

Score cytogénétique et maladie résiduelle

Jill Corre

Biologiste au CHU Toulouse

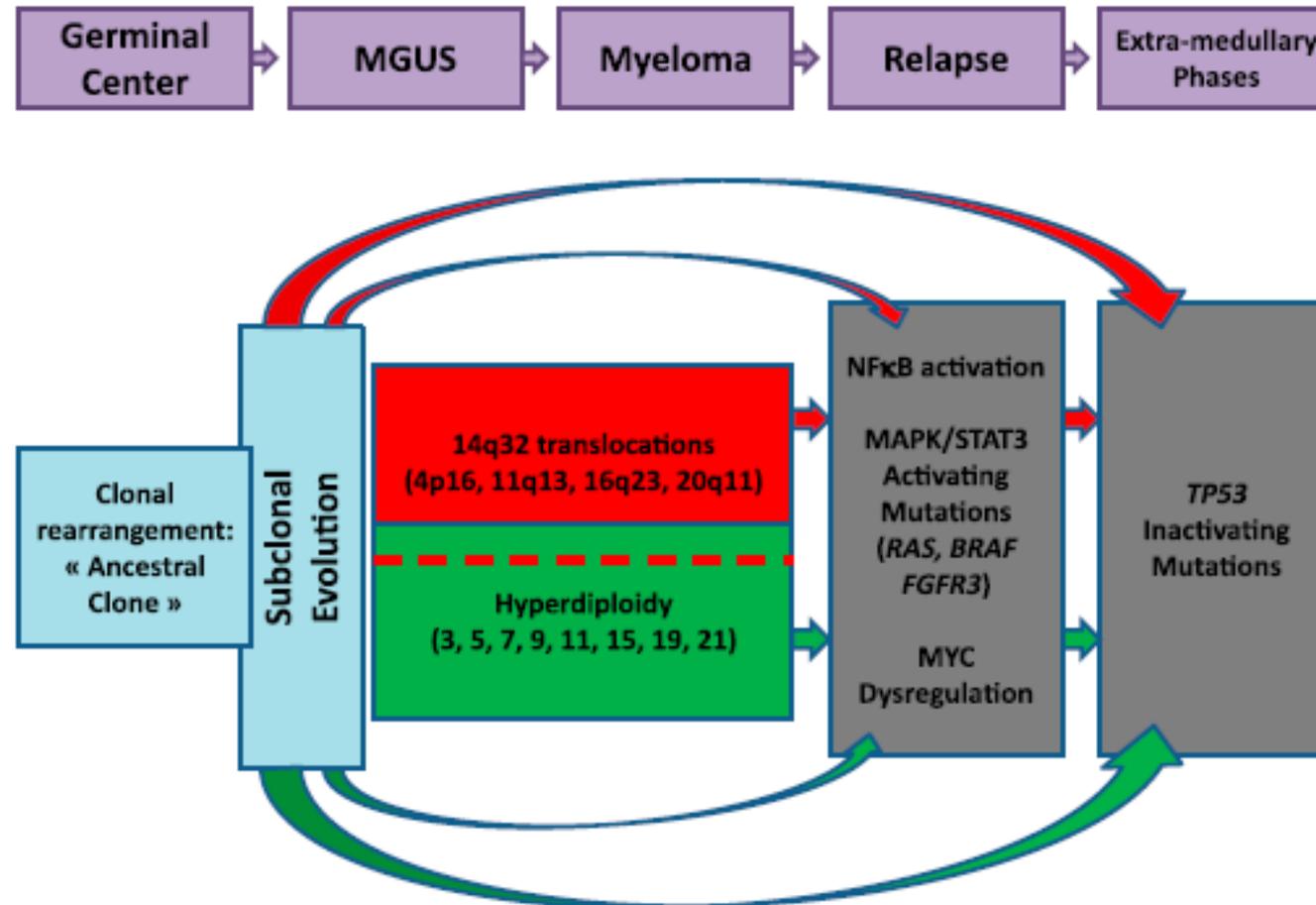
Score cytogénétique
et
maladie résiduelle

- **Pronostic hétérogène +++ :**
De quelques mois...
... à plus de 20 ans (et quelques guérisons)
- **Nombre de médicaments actifs actuellement disponibles : une évaluation précise du risque est indispensable**
- **Développement de protocoles cliniques dédiés aux patients de haut risque**

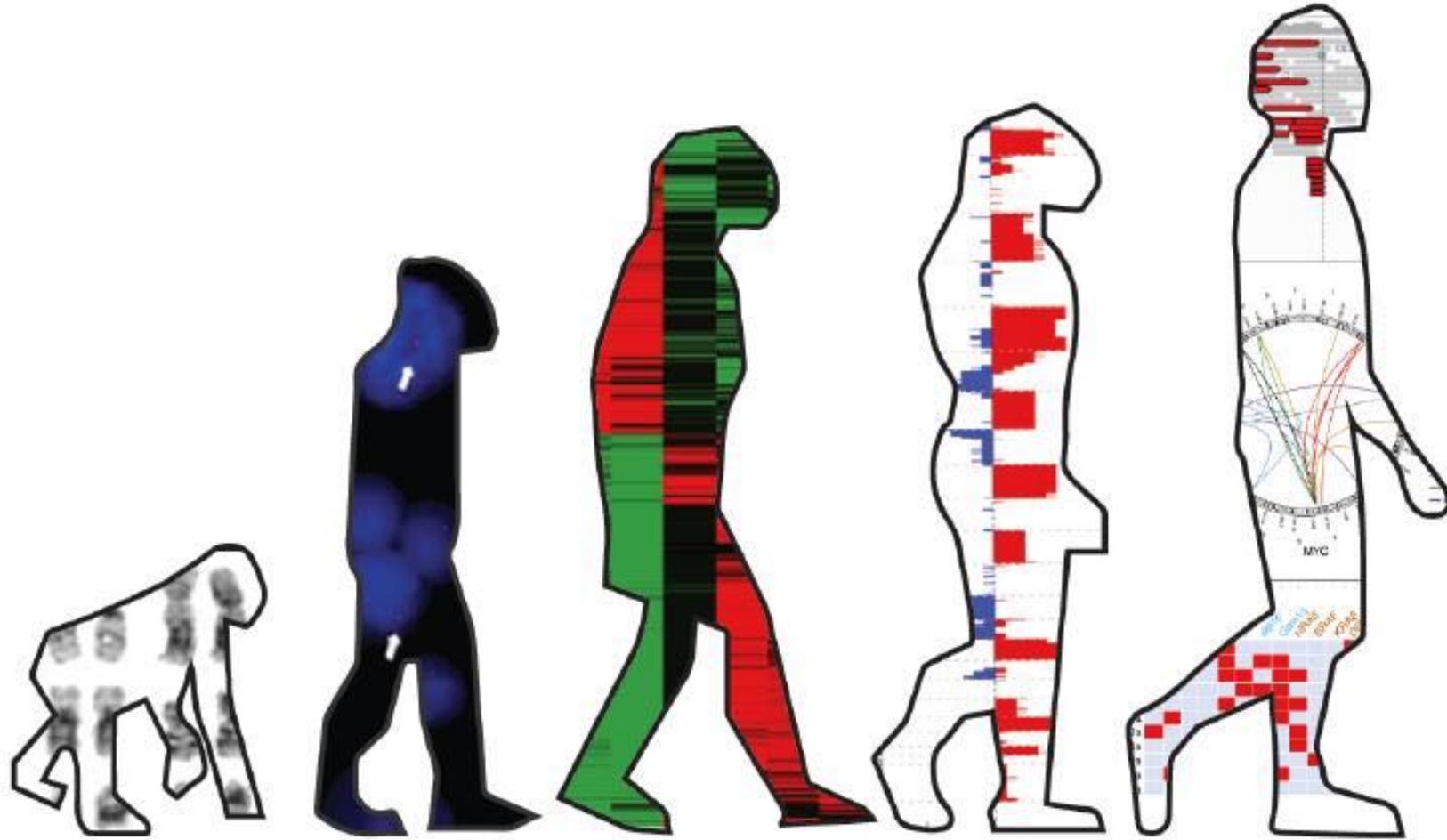
De nombreux facteurs pronostiques peuvent nous aider à évaluer le risque de myélome multiple (liste non exhaustive)

Facteurs liés au patient	Age
	Comorbidités
Facteurs liés à la masse tumorale	Anémie
	Thrombopénie
	β 2-microglobuline sérique
	Lactate-déshydrogénases sériques
Facteurs cellulaires intrinsèques	Anomalies cytogénétiques et moléculaires
	Indice de prolifération plasmocytaire
	Présentation leucémique
	Composante extramédullaire
Facteurs mixtes	Hypoalbuminémie
	Insuffisance rénale
	Profondeur et durée de la réponse au traitement

Modèle oncogénique du myélome: 2 voies distinctes, souvent exclusives



Anomalies génétiques : bref point sur les techniques

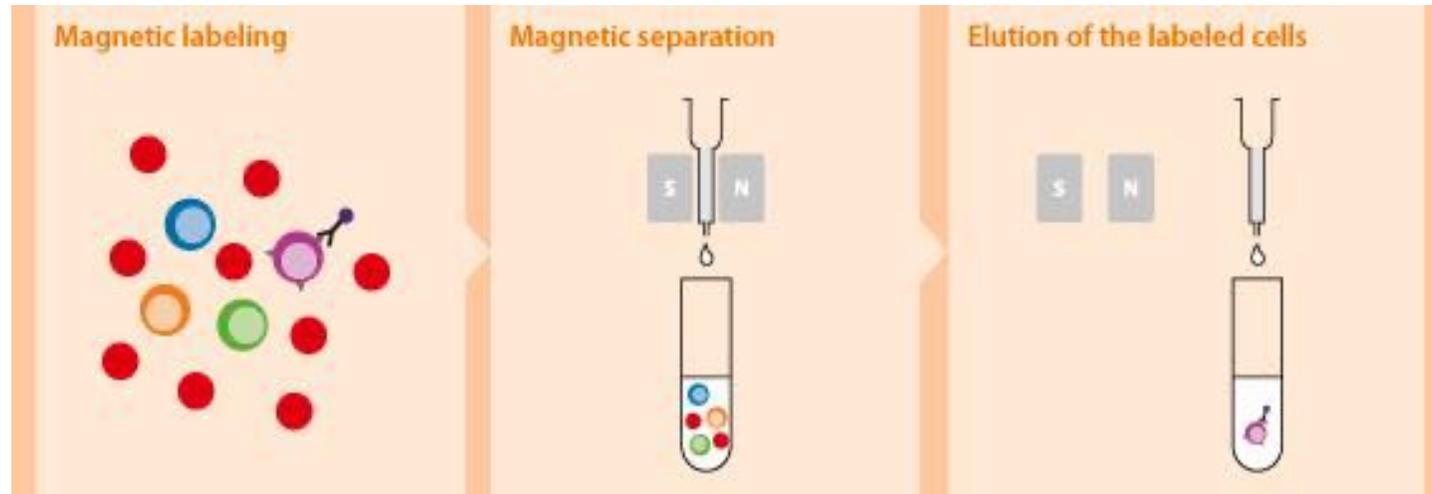


Un bref point sur les techniques

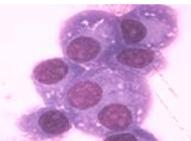
Les plasmocytes doivent être triés !!



