

# Hemato-oncologische Genoomdiagnostiek

Dr. Eva van den Berg, LSKG

Dr. Sabrina Commandeur-Jan, LSKG

Dr. Anneke Bosga, stafanalist

Dr. A. Buijs, LSKG

Afdeling Genetica, sectie genoomdiagnostiek UMCG

24 september 2024



**umcg**

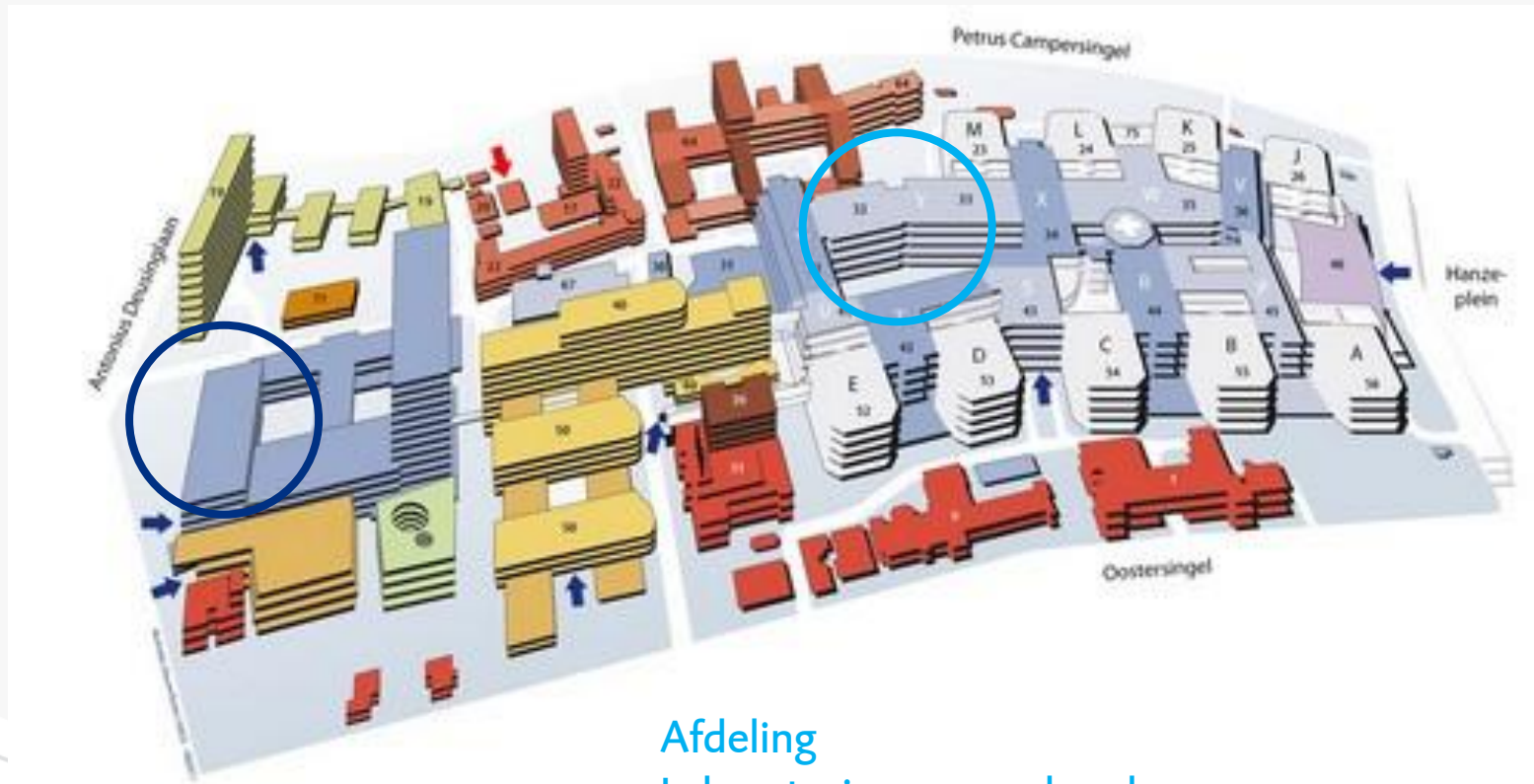
# Disclosure belangen spreker

|                                     |      |
|-------------------------------------|------|
| (potentiële) belangenverstrengeling | Geen |
|                                     |      |
|                                     |      |



# Lab Genoomdiagnostiek en Lab bijzondere hematologie

Afdeling Genetica  
→ (Moleculair)  
cytogenetische  
diagnostiek

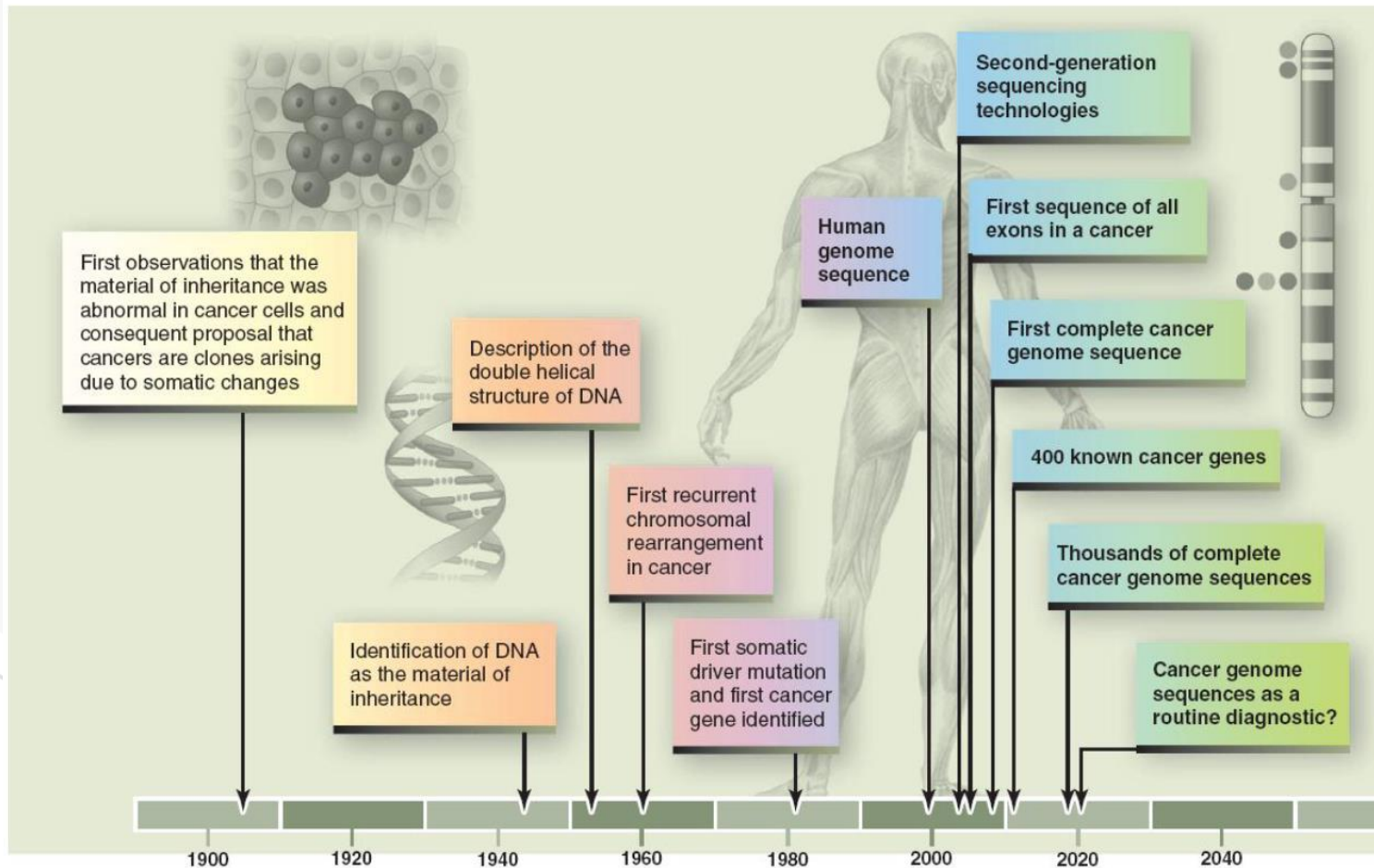


Afdeling  
Laboratoriumgeneeskunde  
→ Moleculaire diagnostiek



umcg

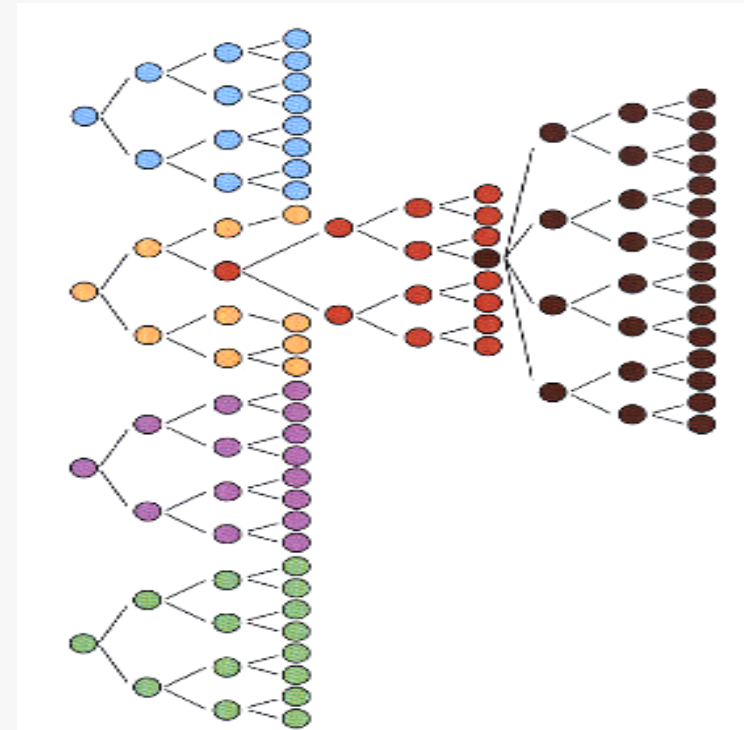
# Kanker en genetica



umcg

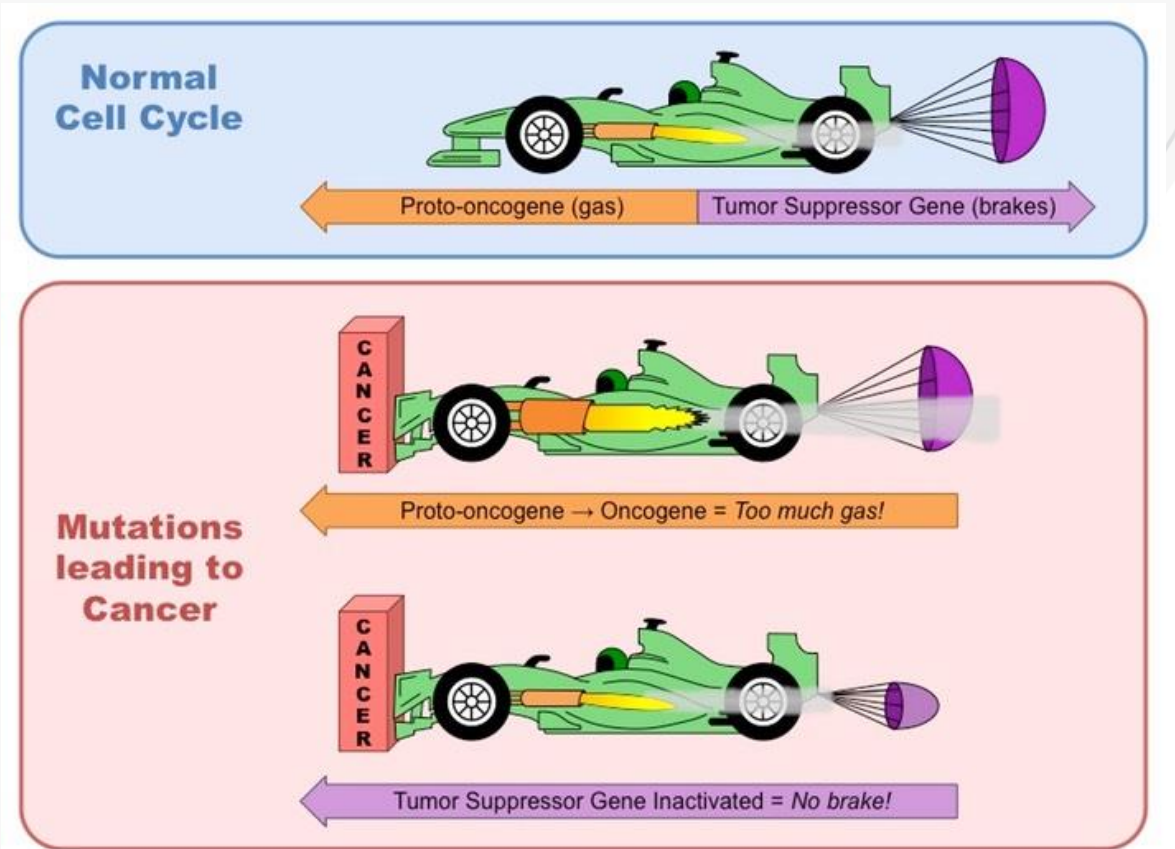
# Kanker en genetica

- DNA 23 paar chromosomen
- Genen coderen voor o.a. groei, deling en differentiatie
- Multistapsproces
- Clonale uitgroei



