesión solitaria en hueso o tejido blando que evidencie la presencia de CP, médula ósea normal, sin evidencia de CP clonales, seriada ósea y resonancia magnética nuclear de la columna vertebral y pelvis normal (excepto la lesión solitaria primaria) y ausencia de daño a órgano diana, como lesiones CRAB, que pueda ser atribuido a la proliferación de células linfoplasmocitoides.

2.1.6. Síndrome de POEMS. Debe cumplir todos los criterios:

Presencia de una proliferación monoclonal de células plasmáticas, neuropatía periférica y al menos alguno de estos siete hallazgos: lesiones óseas osteoscleróticas, enfermedad de Castleman, organomegalia, endocrinopatía (excluyendo diabetes mellitus e hipotiroidismo), edema, lesiones cutáneas y papiledema.

2.1.7. Amiloidosis sistémica. Debe cumplir todos los criterios:

1. Presencia de síndrome sistémico relacionado con amiloidosis (insuficiencia renal, hepática, cardíaca, afección del tracto gastrointestinal o de los nervios periféricos).
2. Tinción de amiloide positiva para rojo Congo en algún tejido (grasa cutánea o médula ósea o biopsia de órgano).
3. Evidencia de que la presencia de amiloide se debe a depósito de cadenas ligeras. Estudio mediante inmunohistoquímica, secuenciación u otros.
4. Evidencia de una proliferación monoclonal de las CP (CM en suero u orina, ratio anormal de cadenas ligeras libres o CP clonales en MO). Aproximadamente un 2-3% de pacientes con amiloidosis sistémica no evidencian un desorden de células plasmáticas monoclonales. (*RA Kyle and SV Rajkumar, 2009*).

2.1.8. Leucemia de células plasmáticas

Es una variante rara y agresiva de MM caracterizada por la presencia >20% y/o >2x10⁹/L de células plasmáticas circulantes en sangre periférica (*Bladé 1999; Hayman 2001*).

3. Epidemiología

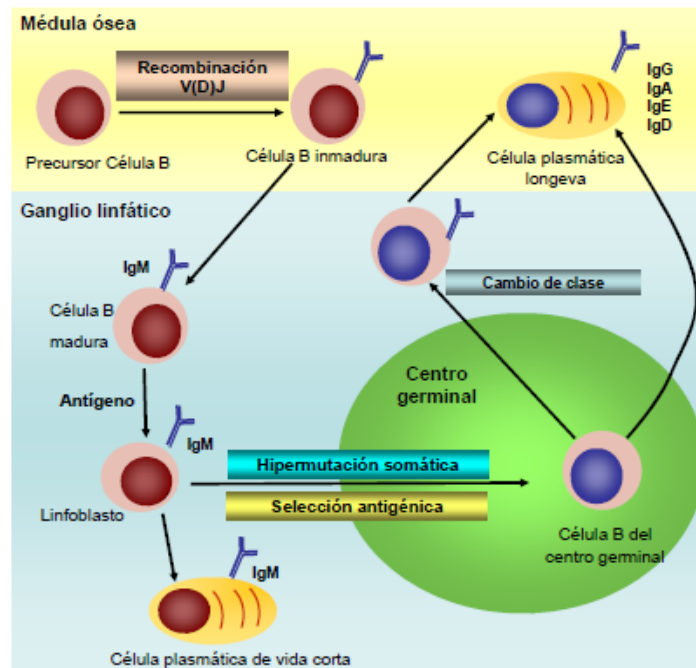
El MM representa el 1,5 % de todas las neoplasias y el 15% de las neoplasias hematológicas (Kyle & Rajkumar, 2009). Es más frecuente en la población adulta (tercera edad) con una mediana de edad entre 69 y 70 años. Es una enfermedad incurable con un pronóstico heterogéneo difícil de predecir y con una supervivencia a los 5 años que no supera el 40% (Kyle et al, 2006); en muchos casos, está precedida por una anomalía llamada GMSI, que ocurre aproximadamente en el 3% de los individuos mayores de 50 años (Chng et al, 2007) y puede progresar a MM (0,5-3% por año desde el diagnóstico de GMSI), siendo importante el aumento del nivel de inmunoglobulina monoclonal (Kyle et al, 2002).

4. Patogénesis

El MM se caracteriza por alteraciones genéticas muy complejas. La GMSI considerada como predecesora del mieloma múltiple puede ser conceptualizada como un primer cúmulo de alteraciones genéticas que requiere otras mutaciones para progresar a MM. Actualmente se sabe que algunas alteraciones presentes en MM se encuentran en GMSI. Sin embargo, el hallazgo de las mismas en GMSI no significa progresión a MM.

La inestabilidad genética intrínseca de las células B se desencadena en el centro germinal. Muchos de los tumores B que proceden del centro germinal o post-centrogerminal han modificado el ADN de genes de inmunoglobulina a través de hipermutaciones somáticas que afectan a las regiones variables de los genes de la inmunoglobulina y selección de antígeno, y otras veces por recombinación de *IGH* (*IGH switch*) (Gráfico 1). Estas hipermutaciones somáticas son producidas por el reordenamiento molecular de los genes reguladores de las inmunoglobulinas (*IGH, IGK, IGL*) mediante la recombinación V(D)J que implica roturas de la doble cadena de ADN (Kuehl et al 2002). Las células B post-centrogerminal pueden generar con éxito plasmablastos que tienen hipermutaciones somáticas completas, selección de antígenos y cambio de subtipo de la cadena pesada de la inmunoglobulina (Shapiro-Shelef et al, 2005). Normalmente estos plasmablastos migran a la médula ósea donde las células del estroma facilitan su diferenciación final como células plasmáticas de vida larga. (Kuehl et al, 2002).

Figura 1. Origen de la célula del mieloma (Adaptado de Kuehl y Bergsagel ,2002).

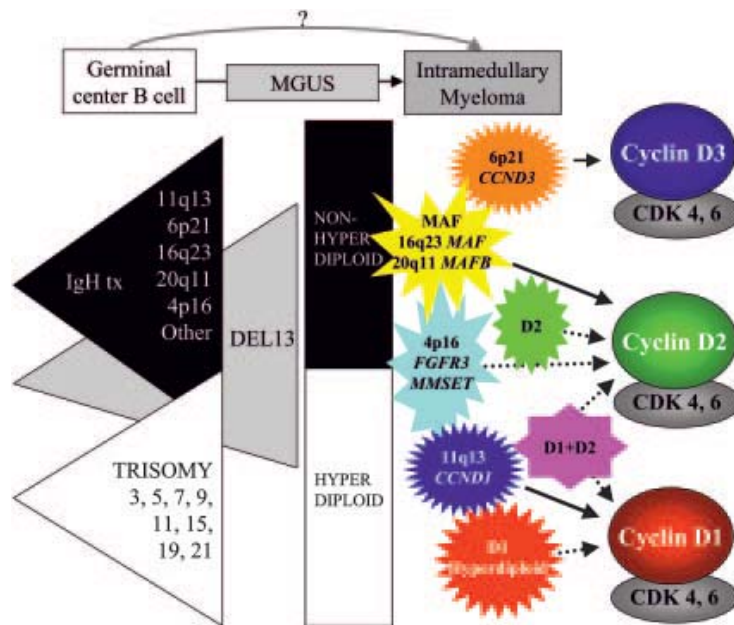


En hipótesis, existen dos vías oncogénicas en la patogénesis del mieloma múltiple y GMSI (Gráfico 2):

Vía hiperdiploide que incluye un 50% de los mielomas y se asocia con múltiples trisomías de los cromosomas impares 3,5,7,9,11,15,19,21 y baja incidencia de translocación de IGH y monosomía 13/13q-.

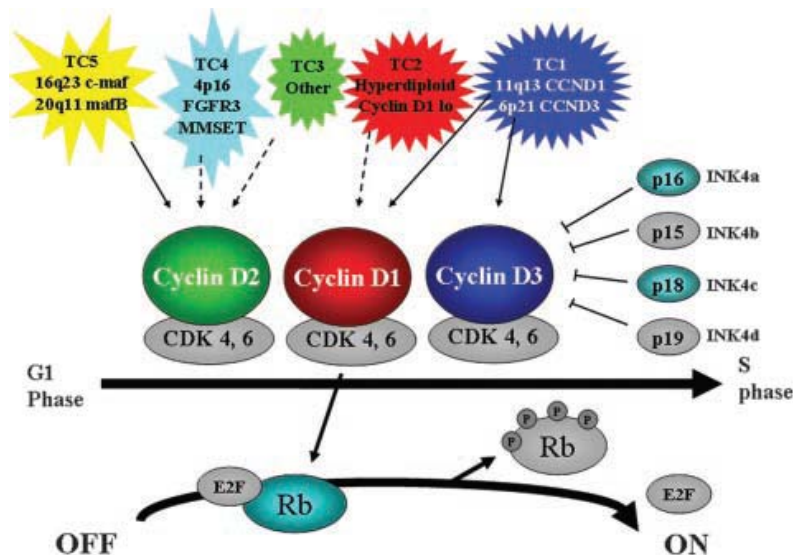
Vía no hiperdiploide (hipodiploides, pseudodiploidía y tetraploidía) con cariotipos complejos y presencia de translocaciones que afectan al locus de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (14q32) presentes en el 50% de los pacientes y translocaciones de la cadena ligera presentes en un 10% (Bergsagel et al, 2002; Smadja et al, 1998; Deves-Marun et al, 2003), con una alta incidencia de monosomía 13/13q-. La consecuencia de estas translocaciones es disregular o aumentar la expresión de oncogenes yuxtapuestos a uno o más promotores (potenciadores) de IGH. Hay 5 oncogenes bien definidos implicados en las translocaciones de IGH (con una prevalencia del 40%): el gen CCND1 (11q13) representa el 15%, el de CCND3 (6p21) el 3%, el fibroblast growth factor receptor 3 [FGFR3] (4p16) el 15%, mieloma múltiple myeloma domain SET [MMSET]), el c-maf (16q23) el 5% y mafB (20q11) el 3%; los dos últimos regulan la expresión de ciclina D2. (Sawyer, 1998, 2001; Kuehl, 2002; Avet-Loiseau, 2002; Fonseca, 2002).

Figura 2. Vías oncogénicas en el mieloma múltiple (Kuehl y Bergsagel ,2005).



En la práctica, citan una **tercera vía**, representada por la monosomía del cromosoma 13 o la deleción de 13q14, que puede estar presente en ambos tipos de tumores, pero que se ve con mayor frecuencia en los tumores no hiperdiploides, coincidiendo en casi todos los tumores con t(4;14) y t(14;16), y casi nunca con la t(11;14)

Figura 3. Progresión del ciclo celular por fosforilación e inhibición del gen Rb (Kuehl y Bergsagel,2005).



La Ciclina D junto con CDK4 y 6 están implicadas en la progresión del ciclo celular (G0 a G1-S) por fosforilación e inactivación del gen Rb. Esta reacción puede ser suprimida por los inhibidores de CDK INK4a-d (*Bergsagel et al, 2001,2005; Hideshima et al, 2004*) (Figura 3).

Las translocaciones ocurren inicialmente, probablemente durante la patogénesis del tumor; posteriormente, cuando la enfermedad progresa y es más proliferativa, se desarrollan numerosas alteraciones cromosómicas secundarias como reordenamientos de MYC, del(13q), del(17p) y del(1p) y/o amplificaciones de 1q.