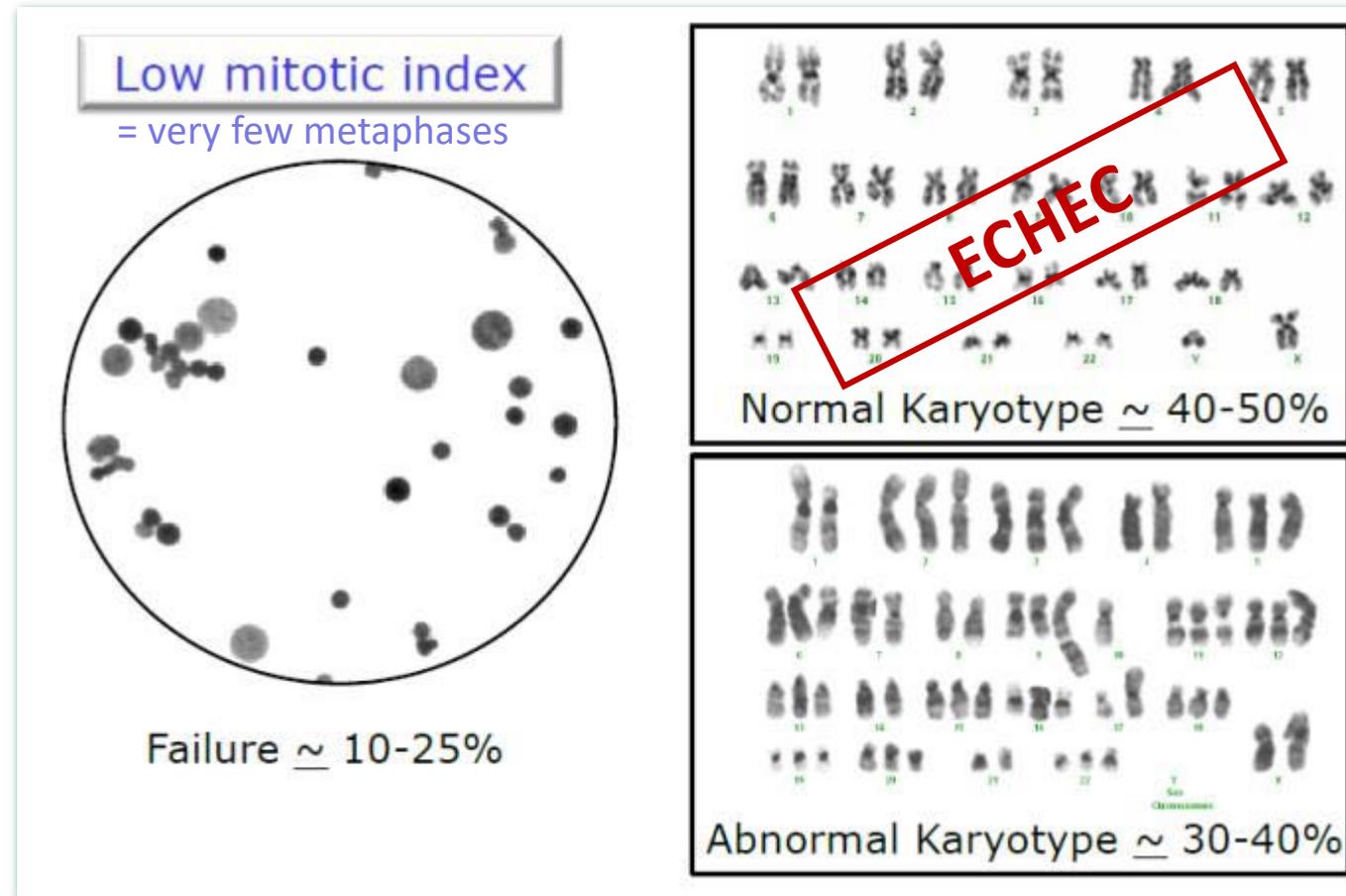
exemple :AutoMACS Miltenyi



contrôle de la pureté plasmocytaire



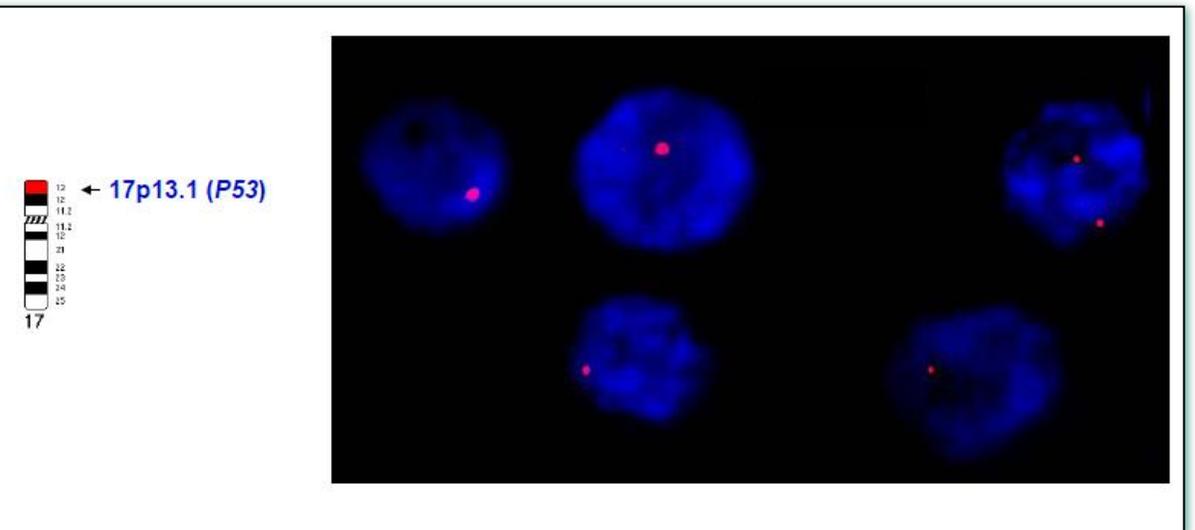
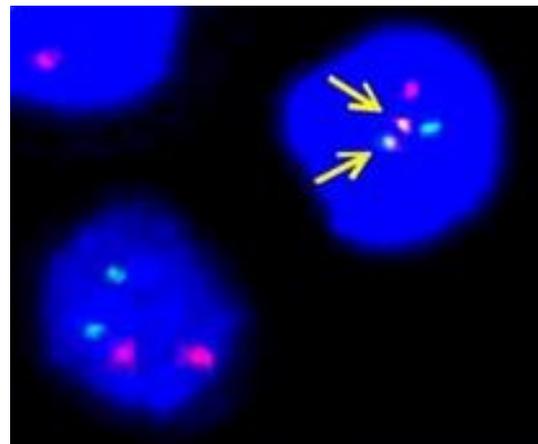
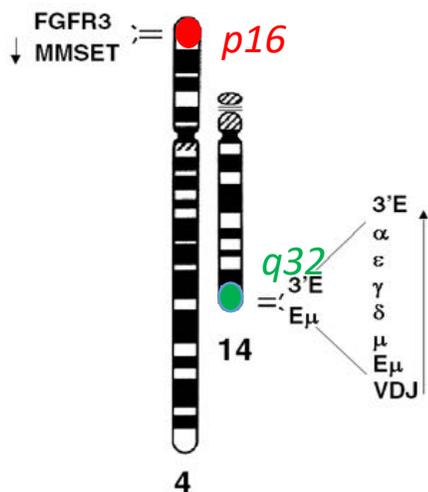
Pourquoi la cytogénétique conventionnelle (caryotype) n'est pas adaptée au myélome ?



Or caryotype anormal dans presque tous les MM selon les analyses génomiques

Détection des anomalies chromosomiques par FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

- Possibilité d'aller détecter une anomalie chromosomique en particulier, grâce à une sonde spécifique
- N'informe QUE sur les sondes choisies
- Pas de métaphases requises
- Haute résolution, rapide (3 jours)



NGS (Next Generation Sequencing) = séquençage « haut débit »

- Approche massive et parallèle (« multiplex »)
 - séquençage de centaines de milliers de fragments simultanément
 - production de millions de séquences en un « run » donc coût réduit
- Séquençage **ciblé*** grâce à un panel** qui inclue :
 - 246 gènes le plus souvent mutés dans le MM : PROFIL MUTATIONNEL
 - 2358 SNPs*** : ANOMALIES DE NOMBRE (gains, délétions, trisomies, monosomies...)
 - séquence IGH : TRANSLOCATIONS14q32

* Whole Genome Sequencing : 3000 MB

Whole Exome Sequencing : 70MB

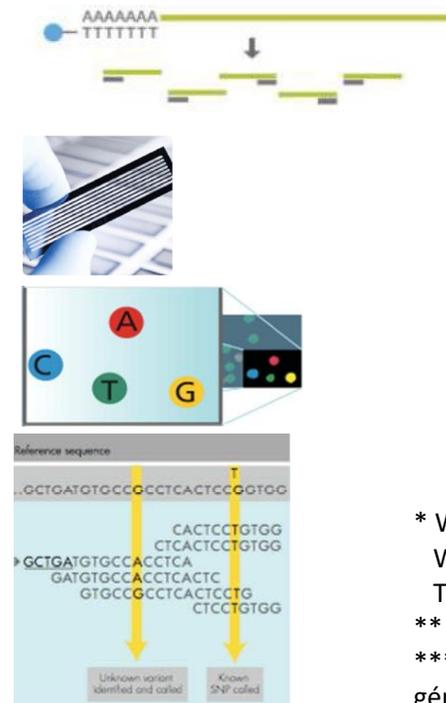
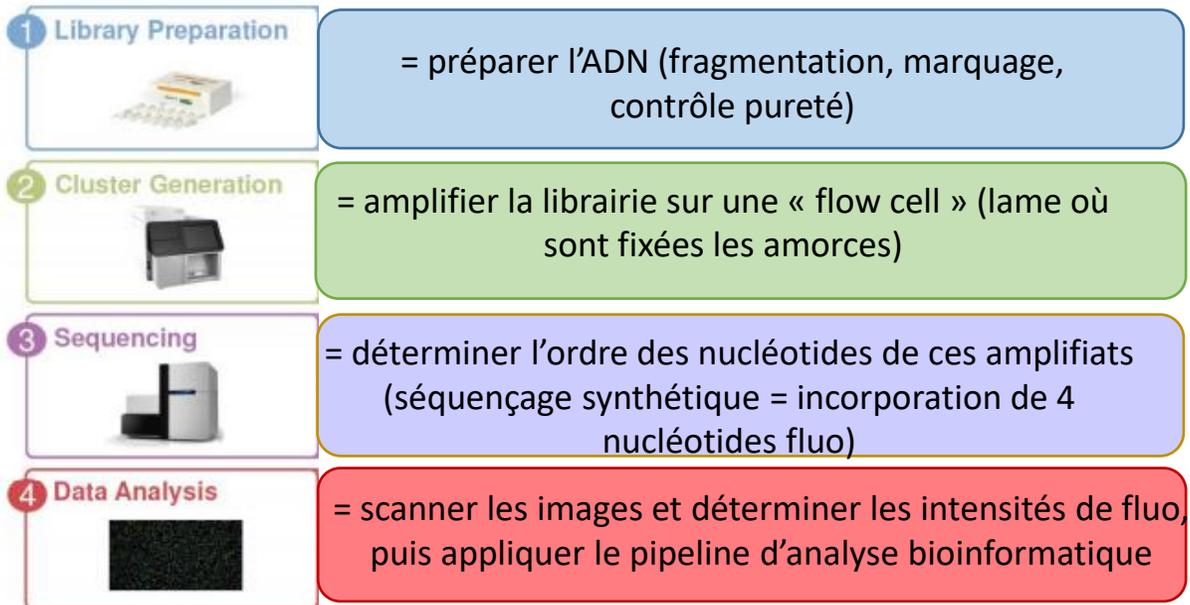
Targeted Sequencing : 3MB