# Kanker en genetica

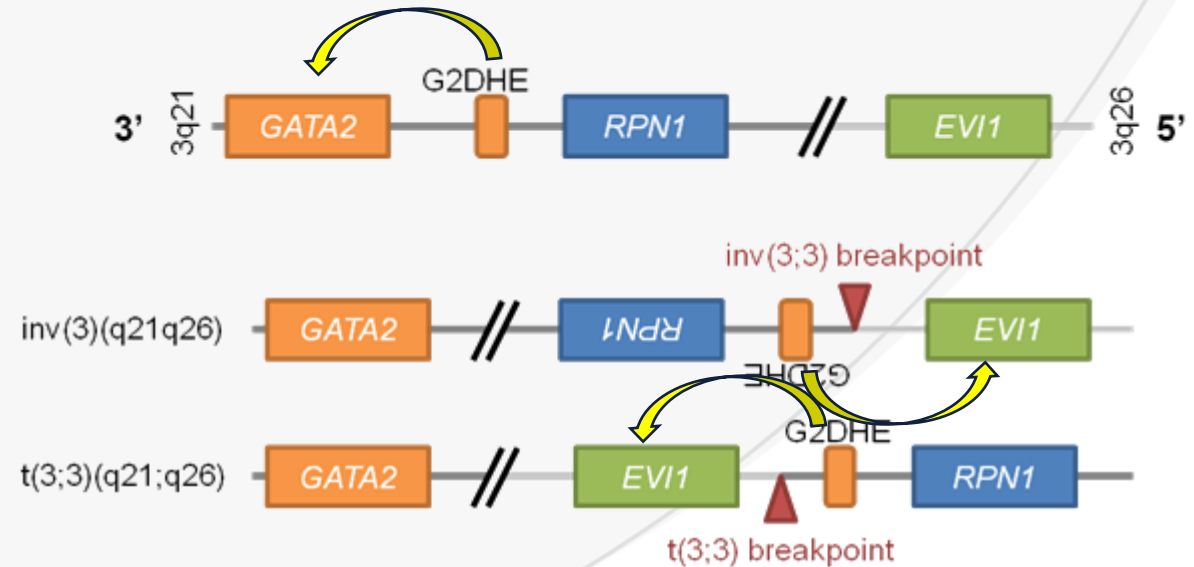
- Balans/onbalans
  - Overexpressie van een proto-oncogene
    - Bijv. translocaties
  - Uitschakeling van een tumorsuppressor vanwege mutatie
    - Bijv. deleties



# Kanker en genetica

- Balans/onbalans
  - Overexpressie van een proto-oncogene
    - Bijv. translocaties
  - Uitschakeling van een tumorsuppressor vanwege mutatie
    - Bijv. deleties

inv(3)(q21q26) of t(3;3)(q21q26) "MECOM rearrangement"



# Genoomdiagnostiek

- Waarom genoomdiagnostiek?
  - Bevestigen van diagnose: aanwijzingen voor een maligniteit
  - Prognose
  - Therapiekeuze
  - Follow-up (remissie/recidief/progressie)
- Op zoek naar?
  - Chromosomale afwijkingen
    - Klonale afwijkingen
    - Karakteristieke afwijkingen geassocieerd met specifieke maligniteiten
      - Bijv. t(9;22) bij CML





# International Consensus Classification 2022 - AML

Table 25.

Classification of AML with percentage of blasts required for diagnosis

|   |
|---|
| Acute promyelocytic leukemia (APL) with t(15;17)(q24.1;q21.2)/PML::RARA ≥ 10%   |
| APL with other RARA rearrangements* ≥ 10%   |
| AML with t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1 ≥ 10%  |
| AML with inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11 ≥ 10%  |
| AML with t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A ≥ 10%  |
| AML with other KMT2A rearrangements† ≥ 10%  |
| AML with t(6;9)(p22.3;q34.1)/DEK::NUP214 ≥ 10%  |
| AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2; MECOM(EV11) ≥ 10%   |
| AML with other MECOM rearrangements‡ ≥ 10%  |
| AML with other rare recurring translocations (see supplemental Table 5) ≥ 10%   |
| AML with t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1§ ≥ 20%  |
| AML with mutated NPM1 ≥ 10%   |
| AML with in-frame bZIP CEBPA mutations ≥ 10%  |
| AML and MDS/AML with mutated TP53† 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)   |
| AML and MDS/AML with myelodysplasia-related gene mutations 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)   |
| Defined by mutations in ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, or ZRSR2  |
| AML with myelodysplasia-related cytogenetic abnormalities 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)  |
| Defined by detecting a complex karyotype (≥ 3 unrelated clonal chromosomal abnormalities in the absence of other class-defining recurring genetic abnormalities), del(5q)/t(5q)/add(5q), -7/del(7q), +8, del(12p)/t(12p)/add(12p), i(17q), -17/add(17p) or del(17p), del(20q), and/or idic(X)(q13) clonal abnormalities |
| AML not otherwise specified (NOS) 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)  |
| Myeloid sarcoma   |

Genoomdiagnostiek

Bijzondere hematologie

Genoomdiagnostiek



umcg

# ELN 2022 - AML

Table 6.

2022 ELN risk classification by genetics at initial diagnosis\*

| Risk category† | Genetic abnormality   |
|----------------|---|
| Favorable      | <ul style="list-style-type: none"> <li>t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i>†,‡</li> <li>inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/ <i>CBFB::MYH11</i>†,‡</li> <li>Mutated <i>NPM1</i>†,§ without <i>FLT3</i>-ITD</li> <li>bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i>  </li> </ul>   |
| Intermediate   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutated <i>NPM1</i>†,§ with <i>FLT3</i>-ITD</li> <li>Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3</i>-ITD (without adverse-risk genetic lesions)</li> <li>t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLLT3::KMT2A</i>†,¶</li> <li>Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse</li> </ul>  |
| Adverse        | <ul style="list-style-type: none"> <li>t(6;9)(p23.3;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i></li> <li>t(v;11q23.3)/<i>KMT2A</i>-rearranged#</li> <li>t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i></li> <li>t(8;16)(p11.2;p13.3)/<i>KAT6A::CREBBP</i></li> <li>inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/ <i>GATA2, MECOM(EV11)</i></li> <li>t(3q26.2:v)/<i>MECOM(EV11)</i>-rearranged</li> <li>-5 or del(5q); -7; -17/abn(17p)</li> <li>Complex karyotype,** monosomal karyotype††</li> <li>Mutated <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, and/or ZRSR2</i>‡‡</li> <li>Mutated <i>TP53</i>§§</li> </ul> |



# WHO2022 en IPSS-R/-M – MDS

| Gedefinieerde genetische afwijking(en) bij MDS volgens WHO 2022 |   |   |
|---|---|---|
| Subtype   | Cytogenetisch   | Mutatie   |
| MDS-5q  | Geïsoleerde 5q deletie *  |   |
| MDS-SF3B1   | Zonder 5q-, -7/7q- of complex karyotype                           | SF3B1   |
| MDS-bi TP53   | Complex karyotype **  | 2 of meer TP53 mutaties<br>1 mutatie met TP53 CNV/cnLOH |
| Zonder gedefinieerde genetische afwijkingen                     | -7/7q-<br>-7/7q- & 1 of 2 andere afwijkingen 5q- & -7/7q-         |   |
|   |   |   |
| * Geïsoleerde 5q deletie  | 5q deletie alleen, of met 1 andere afwijking anders dan -7 of 7q- |   |
| ** Complex karyotype  | >3 afwijkingen  |   |

| IPSS-R risicoclassificatie |  |
|----------------------------|--|
| Risico categorie           | Genetische afwijkingen   |
| Zeer gunstig               | verlies Y chromosoom<br>del(11q)   |
| Gunstig                    | normaal karyotype<br>del(5q)<br>del(12q)<br>del(20q)<br>dubbel, met del(5q)  |
| Intermediair               | del (7q), dus ook der(1;7)(q10;q10)<br>+8<br>+19<br>i(17q)<br>Één of twee afwijkingen niet gespecificeerd in andere subgroepen |
| Ongunstig                  | -7<br>inv(3), t(3q), del(3q)<br>Twee afwijkingen inclusief -7 of del(7q)<br>Complex karyotype (3 afwijkingen)                  |
| Zeer ongunstig             | Zeer complex karyotype (>3 afwijkingen)  |

## Advies

Voor een juiste classificatie volgens de WHO 2022 is het noodzakelijk om de *TP53* en *SF3B1* mutatiestatus te laten bepalen bij het Laboratorium Bijzondere Hematologie, afdeling Laboratoriumgeneeskunde UMCG.



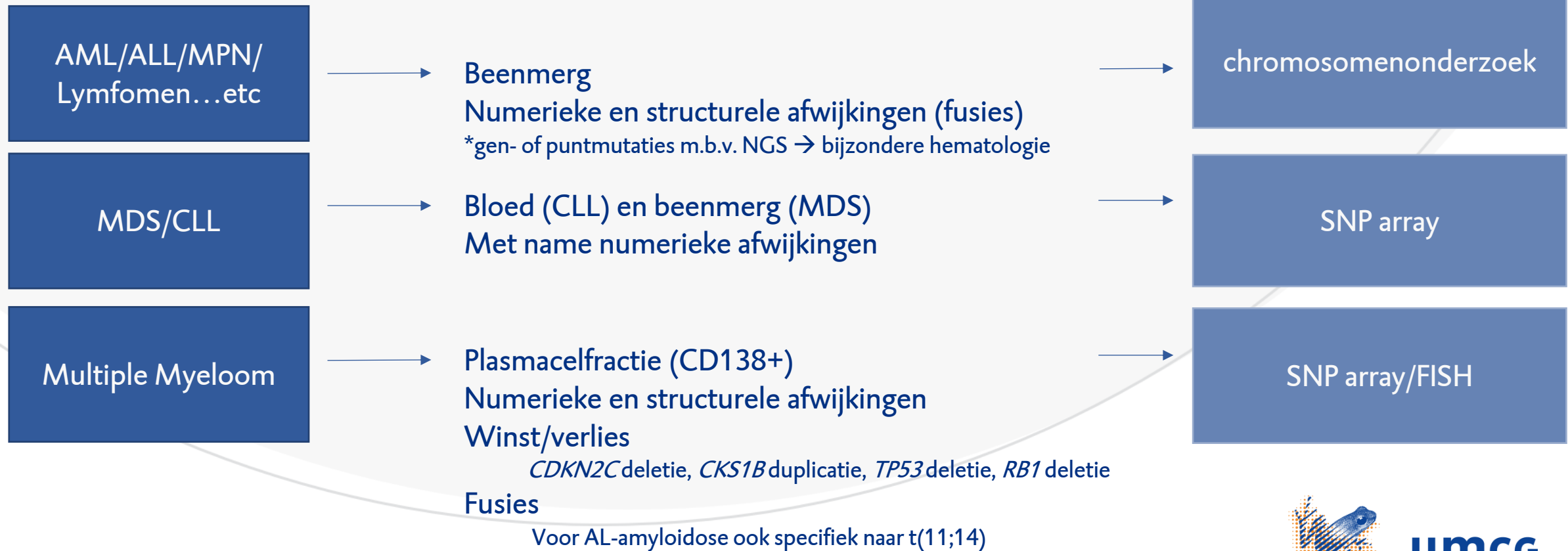
umcg

# Genoomdiagnostiek

- Indicaties:
  - Alle indicaties (Myeloïde, Lymfoïde, plasmacelziekten...)
- Technieken:
  - Cytogenetica (chromosomenonderzoek)
  - SNP array
  - FISH
  - (Optical Genome Mapping)



# Diagnostiek afhankelijk van indicatie en materiaal



\*cave: verworven afwijkingen versus constitutionele afwijkingen



umcg

# Richtlijnen voor diagnostiek

## European recommendations and quality assurance for cytogenomic analysis of haematological neoplasms

K. A. Rack, E. van den Berg, C. Haferlach, H. B. Beverloo, D. Costa, B. Espinet, N. Foot, S. Jeffries, K. Martin, S. O'Connor, J. Schoumans, P. Talley, N. Telford, S. Stioui, Z. Zemanova & R. J. Hastings 

*Leukemia* 33, 1851–1867 (2019) | [Cite this article](#)

## Guidelines for Cytogenomic Analysis of Acquired Disorders Dutch addendum to the European Recommendations by Rack et al 2019

### Authors

Simone Snijder, Berna Beverloo, Arjen Buijs, Anne-Marie van der Kevie-Kersemaekers, Jeroen Knijnenburg, Wilma Kroes, Clemens Mellink, Lucienne Michaux, Daniel Olde Weghuis, Pino Poddighe, Jacqueline Schoumans, Marian Stevens-Kroef, Laura van Zutven, Eva van den Berg

On behalf of the Werkgroep Hemato-oncologische GenoomDiagnostiek (WHGD), which is a working party of the Vereniging Klinisch Genetische Laboratoriumdiagnostiek (VKGL).