La vía MYC ha sido identificada como un elemento fundamental en la evolución de GMSI a MM y representaría la adición de una nueva alteración genética en la evolución. Algunos autores han demostrado que la vía MYC y también, las vías RAS, E2F, CIN y la angiogenesis se activan en las células plasmáticas normales que evolucionan a mieloma. Es importante destacar que la activación de MYC coincide con la activación de β -catenina (β -CAT), que se asocia a alteración ósea y formas más agresivas de mieloma (*Anguiano et al, 2009*).

Los eventos más comunes en la progresión a mieloma múltiple incluyen amplificaciones y duplicaciones del brazo largo del cromosoma 1 (*Sawyer et al, 1998, 2005*), deleciones de P53 (*Chng et al, 2007*), aumento en la expresión de c-MYC (*Kuehl et al, 1997*), mutación en ras y mutaciones en la vía NFKappa β incluyendo TRAF3n y BIRC2/3 (*Keats et al, 2007*).

5. Manifestaciones clínicas del mieloma

El cuadro clínico que caracteriza a los pacientes con MM se compone de: dolores óseos que aparecen en un 60-70% de los pacientes (*Kyle et al, 2003*) y que son el resultado de la alteración del hueso por las células mielomatosas, que a través del estímulo a las células del estroma, activan a los osteoclastos que destruyen las estructuras esqueléticas y producen fracturas espontáneas; hipercalcemia producida por la destrucción ósea, secundaria a la liberación de citoquinas; anemia por la infiltración medular de CP; insuficiencia renal causada por el depósito de cadenas ligeras; hiperviscosidad derivada del acúmulo excesivo de componente monoclonal en suero; amiloidosis por depósito de proteína monoclonal; e, infecciones por inmunodeficiencia. Ocasionalmente, las células mielomatosas pueden infiltrar otros órganos y ocasionar una gran variedad de síntomas.

6. Parámetros biológicos

La presencia de niveles elevados de Ig monoclonal es característica del mieloma, el 15-20% producen sólo cadenas ligeras (mieloma de cadenas ligeras o mieloma Bence-Jones), encontrándose principalmente en la orina. La inmunoglobulina monoclonal más frecuente es la IgG. Una forma rara de mieloma es el mieloma no secretor que afecta alrededor del 1% de los pacientes (*Nikhil C et al, 2008*). El estudio inmunoelectroforético permite la identificación de inmunoglobulinas monoclonales en sangre y orina; después del hallazgo de una banda o un

pico monoclonal, se precisa de un método para la confirmación de la proteína-M y su caracterización, siendo el estudio cualitativo de las inmunoglobulinas por inmunofijación el más utilizado. La cuantificación del CM se realiza mediante los métodos de inmunoensayo nefelométrico y turbidimétrico. En la mitad de los casos se encuentra proteinuria de cadenas ligeras. La cuantificación de cadenas ligeras en suero y orina es fundamental en el diagnóstico de los mielomas de cadenas ligeras, del mieloma no secretor y de la amiloidosis primaria, ya que en un alto porcentaje tienen alteración del cociente kappa/lambda (*Drayson et al, 2001; Lachmann et al, 2003*). Un 32% de los pacientes presenta anemia, la plaquetopenia ($<130,0 \times 10^9/L$) es infrecuente y es un factor de pronóstico adverso. El IMWC 2 recomienda también el estudio de la albúmina, LDH y $\beta 2$ -M por su valor pronóstico.

7. Alteraciones cromosómicas

7.1. Citogenética convencional y FISH

Los reordenamientos de *IGH* y el número de cromosomas, tanto por estudios de citogenética convencional o de FISH, son dos criterios que contribuyen a estratificar a los pacientes en grupos pronósticos (*Sawyer JR, 2011*).

Las primeras alteraciones citogenéticas fueron detectadas por citogenética convencional. Entre un 10-50% de los mieloma (según diferentes estudios) tienen alteraciones. El principal obstáculo es el bajo índice proliferativo de la célula plasmática y la baja infiltración de las células tumorales en médula ósea (*Sawyer et al, 1995; Tricot et al, 1997*). Para que un estudio sea rentable se requiere infiltración $\geq 20\%$ de células plasmáticas. Además, algunas alteraciones muy importantes no se ven por CC como el reordenamiento críptico por $t(4;14)(p16;q32)$. El estudio por técnicas de FISH solventa este problema. Hay que enfatizar que la FISH debe realizarse con identificación o separación de CP, porque el bajo porcentaje de CP que hay en las muestras puede dar lugar a falsos negativos (*Avet-Loiseau et al, 2010*), el IMWG recomienda realizar el análisis con clg-FISH. Las técnicas de FISH presentan la limitación de estudiar únicamente las alteraciones que corresponden a la sonda que se aplica, o sea, que no permiten saber todo el contexto de alteraciones genéticas.

Las hiperdiploidías aparecen con una frecuencia del 50-60% de los casos con MM. Si no presentan otras alteraciones concomitantes se asocia a un mejor pronóstico (*Smadja et al, 2001; Fonseca et al, 2004; Chng et al, 2006*). La trisomía 5 se asocia a una SG a los 5 años del 77,5% (*Avet-Loiseau et al, 2009*).

Entre los reordenamientos de *IGH* la $t(11;14)$ se observa en un 15- 20% de los casos y es de pronóstico estándar (*Avet-Loiseau et al, 2007*).

Las alteraciones cromosómicas de mal pronóstico son: la delección o monosomía del cromosoma 13 (detectada por CC y no por FISH) que se asocia a una disminución de la supervivencia libre de progresión y de la SG; se presenta en un 40-50% de los casos (*Tricot, 1995, 1997*); la hipodiploidía, que se encuentra en el 5% de los casos; la delección de P53, en

el 11%; y la delección de 1p o ganancias de 1q, que se observa en el 20%-45% de los casos (Sawyer et al, 1995; Avet-Loiseau et al, 1998). Entre los reordenamientos de *IGH* que se asocian a mal pronóstico están: t(4;14)(p16.3;q32) (Avet-Loiseau et al, 2007); la t(14;16)(q32;q23); y la t(14;20)(q32;q12) (Fonseca et al, 2009, Kuehl et al, 2005).

7.2. Perfil de expresión genética

El perfil de expresión génica del MM es el parámetro pronóstico con mayor peso pronóstico. Una firma genética puede definir hasta un 14 % de los pacientes con mieloma múltiple de alto riesgo, diferenciar mutaciones genéticas iniciales y reflejar la presencia de eventos que llevan a la progresión por lo que contribuyen a un peor pronóstico. Las ganancias en el brazo largo del cromosoma 1q son una de las anomalías genéticas más comunes en el MM encontradas por el estudio de expresión génica.

Se han reconocido siete subgrupos relacionados estrechamente con el riesgo (Zhan, 2006). Estos siete grupos con gran influencia pronóstica se asocian a lesiones genéticas en c-MAF y MAFB, CCND1- y CCND3-, y MMSET tanto por translocaciones activadoras como por hiperdiploidía.

Los grupos de alto riesgo se asocian a los genes de proliferación (PR), al *MMSET* (MS) y a los *maf/mafB* (MF) con una SLP a los 3 años del 44%, 39% y 50%, respectivamente. Los genes PR se asocian con una SG a los 3 años del 55% y los del MS con 69% (Zhan 2006). Los grupos de bajo riesgo son: HY: hiperdiploidía, LB: poca enfermedad ósea, y CD-2 y CD-1, tanto para SLP, como para SG. En las hiperdiploidías la SLP a los tres años fue del 72%; en los LB fue del 84%, de 82% en CD-1 y 86% en CD-2. A los tres años, la SG fue del 84% para las hiperdiploidías, 87% para los LB, 71% para CD1 y 88% para CD2.

Los PR se asocian a recaídas, sugiriendo que es una firma genética ligada a progresión. Los PR y los grupos MMSET se caracterizan por la sobreexpresión de genes del cromosoma 1q. Cuando a esta sobreexpresión (1q) se asocia una disminución de la expresión de los genes en 1p, 13% de los MM, esos MM son considerados de alto riesgo y la supervivencia es muy corta (Shaughnessy Jr, 2007).

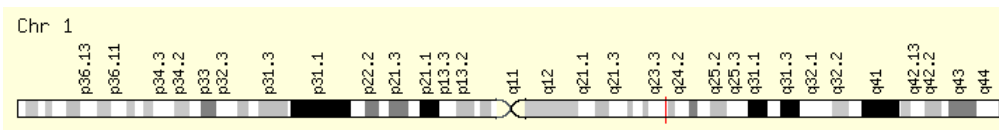
Simplemente la ausencia de una firma genética de alto riesgo permite identificar un subgrupo favorable de pacientes con un 60% SLP a los 5 años frente al 20% a los 3 años en aquellos que pertenecen a un subgrupo de alto riesgo. Es importante destacar que la firma genética de alto riesgo fue el único parámetro independiente con influencia negativa en la duración de la respuesta completa [HR 3,07; (p .001)] (Shaughnessy et al, 2007).

7.2.1. Ganancias de 1q:

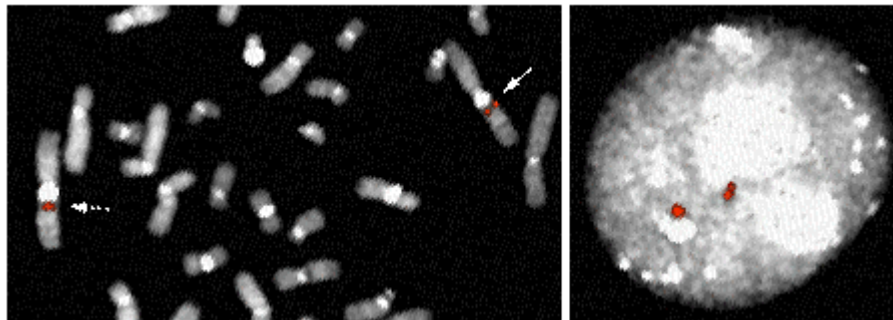
Las alteraciones del cromosoma 1 se encuentran entre las anomalías citogenéticas más frecuentes del mieloma múltiple (Sawyer et al, 1995; Gutiérrez et al, 2004). Afectan principalmente al brazo largo del cromosoma 1 (1q) presentándose como ganancias y al brazo corto (1p) como delecciones (Taniwaki et al, 1994; Sahaughnessy, 2007). En la mayoría de los casos son producto de isocromosomas, duplicaciones o translocaciones "jumping" en la banda

del cromosoma 1q, que resultan de la descondensación pericentromérica de heterocromatina que se asocia frecuentemente a progresión de la enfermedad (Sawyer, 2005; Sahaughnessy, 2005). Algunos grupos han demostrado que la sobreexpresión del gen CKS1B, localizado a nivel de 1q21, se relaciona fuertemente con pronóstico adverso, probablemente induciendo la proliferación y la mayor supervivencia de la célula del mieloma. También se ha demostrado que las ganancias de 1q21 detectadas mediante FISH constituyen un factor independiente de mal pronóstico (Hanamura et al, 2006) aunque otros grupos no han reproducido este hallazgo ni por FISH ni por el nivel de expresión CKS1B (Fonseca et al, 2006) (Figura. 4).

Figura 4. Cromosoma 1



c-PBX1 en 1q23 en una célula normal



8. Factores pronósticos:

La supervivencia en el mieloma es muy variable y difícil de predecir ya que varía entre unos pocos meses de vida hasta 10 años, motivo por el que el estudio de parámetros pronósticos y clasificaciones por riesgo son primordiales para predecir la evolución de la enfermedad y contribuir en la orientación terapéutica.

La edad es un factor pronóstico independiente (Kyle, 2003), así como el estado general. Este último sólo en pacientes tratados convencionalmente, no en los trasplantados (Ludwig H, 2008).