** Bolli N. et al, Blood Cancer J 2016

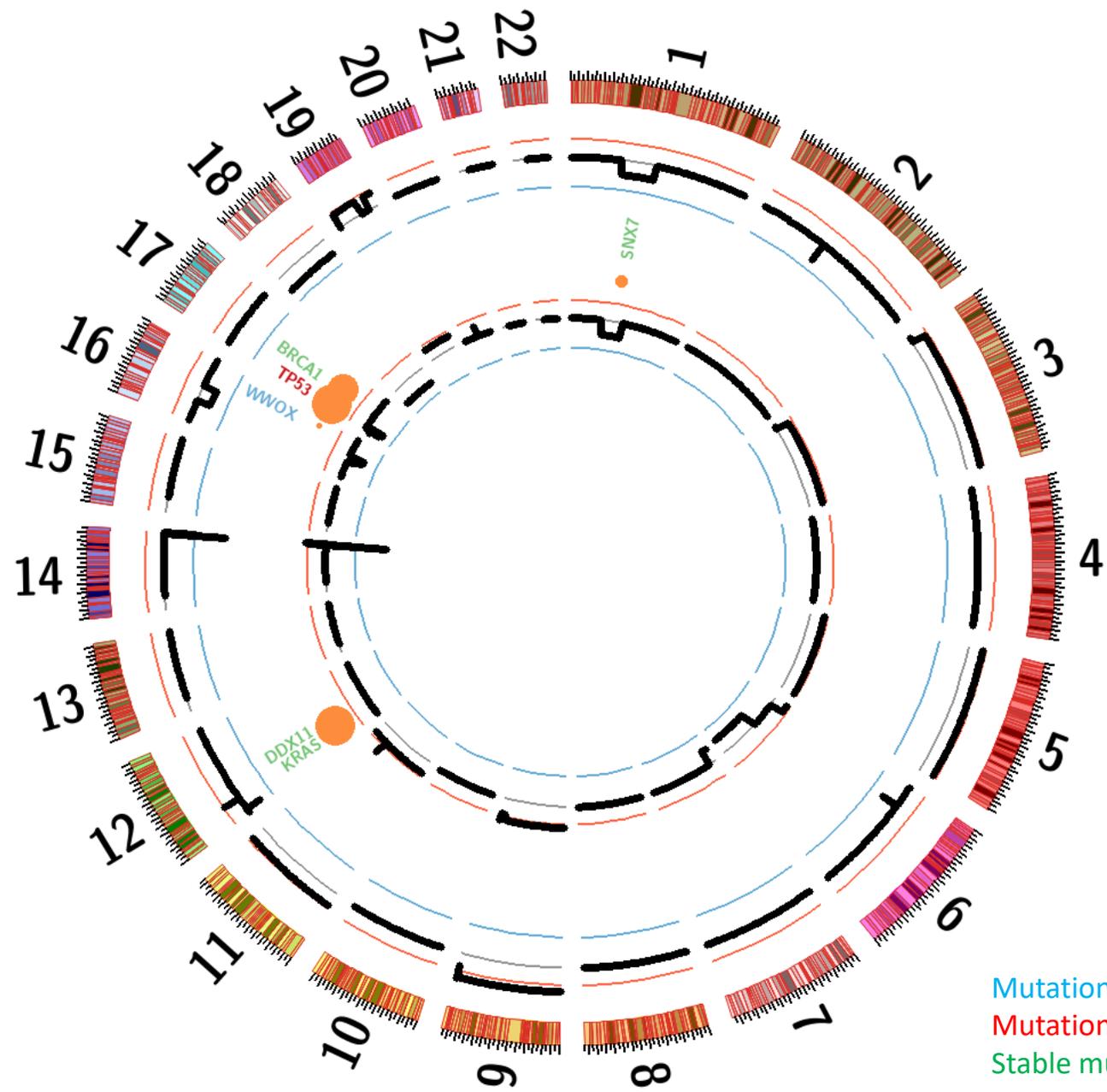
*** Single Nucleotide Polymorphism : petits fragments d'ADN du génome humain où l'on sait que se trouvent de multiples allèles

NGS (Next Generation Sequencing) = séquençage « haut débit »

- Approche massive et parallèle (« multiplex »)
 - séquençage de centaines de milliers de fragments simultanément
 - production de millions de séquences en un « run » donc coût réduit
- Séquençage **ciblé*** grâce à un panel** qui inclue :
 - 246 gènes le plus souvent mutés dans le MM : PROFIL MUTATIONNEL
 - 2358 SNPs*** : ANOMALIES DE NOMBRE (gains, délétions, trisomies, monosomies...)
 - séquence IGH : TRANSLOCATIONS14q32



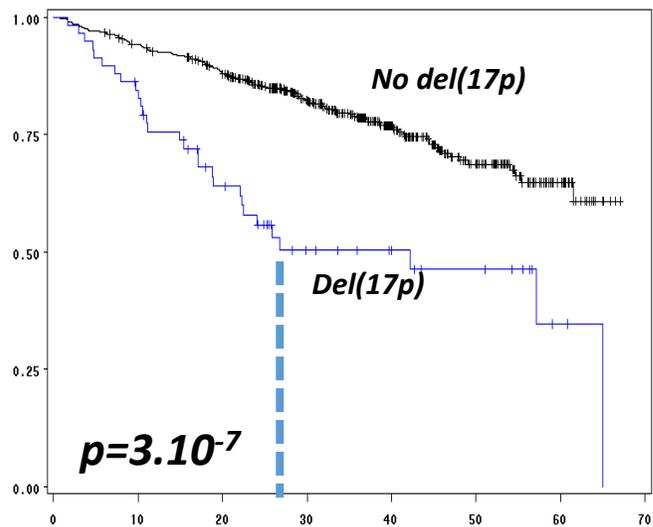
* Whole Genome Sequencing : 3000 MB
Whole Exome Sequencing : 70MB
Targeted Sequencing : 3MB
** Bolli N. et al, Blood Cancer J 2016
*** Single Nucleotide Polymorphism : petits fragments d'ADN du génome humain où l'on sait que se trouvent de multiples allèles



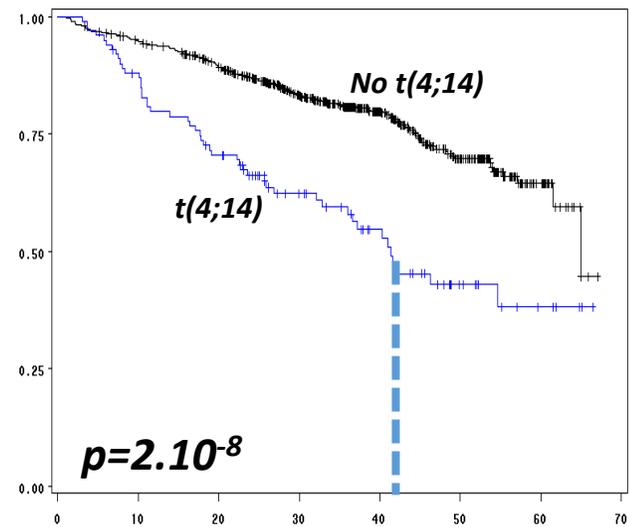
Mutations present only at diagnosis
Mutations present only at relapse
Stable mutations

Quels sont les facteurs pronostiques du myélome ?

Del(17p): 8% of patients
Prognostic cutoff ($\approx 55\%$)



t(4;14): 15% of patients



ISS

Prognostic Factor	Criteria
ISS stage	
I	Serum β_2 -microglobulin < 3.5 mg/L, serum albumin \geq 3.5 g/dL
II	Not ISS stage I or III
III	Serum β_2 -microglobulin \geq 5.5 mg/L

ISS – Révisé : ajout LDH et cytogénétique

Prognostic Factor	Criteria
ISS stage	
I	Serum β_2 -microglobulin < 3.5 mg/L, serum albumin \geq 3.5 g/dL
II	Not ISS stage I or III
III	Serum β_2 -microglobulin \geq 5.5 mg/L
CA by iFISH	
High risk	Presence of del(17p) and/or translocation t(4;14) and/or translocation t(14;16)
Standard risk	No high-risk CA
LDH	
Normal	Serum LDH < the upper limit of normal
High	Serum LDH > the upper limit of normal

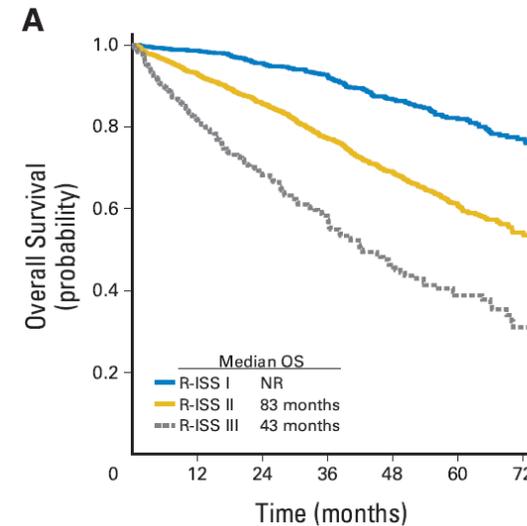
ISS – Révisé : ajout LDH et cytogénétique

Prognostic Factor	Criteria
ISS stage	
I	Serum β_2 -microglobulin < 3.5 mg/L, serum albumin \geq 3.5 g/dL
II	Not ISS stage I or III
III	Serum β_2 -microglobulin \geq 5.5 mg/L
CA by iFISH	
High risk	Presence of del(17p) and/or translocation t(4;14) and/or translocation t(14;16)
Standard risk	No high-risk CA
LDH	
Normal	Serum LDH < the upper limit of normal
High	Serum LDH > the upper limit of normal

A new model for risk stratification for MM

R-ISS stage

I	ISS stage I and standard-risk CA by iFISH and normal LDH
II	Not R-ISS stage I or III
III	ISS stage III and either high-risk CA by iFISH or high LDH



→ IMWG
(International Myeloma Working Group)

Peut-on faire mieux que l'IMWG ?