The guidelines are published at the website of the VKGL (Kwaliteit > Formulieren en documenten > Veldnormen).

Correspondence to: Eva van den Berg, University Medical Center Groningen, e-mail: e.van.den.berg-de.ruiter@umcg.nl

January 2024

**Table 1** Recommended testing for different haematological neoplasms

| Disease                                      | Test  | Requirement                                     | Suggested methodology                                     | Guidelines  |
|--|---|---|---|---|
| CML  | Karyotype   | Mandatory                                       | Chromosome banding  | Baccarani et al. 2013 [24], 2015 [25]   |
|  | <i>BCR-ABL1</i> gene fusion   | Mandatory                                       | FISH or molecular methods                                 |   |
|  | <i>ABL1</i> mutation when resistance to therapy   | Mandatory                                       | Molecular methods   |   |
| MPN  | <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> , <i>MPL</i> mutations depending on referral reason   | Indicated                                       | Molecular methods   | Gong et al. 2013 [32]<br>Xia and Hassejian 2016 [33]<br>WHO 2017 [11]   |
|  | Karyotype   | Optional  | Chromosome banding  |   |
| Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia | Recurrent gene fusions involving <i>PDGFRA</i> , <i>PDGFRB</i> , <i>FGFR1</i> , <i>PCMI-JAK2</i>  | Strongly recommended for most patients          | FISH or molecular methods                                 | Butt et al. 2017 [40]   |
|  | Karyotype   | Recommended in absence of recurrent gene fusion | Chromosome banding  |   |
| MDS  | Karyotype   | Mandatory                                       | Chromosome banding  | Malcovati et al. 2013 [41]  |
|  | Targeted chromosome abnormalities -5/5q-, -7/7q-, <i>MECOM</i> (extended panel + 8,20q-del <i>TP53</i> )                                    | Recommended <sup>b</sup>                        | FISH/ SNP array/ Molecular methods                        |   |
|  | High resolution chromosome analysis and aCN-LOH <sup>c</sup><br>Mutation analysis of candidate genes  | Recommended                                     | SNP array<br>Molecular methods                            |   |
| AML  | Karyotype   | Mandatory                                       | Chromosome banding  | Döhner et al. 2017 [47]   |
|  | Gene mutations: <i>NMP1</i> , <i>CEBPA</i> , <i>RUNX1</i> , <i>FLT3</i> , <i>TP53</i> , <i>ASXL1</i>  | Mandatory                                       | Molecular methods   |   |
|  | Recurrent gene fusions: <i>PML-RARA</i> , <i>CBFB-MYH11</i> , <i>RUNX1-RUNX1T1</i> . Gene rearrangements of <i>KMT2A</i> and <i>MECOM</i> . | Recommended <sup>d</sup>                        | FISH or molecular methods                                 |   |
| ALL  | Recurrent gene fusions (Age-related priority see Table 3)   | Mandatory                                       | FISH or molecular methods                                 | Harrison et al. 2010 [57]<br>Moorman et al. 2010 [59]   |
|  | Hyperdiploidy   | Recommended                                     | Chromosome banding or SNP-Array/<br>FISH                  |   |
|  | Recurrent microdeletions<br>Karyotype <sup>d</sup>  | Recommended in paediatric<br>Mandatory          | MLPA, Array, molecular methods                            |   |
| CLL  | Deletion 13q14, <i>ATM</i> , <i>TP53</i> , trisomy12<br><i>TP53</i> mutation/IgHV mutational status   | Mandatory<br>Mandatory                          | FISH, SNP-array or molecular methods<br>Molecular methods | Hallek et al. 2018 [71]<br>Malcikova et al. 2018 [75]<br>Rosenquist et al. 2017 [76]<br>Hallek et al. 2018 [71] |
|  | Karyotype   | Desirable for clinical trials                   |   |   |
|  | Multiple myeloma  | Recommended                                     | FISH for gene rearrangements                              |   |
| Other mature B-cell neoplasms                | Recurrent gene rearrangements depending on differential diagnosis   |   | FISH or Array, MLPA for copy number gains and losses      | Caers et al. 2018 [83]<br>WHO 2017 [11]   |
|  | <i>MYC</i> rearrangements for prognostic testing <sup>f</sup>   |   | FISH  |   |

<sup>a</sup>For prognostic impact

<sup>b</sup>In cases of karyotype failure or where morphological suspicion of specific abnormality

<sup>c</sup>aCN-LOH: acquired copy neutral loss of heterozygosity

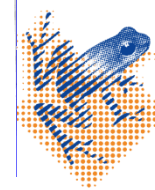
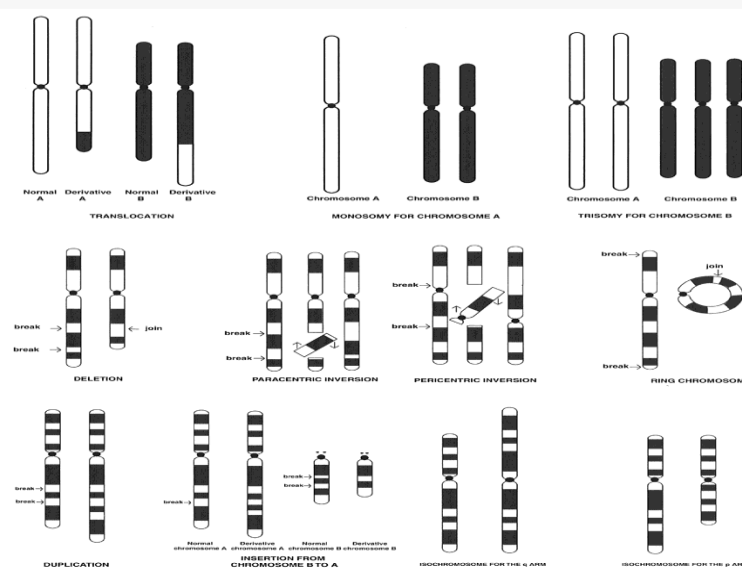
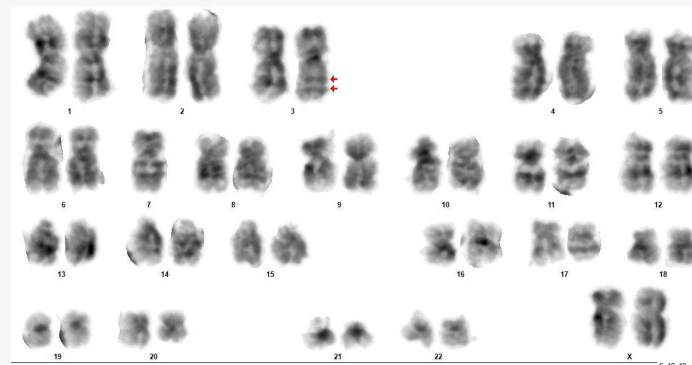
<sup>d</sup>May not be required for all paediatric B-ALL where only basic risk stratification is required

<sup>e</sup>Minimum testing required

<sup>f</sup>If *MYC* rearrangement is detected *BCL2* and *BCL6* should be undertaken for differential diagnosis between Burkitt lymphoma and a double-hit lymphoma

# Genoomdiagnostiek – AML, ALL, MPN, CML

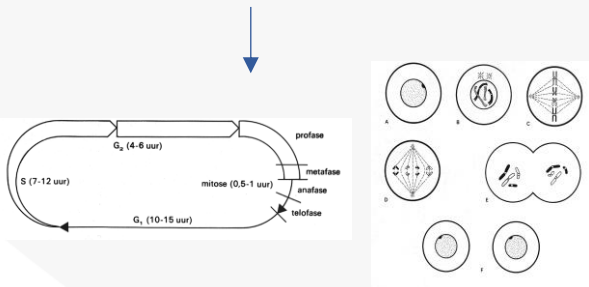
- Cytogenetica (chromosomenonderzoek)
  - Celweek (delende cellen nodig) → metafases
- Detectie van structurele en numerieke afwijkingen
  - Deleties (verlies)
  - Duplicaties (winst)
  - Translocaties (uitwisseling)
  - Inversies (omgekeerd)
  - Marker chromosomen
- Resolutie >5Mb
- Veel kennis nodig, soms zijn afwijkingen lastig te zien



# Chromosomenonderzoek: labprocedure



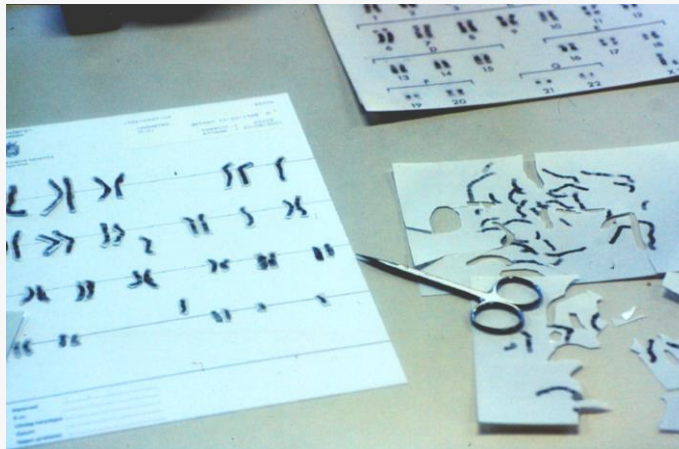
Beenmerg inzetten



Kweken/colcemid



Oogsten/preparaten maken



Analyse



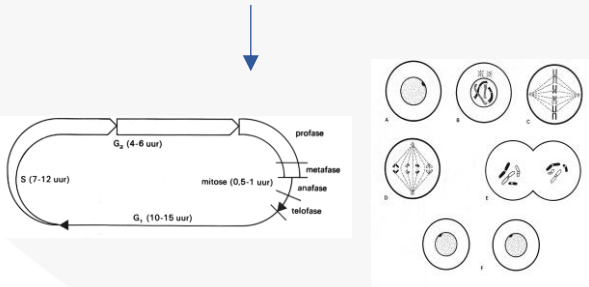
umcg



# Chromosomenonderzoek: labprocedure



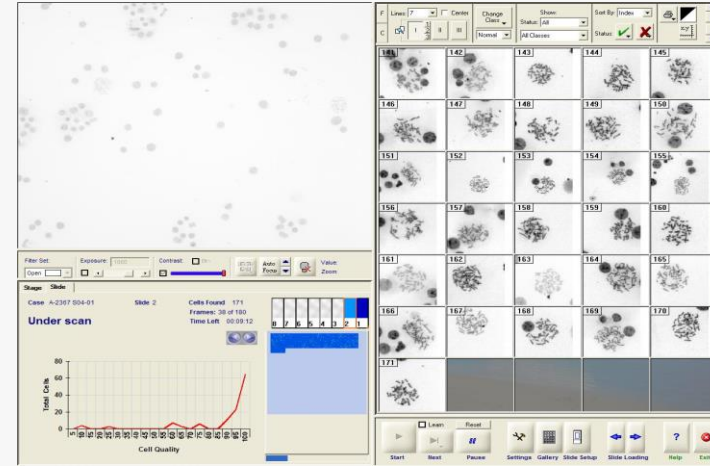
Beenmerg inzetten



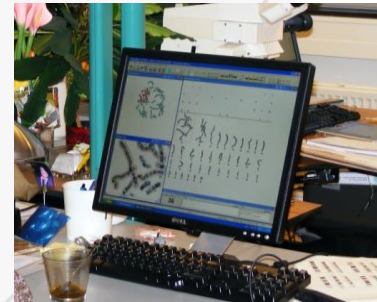
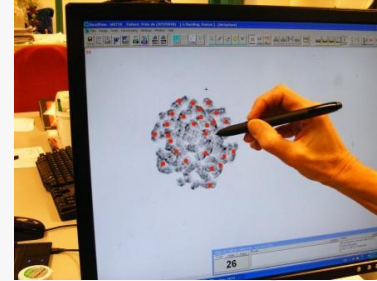
Kweken/colcemid