Uno de los parámetros biológicos con mayor valor pronóstico es la β 2-microglobulina (los valores patológicos son de mal pronóstico; es, además, un factor pronóstico independiente) (Casuto et al, 1978). La IL-6, potente factor de crecimiento de la célula de mieloma, refleja la gravedad de la enfermedad (Bataille et al, 1986 y 1989). Debido a que los niveles IL-6 y los de albúmina se correlacionan de forma inversa, se han incorporado los niveles de esta última al sistema de puntuación pronóstica ISS (Jacobson et al, 2003; Philippe R et al, 2005). Está en discusión el valor pronóstico negativo de los MM IgA (Oguma et al, 1981; Tricot, 1995; Ludwig et al, 2008). Las LDH patológicas se asocian a mal pronóstico (García-Sanz et al, 2004; Terpos

et al, 2010); a pesar de algún estudio discordante, el IMWC panel 2 recomienda su estudio dado que niveles elevados indican una enfermedad proliferativa.

9. Sistemas de estadificación. Índices pronósticos:

9.1. Estadios de Durie-Salmon:

La clasificación de Durie-Salmon fue publicada en 1975 y ha sido ampliamente utilizada en las 3 últimas décadas, aunque actualmente está siendo desplazada por sistemas de puntuación de más fácil aplicación como el ISS. Los estadios de Durie-Salmon se basan en la localización y extensión del mieloma, correlacionando variables clínicas con la masa tumoral. En una amplia muestra del IMWG con 10549 pacientes, el estadio III de Durie-Salmon confirmó su valor de mal pronóstico con respecto a los estadios I-II (*IMWG, 2008*).

9.2. Sistema internacional de estadificación (ISS):

Publicado en el año 2005, y desde entonces ampliamente utilizado, y de muy fácil aplicación, se basa en dos parámetros: la β 2-microglobulina y la albúmina, dividiendo a los pacientes en 3 estadios; el estadio I incluye a los pacientes con β 2-microglobulina $<3,5\text{mg/L}$ y albúmina $\geq 3,5\text{ g/dL}$, con una mediana de supervivencia mediana de 62 meses, el estadio II no cumple criterios del estadio I ni III con una mediana de supervivencia de 44 meses, y el estadio III β 2-microglobulina $\geq 5,5\text{mg/L}$ con una supervivencia mediana de 29 meses (*Philip R, 2005*).

9.3. Clasificación SMART: En el año 2009 la Clínica Mayo propuso una clasificación pronóstica realizada por un grupo de expertos, en la que se define fundamentalmente un grupo de alto riesgo (*Kumar et al. 2009*).

El grupo de **alto riesgo** incluye cualquiera de las siguientes alteraciones: del 17p, t(14;16) y t(14;20) detectadas por FISH o un perfil de expresión genética de alto riesgo.

El **riesgo intermedio*** incluye: t(4;14)[†] detectada por FISH, delección del(13) o hipodiploidía por CC y “the plasma cell labeling index” (PCLI) $\geq 3\%$.

El grupo de **riesgo estándar*†**: incluye todas las otras alteraciones cromosómicas, las hiperdiploidias, t(11;14) y la t(6;14).

*Un grupo de pacientes con estos factores podría ser clasificado como de alto riesgo por GEP.

† LDH $>$ normal y β 2-microglobulina $>5,5$ quizás indique peor pronóstico. ‡El pronóstico empeora cuando se asocia a β 2-M elevada y anemia. La **t(11;14) podría asociarse a leucemia de células plasmáticas.

10. Tratamiento

La célula del mieloma está dotada de múltiples mecanismos de señalización antiapoptótica que le confiere resistencia a la quimioterapia y por lo tanto el resultado en última instancia es fatal para la mayoría de pacientes (*Barlogie et al, 2001*).

En los últimos años con la aparición de los nuevos fármacos para el tratamiento del MM, han mejorado sorprendentemente las tasas de respuesta al tratamiento, reportándose hasta un 80-90% de respuestas globales (*Stewartl, 2009; Kumarl, 2008; Dimopoulos, 2008*). La tasa de respuestas completas seguidas de quimioterapia de inducción sin trasplante de progenitores hematopoyéticos ha aumentado a un 35-40% (hasta hace tan solo unos años era del 3-8%). En algunos estudios estas tasas aumentan a un 70% cuando se sigue de un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

La decisión de cómo se tratará al paciente debe basarse en si es candidato a trasplante autólogo o no; esta decisión estará basada principalmente en el *performance status* del paciente más que en la edad biológica. Se ha demostrado que la edad tiene menos impacto en la supervivencia libre de evento después de un TASPE que en la supervivencia global. El paciente elegible para trasplante deberá recibir una quimioterapia de inducción efectiva que lleve a una respuesta completa, muy buena respuesta parcial o respuesta parcial. Si posteriormente se va a realizar un TASPE es recomendable excluir el melfalán para evitar problemas en la recogida de los progenitores hematopoyéticos.

Se ha demostrado que el trasplante logra llevar a una respuesta completa a un porcentaje no despreciable de los pacientes en respuesta parcial; el tratamiento de inducción estará basado principalmente en los nuevos agentes: talidomida, lenalidomida o bortezomib con corticoides y con o sin agentes citotóxicos. En los pacientes jóvenes, las tasas de respuesta y supervivencia libre de evento son superiores con la combinación de 3 drogas en lugar de 2.

Los pacientes que no son elegibles para trasplante, usualmente reciben un tratamiento de inducción basado en uno de los nuevos agentes combinado con melfalán-prednisona o con corticoides.

Al final del tratamiento se tendrá que decidir si se sigue un tratamiento de mantenimiento.

Es posible que algunos pacientes se beneficien especialmente del uso de Bortezomib, por ejemplo los que tengan la $t(4;14)(p16;q32)$ que confiere mal pronóstico ya que se ha demostrado que el bortezomib es capaz de modificar el mal pronóstico (*Jagannath, 2007; San Miguel, 2008*).

A pesar de la alta tasa de respuestas que se alcanzan con un tratamiento de inducción asociado a trasplante autólogo, la mayoría de pacientes con una citogenética de alto riesgo recae. El grupo de la Universidad de Arkansas ha desarrollado un análisis usando un perfil genético para predecir qué pacientes se benefician del uso temprano de Bortezomib y poder identificar patrones asociados con respuesta de la enfermedad (después de la administración de fármacos) (*Shi J et al, 2008*). El grupo de la Clínica Mayo observó que los pacientes con mieloma múltiple en recaída o refractario con activación de NF-kB parecían tener mayor susceptibilidad a tratamiento con bortezomib (*Keats et al, 2007*).

10.1. Criterios de respuesta

Respuesta completa: Inmunofijación negativa en suero y orina, desaparición de plasmocitomas en tejido blando y <5% de células plasmáticas en médula ósea.

Respuesta completa estricta: Respuesta completa más ratio de cadenas ligeras libres normal y ausencia de células clonales en médula ósea por inmunohistoquímica o inmunofluorescencia.

Muy buena respuesta parcial: CM en suero y orina detectado por inmunofijación pero no en electroforesis o reducción $\geq 90\%$ del CM en suero más CM en orina <100mg/24h.

Respuesta parcial: $\geq 50\%$ de reducción del CM en suero y $\geq 90\%$ de reducción en orina de 24h o <200 mg en 24h si el CM en suero u orina no es medible. Se requiere $\geq 50\%$ de disminución de la relación de niveles de cadenas ligeras libres en lugar del criterio de CM. Si el CM en suero y orina no es medible y el análisis de cadenas ligeras libres tampoco, se requiere de una reducción de CP en MO $>50\%$ y la reducción de plasmocitomas en más de un 50%.

Enfermedad estable: No cumple criterios de RC, MBRP, RP o enfermedad en progresión.

Enfermedad en progresión: Aumento del 25% con respecto a la mejor respuesta alcanzada en uno o más de los siguientes parámetros: CM en suero (un aumento absoluto de $\geq 0,5$ g/100 mL) y/o CM en orina (un aumento absoluto ≥ 200 mg en 24 h); cadenas ligeras libres (el aumento absoluto debe ser >10 mg/L), y el porcentaje de CP en médula ósea $\geq 10\%$. Desarrollo de nuevas lesiones óseas o plasmocitomas de tejido blando o un aumento en el tamaño de las lesiones óseas o plasmocitomas existentes

Desarrollo de hipercalcemia (calcio corregido en suero $>11,5$ mg/100 mL que puede ser atribuido a la proliferación de células plasmáticas.

Recientemente, el IMWCP1 recomienda estandarizar las definiciones de recaída, refractaria, en-recaída/refractario y añadir otras respuestas adicionales a las conocidas previamente basándose en las definiciones publicadas por un panel ASH-FDA en mieloma.

10.2. Criterios de respuesta adicionales

Respuesta mínima (en pacientes con mieloma refractario en recaída):

Reducción del más del 25% pero menos del 49% del componente M en suero y reducción del 50-89% componente M en orina de 24 horas si todavía excede 200 mg en 24 horas. Reducción 25-49% en el tamaño de los plasmocitomas. No aumento del tamaño o número de lesiones líticas (el desarrollo de fracturas compresivas no excluye respuesta).

Respuesta completa por inmunofenotipo: incluye la respuesta completa estricta más ausencia de células plasmáticas de fenotipo aberrante en médula ósea (con un mínimo de un millón de células de médula ósea totales analizadas por citometría de flujo).

Respuesta completa molecular: incluye respuesta completa más PCR-ASO negativa, sensibilidad 10^{-5} .

11. Criterios de recaída

Requiere uno o más de los siguientes indicadores directos de aumento de la enfermedad o disfunción de órgano (CRAB):

1. Desarrollo de nuevos plasmocitomas o lesiones óseas en la seriada ósea, resonancia magnética u otro estudio de imagen.
2. Un claro aumento en el tamaño de plasmocitomas existentes o lesiones óseas. Un claro aumento definido como un 50% (y al menos 1 cm) del incremento del diámetro transversal de las lesiones.
3. Hipercalemia (>11,5 mg/dL).
4. Disminución de la hemoglobina de 2g/dL o menos de 10g/dL.
5. Aumento de la creatinina en suero de ≥ 2 mg/dL.
6. Hiperviscosidad.

En los pacientes sin recaída clínica pero con recaída significativa de las cifras de paraproteína se define como duplicación del componente M en dos mediciones consecutivas separadas por menos de 2 meses; o un aumento en los niveles absolutos de proteína M en suero ≥ 1 g/dL o la proteína M en orina en ≥ 500 mg/24h, o aumento de los niveles de cadenas ligeras ≥ 20 mg/dL (con una ratio anormal) en dos mediciones consecutivas separadas en un tiempo ≤ 2 meses. Se acordó que el tratamiento del mieloma debe reiniciarse en los pacientes en recaída incluso si los síntomas y signos de daño orgánico aún no son aparentes.

Mieloma refractario: Se define como la enfermedad que no responde a una primera línea de tratamiento o tratamiento de rescate, o progresa dentro de los primeros 60 días después del último tratamiento.

No respuesta a tratamiento: se define como fallo en alcanzar una mínima respuesta o si progresa bajo tratamiento. Existen 2 categorías para el mieloma refractario: mieloma en-recaída-refractario y mieloma primariamente refractario.

Mieloma en recaída y refractario: Se define como la enfermedad que no responde a una quimioterapia de rescate, o progresa dentro de los 60 días del último tratamiento en pacientes que habían alcanzado al menos una respuesta mínima en algún punto en el curso de la enfermedad, previo a la progresión.