→ Proposition de l'IFM pour mieux définir le risque cytogénétique :

Analyse de \approx 1000 SNParrays

Patients au diagnostic traités de façon homogène, avec un long suivi

Analyse multivariée de toutes les anomalies récurrentes

Construction et validation d'un modèle pronostique

Factors	Hazard Ratio (HR) estimates	95%CI of HR	P-value
t(4;14)	1.50	[1.16 ; 1.95]	0.0023
Del(17p)	3.21	[2.44 ; 4.22]	<.0001
Trisomy 5	0.71	[0.56 ; 0.90]	0.0046
Trisomy 21	1.41	[1.09 ; 1.81]	0.0078
Gain1q	1.64	[1.34 ; 2.01]	<.0001
Del(1p32)	2.21	[1.71 ; 2.87]	<.0001

Score cytogénétique de l'IFM

Le modèle final a retenu 6 anomalies cytogénétiques indépendantes :

- Trisomy 5 → -0.3
- Trisomy 21 → 0.3
- t(4;14) → 0.4
- 1q gain → 0.5
- del(1p32) → 0.8
- del(17p) → 1.2

coefficient spécifique = valeur
pronostique pondérée

del17p
trisomy 21
t(4;14) del1p32
trisomy 5 gain1q

Score cytogénétique de l'IFM

Le modèle final a retenu 6 anomalies cytogénétiques indépendantes :

- Trisomy 5 → -0.3
- Trisomy 21 → 0.3
- t(4;14) → 0.4
- 1q gain → 0.5
- del(1p32) → 0.8
- del(17p) → 1.2

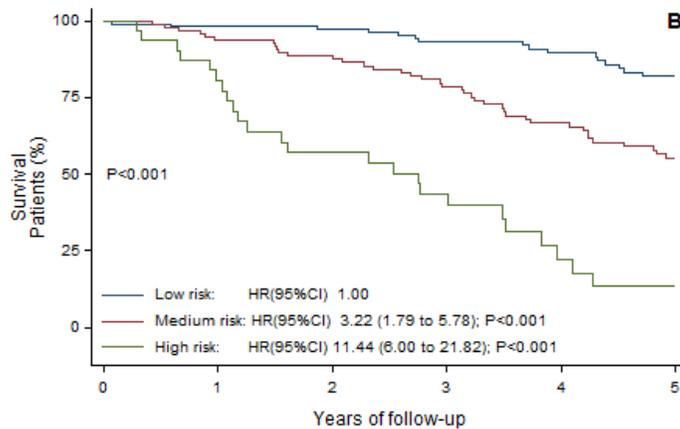
coefficient spécifique = valeur pronostique pondérée

del17p
trisomy 21
t(4;14)
trisomy 5 del1p32
gain1q

Score ≤ 0 : Risque faible (≈55%)

Score > 0 & < 1 : Risque intermédiaire (≈30%)

Score ≥ 1 : Risque élevé (≈15%)



Score cytogénétique de l'IFM

Le modèle final a retenu 6 anomalies cytogénétiques indépendantes :

- Trisomy 5 → -0.3
- Trisomy 21 → 0.3
- t(4;14) → 0.4
- 1q gain → 0.5
- del(1p32) → 0.8
- del(17p) → 1.2

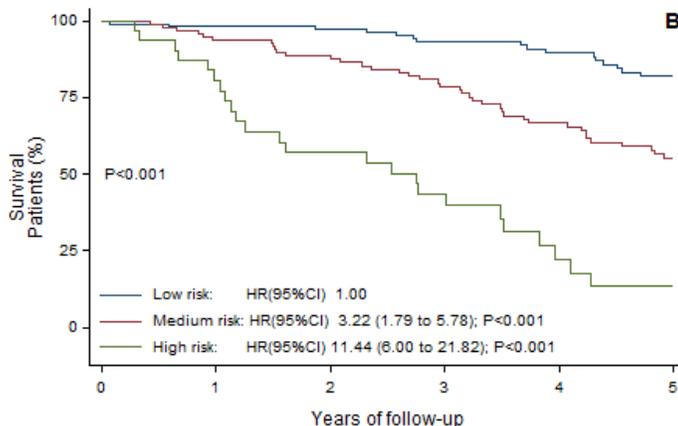
coefficient spécifique = valeur pronostique pondérée

del17p
 trisomy 21
 t(4;14)
 trisomy 5
 del1p32
 gain1q

Score ≤ 0 : Risque faible (≈55%)

Score > 0 & < 1 : Risque intermédiaire (≈30%)

Score ≥ 1 : Risque élevé (≈15%)



Index C de Harrell = capacité discriminante des modèles pronostiques

- Probabilité de **concordance** entre la survie estimée par le score et la survie observée en réalité
- Varie de **0,5** (non informatif) à **1** (prédiction parfaite)

Score IFM	0.70
ISS	0.56
R-ISS	0.55

Score cytogénétique de l'IFM

Le modèle final a retenu 6 anomalies cytogénétiques indépendantes :

- Trisomy 5 → -0.3
- Trisomy 21 → 0.3
- t(4;14) → 0.4
- 1q gain → 0.5
- del(1p32) → 0.8
- del(17p) → 1.2

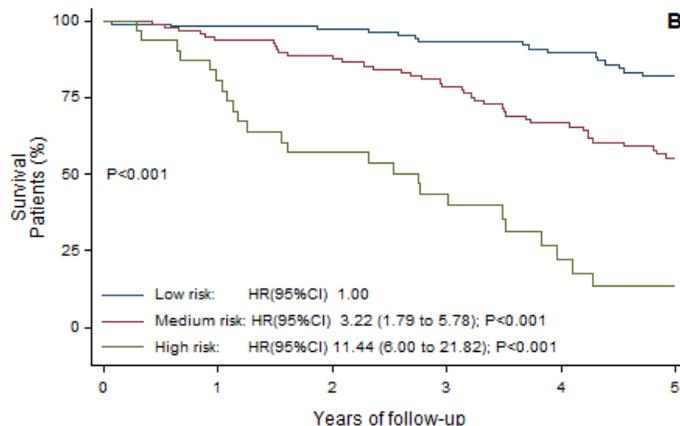
coefficient spécifique = valeur pronostique pondérée

del17p
 trisomy 21
 t(4;14)
 trisomy 5
 del1p32
 gain1q

Score ≤ 0 : Risque faible (≈55%)

Score > 0 & < 1 : Risque intermédiaire (≈30%)

Score ≥ 1 : Risque élevé (≈15%)



Index C de Harrell = capacité discriminante des modèles pronostiques

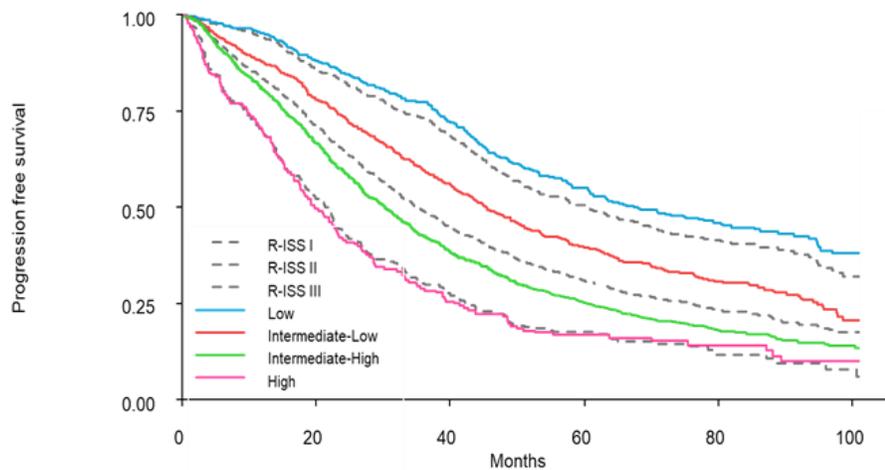
- Probabilité de **concordance** entre la survie estimée par le score et la survie observée en réalité
- Varie de **0,5** (non informatif) à **1** (prédiction parfaite)

Score IFM	0.70
ISS	0.56
R-ISS	0.55

Score “R2-ISS” de l’European Myeloma Network (EMN)...

EMN R2-ISS:

Risk marker	Score value
ISS II	1
ISS III	1.5
Deletion 17p	1
High LDH	1
t(4;14)	1
1q CNA	0.5
Group	Total additive score
Low	0
Low-Intermediate	0.5-1
Intermediate-High	1.5-2.5
High	3-5

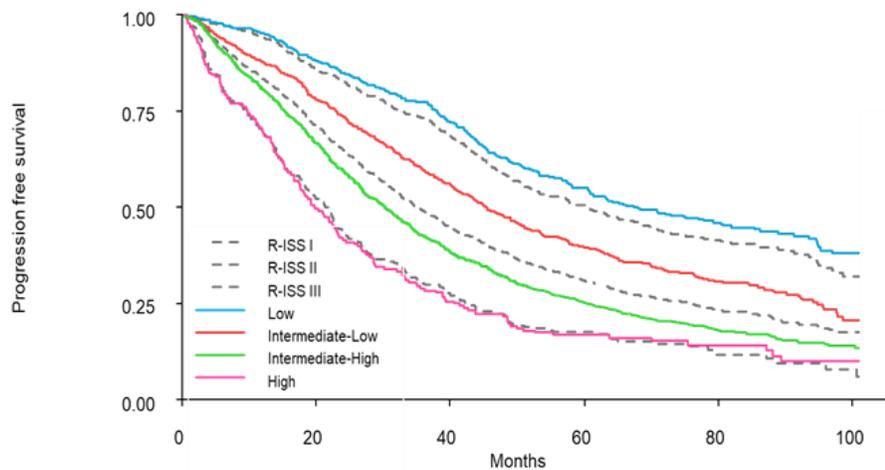


D'Agostino et al, ASH 2020

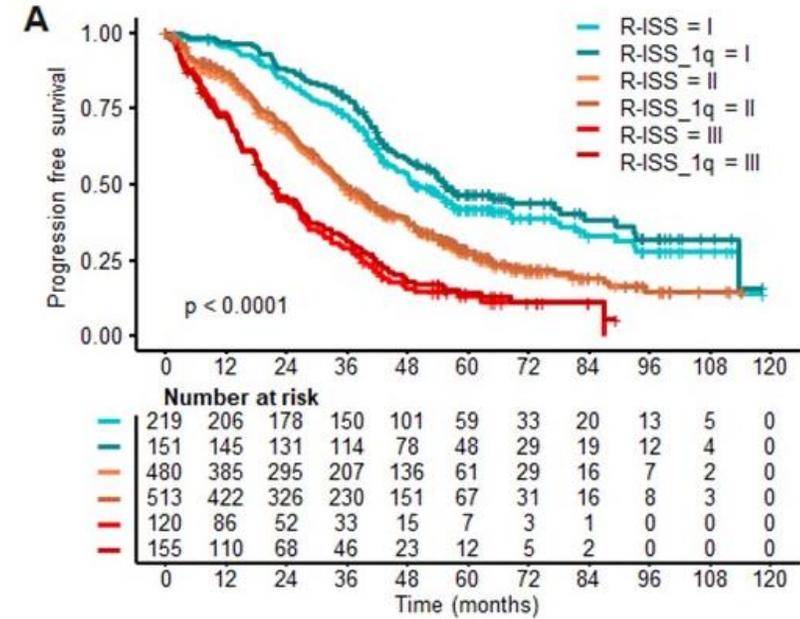
...et score R-ISS 1q

EMN R2-ISS:

Risk marker	Score value
ISS II	1
ISS III	1.5
Deletion 17p	1
High LDH	1
t(4;14)	1
1q CNA	0.5
Group	Total additive score
Low	0
Low-Intermediate	0.5-1
Intermediate-High	1.5-2.5
High	3-5

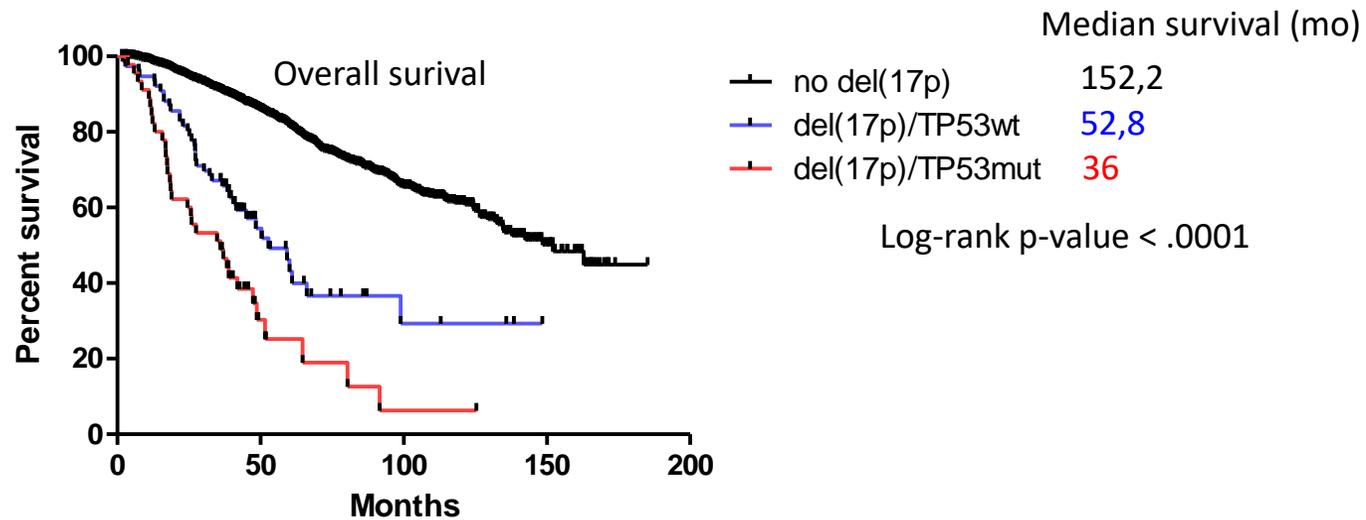
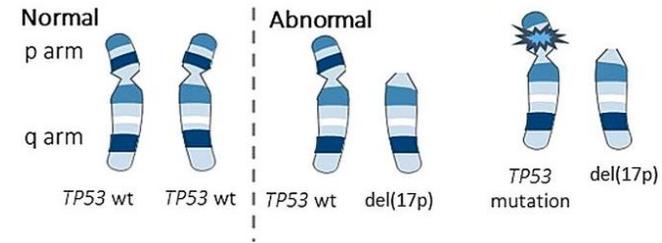


D'Agostino et al, ASH 2020



Weinhold et al, Haematologica 2021

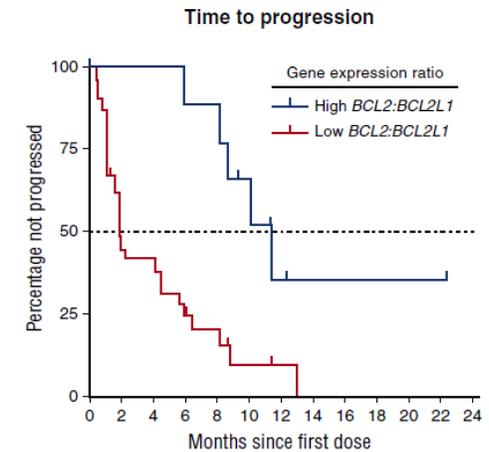
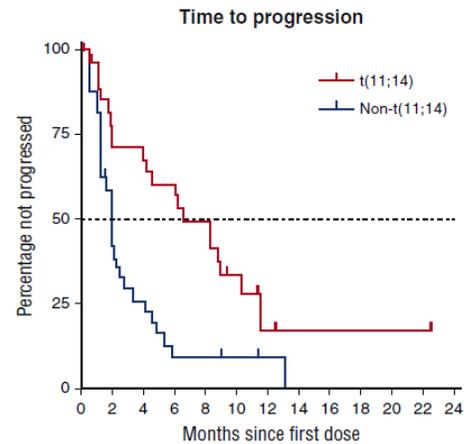
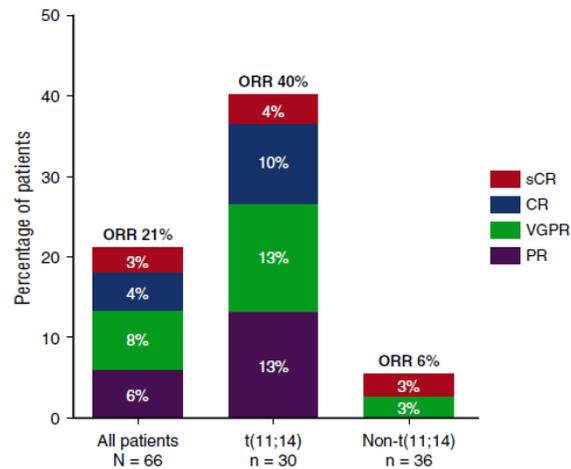
Inactivation bi-allélique de TP53 : myélome de TRES HAUT RISQUE



Adapter le traitement à la cytogénétique

t(11;14) :

- 1/5 patients
- valeur pronostique neutre
- Efficacité du Venetoclax (inhibiteur de bcl2)



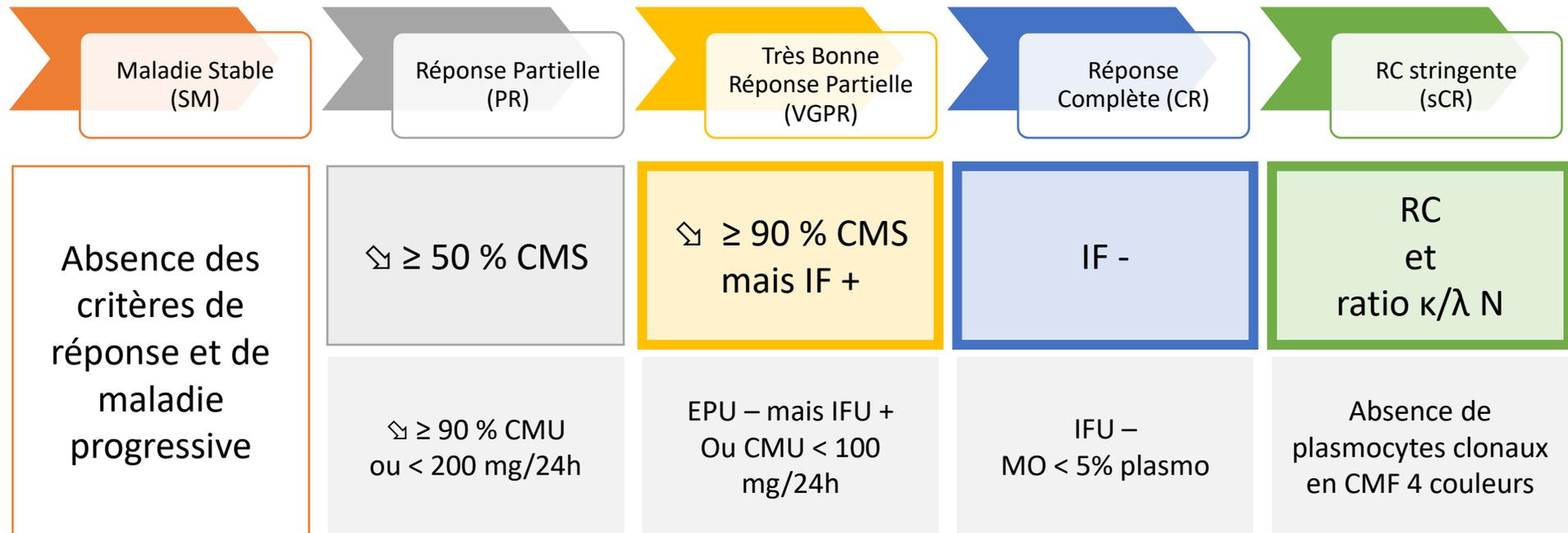
Venetoclax = 1^{er} traitement à la carte

Conclusion sur la cytogénétique dans le Myélome

- ✓ Pas de caryotype : FISH ou NGS sur plasmocytes triés
- ✓ Nécessité d'un score cytogénétique pondéré, effort sur la standardisation de la définition
- ✓ Facteur le plus défavorable : délétion 17p (>55%), catastrophique si associée à mutation TP53 ("double hit")
- ✓ MM de haut risque restent un besoin médical non couvert, ayant relativement peu bénéficié des progrès thérapeutiques considérables de ces deux dernières décennies

Score cytogénétique
et
maladie résiduelle

Critères de réponse au traitement (Gold standard : IMWG)



CMS : composant monoclonal sérique

CMU : composant monoclonal urinaire

IF (U) : immunofixation (urinaire)