Oogsten/preparaten maken



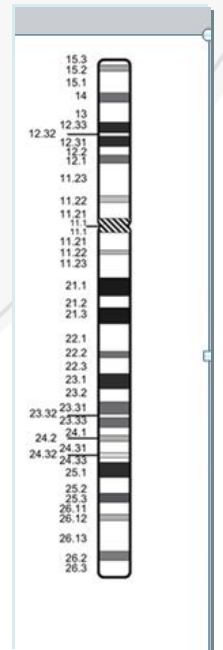
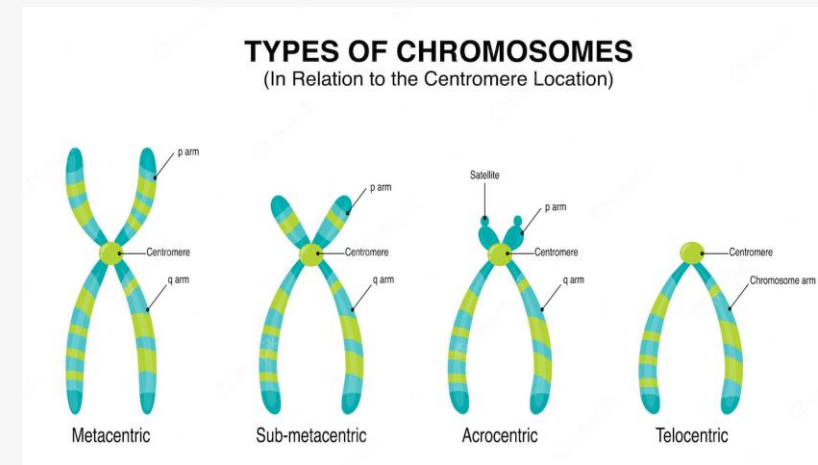
Analyse



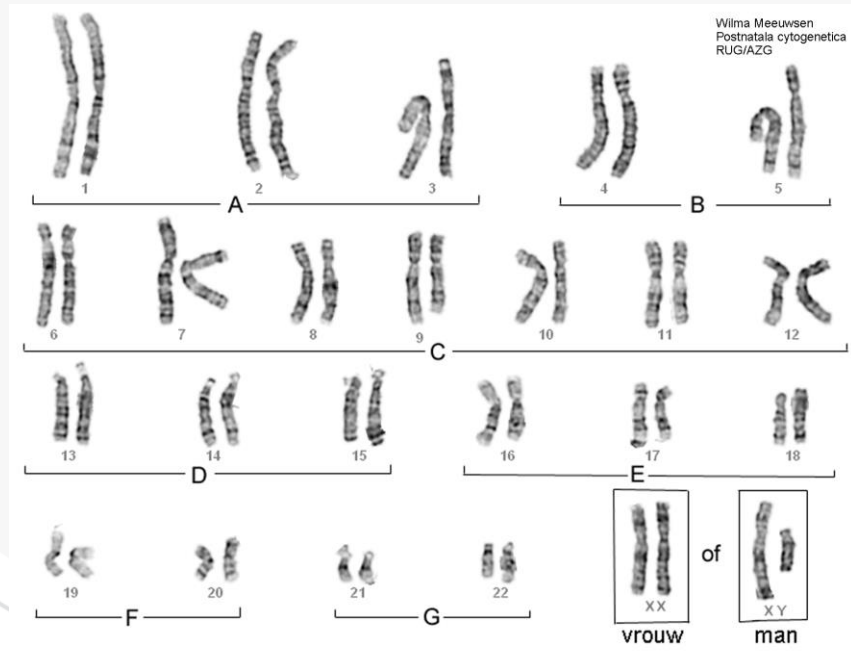
umcg

# Chromosomenonderzoek: analyse

- Chromosomen "leggen" → karyotype
  - Lengte van het chromosoom
  - Bepaling **p** en **q** arm
  - Plaats van het centromeer
    - Acrocentrisch
    - Metacentrisch
    - Submetacentrisch
- Bandering

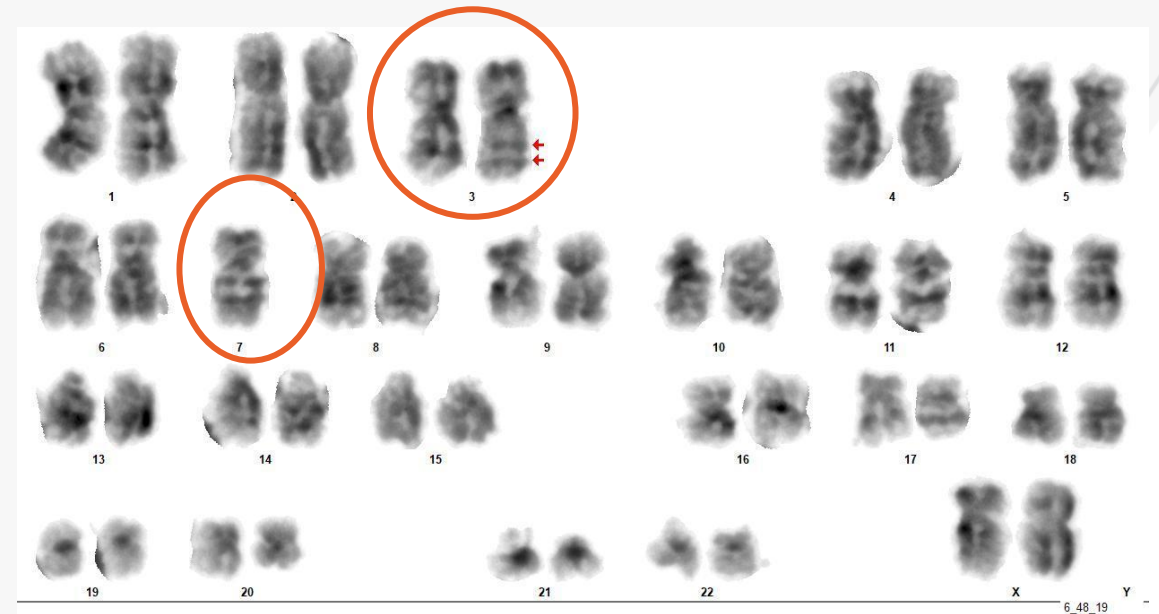


# Karyotype



46,XX

46,XY

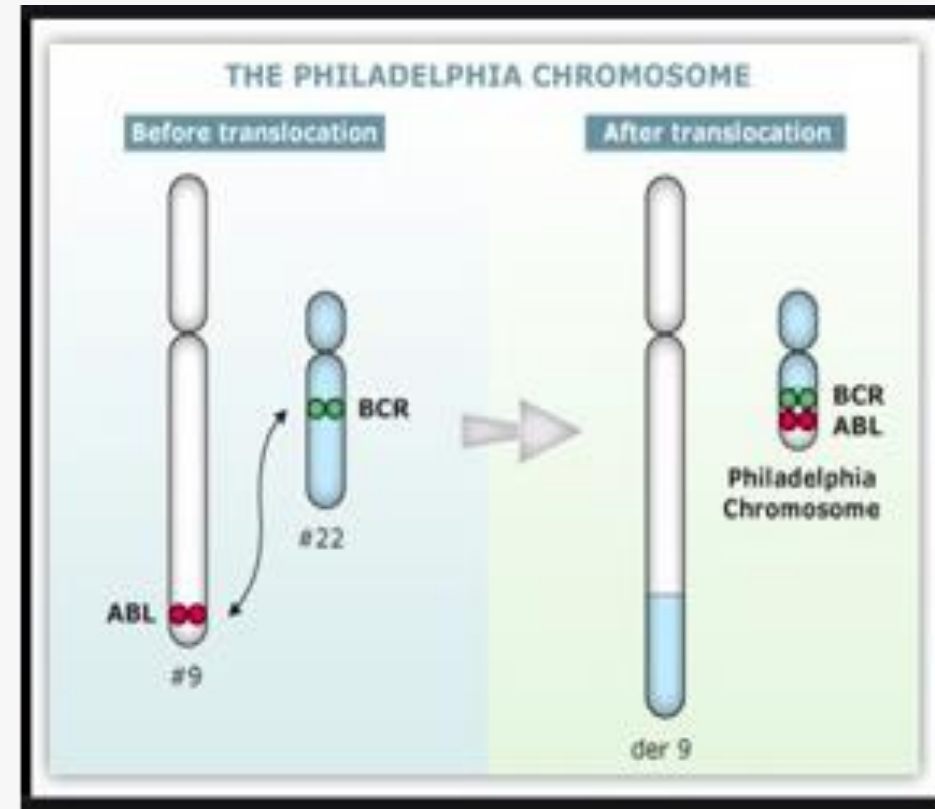


45,XX,inv(3)(q21q26),-7[9]/46,XX[1]



umcg

# Karyotype



46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[10]



umcg

# Chromosomenonderzoek rapportage: voorlopige uitslag (mail)/uitslagbrief

## Uitslag Genoomdiagnostiek

Startdatum 14-07-2023  
Indicatie CML, diagnose  
Materiaal Bloed (M25984), ontvangen op 14-07-2023  
Afnamedatum 14-07-2023  
Test/techniek Chromosomenonderzoek

## Resultaat

46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[10]

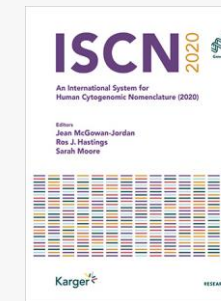
## Conclusie

Translocatie (9;22)(q34;q11)[*BCR/ABL1* fusie] passend bij chronische myeloïde leukemie (CML) *BCR-ABL1+* (WHO 2017). De t(9;22)(q34;q11) heeft een gunstige prognose en is gevoelig voor tyrosine kinase remmers (TKI's).

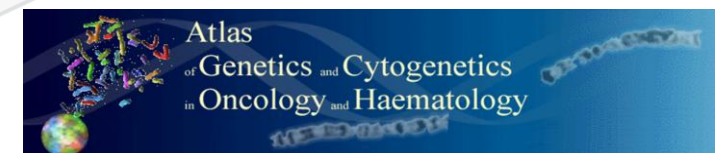
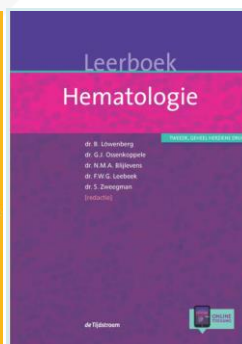
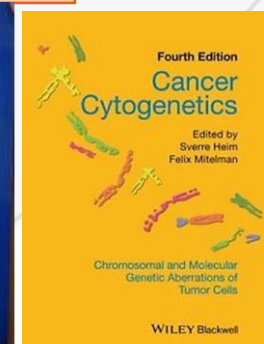
## Toelichting

Vrouwelijk karyotype met een afwijkende lijn van 46 chromosomen met in alle 10 onderzochte cellen een translocatie tussen de lange armen van chromosoom 9 en chromosoom 22, de zgn. Philadelphia-translocatie t(9;22)(q34;q11)[*BCR::ABL1* fusie].  
Voor behandelingsrichtlijn en follow up adviezen zie [www.hovon.nl](http://www.hovon.nl).  
De (voorlopige) uitslag werd per e-mail aan u doorgegeven d.d. 21-07-2023.