Mieloma primariamente refractario: Se define como la enfermedad que no responde en pacientes que nunca habían alcanzado al menos una mínima respuesta con alguna terapia. Esto incluye a pacientes que nunca han alcanzado una respuesta mínima (MR) o mejor, sin cambio significativo del CM y sin evidencia de progresión clínica, y también la enfermedad progresiva (no respuesta –no progresión y progresión, respectivamente).

Mieloma en recaída: Se refiere al mieloma previamente tratado cuando progresa y requiere una terapia de rescate pero no cumple criterios de mieloma primariamente refractario o mieloma refractario/en-recaída.

II. HIPÓTESIS

La célula plasmática del mieloma múltiple se caracteriza por presentar alteraciones genéticas complejas, y a pesar de los múltiples avances en biología molecular, aún se desconoce el significado pronóstico de alguna de ellas.

Entre las alteraciones cromosómicas secundarias más frecuentes en MM se encuentran la deleción de 1p y las ganancias de 1q, que algunos autores asocian a progresión. El estudio de perfiles de expresión génica ha logrado establecer grupos de alto riesgo de recaída, en el que predominan genes de proliferación y oncogenes como MMSET, que se caracterizan por la sobreexpresión significativa de genes del cromosoma 1q. También se ha identificado un grupo pequeño de pacientes con muy baja supervivencia, que presentan niveles elevados de expresión de genes de 1q y niveles de expresión reducida de 1p, sugiriendo que el aumento de material de ADN en 1q y pérdida de 1p son determinantes significativos de alto riesgo.

El significado pronóstico de las ganancias de 1q y deleciones de 1p detectadas por técnicas de citogenética convencional y FISH en el momento de su aparición, aún no está definido. Algunos autores (Hanamura, 2006) demostraron que la Amp 1q21 factor pronóstico adverso independiente en pacientes de nuevo diagnóstico tratados según el protocolo UARK98-026 (Total Therapy 2). Recientemente, se ha publicado (Chang et al, 2010), que las ganancias de 1q y deleciones 1p por clg-FISH en pacientes recaídos/refractarios tratados con lenalidomida y dexametasona se asocian a una SLP más corta. Los pacientes con anomalías en el cromosoma 1 tratados con bortezomib presentan una SG y una SLP más corta que los pacientes sin estas anomalías. En el análisis multivariante se comprobó que es un factor de riesgo independiente.

La técnica de citogenética convencional presenta muchas limitaciones, como son el bajo índice proliferativo de la célula plasmática y la baja infiltración de células tumorales lo que dificulta la obtención de metafases. Esto hace que varios autores desaconsejen el estudio por citogenética convencional del mieloma si la infiltración por CP es <20% (valorada por citología). Sin embargo, es una técnica fácil y de gran valor pronóstico por lo que el IMWC recomienda su realización tanto al diagnóstico como en la recaída. El tema está en los casos que el cariotipo es normal, si no se hace una selección previa de CP, no se puede saber si realmente corresponde a una célula de mieloma.

La mayoría de grupos prefieren estudiar las alteraciones por técnicas de FISH. Lo ideal es aplicar la técnica de FISH tras selección de CP con CD138+. Sin embargo, como esta separación consume tiempo y es costosa a veces se aplica sobre la celularidad total. Como mínimo, se recomienda el estudio de los reordenamientos *crípticos de IGH* [t(4;14); t(14;16)] y la deleción de P53 ya que se consideran de alto riesgo.

Existen pocos estudios de ganancias de 1q y de deleción 1p por FISH y, aunque sugieren que su aparición predice una SLP más corta, su estudio no está recomendado en los protocolos actuales.

El propósito de este estudio ha sido valorar si las técnicas de citogenética convencional y FISH, sobre células de cultivo de 72 horas (para selección de la población de CP) sin separación de CD138+ son rentables para el estudio genético del MM. Además, establecer la frecuencia de las ganancias de 1q detectadas por dichas técnicas y el impacto en la evolución de la enfermedad.

III. OBJETIVOS

1. Objetivo primario

En pacientes con MM, estudiar la presencia de las ganancias de 1q por citogenética convencional y por FISH, al diagnóstico y en recaída, establecer su asociación con parámetros biológicos (isotipo de inmunoglobulina, LDH, β^2 -M y albúmina) y determinar su influencia en la evolución de la enfermedad.

2. Objetivos secundarios

1. Evaluar el rendimiento del estudio del cariotipo y FISH en médula ósea de los MM independientemente del porcentaje de infiltración por CP y sin separación de CD138+.
2. Estudiar la incidencia de las ganancias de 1q en MM y su valor predictivo en relación a SLP y SG.

IV. PACIENTES Y MÉTODO:

1. Pacientes

Se incluyeron 65 pacientes diagnosticados de MM en nuestro centro entre los años 2004 y 2010, en los que se había realizado el estudio citogenético por CC y FISH. De los 65, 50 fueron incluidos en el momento del diagnóstico y 15 en recaída. La mediana de seguimiento fue de 17 meses.

Los pacientes se diagnosticaron de mieloma múltiple según los criterios establecidos por el IMWG. Los criterios de recaída se basaron en la presencia de un claro aumento de la enfermedad o nueva aparición o progresión de disfunción de órgano (CRAB).

Recibieron una primera línea con algún esquema que incluía bortezomib 31 pacientes (VMP: 16, VD:9, VDD:5, VTD:1), 14 pacientes recibieron un esquema de VBAD/VCMP, 12 MP, 5 otros esquemas y 4 no recibieron ningún tipo de tratamiento. Entre ellos, 17 recibieron un trasplante autólogo.

El estudio fue realizado de acuerdo a la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes firmaron previamente el consentimiento informado.

2. Parámetros biológicos

Se analizaron, entre otros, el tipo de inmunoglobulina, CM sérico, β^2 -M, LDH y albúmina. Los datos se tomaron de la historia clínica del paciente.

3. Aspirado medular

Se realizó el estudio de médula ósea, obtenida mediante punción-aspirado a nivel esternal o de cresta iliaca postero-superior.

3.1. Citomorfología: Las extensiones se tiñeron con May-Grünwald-Giemsa. El porcentaje de CP se realizó sobre un recuento de 500 células.

3.2. Inmunofenotipo por citometría de flujo: Para determinar el fenotipo de las células plasmáticas de la médula ósea, se seleccionaron las células positivas para CD38 y CD138 (porcentaje de CP). El inmunofenotipo se realizó utilizando el panel de anticuerpos monoclonales CD38-FITC/CD56-PE/CD45-ECD/CD19-PC5 y κ/λ intracitoplasmática. Se consideró un patrón inmunofenotípico compatible con mieloma las combinaciones CD38+/CD56+/CD19-/CD45- y CD38+/CD56-/CD19-/CD45-, sí presentaban clonalidad Kappa o lambda. Este inmunofenotipo debía estar presente en más del 95% de las CP para ser compatible con mieloma, entre 90-95% se consideraba probable MM y <90% se era compatible con GMSI.

3.3. Citogenética convencional: La médula ósea se cultivó durante 72 horas en medio de cultivo (RPMI 1640) suplementado con suero bovino fetal, glutamina, estreptomina y penicilina, sin estimular. Para detener el ciclo celular en metafase, se añadió colcemide y se incubó la mezcla durante 30' a 37°C. Después se centrifugó la muestra y se retiró el sobrenadante, añadiendo la solución hipotónica (KCL), agitando y calentando, a continuación, a baño maría a 37°C durante 17'. Luego se realizó la prefijación añadiendo 20 gotas de Carnoy

(3/4 de metanol y 1/4 acético) y se dejó incubar a temperatura ambiente 10'. A continuación, se realizaron tres lavados con Carnoy; se decantó el sobrenadante, se resuspendió el botón nuclear con la solución fijadora y se centrifugó durante 10 minutos, se repitió el proceso dos veces más. Posteriormente, se separó una parte de la muestra para hacer FISH, y con el resto se realizaron las extensiones que se envejecieron en estufa a 65°C durante 18 horas. Para obtener las bandas G, se incubaron las extensiones en solución tampón (2xSCC) a 65°C 30 segundos y se tiñeron con la solución de Wright (1 Wright:3 tampón Sørensen). Para realizar el estudio citogenético se estudiaron como mínimo 20 metafases utilizando el programa Ikaros®, Metasystems.

3.4. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH):

Se realizó sobre los núcleos fijados obtenidos del cultivo anterior. Las extensiones se dejaron a envejecer a temperatura ambiente alrededor de 17 horas (durante toda la noche). Al día siguiente se desnaturalizó el ADN y se hibridó con la sonda según el protocolo del Kit comercial (Abbott Molecular Inc, Abbott Park, IL, USA), dejándose toda la noche en el HYBRITE. Al día siguiente se lavaron, se dejaron secar, se realizó la tinción de contraste con DAPI II y se analizaron 200 núcleos en el microscopio de fluorescencia.

Se estudiaron las ganancias de 1q, la trisomía 5 y delección de 5q, la monosomía 13 y delección de 13q, la delección de 17p y reordenamientos de *IGH*; sólo si la *IGH* estaba reordenada se estudiaban los reordenamientos correspondientes a la t(11;14), t(4;14) y t(14;16). Las sondas utilizadas fueron: LSI TCF3/PBX1 dual color dual fusion, LSI EGR1/D5S23, D5S21 Dual Color probe, LSI D13S319/LSI 13q34/CEP 12 Multi-color Probe, LSI P53 spectrum orange probe and LSI *IGH* break apart probe (Abbott Molecular Inc, Abbott Park, IL, USA), respectivamente.

Se consideró ganancia de 1q si se observaba trisomía de 1q por CC o se detectaban tres señales para el gen PBX1 por FISH, siempre que no hubiera presencia de otras trisomías (hiperdiploidías). También se consideró ganancia de 1q si las tres señales coincidían con presencia de monosomía o de otras alteraciones estructurales.

4. Análisis estadístico:

La distribución por grupos se comparó mediante las tablas de contingencia. El test de χ^2 y el test exacto de Fisher se utilizaron para analizar las asociaciones de las variables independientes cualitativas. Las variables cuantitativas paramétricas se compararon mediante el Test de T-student y la U de Mann-Whitney-Wilcoxon para las no paramétricas. La SG se calculó por el método de Kaplan-Meier y la comparación entre las curvas de supervivencia con el test de log-rank (Mantel-Cox). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico de SPSS 15.0.

V. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA SERIE:

La media de edad de los pacientes era de 69,8 años (mediana: 68,7; extremos: 47-90). La distribución por sexo fue 1:1.

En cuanto a los parámetros biológicos, la cifra media de Hb fue de 10,5 g/dL, la del componente monoclonal 2 g/dL, la de LDH 319 UI/L (VN: 216-350) y la de β 2 microglobulina 4

mg/dL (VN: 0,7-2,5); los niveles de albúmina fueron normales siendo la media de 3,5 g/dL. El isotipo de mieloma más frecuente fue el IgG 58%, seguido del IgA 23%. El 81,5 % fueron Bence-Jones positivo (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Características generales.

Parámetros	N	Porcentaje	Mediana	Media	Extremos
Edad	65		68,7	69,8	47-90
Sexo masculino	65	47,7			
Hemoglobina g/dL	65		10,5	10,4	6-14
Componente monoclonal g/dL	62		2	2,4	0,1-10
LDH UI/L	59		319	394	150-3444
B-2 microglobulina mg/dL	64		4	6,9	2-40
Creatinina mg/dL	65		1,05	1,6	0,49-8,2
Calcio mg/dL	64		9	9,5	7-15
Albúmina mg/dL	65		3,8	3,5	1,6-5
Recuento de CP por citología %	65		37		2-100
Recuento de CP por citometría %	65		21		1-81
Bence-Jones positivo	63	81,5			

Tabla 2. Isotipo de Mieloma.