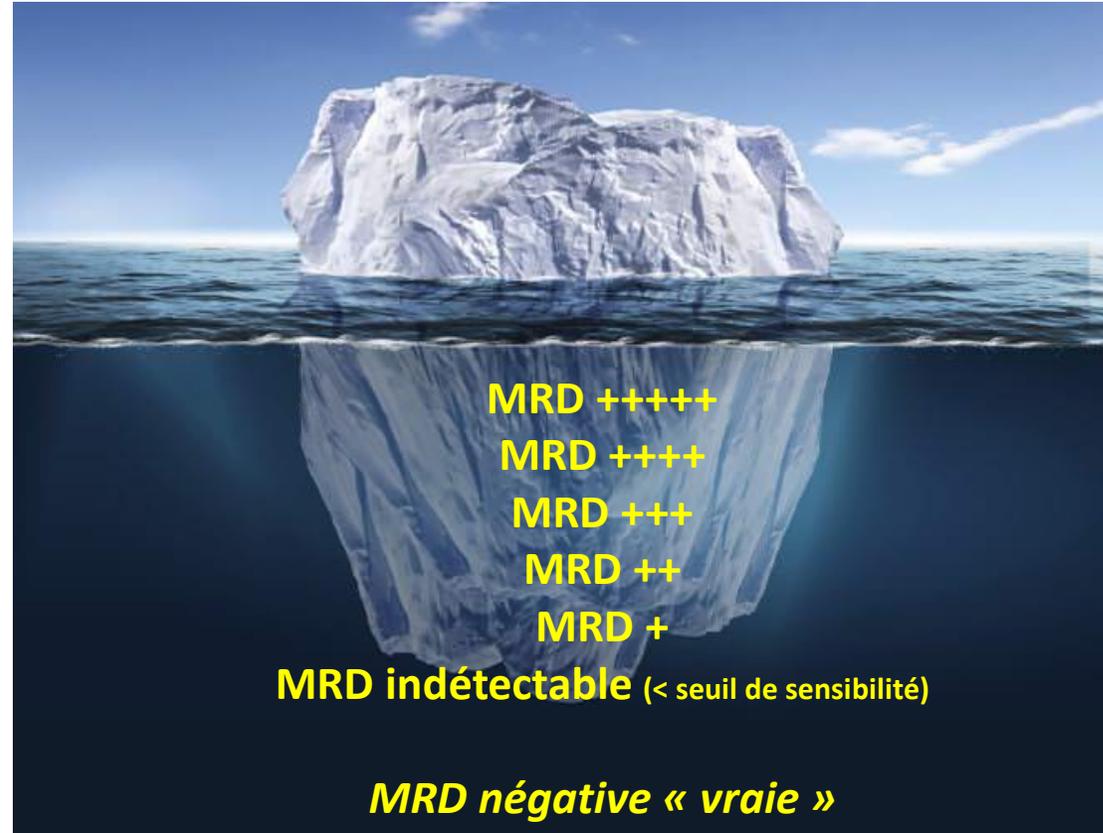
EPU : électrophorèse des prot.urinaires

Pourquoi a-t-il fallu développer la MRD ?

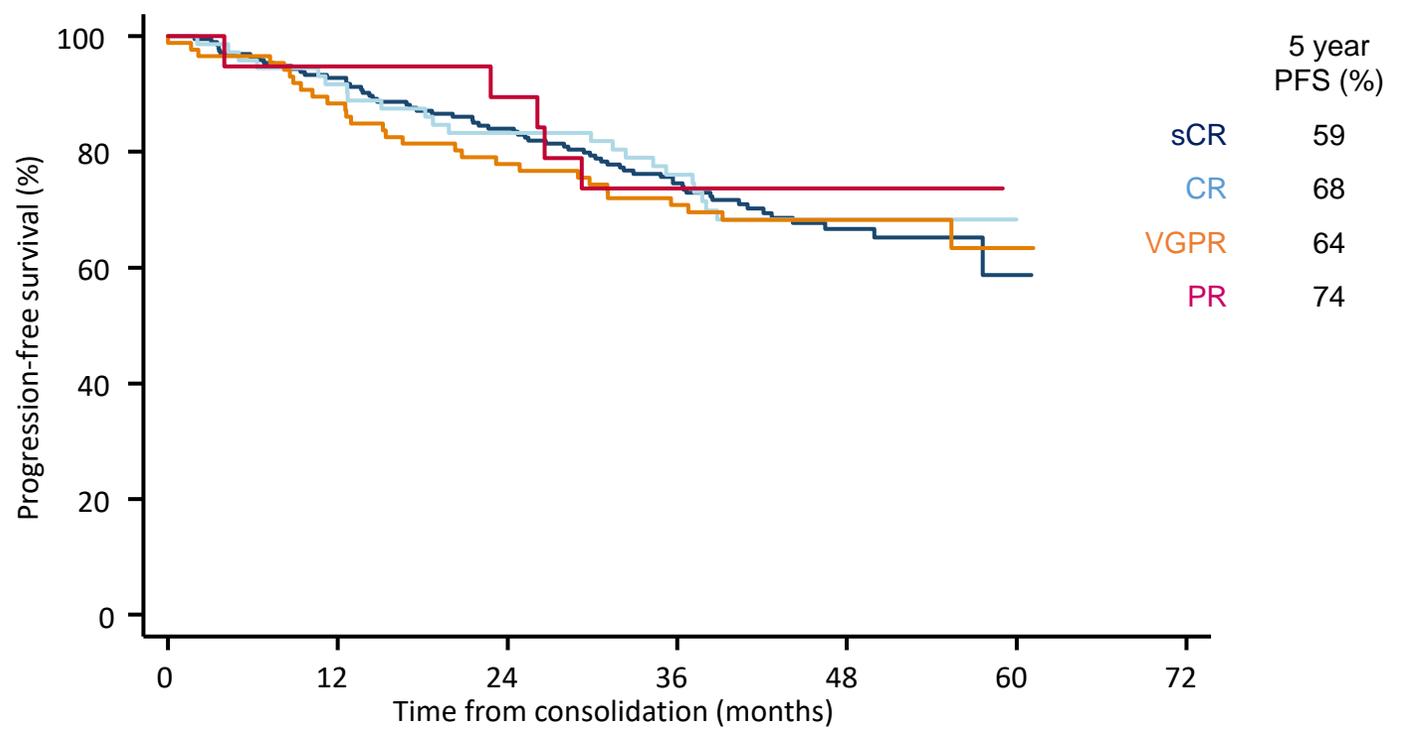
Maladie détectée par les techniques conventionnelles

Réponse complète →

Maladie résiduelle détectée par les « nouvelles » technologies



Pourquoi a-t-il fallu développer la MRD ?

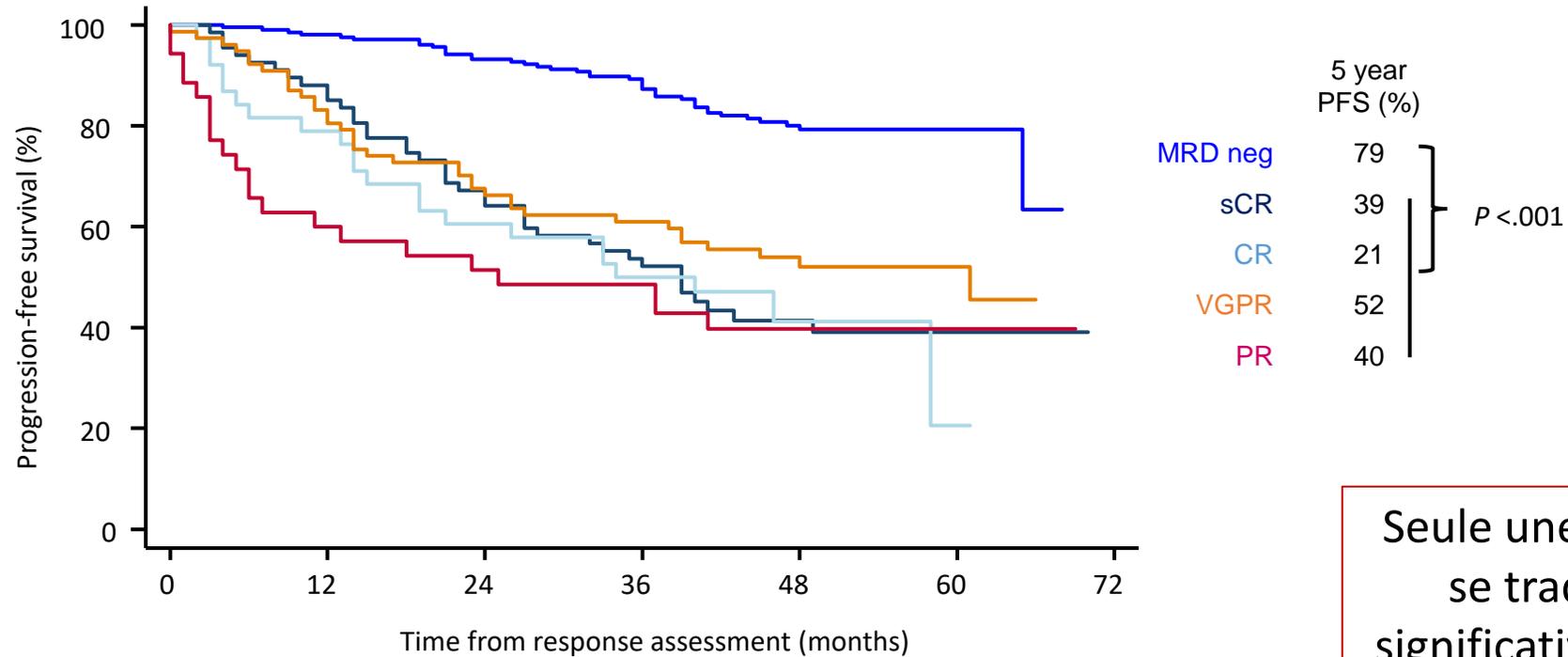


Valeur pronostique limitée des critères de réponses conventionnels

Number at risk

sCR	194	180	163	135	55	3	0
CR	72	66	59	51	23	0	0
VGPR	86	76	66	60	30	3	0
PR	19	18	17	14	6	0	0

Pourquoi a-t-il fallu développer la MRD ?