## ISCN nomenclatuur



## Interpretatie



## Toelichting/adviezen/opmerkingen



umcg

# CML Follow-up schema

## European LeukemiaNet Recommendations for the Management of Chronic Myeloid Leukemia (CML)

Response definitions for any TKI **first line**, and 2nd line in case of intolerance, all patients (CP, AP, and BC)

| Time                  | Optimal response                               | Warning                                   | Failure   |
|-----------------------|--|---|---|
| Baseline              |  | High risk<br>Major route CCA/Ph+          |   |
| 3 mos.                | BCR-ABL <sup>IS</sup> ≤10%*<br>Ph+ ≤35% (PCyR) | BCR-ABL <sup>IS</sup> >10%*<br>Ph+ 36-95% | No CHR*<br>Ph+ >95%   |
| 6 mos.                | BCR-ABL <sup>IS</sup> <1%*<br>Ph+ 0% (CCyR)    | BCR-ABL <sup>IS</sup> 1-10%*<br>Ph+ 1-35% | BCR-ABL <sup>IS</sup> >10%*<br>Ph+ >35%   |
| 12 mos.               | BCR-ABL <sup>IS</sup> ≤0.1%* (MMR)             | BCR-ABL <sup>IS</sup> 0.1-1%*             | BCR-ABL <sup>IS</sup> >1%*<br>Ph+ >0%   |
| Then, and at any time | MMR or better                                  | CCA/Ph- (-7, or 7q-)                      | Loss of CHR<br>Loss of CCyR<br>Loss of MMR, confirmed**<br>Mutations<br>CCA/Ph+ |

\*and/or \*\*in 2 consecutive tests, of which one ≥1% IS: BCR-ABL on International Scale

### Treatment recommendations

### Other definitions

|                     |   |
|---------------------|---|
| CCA                 | Clonal chromosome abnormalities   |
| CCA/Ph+             | CCA in Ph+ cells which define failure if newly arisen   |
| CHR                 | Complete hematologic response: Platelet count < 450 x 10 <sup>9</sup> /L; WBC count < 10 x 10 <sup>9</sup> /L; Differential: no immature granulocytes, basophils <5%; no palpable spleen              |
| High risk           | Evaluated by Sokal-Score (>1.2), Euro-Score (>1,480) or EUTOS-Score (>87)   |
| Major route CCA/Ph+ | Major route CCA/Ph+ are trisomy 8, 2 <sup>nd</sup> Ph+ [+der(22)t(9;22)(q34;q11)], isochromosome 17 [i(17)(q10)], trisomy 19, and ider(22)(q10)t(9;22)(q34;q11)                                       |
| Mutations           | BCR-ABL kinase domain point mutations (not to be confused with ABL1 polymorphisms), Mutational analysis by conventional Sanger sequencing is recommended in case of progression, failure and warning. |

### Timing of Cytogenetic and Molecular Monitoring

|                      |  |
|----------------------|--|
| At diagnosis         | CBA, FISH in case of Ph- (for cryptic or variant translocations), qualitative PCR (transcript type)  |
| During treatment     | RQ-PCR <b>every 3 months</b> until MMR has been achieved, then <b>every 3 to 6 months</b> and/or CBA at <b>3, 6, and 12 months</b> until CCyR has been achieved, then <b>every 12 months</b> . Once CCyR is achieved, FISH on blood cells can be used. |
| Failure, progression | RQ-PCR, mutational analysis, and CBA. Immunophenotyping in blast phase.  |
| Warning              | Molecular and cytogenetic tests <b>more frequently</b> . CBA in case of myelodysplasia or CCA/Ph-  |

CBA: Chromosome banding analysis of marrow cell metaphases at least 20 metaphases analysed



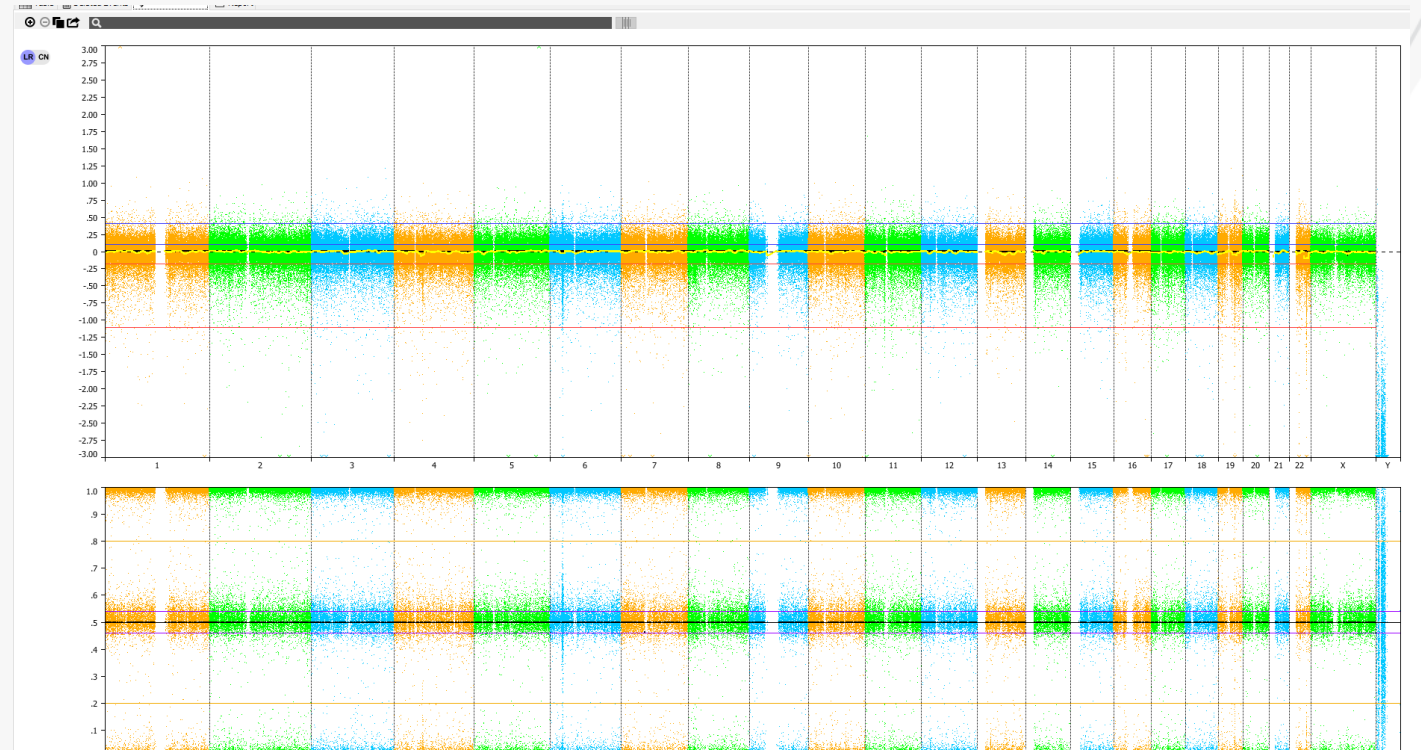
# Beperkingen chromosomenonderzoek

- Afhankelijk van kweken en kwaliteit van de chromosomen
  - CLL/plasmacellen delen niet (goed)
- Complexe/kleinere afwijkingen niet te zien (detectiegrens >5Mb)
  - ALL vaak lastig te analyseren



# Genoomdiagnostiek – MDS, CLL, MM, (ALL)

- SNP array
  - Directe isolatie uit beenmerg/bloed/plasmacellen
    - Geen delende cellen nodig!
    - Let op! voor MM: DNA uit plasmacellen!
  - Verlies en winst van chromosoom (delen)
    - Gebalanceerde translocaties worden hiermee niet gezien (inv(3)!)
  - Resolutie >50kb





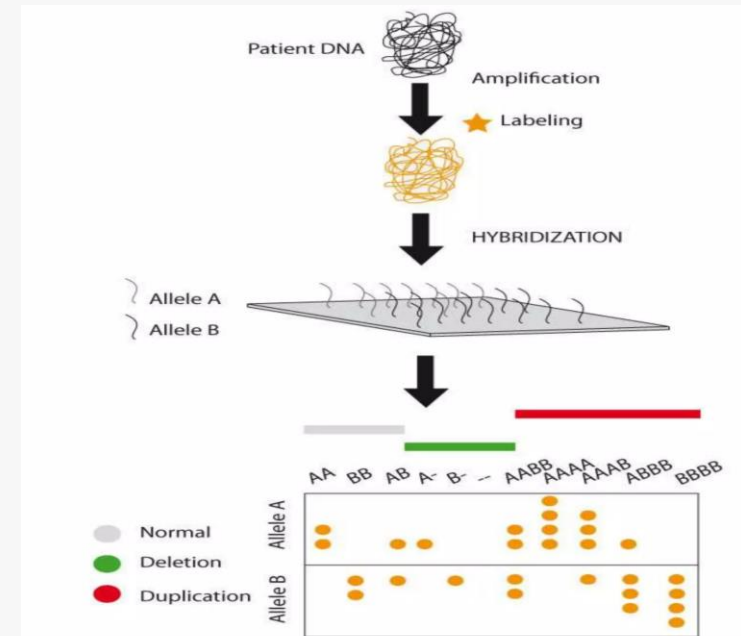
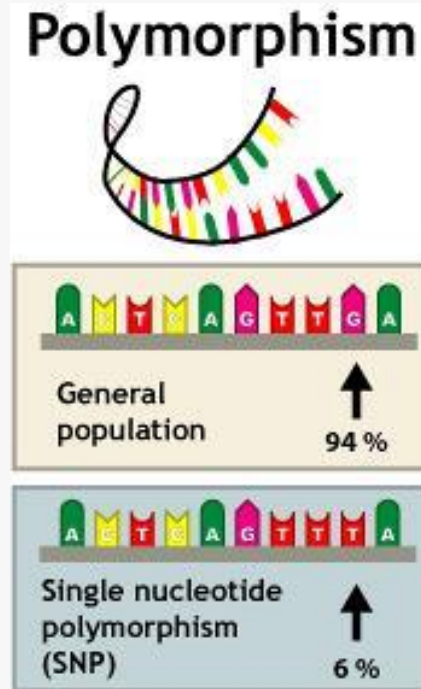
# SNP microarrays

## Wat is een SNP:

- Meest algemene vorm van (onschuldige) genetische variatie tussen mensen
- SNPs dichtbij of in een gen kunnen gebruikt worden als "vlag" voor die regio of dat gen (deze **kunnen** in 2 kleuren voorkomen)

## De array "ziet":

- Hoeveel vlaggetjes er zijn op elke plek (genomische plot) = aantal kopieën
  - Log ratio
- Of de vlaggetjes in dezelfde of verschillende kleuren voor komen.
  - B-allel frequentie