Isotipo de Mieloma	N	Porcentaje
IgG-κ	28	43,1
IgG-λ	9	13,8
IgA-κ	10	15,4
IgA-λ	5	7,7
Cadenas ligeras λ	4	6,2
Cadenas ligeras κ	8	12,3
Total	64	98,5
No valorables	1	1,5
Total	65	100,0

Los pacientes se distribuyeron de forma muy desigual en los tres modelos de estadificación utilizados. En la clasificación de Durie-Salmon, el porcentaje de pacientes en estadio III fue mayor que el de los estadios I y II. En cambio, en los estadios del ISS la muestra se distribuyó uniformemente en los 3 grupos. Ninguno de los sistemas anteriores guardó relación con la clasificación SMART, en la que la distribución fue: pacientes de alto riesgo 6,2%; riesgo intermedio 18,5%; y, riesgo estándar un 44,6% (Tablas 3, 4, 5 y Figura 4).

Tabla 4. Clasificación por estadios de Durie-Salmon.

	N	Porcentaje
I	3	4,6
II	16	24,6
III	39	60,0
Total	58	89,2
No valorables	7	10,8
Total	65	100,0

Tabla 5. Estadios según el Sistema Internacional de Estadificación (ISS).

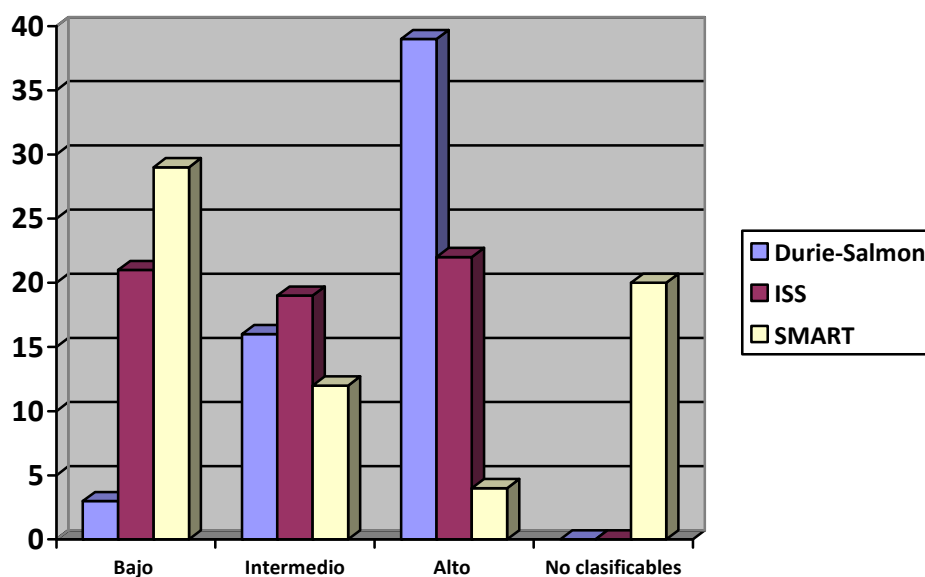
	N	Porcentaje
I	21	32,3
II	19	29,2
III	22	33,8
Total	62	95,4
No valorables	3	4,6
Total	65	100,0

Tabla 6. Clasificación según la clasificación pronóstica de SMART

	N	Porcentaje
Riesgo estándar	29	44,6
Riesgo intermedio	12	18,5

Alto riesgo	4	6,2
No clasificable	20	30,7
Total	65	100,0

Figura 4. Proporción de los pacientes según diferentes sistemas de estadificación.



2. ESTUDIOS CITOGENÉTICOS

2.1. Rentabilidad de los estudios de CC y de FISH

De los 65 pacientes con MM, se obtuvieron metafases en 58 (89,2%) y no se observaron en 7 (10,8%).

Por citogenética convencional, el cariotipo fue normal en 32 pacientes (49,2%) y patológico en 26 (40%).

La relación entre el resultado del cariotipo y el porcentaje de células plasmáticas valoradas por citomorfología se expone en la tabla 7. El 11,5% de los cariotipos patológicos correspondían a MM con menos de un 20% de CP. No se encontró relación entre los cultivos sin metafases y el porcentaje de CP detectadas por citomorfología.

Tabla 7. Alteraciones citogenéticas por CC y porcentaje de CP por citología.

		Porcentaje de CP por citología				Total
		<20%	20,1-40%	40,1-60%	>60%	
Cariotipo	Normal	11	12	5	4	32
	No mitosis	3	0	2	2	7
	Patológica	3	8	9	6	26
Total		17	20	16	12	65

De los 26 casos con cariotipo patológico un 23% tenían $\leq 10\%$ de CP detectadas por citometría de flujo. La mayoría de MM con $\leq 10\%$ de CP presentaban cariotipo normal (16/26; 61,5%) o no mitosis (4/26; 15,38%) (Tabla 8).

Tabla 8. Alteraciones citogenéticas por CC y porcentaje de CP por citometría de flujo.

		Porcentaje de CP por citometría			Total
		0-10 %	11-20 %	21-100 %	
Cariotipo	Normal	16	3	13	32
	No mitosis	4	1	2	7
	Patológico	6	2	18	26
Total		26	6	33	65

El estudio por técnicas de FISH detectó anomalías cromosómicas en 18 (46,2%) de los 39 pacientes con cariotipo normal o sin metafases, lo que elevó el porcentaje de cariotipos patológicos a un 68% (44/65) (Tabla 9).

Tabla 9. Alteraciones cromosómicas por FISH y citogenética convencional.

	N	Porcentaje
Sin alteraciones	21	32,3

Alteraciones por CC y/o FISH	44	67,7
Total	65	100,0

De los 65 pacientes, un 16,9% presentaron alteraciones por CC y no por técnicas de FISH. En un 27,7% se detectaron alteraciones por FISH y, en cambio, el cariotipo fue normal. En un 23% se detectaron alteraciones por ambas técnicas (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de alteraciones cromosómicas detectadas en función de la técnica utilizada.

	N	Porcentaje
Con alteraciones por CC y FISH normal	11	16,9
Con CC normal y alteraciones por FISH	18	27,7
Con alteraciones por CC y por FISH	15	23,1
Cariotipo normal	11	16,9
Sin metafases y sin alteraciones por FISH o sin material suficiente	5	7,7
CC normal y sin material suficiente para FISH	5	7,7
Total	65	100,0

2.2. Alteraciones citogenéticas por CC y FISH

El cariotipo por CC fue complejo en 21/65 (32%), hiperdiploide en 4/65 (6%) e hipodiploide en 1/65 (1,5%) (Tabla 11).

Tabla 11. Anomalías detectadas por CC.

	N	Ganancias 1q
--	---	--------------

Cariotipo	Normal	32	
	Complejo:	Hiperdiploide	18
	Hipodiploide	2	2
	Diploide	1	
	Hiperdiploidía sin alteración estructural	4	
	Hipodiploidía sin alteración estructural	1	
	No mitosis	7	
	Total	65	10

El estudio por FISH detectó alteraciones en 33/65 pacientes (50,7%), no detectó en 20/65 (30,8%) y en 12/65 (18,5%) no se pudo realizar la técnica por ser la muestra insuficiente. Las alteraciones más frecuente fueron -13/13q- en 19/65 pacientes, la trisomía 5 en 14/65 y las alteraciones de 1q en 9/65 pacientes (Tabla 12).

Tabla 12. Alteraciones genéticas detectadas por FISH.

		N	Porcentaje
FISH	13-/13q	19	29,7
	+5	14	21,9

Ganancias de 1q	9	13,8
Reordenamiento IGH (14q32)	9	14,1
Del17p	4	6,3
Sin alteraciones	20	31,3

3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES CON GANANCIAS DE 1q

En 17 casos se observaron ganancias de 1q (26,9%). En 8/17 se detectó por CC, en 7/17 por FISH y en 2 por ambas técnicas.

Las ganancias de 1q se observaron en el 38% de los cariotipos complejos. Esta ganancia se observó tanto en cariotipos complejos hipodiploides 2/2 como hiperdiploides 8/18 (44,4%) (Tabla 13). Se vio con más frecuencia en MM en recaída (7/15: 46,7%) que en MM al diagnóstico (10/50: 20%) con una diferencia casi significativa ($p=0,05$).

Los pacientes con +1q presentaron una mediana de edad de 70 años. Las ganancias de 1q fueron más frecuentes en el sexo femenino (11/17); ($p=0,001$). El subtipo de mieloma IgA fue significativamente más frecuente que en los que no presentaban ganancias de 1q (6/17 vs. 9/48) ($p=0,020$). Los pacientes con +1q presentaron unos niveles de LDH significativamente más altos que los pacientes sin dicha ganancia (media de 573 UI/L vs. 328 UI/L, respectivamente; $p=0,001$). También, en los pacientes con +1q, el porcentaje de CP por citología era superior que en los que no tenían +1q (45% vs. 39%) (Tabla 13).

Tabla 13. Características clínico-biológicas de los pacientes con MM y ganancias 1q vs. MM sin dicha ganancia.

<i>Variables</i>	<i>Con ganancias 1q</i>	<i>Sin ganancias 1q</i>	<i>P</i>
Edad (años)	68,9	70,1	NS
Sexo masculino/femenino	6/11	25/23	0,001
Mieloma IgA	6/17	9/48	0,020
Componente monoclonal g/100mL	2,61	2,38	NS
LDH UI/L	573	328	0,001
B-2 microglobulina mg/dL	7,2	6,8	NS
Albúmina mg/dL	3,5	3,5	NS
Recuento de CP por citología (%)	45	39	NS

4. DATOS EVOLUTIVOS EN PACIENTES CON +1q

4.1. Tipo de respuesta al tratamiento

De los 51 pacientes en los que el estudio citogenético se realizó en el momento del diagnóstico de MM, 29 recibieron bortezomib en primera línea, de éstos un paciente se excluyó del análisis por falta de mitosis y no tener realizado el estudio por FISH. En los 28 restantes, se analizó el tipo de respuesta según la presencia de ganancias de 1q, de otras alteraciones citogenéticas y de cariotipo normal sin encontrarse diferencias significativas (Tabla 14).

De los 10 pacientes con ganancias de 1q al diagnóstico, 7 recibieron una línea de tratamiento que incluía bortezomib. De estos 7, el 70% alcanzó al menos una RP.

Tabla 14. Respuesta a tratamiento con esquemas que incluyeron bortezomib en primera línea.

	Tipo de respuesta						Total
	respuesta completa estricta	respuesta completa	muy buena respuesta parcial	respuesta parcial	enfermedad estable	progresión	
Cariotipo normal		1		7	1	1	10
Ganancia de 1q		1	1	3	1		6*
Otras alteraciones citogenéticas	1	1	1	4	1	3	11

* Uno de los 6 pacientes con ganancias de 1q falleció antes de la evaluación de la respuesta.

De los 7 pacientes con ganancias de 1q, detectadas a la recaída, 3 recibieron tratamiento con una línea que incluyó bortezomib. De los 7, 2 recibieron VMP y 1 VTD-pace, 2/7 lenalidomida-dexametasona, CLAD 1/7 y ciclofosfamida-dexametasona 1/7. Cuatro de los 7 pacientes con +1q progresaron durante el tratamiento de rescate.