Seule une MRD indétectable se traduit par une PFS significativement plus longue

Number at risk	0	12	24	36	48	60	72
MRD-	206	202	191	181	105	30	0
sCR	67	59	45	35	20	5	0
CR	39	30	23	19	7	1	0
VGPR	77	64	52	46	28	9	0
PR	35	21	18	17	13	4	0

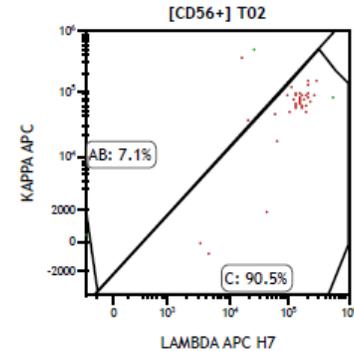
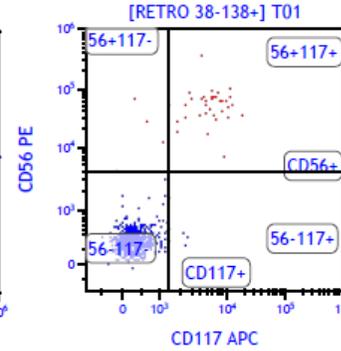
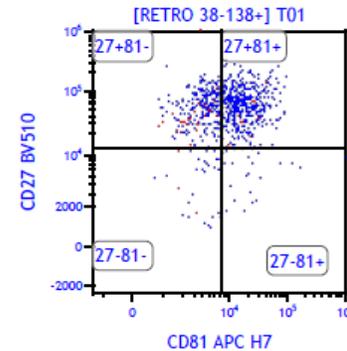
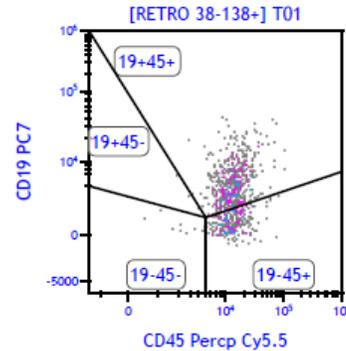
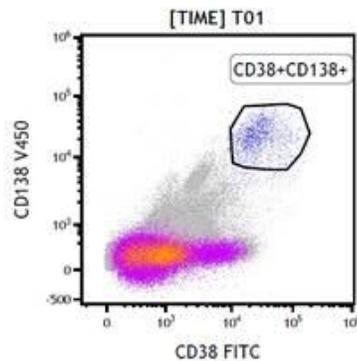
(MRD post conso, LOD 2.10^{-6})

Quelles sont les outils biologiques?

- “Cellular-based” : Cytométrie en flux (CMF)

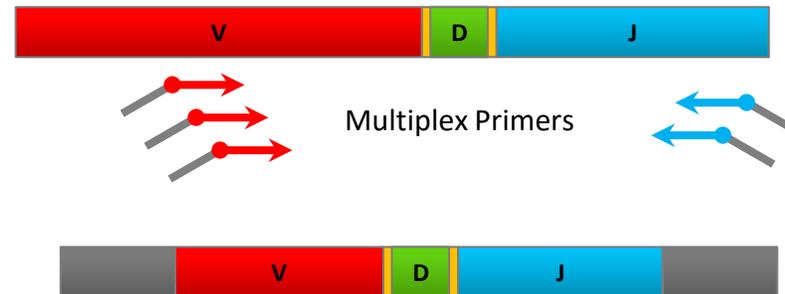
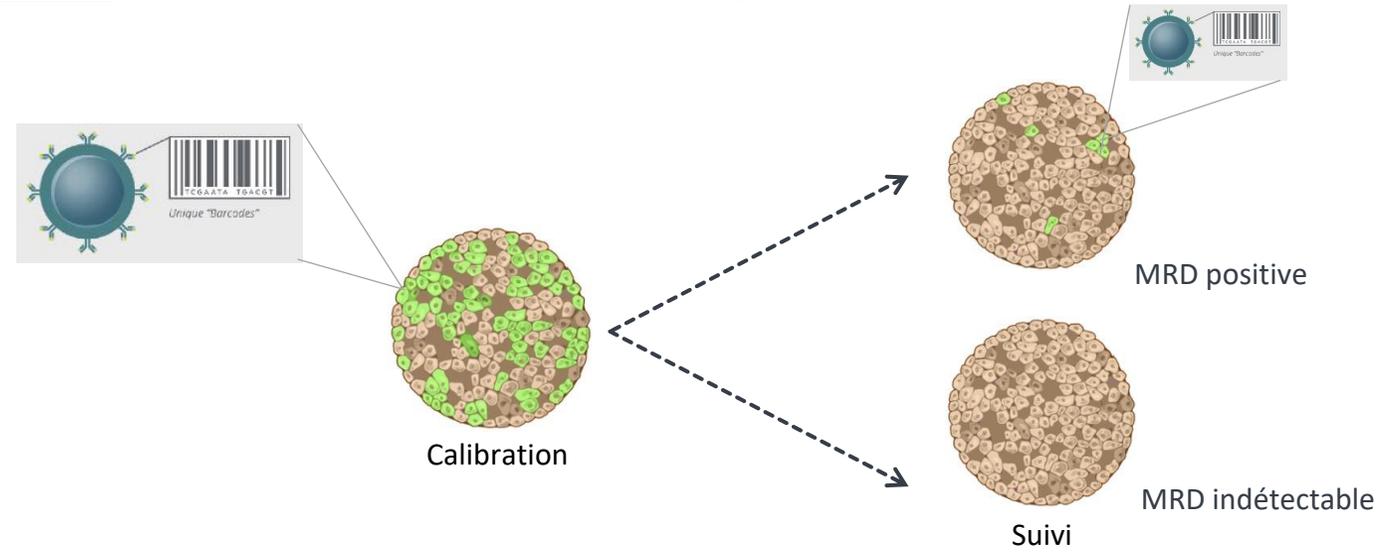
Tube	BV421	BV510	FITC	PE	PerCP Cy5.5	PECy7	APC	APCC750
1							CD117	CD81
2	CD138	CD27	CD38	CD56	CD45	CD19	cyKappa	cyLambda

Euro-Flow



Quelles sont les outils biologiques?

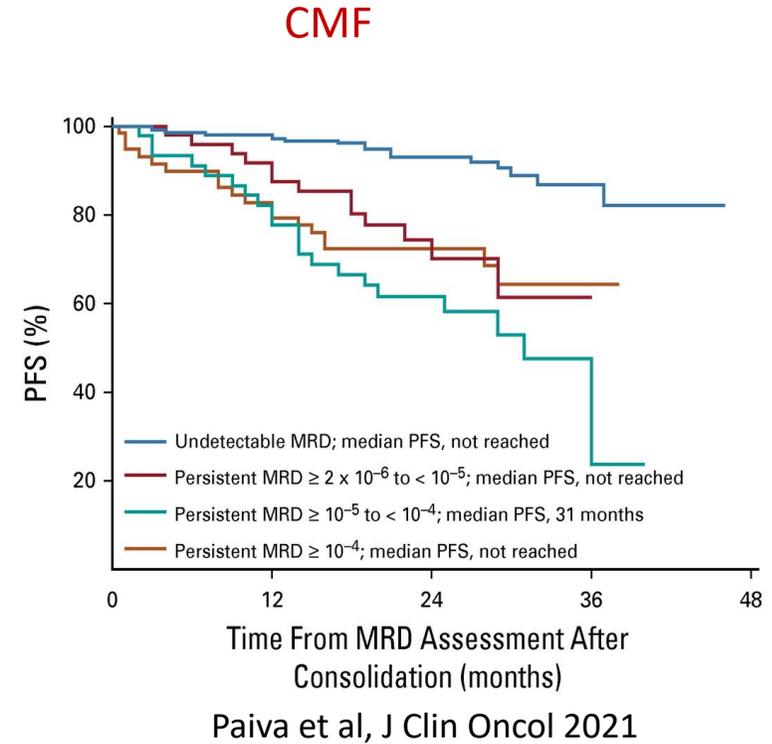
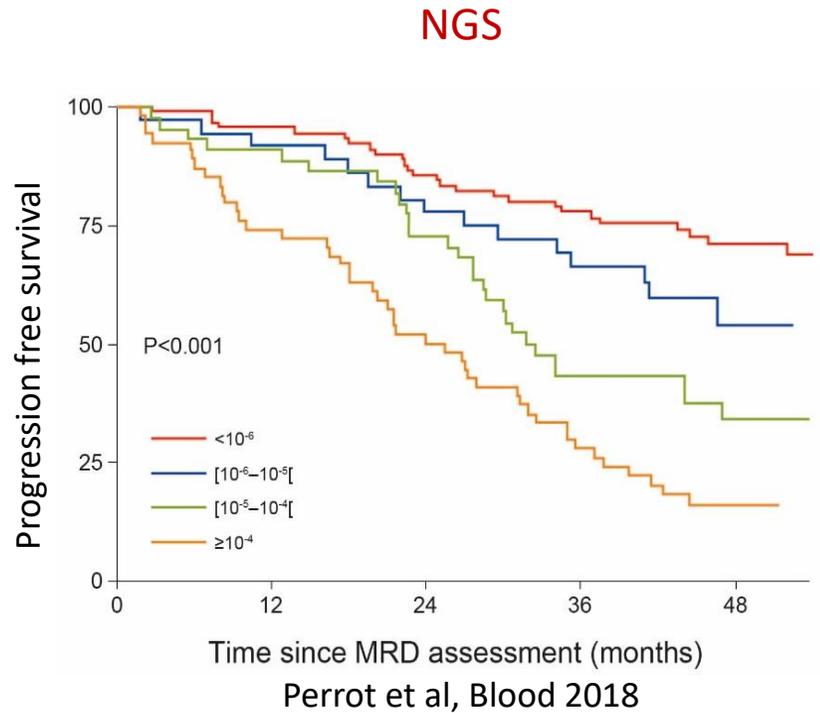
- “Molecular-based” : Next Generation Sequencing (NGS)



Quelles sont les outils biologiques?

	NGS	CMF
Sensibilité (en routine)	10^{-6}	10^{-5}
Délai de rendu	10 jours – 2 semaines	1 jour
Workflow	Congélation possible	Echantillon frais (24-48h)
Calibration	Obligatoire	Non obligatoire
Accessibilité	+	+++ , moins cher
Standardisation	ClonoSeq* approuvé par la FDA	Euroflow approuvé par la FDA

Plus la sensibilité est grande, plus la MRD est discriminante



Association of MRD negativity with PFS in various subgroups

	No. of patients	PFS hazard ratio (95% CI)	P-value
MRD sensitivity threshold 10^{-4}	2127	0.38 (0.32–0.45)	<0.001
MRD sensitivity threshold 10^{-5}	5361	0.31 (0.27–0.36)	<0.001
MRD sensitivity threshold 10^{-6}	1469	0.22 (0.16–0.29)	<0.001