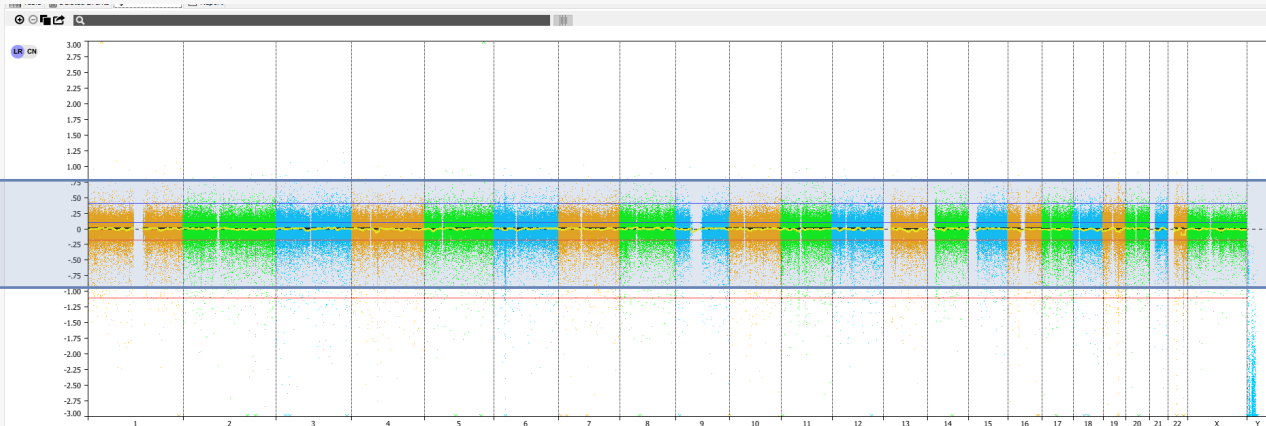


COMSATS Institute Information Technology Abbottabad



umcg

# SNP array: analyse



Ratio op nul lijn = geen winst/verlies t.o.v. referentiegroep

A-allel frequentie: AA

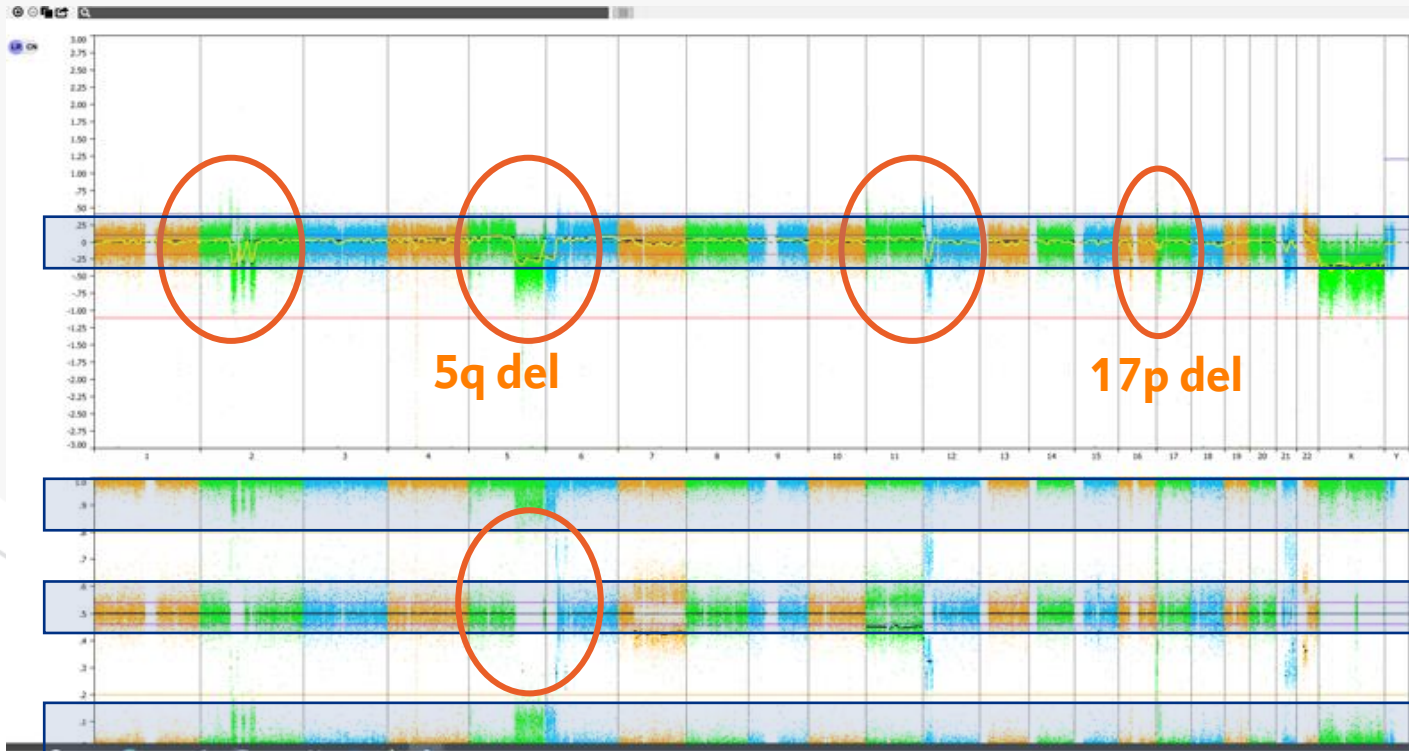
B-allel frequentie: AB

A-allel frequentie: AB



umcg

# SNP array: analyse



Ratio op nul lijn = verlies 5q en 17p t.o.v. referentiegroep

A-allel frequentie: AA

B-allel frequentie: AB → alleen 1 allel gezien bij 5q del

A-allel frequentie: AB



umcg

# SNP array: rapportage

Startdatum 19-05-2021  
 Indicatie MDS / MPN  
 Vraagstelling Hematologische maligniteiten  
 Materiaal DNA (140940), geïsoleerd uit beenmerg, ontvangen op 19-05-2021  
 Test/techniek SNP-array

## Resultaat

arr[GRCh37] 2p13.1p11.2(74027275\_88478436)x1,2q11.1q12.1(96439103\_103615090)x1,2q14.1q14.3(118465966\_124950353)x1,5q22.1q35.2(110987711\_176412434)x1,6p25.3p22.1(1\_27379440)x1,7p14.2q36.3(36241910\_159138663)x1,(11)x3,12p13.32p12.1(4769353\_21699394)x1,15q21.2q22.1(52704467\_59238045)x1,17p13.3(1\_1937208)x1,17p13.1(6967005\_9478330)x1,18q11.1q23(18487041\_78077248)x1,(21)cth, 22q11.1q11.23(16057310\_25573013)x3

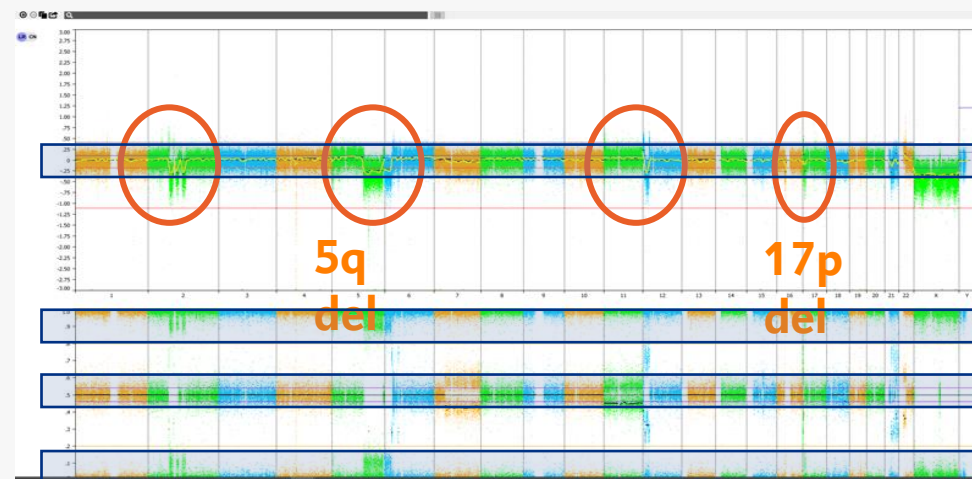
## Conclusie

Zeer complex afwijkend patroon met onder meer een deletie 5q, 7q en 17p13.1 (met verlies van *TP53*) en chromotripsis van chromosoom 21 passend bij MDS of een andere hematologische maligniteit en geassocieerd met een zeer slechte prognose.

Een [*RPN1-MECOM/EVI1*] rearrangement is hiermee niet uitgesloten.

## Advies

Formeel is voor een definitieve IPSS-R scoring aanvullend FISH onderzoek [*RPN1-MECOM/EVI1*] noodzakelijk. U kunt een aanvraag hiertoe telefonisch (intern: 46215/ extern: 0622518960) of per e-mail ([genoomdiagnostiek@umcg.nl](mailto:genoomdiagnostiek@umcg.nl)) aan ons doorgeven.



\* Tabel: SNP Genotypes

| Cytoband         | CNV type                            | Chromosoom regio             | Lengte   | HM gerelateerde genen | Mozaïek % |
|------------------|-------------------------------------|------------------------------|----------|-----------------------|-----------|
| 2p13.1 - p11.2   | deletie                             | chr2:74,027,275-88,478,436   | 14.5 Mb  |                       | 90.0 %    |
| 2q11.1 - q12.1   | deletie                             | chr2:96,439,103-103,615,090  | 7.2 Mb   |                       | 98.7 %    |
| 2q14.1 - q14.3   | deletie                             | chr2:118,465,966-124,950,353 | 6.5 Mb   |                       | 87.8 %    |
| 5q22.1 - q35.2   | deletie                             | chr5:110,987,711-176,412,434 | 65.4 Mb  | <i>NPM1</i>           | 99.8 %    |
| 6p25.3 - p22.1   | deletie                             | chr6:1-27,379,440            | 27.4 Mb  |                       | 95.9 %    |
| 7p14.2 - q36.3   | deletie                             | chr7:36,241,910-159,138,663  | 122.9 Mb | <i>EZH2</i>           | 22.4 %    |
| 11p15.5 - q25    | duplicatie                          | chr11:1-135,006,516          | 135 Mb   | <i>HRAS, CCND1</i>    | 21.8 %    |
| 12p13.32 - p12.1 | deletie                             | chr12:4,769,353-21,699,394   | 16.9 Mb  | <i>ETV6</i>           | 59.9 %    |
| 15q21.2 - q22.1  | deletie                             | chr15:52,704,467-59,238,045  | 6.5 Mb   |                       | 21.7 %    |
| 17p13.3          | deletie                             | chr17:1-1,937,208            | 1.9 Mb   | <i>PRPF8</i>          | 59.1 %    |
| 17p13.1          | deletie                             | chr17:6,967,005-9,478,330    | 2.5 Mb   | <i>TP53</i>           | 76.8 %    |
| 18q11.1 - q23    | deletie                             | chr18:18,487,041-78,077,248  | 59.6 Mb  |                       | 5.0 %     |
| 21               | vele kleine deleties en duplicaties | gehele q-arm                 |          |                       |           |
| 22q11.1 - q11.23 | duplicatie                          | chr22:16,057,310-25,573,013  | 9.5 Mb   |                       | 53.9 %    |



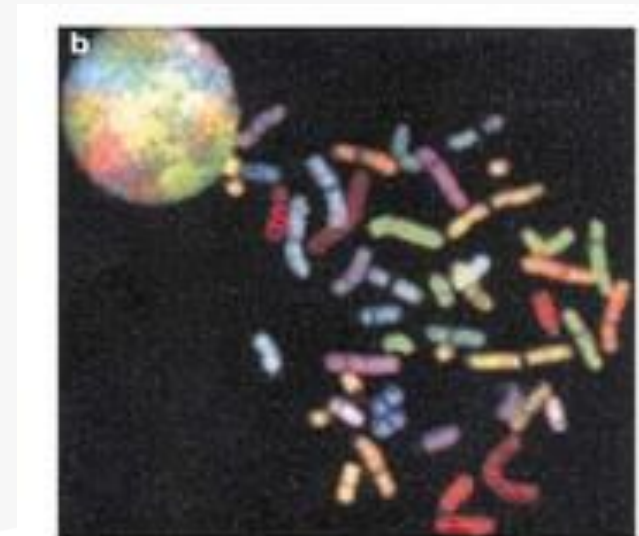
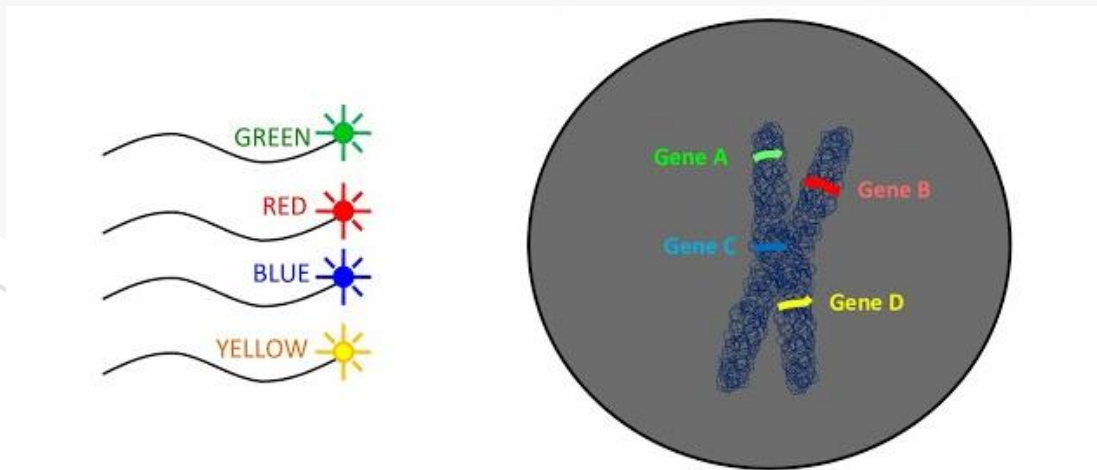
# Beperkingen SNP array

- Alleen winst/verlies en (homo-)zygotie analyse
- Geen gebalanceerde translocaties (fusies)
- Soms veel ruis = vanwege mengbeeld van alle klonen "op een hoop"