Los 3 pacientes que recibieron tratamiento con bortezomib alcanzaron algún tipo de respuesta. Los 4 pacientes que recibieron esquemas de tratamiento que no incluían bortezomib progresaron (Tabla 15).

Tabla 15. Respuesta al tratamiento de rescate al diagnóstico de 1q en la recaída.

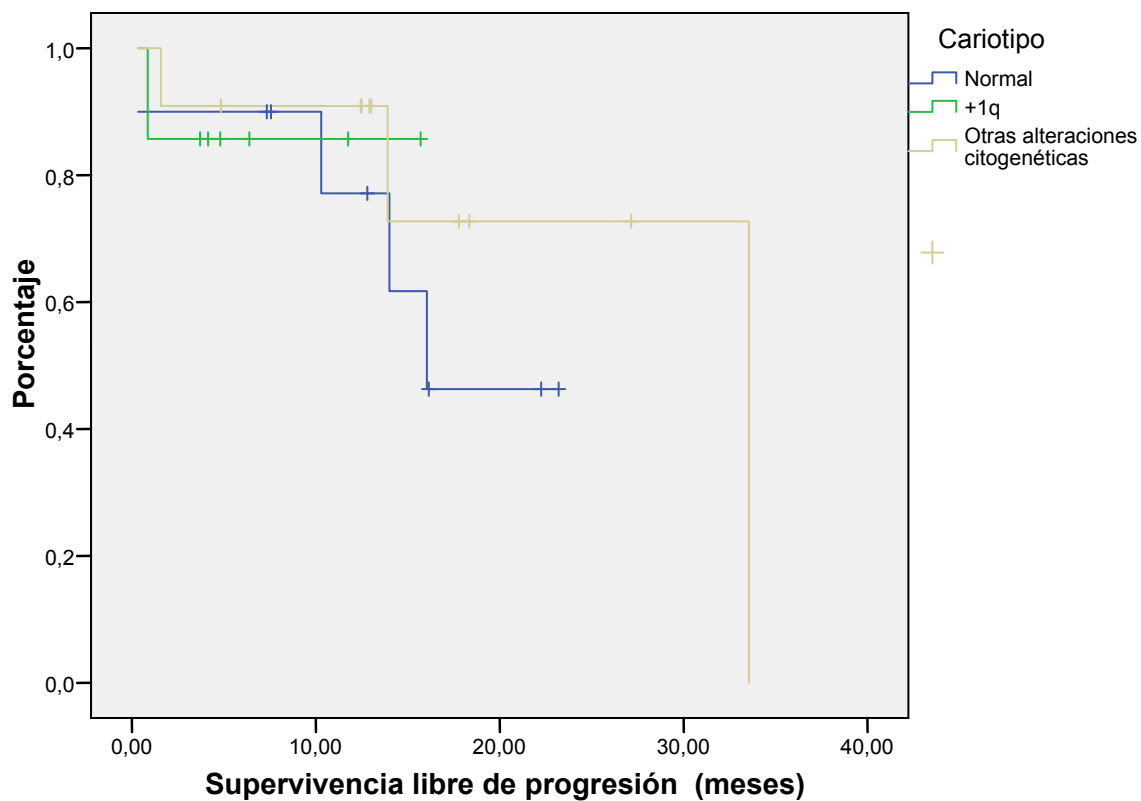
	Tipo de respuesta	Total
--	-------------------	-------

	Respuesta completa	Respuesta parcial	Enfermedad estable	Progresión	Respuesta completa
Lenalidomida-Dexametasona	0	0	0	2	2
VMP	1	0	1	0	2
Ciclofosfamida-dexametasona	0	0	0	1	1
CLAD	0	0	0	1	1
VTD-PACE	0	1	0	0	1
Total	1	1	1	4	7

4.2. Comparación de la supervivencia libre de progresión de los MM tratados con bortezomib en primera línea según la presencia o ausencia de ganancias de 1q

La supervivencia libre de progresión a los 11 meses fue del 77% en los pacientes con cariotipo normal, del 85% en los pacientes con +1q y del 90% con otras alteraciones citogenéticas, con una mediana de seguimiento 12,4 meses ($p=0,66$) tal como se muestra en la Figura 5.

Figura 5. Supervivencia libre de progresión en pacientes tratados con bortezomib según el cariotipo.

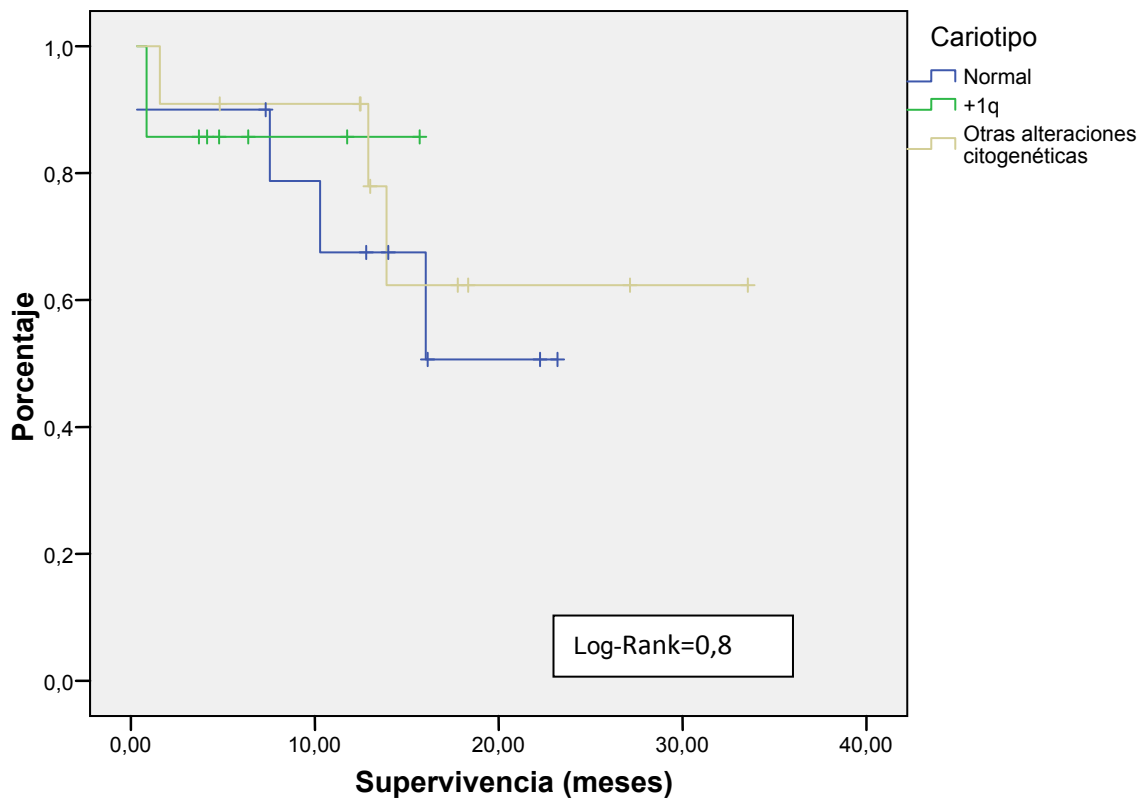


Log Rank: 0,66

4.3. Comparación de la supervivencia de los pacientes tratados con bortezomib en primera línea según la presencia o ausencia de +1q.

La tasa de supervivencia de los 28 pacientes (tratados con bortezomib al diagnóstico del MM) a los 12 meses fue del 68% para los pacientes con cariotipo normal, del 85% para los pacientes con ganancias de 1q y del 90% para el grupo de los pacientes con otras alteraciones citogenéticas ($p=0,8$). La mediana de seguimiento fue de 13 meses (Figura 6).

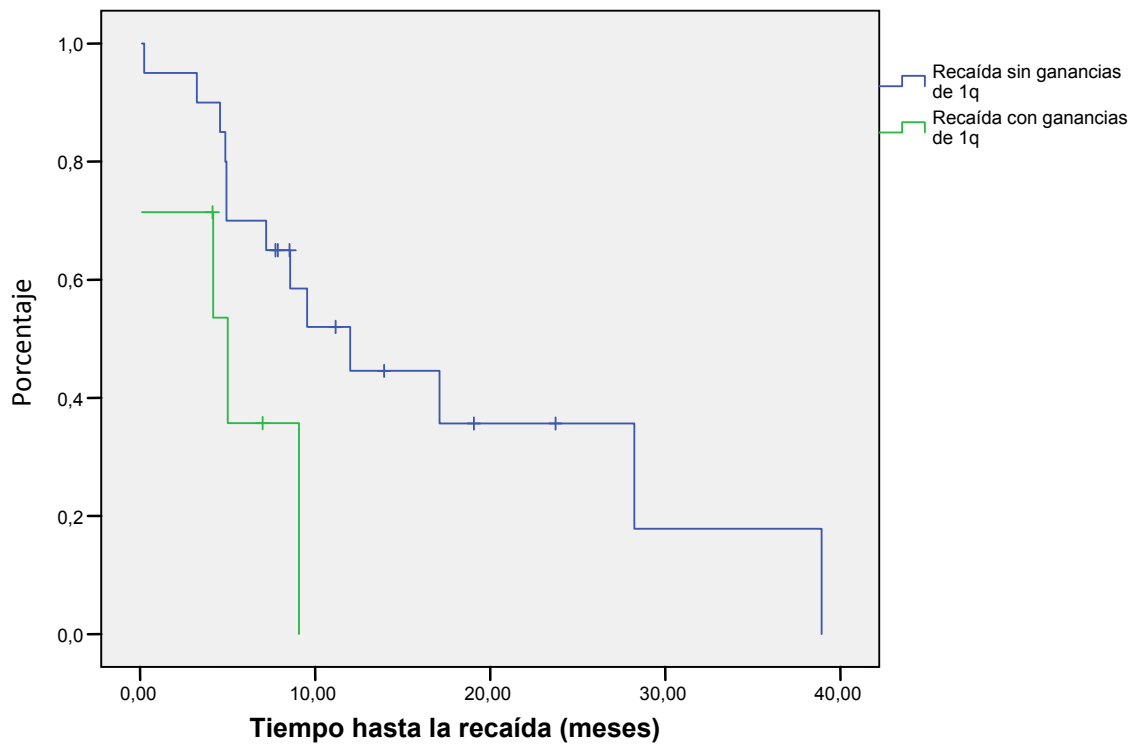
Figura 6. Supervivencia de pacientes tratados con esquemas que incluyen bortezomib al diagnóstico del MM con o sin ganancias de 1q.



4.4. Supervivencia hasta nueva recaída según la presencia o ausencia de +1q en la primera recaída.

Los pacientes a los que se les encontraron ganancias de 1q a la recaída tuvieron una mediana de supervivencia libre de nueva recaída más corta que los pacientes que no presentaron esta alteración (5 vs. 12 meses, respectivamente) ($p=0,03$). La mediana de seguimiento fue de 8 meses (Figura 7).

Figura 7. Supervivencia libre de recaída en pacientes con +1q vs sin esta alteración.



(Log-Rank= 0,03)

4.5. Supervivencia de los pacientes según la presencia de +1q al diagnóstico o en recaída.

Los pacientes diagnosticados de ganancias de 1q a la recaída tuvieron una supervivencia más corta que los pacientes con ganancias de 1q detectadas al diagnóstico (supervivencia a los 12 meses del 52% vs 89% respectivamente), con una mediana de seguimiento de 9 meses (p=0.13).

VI. DISCUSIÓN

El estudio del significado de las alteraciones citogenéticas en el mieloma múltiple ha resurgido por la necesidad de encontrar parámetros pronósticos fiables en la predicción de la evolución de una enfermedad tan heterogénea. Además, tal y como se observa en nuestros resultados, (apartado 5.1.) los sistemas de estadificación actuales discrepan unos de otros, estratificando en grupos de diferente riesgo a un mismo paciente (según la clasificación pronóstica utilizada). Es por ello que actualmente el IMWG está elaborando un nuevo ISS para mejorar las deficiencias del mismo, utilizando parámetros como la carga tumoral, la insuficiencia renal, el estado del paciente, los marcadores de proliferación de célula plasmática (medidos por el índice de DNA o CC) y las alteraciones genéticas (*Avet-Loiseau, 2010*). Por otra parte, la utilización de nuevos fármacos en los pacientes con mieloma ha puesto de manifiesto la necesidad de volver a estudiar el valor pronóstico de alteraciones genéticas ya conocidas. Por ello, en este trabajo se analiza el rendimiento de las técnicas citogenéticas utilizadas en los protocolos diagnósticos del MM y, con mayor énfasis, el significado pronóstico de las ganancias de 1q.

Tal como se reporta en la literatura, por métodos de CC se detectan alteraciones cromosómicas en un 30-50% de los casos, incluyendo tanto las series que utilizan estimulantes en el cultivo como las que no lo hacen (*Lai et al. 1995, Nilsson T et al. 2002*). Sin embargo, todavía no se ha establecido un consenso sobre la metodología más adecuada a utilizar. En nuestro trabajo, sin estimular el cultivo pero realizando una incubación de 72 horas, se obtuvieron cariotipos patológicos en un 40% de los pacientes con MM, resultado que no difiere demasiado de las series en las que se utiliza estimulación con factores de crecimiento o interleucinas. Esto indica la necesidad de utilizar o encontrar, en trabajos futuros, nuevos agentes estimulantes que aumenten la capacidad proliferativa de la célula plasmática en cultivos "in vitro".

En los grupos de trabajo se ha establecido que la rentabilidad de la CC aumenta cuando el porcentaje de CP valoradas por citomorfología supera el 20%, hecho que también comprobamos en nuestra serie. Sin embargo, hasta un 11,5% de los casos en los que se obtuvo un cariotipo patológico presentaban menos de un 20% de CP, indicando que, en algunos casos, no es tan importante el número como la capacidad proliferativa de las mismas. También se encontraron alteraciones en un 23% de los casos cuando el porcentaje de CP por citometría de flujo era menor de 10%, aunque la mayoría de cariotipos de la médula ósea con ese porcentaje eran normales (61,5%).

La técnica de FISH es, además de complementaria, absolutamente necesaria en el estudio de los cambios genéticos en el MM, ya que algunas de las alteraciones más frecuentes, son reorganizaciones crípticas o deleciones de tan pequeño tamaño que no se pueden apreciar por CC. En nuestra serie, a pesar de trabajar con la celularidad total de la médula ósea sin separación o identificación de células plasmáticas, se obtuvo un porcentaje de anomalías genéticas del 46,2%, porcentaje similar al publicado en series que tampoco separan las CP (*Mateos et al, 2006*) pero por debajo de lo obtenido en otras series donde sí realizan

separación de CP en los que detectan cariotipos patológicos hasta en un 90% de los casos estudiados (*Avet-Loiseau, 2007*). Por todo ello es recomendable utilizar la identificación de CP con clg-FISH o bien su separación por columnas. El problema es que son metodologías relativamente caras y que requieren más tiempo por lo que actualmente no están al alcance de todos los laboratorios.

La CC y la FISH son técnicas complementarias. Ya Kapoor et al (2010) demostraron que la utilización de ambas técnicas estratificaba más fiablemente un grupo de riesgo alto y otro de riesgo estándar, que si se utilizaba sólo una u otra técnica. En su serie la mediana de supervivencia de los pacientes con alteraciones de alto riesgo (resultado del estudio por ambas técnicas) fue de 16 meses, si se detectaban sólo por citogenética era de 35 meses y si se hacían sólo por FISH de 37 meses, diferencias que eran estadísticamente significativas ($p=0.005$). En nuestra serie aunque no se ha podido valorar la supervivencia debido a la heterogeneidad de tratamientos los que sí se observó es que la utilización de ambas técnicas aumentaba el porcentaje de cariotipos patológicos hasta un 68%. En cambio ese porcentaje disminuía a 17% si se estudiaban sólo por citogenética convencional y a un 28% si se estudiaban sólo por FISH.

Al igual que en lo descrito en la literatura las alteraciones genéticas observadas con más frecuencia han sido las hiperdiploidías, la monosomía del cromosoma 13 y las ganancias de 1q. El porcentaje de reordenamientos de *IGH* (14%) ha sido inferior a lo descrito en la literatura (50%) probablemente por que no se ha realizado separación de CP. Sin embargo, el porcentaje de casos con la delección de P53 (6%) es comparable al publicado (6-10%) (*Chang et al 2005,2007*). Probablemente, ello se debe a que la delección de P53 es una alteración secundaria que aparece en MM en progresión que presentan un mayor número de CP mientras que los reordenamientos de *IGH* son alteraciones primarias que aparecen al inicio de la enfermedad donde el porcentaje de CP suele ser inferior.

En nuestra serie, un 27% de pacientes presentaron ganancias de 1q, porcentaje igual al descrito en la literatura. También, al igual que en las otras series publicadas se detecta con más frecuencia en pacientes en la recaída (46,7% vs. 20% al diagnóstico) (*Chang 2007; Avet-Loiseau 1997*). Las ganancias de 1q se observaron con más frecuencia en el sexo femenino 65% vs 54% en las pacientes sin ganancias de 1q ($p=0,001$). Hanamura en el año 2006 reportó un mayor porcentaje de pacientes del sexo femenino con Amp 1q21 con respecto a las que no presentaban dicha alteración (39% vs 48%; $p=0,05$).

Los parámetros biológicos asociados a mal pronóstico en el mieloma múltiple son ampliamente conocidos; se considera que el MM IgA es un factor de mal pronóstico (*Ludwing H et al, 2008*); En el trabajo realizado en nuestra Unidad de Citogenética Hematológica, los mielomas IgA presentaron ganancias de 1q con más frecuencia que los otros tipos de mieloma siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p=0,02$). Este hallazgo no ha sido observado en

otras series en las que se estudiaron las ganancias de 1q (*Chang et al, 2007, 2010*). Se necesitan series más amplias de pacientes para dilucidar si el mal pronóstico atribuido al MM IgA, se pueda deber a la presencia de un mayor número de alteraciones genéticas y en concreto a la presencia de ganancias de 1q. También los niveles altos de LDH y el porcentaje elevado de CP fue superior en la población con ganancias de 1q que en el resto de pacientes, interpretándose como que es una alteración genética asociada a mayor carga tumoral.

En nuestra serie, 29 pacientes recibieron bortezomib como tratamiento en primera línea. De ellos 7 presentaban ganancias de 1q. No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre los pacientes con +1q, cariotipo normal o con otras alteraciones citogenéticas. Tampoco se encontraron diferencias en la respuesta al tratamiento y la supervivencia libre de progresión. Mateos et al. ya demostraron en el 2006 que el efecto negativo de las alteraciones citogenéticas de alto riesgo, como son la del13q, la t(4;14) y la t(14;16), se eliminaba si se utilizaba el bortezomib en primera línea. Por otra parte, algunos autores asocian las ganancias de 1q a una menor supervivencia, en pacientes tratados con esquemas que no incluyen bortezomib en primera línea (*Hanamura et al 2006, Chang, 2007*). Sin embargo, no hay estudios publicados sobre el significado pronóstico de las ganancias de 1q en pacientes que reciben bortezomib como terapia de inducción.

En nuestra serie, el 47% de los mielomas en recaída presentaron ganancias de 1q. La tasa de respuesta a tratamiento fue más baja en los pacientes diagnosticados de ganancias de 1q en la recaída que aquellos que la presentaban al diagnóstico. Además el 50% progresó durante el tratamiento de rescate y únicamente los pacientes que recibieron una línea de tratamiento que incluía bortezomib alcanzaron algún tipo de respuesta. La mediana de supervivencia libre de recaída fue más corta (5 vs. 12 meses, respectivamente) en los MM que presentaban ganancias de 1q en la recaída que en los MM también en recaída pero que no presentaban esta alteración. Recientemente Chang et al. (2010) estudiaron una serie de 85 pacientes con MM recaído o refractario tratados con bortezomib y observaron que los pacientes con ganancias de 1q tenían una SG más corta y una SLP menor, siendo además un factor pronóstico independiente. También hemos observado que el pronóstico de los pacientes con +1q cambia según el momento en el que se diagnostica, siendo la supervivencia más corta si se detecta en la recaída que si se detecta al diagnóstico del MM (supervivencia a los 12 meses del 52% vs 89% respectivamente).

VII. CONCLUSIONES

1. En los pacientes con MM debe realizarse el estudio del cariotipo por citogenética convencional indiferentemente del porcentaje de CP valoradas por citomorfología.
2. El cultivo de 72 horas sin estimulantes confiere una ventaja a las CP.
3. El estudio debe de realizarse aunque el porcentaje de CP, establecido por citometría de flujo, sea $\leq 10\%$ de CP ya que en un 23% de los casos se observan cariotipos patológicos.
4. La CC y la FISH son técnicas complementarias que aumentan el rendimiento del estudio de alteraciones genéticas en el MM.
5. Las ganancias de 1q aparecen con mayor frecuencia en MM en recaída y se asocian al sexo femenino, MM tipo Ig-A y niveles altos de LDH.
6. Los pacientes con ganancias de 1q al diagnóstico del MM, tratados con bortezomib en la inducción, no presentan diferencias en cuanto a respuesta a tratamiento, supervivencia libre de progresión y supervivencia global comparado con el grupo de pacientes sin alteraciones citogenéticas o con otras alteraciones del cariotipo, lo que sugiere que el bortezomib en primera línea en pacientes con +1q puede cambiar el mal pronóstico de esta alteración.
7. La mitad de los pacientes en la recaída presentan ganancias de 1q. Las ganancias de 1q están en relación con la progresión de la enfermedad.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Anguiano A, Tuchman S, Acharya C, Salter K, Gasparetto C, Zhan F. Gene Expression Profiles of Tumor Biology Provide a Novel Approach to Prognosis and May Guide the Selection of Therapeutic Targets in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol*. 2009; 27:4197-4203.
2. Avet-Loiseau H, Andree-Ashley L.E., Moore D 2nd, Mellerin MP, Feusner J, Bataille R et al. Molecular cytogenetic abnormalities in multiple myeloma and plasma cell leukemia measured using comparative genomic hybridization. *Genes Chromosome Cancer* 1998; 19:124-133.
3. Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B, Magrangeas F, Rapp MJ, Harousseau JL et al. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002; 99:2185-2191.
4. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C et al ,Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood* 2007; 109:3489-95.
5. Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F, Gouraud W, Charbonnel C, Harousseau JL et al. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2009; 27:4585-90.
6. Avet-Loiseau H, Soulier J, Femand J, Yakoub-Agha I, Attal M, Hulin C et al. Impact of high-risk cytogenetics and prior therapy on outcomes in patients with advanced relapsed or refractory multiple myeloma treated with lenalidomide plus dexamethasone. *Leukemia* 2010; 24:623-8.
7. Avet-Loiseau H. Impact of myeloma biology in disease outcome. *Hematology education* 2010;4:143-148.
8. Barlogie B. Introduction to therapies in multiple myeloma. *Semin Hematol* 2001; 38:201-2.
9. Bataille R, BG Durie, J Grenier, Sany J. Prognostic factors and staging in multiple myeloma: a reappraisal. *J Clin Oncol* 1986; 4: 80-87.
10. Bataille R, Jourdan M, Zhang XG, Klein B. Serum levels of interleukin 6, a potent myeloma cell growth factor, as a reflect of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J Clin Invest* 1989; 84:2008-11.
11. Bergsagel PL, Kuehl WM. Chromosomal translocations in multiple myeloma. *Oncogene*. 2001; 20:5611-5622.
12. Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, Sawyer J, Barlogie B, Shaughnessy J Jr. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 296-303.
13. Bladé J, Kyle RA. Non secretory myeloma, immunoglobulin D myeloma and plasma cell leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999; 13:1259-1272.
14. Cassuto JP, Krebs BJ, Viot G, Dujardin P, Masseyeff R. Beta 2 microglobulin, a tumor marker of lymphoproliferative disorders. *Lancet* 1978; 2:108-109.