# FISH

- Probes gemaakt voor een specifieke DNA regio
  - Interfase FISH (uitstrijk, geen kweek)
  - Metafase FISH (na kweek)



umcg

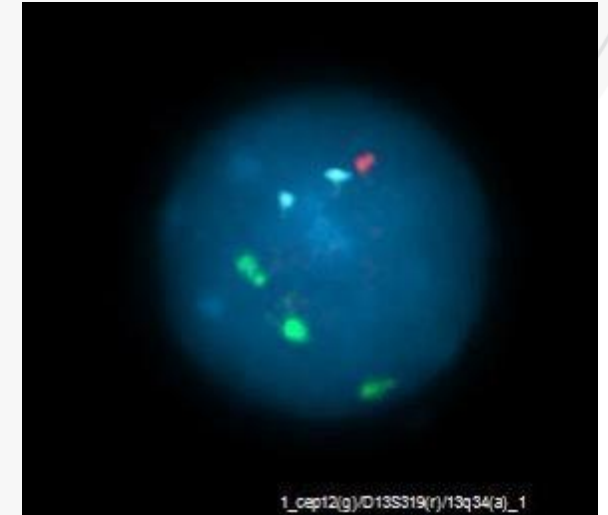
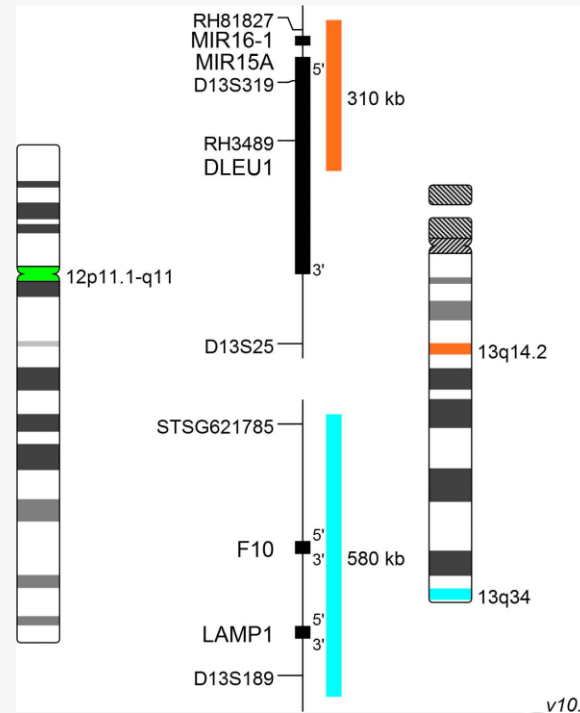
# (spoed)FISH

- Aanvullende test die gebruikt wordt bij meerdere indicaties:
  - *KMT2A* breuken bij acute leukemie
  - *MECOM* breuken bij een MDS alleen met de array gedaan
  - *IGH* breuken bij CLL/MM/amyloidose
  - *TP53* deleties
- Fast FISH voor t(15;17) *PML::RARA* (aangevuld met chromosomenonderzoek)



# FISH

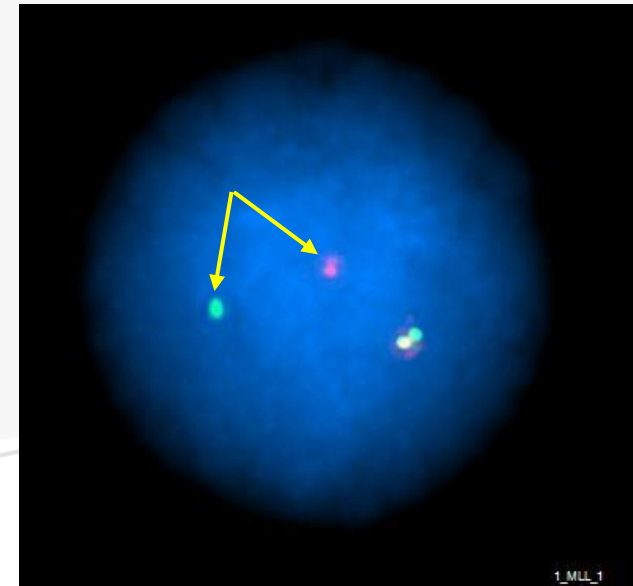
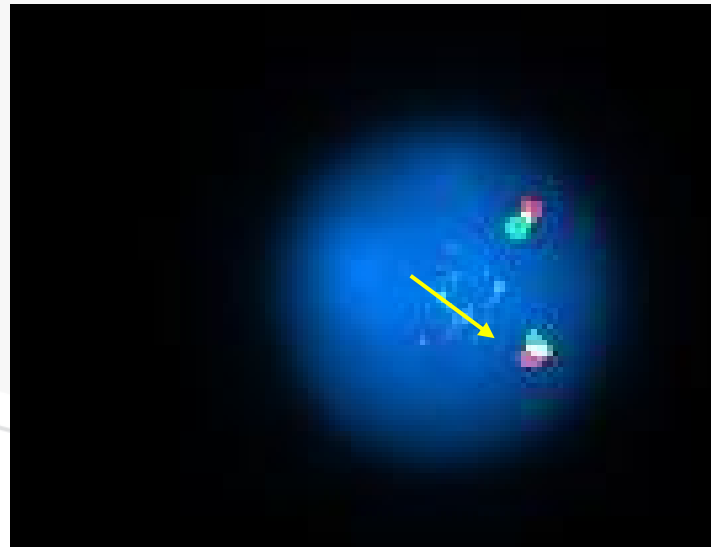
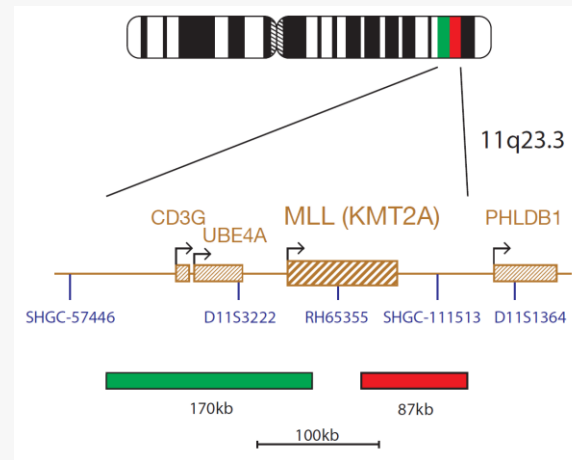
- Type probes
  - Centromere probes
  - Deletie probes
  - Break apart probes
  - Fusion probes





# FISH

- Type probes
  - Centromere probes
  - Deletie probes
  - Break apart probes
  - Fusion probes



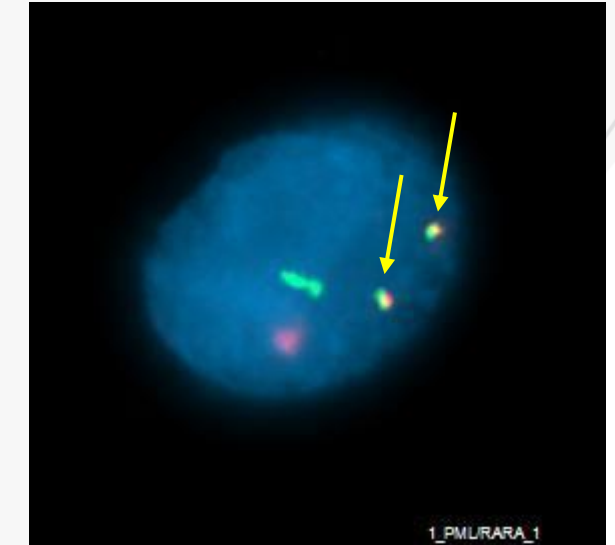
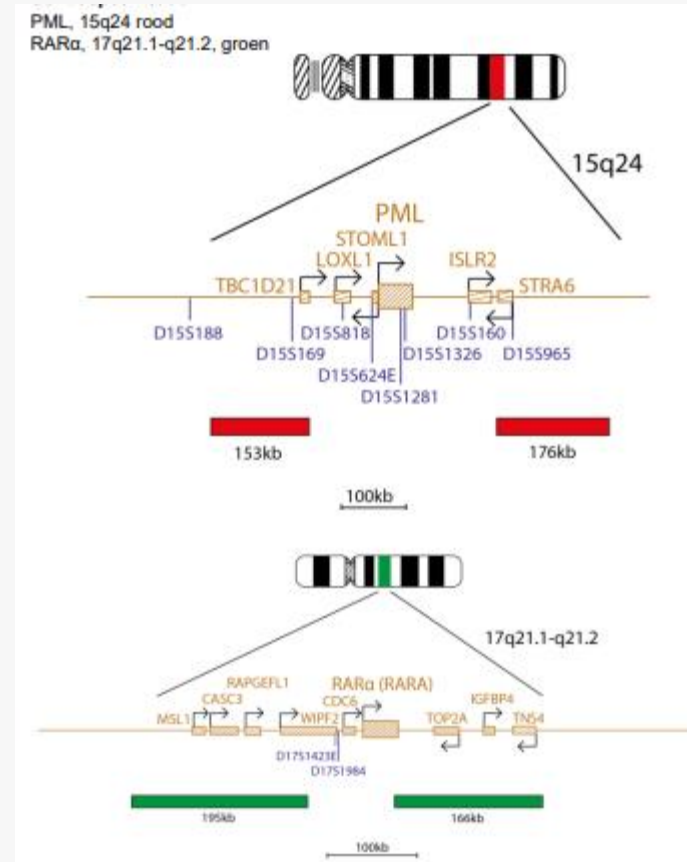
nuc ish(KMT2Ax2)(5'KMT2A sep 3'KMT2Ax1)[90/100]



umcg

# FISH

- Type probes
  - Centromere probes
  - Deletie probes
  - Break apart probes
  - Fusion probes



# FISH: rapportage

## Uitslag Genoomdiagnostiek

Startdatum 20-05-2019  
Indicatie APL  
Materiaal Beenmerg (M18869), ontvangen op 20-05-2019  
Test/techniek FISH (20190478)

## Resultaat

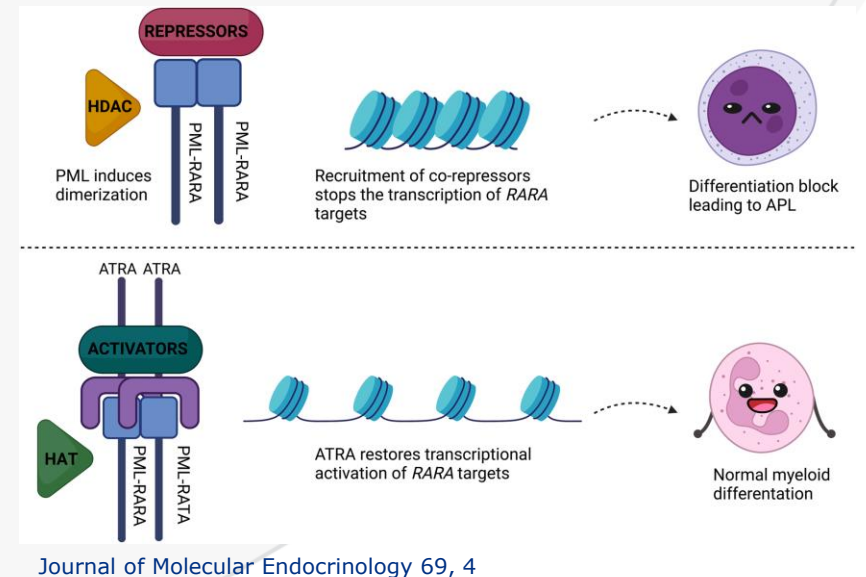
nuc ish(PML,RARA)x3(PML con RARA)x2][80/100]

## Conclusie

Met FISH probes<sup>[1]</sup> voor chromosoom 15q24.1 en 17q21 werd in 80 van de 100 onderzochte kernen van een beenmerguitstrijkje het dubbelfusiepatroon gezien duidend op een translocatie tussen de lange armen van chromosoom 15 en 17, passend bij AML met t(15;17)(q22~24;q21) [*PML-RAR $\alpha$* ] en varianten met een gunstige prognose. De klinische verdenking is hiermee bevestigd.

De uitslag van het FISH onderzoek werd d.d. 20-05-2019 jl. telefonisch aan u(w collega) doorgegeven.