15. Chang H, Qi XY, Samiee S, Yi QL, Chen C, Trudel S et al. Genetic risk identifies multiple myeloma patients who do not benefit from autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36, 793–79
16. Chang H, Ning Y, Qi X, Yeung J, Xu W. Chromosome 1p21 deletion is a novel prognostic marker in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2007; 139:51-4.
17. Chang H, Trieu Y, Qi X, Jiang NN, Xu W, Reece D. Impact of cytogenetics in patients with relapsed or refractory multiple myeloma treated with bortezomib: Adverse effect of 1q21 gains. *Leuk Res* 2010; 35: 95-8
18. Chang H, Jiang A, Qui C, Trieu Y, Chen C, Reece D. Impact of genomic aberrations including chromosome 1 abnormalities on the outcome of patients with relapsed or refractory multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Leuk Lymphoma* 2010; 51:2084-91.
19. Chng WJ, Santana-Dávila R, Van Wier SA, Ahmann GJ, Jalal SM, Bergsagel PL. Prognostic factors for hyperdiploid-myeloma: effects of chromosome 13 deletions and IgH translocations. *Leukemia* 2006; 20:807-13.
20. Debes-Marun C, Dewald G, Bryant S, Picken E, Santana-Dávila S, González-Paz N et al. Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. *Leukemia* 2003; 17: 427–436.
21. Decaux O, Lodé L, Magrangeas F, Charbonnel C, Gouraud W, Jézéquel P et al. Prediction of Survival in Multiple Myeloma Based on Gene Expression Profiles Reveals Cell Cycle and Chromosomal Instability Signatures in High-Risk Patients and Hyperdiploid Signatures in Low-Risk Patients: A Study of the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol* 2008; 26:4798-4805.
22. Dimopoulos M, Kastritis E. The role of novel drugs in multiple myeloma. *Ann Oncol* 2008; Suppl 7:21-7.
23. Drayson MT, Tang XL, Drew R, Mead GP, Carr-smith H, Bradwell AR. Serum free light chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001; 97:2900-2902.
24. Fenghuang Zhan, Yongsheng Huang, Simona Colla, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood* 2006;108:2020-28.
25. Fonseca R, Harrington D, Oken MM, Dewald GW, Bailey RJ, Van Wier SA et al. Biological and prognostic significance of interphase fluorescence in situ hybridization detection of chromosome 13 abnormalities (delta13) in multiple myeloma: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *Cancer Res* 2002; 62:715-720.
26. Fonseca R, Barlogie B, Bataille R, Bastard C, Bergsagel PL, Chesi M et al. Genetics and Cytogenetics of Multiple Myeloma: A Workshop Report. *Cancer Res* 2004; 64:1546-1558.

27. Fonseca R, Van Wier SA, Chng WJ, Ketterling R, Lacy MQ, Dispenzieri A et al. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia* 2006; 20:2034-2040.
28. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia* 2009 Dec; 23:2210-21.
29. Garcia-Sanz R, Gonzalez-Fraile MI, Mateo G, Hernández JM, López-Berges MC, de las Heras N et al. Proliferative activity of plasma cells is the most relevant prognostic factor in elderly multiple myeloma patients. *Int J Cancer* 2004; 112:884-889.
30. Greipp Ph, San Miguel J, Durie B, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J et al. International Staging System for Multiple Myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3412-3420.
31. Gutierrez NC, Garcia JL, Hernández JM, Lumbreras E, Castellanos M, Rasillo A et al. Prognostic and biologic significance of chromosomal imbalances assessed by comparative genomic hybridization in multiple myeloma. *Blood* 2004; 104:2661-2666.
32. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, Zhan F, Santra M, Sawyer JR et al. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization : incidence increase from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood* 2006; 108:1724-1732
33. Hayman SR, Fonseca R. Plasma cell leukemia. *Curr treat Options Oncol* 2001; 2:205-216.
34. Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC. Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications. *Blood* 2004; 104:607-618.
35. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121:749-757.
36. Jacobson J, Hussein M, Barlogie B, Durie BG, Crowley JJ et al. A new staging system for multiple myeloma patients based on the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Br J Haematol* 2003; 122: 441-450.
37. Jagannath S, Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA et al. Bortezomib appears to overcome the poor prognosis conferred by chromosome 13 deletion in phase 2 and 3 trials. *Leukemia* 2007; 21: 151–157.
38. Kapoor P, Fonseca R, Rajkumar SV, Lacy MQ, Witzig TE, Hayman SR et al. Evidence for cytogenetic and fluorescence in situ hybridization risk stratification of newly diagnosed multiple myeloma in the era of novel therapies. *Mayo Clin Proc.* 2010 ;85:532-7
39. Keats JJ, Fonseca R, Chesi M, Schop R, Baker A, Chng WJ et al. Promiscuous mutations activate the noncanonical NF-kappaB pathway in multiple myeloma. *Cancer Cell* 2007; 12:131–144.

40. Kuehl WM, Brents LA, Chesi M, Huppi K, Bergsagel PL et al. Dysregulation of c-myc in multiple myeloma. *Curr Top Microbiol Immunol* 1997;224:277-82.
41. Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions *Nat Rev Cancer* 2002; 2:175-187.
42. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* 2008; 111:2516-20.
43. Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, Dingli D, Dispenzieri A, Fonseca R, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: update Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clin Proc* 2009; 84:1095-110.
44. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Rev Clin Exp Hematol* 2002; 6:225-52.
45. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proc* 2003; 78:21-33.
46. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006; 354:1362–1369.
47. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009; 23: 3–9.
48. Lachmann HJ, Gallimore R, Gillmore JD, Carr-smith H, Bradwell AR, Pepys MB et al. Outcome in systemic (AL) amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br J Haematology* 2003; 122: 78-84.
49. Lai JL, Zandecki M, Mary JY, Bernardi F, Izydorczyk V, Flactif M et al. Improved cytogenetics in multiple myeloma: a study of 151 patients including 117 patients at diagnosis. *Blood* 1995;85:2490-7.
50. Ludwig H, Durie BG, Bolejack V, Turesson I, Kyle RA, Bladé J et al. Myeloma in patients under age 50 presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10,549 patients from the IMWG. *Blood* 2008;111: 4039-47
51. Mateos MV, Hernandez J, Hernandez M, Gutiérrez NC, Palomera L, Fuertes M et al. Bortezomib plus Melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: results of a multicenter phase 1/2 study. *Blood* 2006; 108: 2165-2172.
52. Munshi NC. Investigative Tools for Diagnosis and Management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008:298-305.
53. Munshi NC, Anderson KC, Bergsagel PL, Shaughnessy J, Palumbo A, Durie B. Guidelines for risk in multiple myeloma: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood* 2011; 117: 4696-700.

54. Nilsson T, Lenhoff S, Turesson I, Rylander L, Mitelman F, Westin J et al. Cytogenetic features of multiple myeloma: impact of gender, age, disease phase, culture time, and cytokine stimulation. *Eur J Haematol* 2002;68:345-53
55. Oguma S, Takatsuki K, Uchino H. Prognostic factors in multiple myeloma: parametric analysis in each abnormal protein type. *Gann* 1981 Jun;72:354-62.
56. Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos M, Kyle R, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117:4691-5.
57. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008; 359: 906–917
58. Sawyer JR, Waldron JA, Jagannath S, Barlogie B. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple myeloma. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;82:41-9
59. Sawyer JR, Lukacs JL, Munshi N, Desikan KR, Singhal S, Mehta J et al. Identification of new nonrandom translocations in multiple myeloma with multicolor spectral karyotyping. *Blood* 1998; 92:4269-4278.
60. Sawyer JR, Tricot G, Mattox S, Jagannath S, Barlogie B. Jumping translocations of chromosome 1q in multiple myeloma: evidence for a mechanism involving decondensation of pericentromeric heterochromatin. *Blood* 1998;91:1732-1741.
61. Sawyer JR, Lukacs JL, Thomas EL, Swanson CM, Goosen LS, Sammartino G et al. Multicolour spectral karyotyping identifies new translocations and a recurring pathway for chromosome loss in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2001; 112:167-174.
62. Sawyer JR, Tricot G, Lukacs JL, Binz RL, Tian E, Barlogie B et al. Genomic instability in multiple myeloma: evidence for jumping segmental duplications of chromosome arm 1q. *Gen Chromosomes Cancer* 2005;42:95-106.
63. Sawyer JR. The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 2011; 204:3-12.
64. Shapiro-Shelef M, Calame K. Regulation of plasma-cell development. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:230-242.
65. Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27Kip1 and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematology* 2005; 10: 117-126.
66. Shaughnessy JD, Zhan F, Burington BE, Huang Y, Colla S, Hanamura I et al. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. *Blood* 2007; 15:2276-2284.
67. Shi J, Tricot GJ, Garg TK, Malaviarachchi PA, Szmania SM, Kellum RE et al. Bortezomib down-regulates the cell-surface expression of HLA class I and enhances natural killer cell-mediated lysis of myeloma. *Blood* 2008; 111:1309-17.

68. Smadja NV, Fruchart C, Isnard F, Louvet C, Dutel JL, Cheron N et al. Chromosomal analysis in multiple myeloma: cytogenetic evidence of two different diseases. *Leukemia* 1998; 12: 960–969.
69. Smadja NV, Bastard C, Brigaudeau C, Leroux D, Fruchart C, Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2001; 98:2229-38.
70. Stewart AK, Richardson P, San Miguel J. How I treat myeloma in younger patients. *Blood* 2009;114:5436-43.
71. Taniwaki M, Nishida K, Ueda Y, Takashima T. Nonrandom chromosomal rearrangements of 14q32.3 and 19p 13.3 and preferential deletion of 1p in 21 patients with multiple myeloma and plasma cell leukemia. *Blood* 1994;84:2283-2290.
72. Terpos E, Katodritou E, Roussou M, Pouli A, Michalis E, Delimpasi S et al. High serum lactate dehydrogenase adds prognostic value to the international myeloma staging system even in the era of novel agents. *Eur J Haematol* 2010; 85 :114-119.
73. Tricot G, Barlogie B, Jagannath S, Bracy D, Mattox S, Vesole DH et al. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with other karyotype abnormalities. *Blood* 1995 Dec; 86:4250-6.
74. Tricot G, Sawyer JR, Jagannath S, Desikan KR, Siegel D, Naucke S et al. Unique role of cytogenetics in the prognosis of patients with myeloma receiving high-dose therapy and autotransplants. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2659-66.