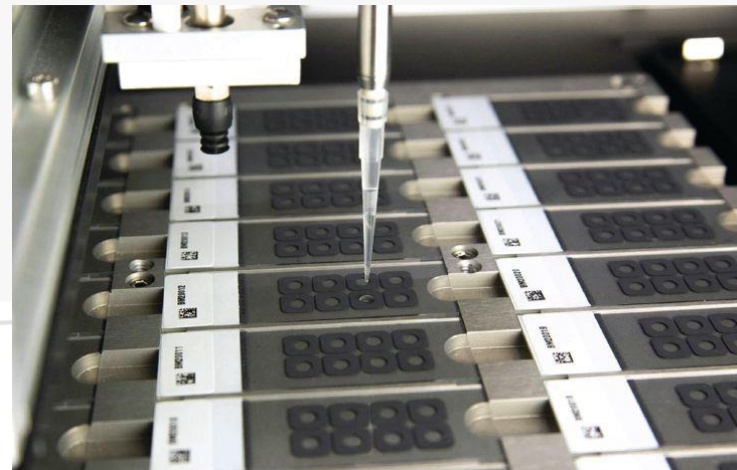
De uitslag van het chromosomenonderzoek in de celkweek ontvangt u separaat.



umcg

# Beperkingen FISH

- Je kunt alleen specifieke afwijkingen/genen onderzoeken
  - Specifieke vraagstelling en niet genombreed
- Probes moeten beschikbaar zijn
- Niet high-throughput, bewerkelijk
  - CellWriter: meerdere FISH experimenten geautomatiseerd



umcg

# De toekomst van hemato-oncologische Genoomdiagnostiek

## Diagnostiek

### Chromosomenonderzoek

- Genoombreed
- Kan zowel numerieke als structurele afwijkingen opsporen
- Lage resolutie
- Bewerkelijk

### SNP array

- Genoombreed
- Goede resolutie
- Kan alleen winst/verlies bepalen

### FISH

- Niet genoombreed
- Zowel numerieke als structurele afwijkingen
- Goede resolutie, maar specifiek



# De toekomst van hemato-oncologische Genoomdiagnostiek

## One test fits (almost) all?

### Diagnostiek

#### Chromosomenonderzoek

- Genoombreed
- Kan zowel numerieke als structurele afwijkingen opsporen
- Lage resolutie
- Bewerkelijk

#### FISH

- Genoombreed
- Kan zowel numerieke als structurele afwijkingen opsporen
- Goede resolutie, maar

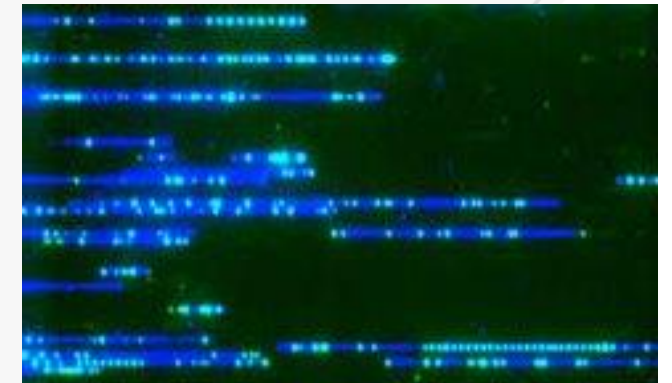
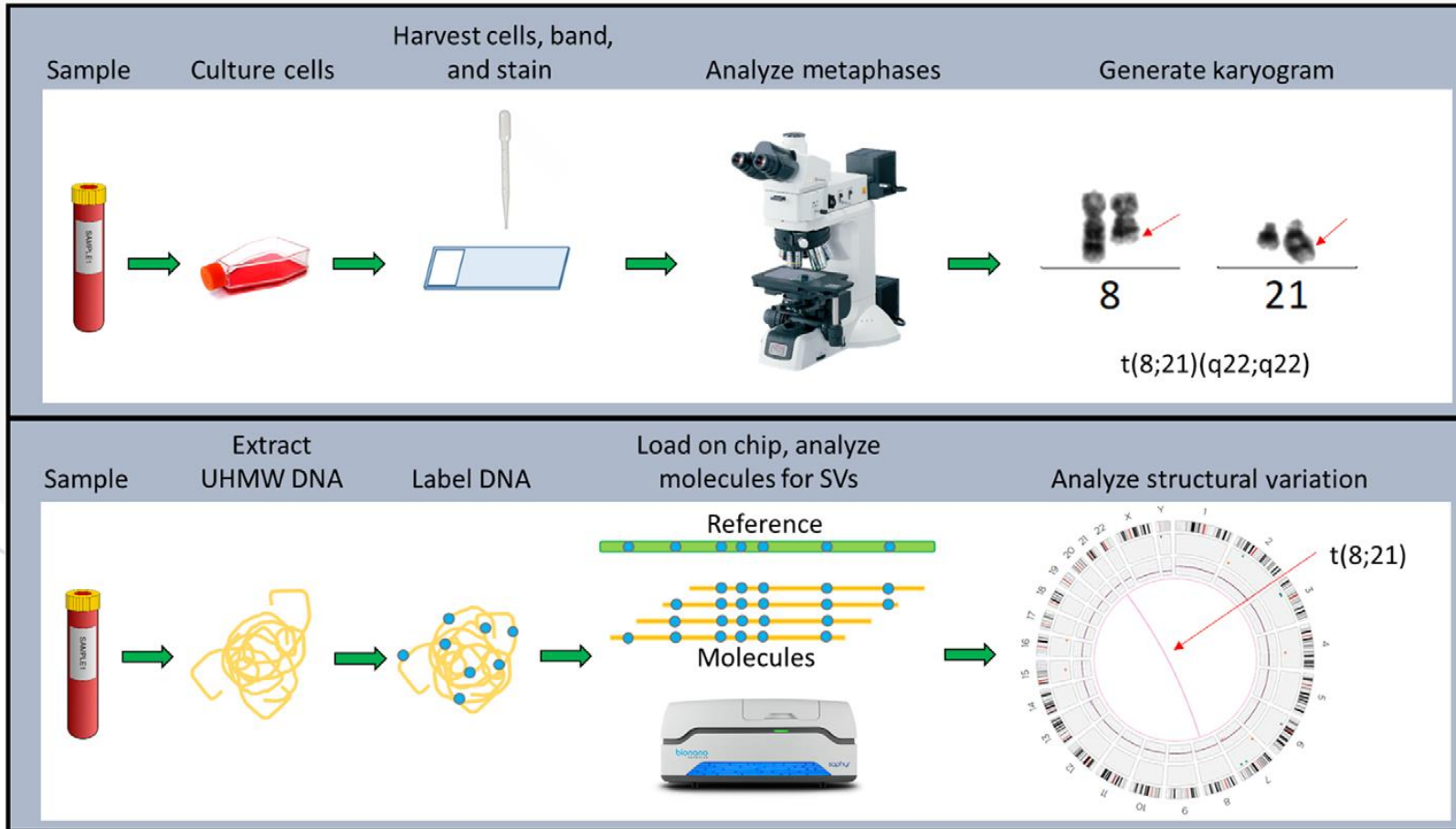
### Optical Genome Mapping

"the best of both world's"

- ✓ Genoombreed
- ✓ Goede resolutie
- ✓ Numerieke en structurele afwijkingen
- ✓ Minder bewerkelijk
- ✓ Geen kweek nodig



# Optical Genome Mapping



umcg

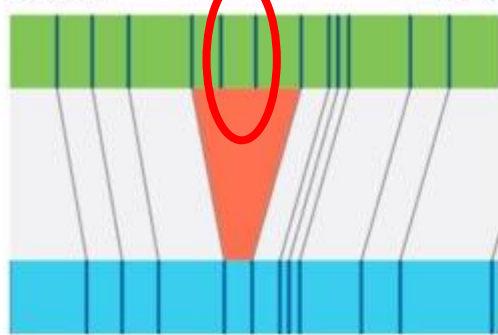
# Optical Genome Mapping

## Structural Variation Types

Twee labels ontbreken

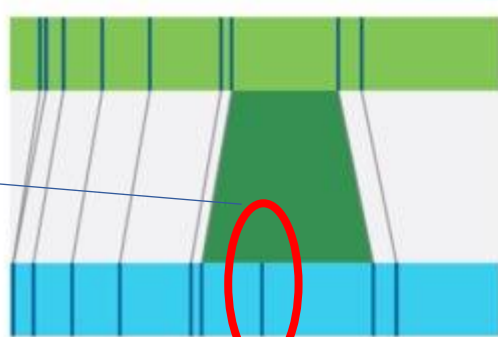
GAIN/LOSS

Deletion > 500 bp



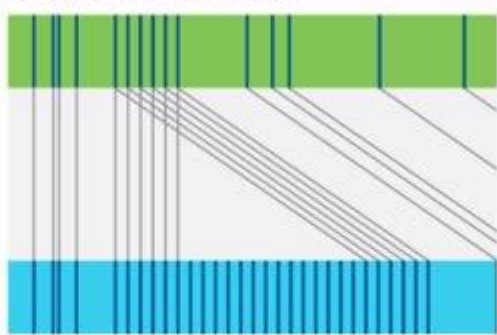
Een label erbij

Insertion > 500 bp

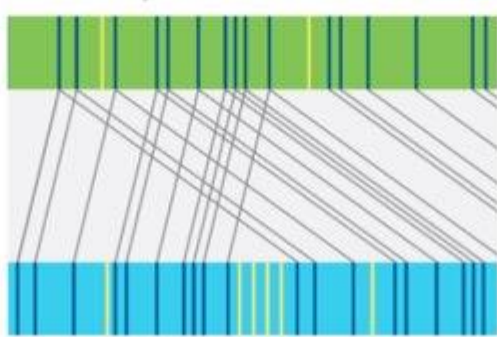


COPY NUMBER CHANGE

Repeat array expansion

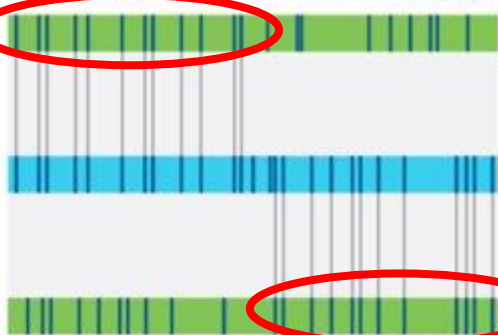


Tandem Duplication > 30 kb



BALANCED

Translocation > 50 kb



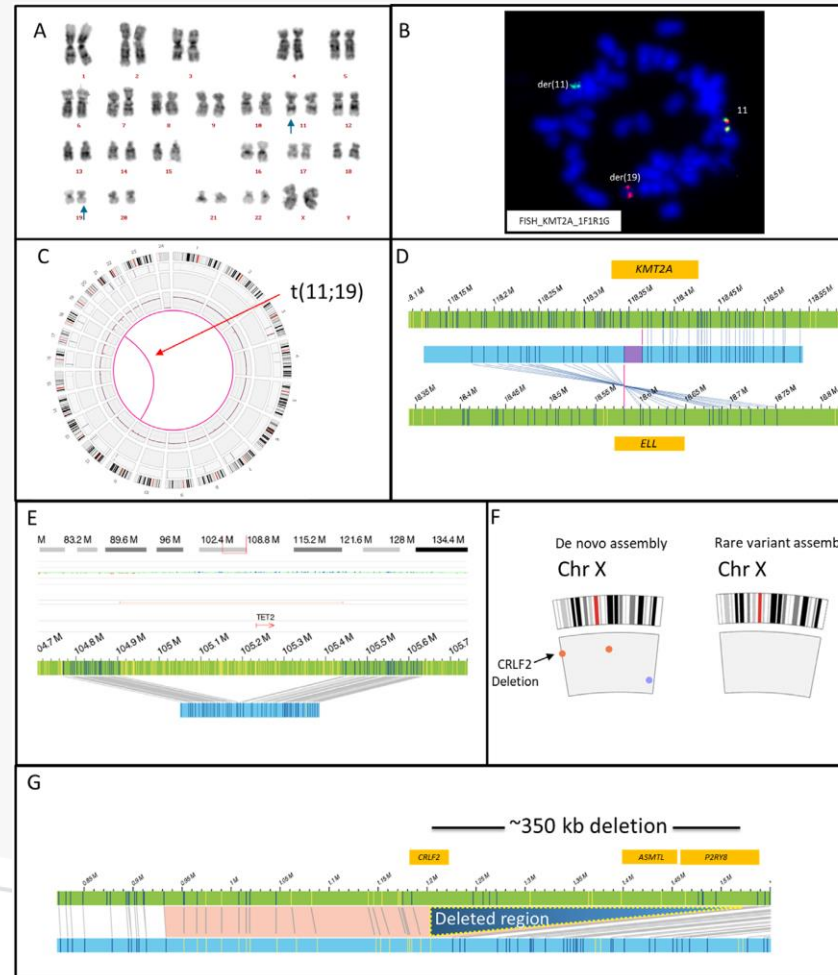
Mengbeeld labels van verschillende chromosomen; boven chrA en beneden chrB



umcg



# Een compleet plaatje cytogenomisch onderzoek...



# Kwaliteitsborging



Afdeling genetica, sectie genoom diagnostiek, M085

[Universitair Medisch Centrum Groningen,](#)

- Ringonderzoeken



**umcg**

Dank aan collega's genomdiagnostiek en dank aan JULLIE....

VRAGEN?



Voor de dienstdoende labspecialist:  
[genomdiagnostiek@umcg.nl](mailto:genomdiagnostiek@umcg.nl)



Vragen voor mij:  
[e.van.den.berg-de.ruiter@umcg.nl](mailto:e.van.den.berg-de.ruiter@umcg.nl)  
[s.z.jan@umcg.nl](mailto:s.z.jan@umcg.nl)  
[a.buijs01@umcg.nl](mailto:a.buijs01@umcg.nl)  
[a.g.bosga@umcg.nl](mailto:a.g.bosga@umcg.nl)



Nadere informatie:  
[Afdeling Genetica \(umcg.nl\)](http://Afdeling%20Genetica%20(umcg.nl))  
[www.hematologiegroningen.nl](http://www.hematologiegroningen.nl)



**umcg**