Facteurs affectant la sensibilité

SENSIBILITÉ = reflète le risque de faux négatifs

→ +++ Qualité/représentativité de l'échantillon

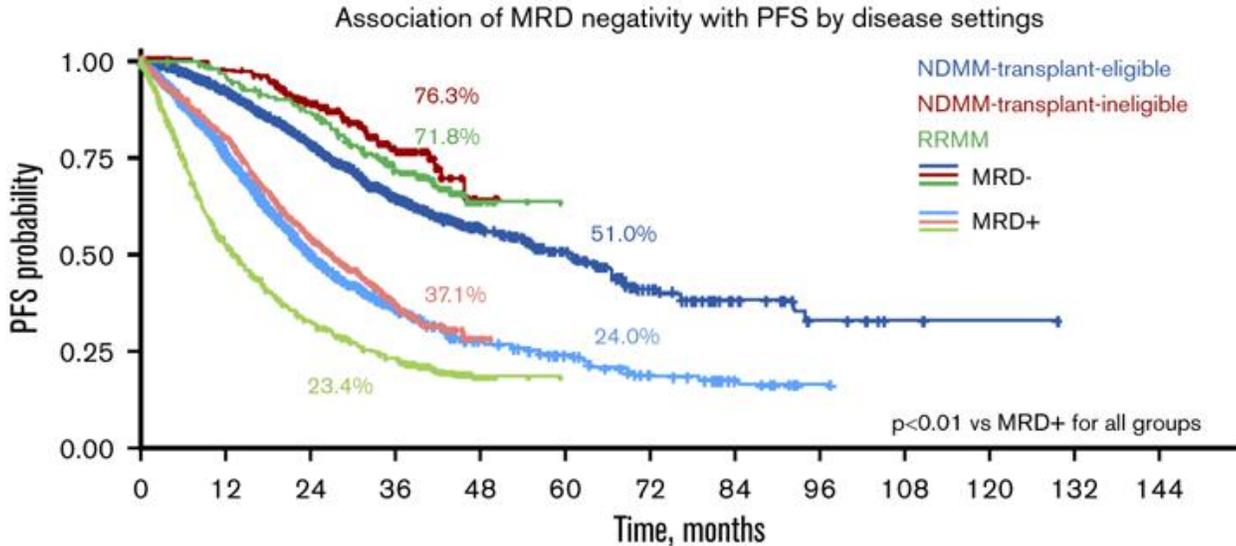
- Nombre de cellules analysées
- Hémodilution (2mL max, à évaluer) 
- Distribution « patchy » des plasmocytes
- Localisations extramédullaires

INTERÊT DE CONFRONTER LA
BIOLOGIE AU PET-CT
(+++ rechute)

Impact clinique de la MRD dans tous les groupes de patients

93 Publications

8098 Patients

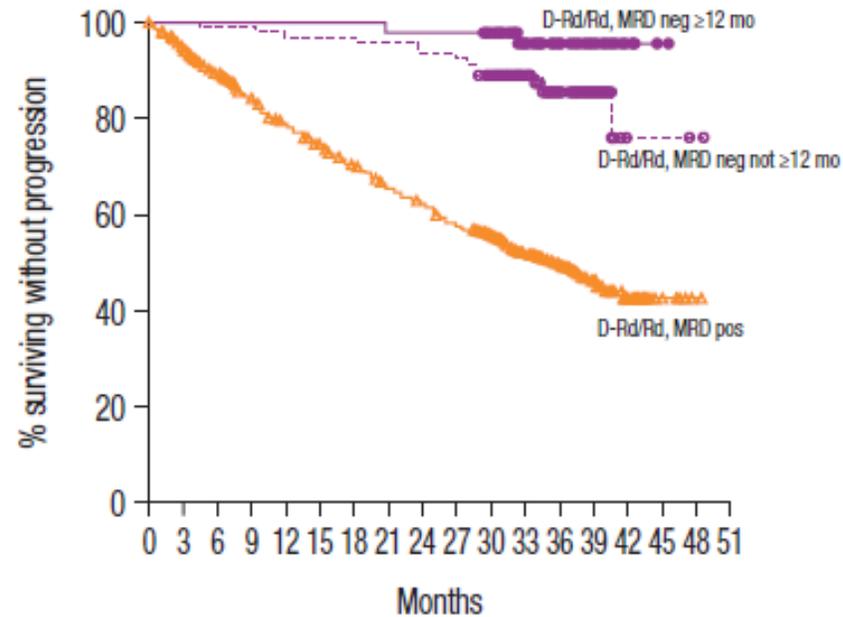


Number at risk

MRD-	1515	1055	589	332	164	95	47	22	10	3	1	0	0
MRD+	1180	719	317	153	72	50	30	13	2	0	0	0	0
MRD-	291	283	217	93	4	0							
MRD+	1328	983	516	133	5	0							
MRD-	164	155	135	97	10	0							
MRD+	960	456	269	179	11	0							

Impact clinique d'une MRD indétectable *maintenue*

A. MAIA



	No. at risk																	
D-Rd/Rd, MRD neg ≥12 mo	49	49	49	49	49	49	49	48	48	48	47	37	27	13	6	2	0	0
D-Rd/Rd, MRD neg not ≥12 mo	91	91	90	90	88	88	88	87	85	84	75	56	41	21	2	2	1	0
D-Rd/Rd, MRD pos	597	540	503	461	426	399	372	345	327	301	272	194	127	69	26	5	1	0

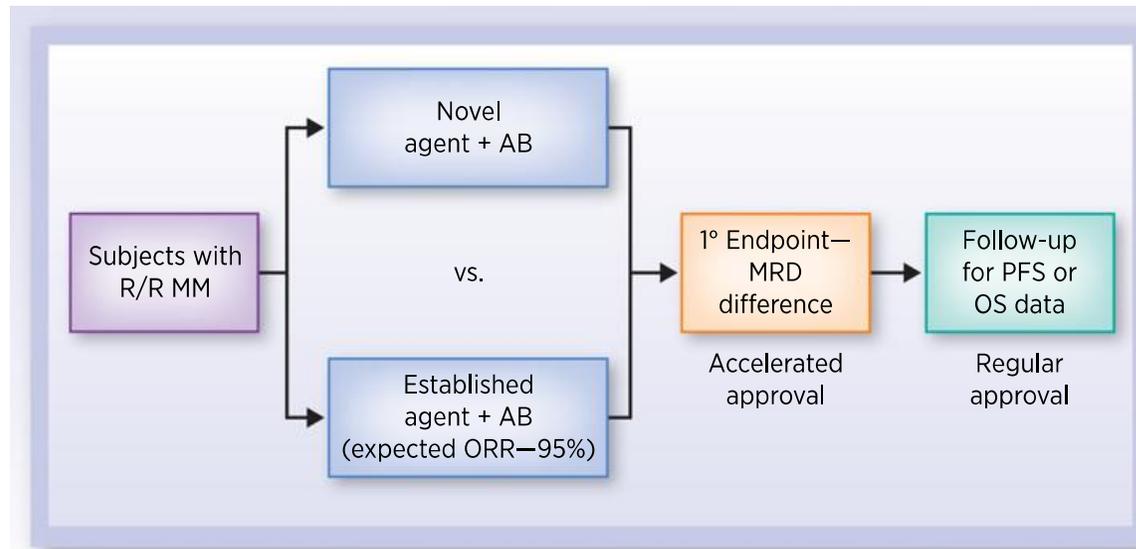
Qualité de la réponse : profondeur ET durée

Définition d'une MRD selon l'IMWG

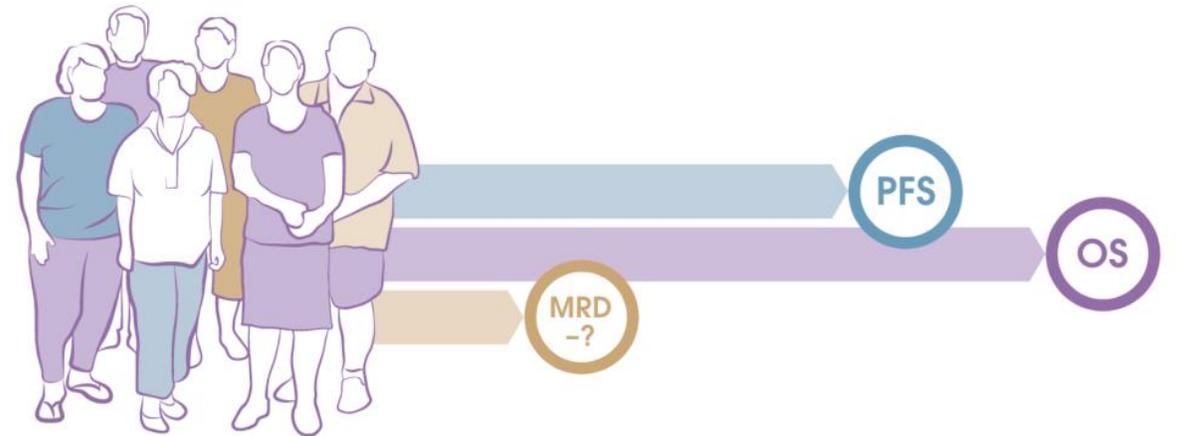
Response criteria*	
IMWG MRD criteria (requires a complete response as defined below)	
Sustained MRD-negative	MRD negativity in the marrow (NGF or NGS, or both) and by imaging as defined below, <u>confirmed minimum of 1 year apart</u> . Subsequent evaluations can be used to further specify the duration of negativity (eg, MRD-negative at 5 years)†
Flow MRD-negative	Absence of phenotypically aberrant clonal plasma cells by NGF‡ on bone marrow aspirates using the EuroFlow standard operation procedure for MRD detection in multiple myeloma (or validated equivalent method) with a minimum sensitivity of 1 in 10 ⁵ nucleated cells or higher
Sequencing MRD-negative	Absence of clonal plasma cells by NGS on bone marrow aspirate in which presence of a clone is defined as less than two identical sequencing reads obtained after DNA sequencing of bone marrow aspirates using the LymphoSIGHT platform (or validated equivalent method) with a minimum sensitivity of 1 in 10 ⁵ nucleated cells§ or higher
Imaging plus MRD-negative	MRD negativity as defined by NGF or NGS plus disappearance of every area of increased tracer uptake found at baseline or a preceding PET/CT or decrease to less than mediastinal blood pool SUV or decrease to less than that of surrounding normal tissue¶
Standard IMWG response criteria 	
Stringent complete response	Complete response as defined below plus normal FLC ratio** and absence of clonal cells in bone marrow biopsy by immunohistochemistry (κ/λ ratio ≤4:1 or ≥1:2 for κ and λ patients, respectively, after counting ≥100 plasma cells)††
Complete response	Negative immunofixation on the serum and urine and disappearance of any soft tissue plasmacytomas and <5% plasma cells in bone marrow aspirates
Very good partial response	Serum and urine M-protein detectable by immunofixation but not on electrophoresis or ≥90% reduction in serum M-protein plus urine M-protein level <100 mg per 24 h
Partial response	≥50% reduction of serum M-protein plus reduction in 24 h urinary M-protein by ≥90% or to <200 mg per 24 h; If the serum and urine M-protein are unmeasurable, a ≥50% decrease in the difference between involved and uninvolved FLC levels is required in place of the M-protein criteria; If serum and urine M-protein are unmeasurable, and serum-free light assay is also unmeasurable, ≥50% reduction in plasma cells is required in place of M-protein, provided baseline bone marrow plasma-cell percentage was ≥30%. In addition to these criteria, if present at baseline, a ≥50% reduction in the size (SPD)§§ of soft tissue plasmacytomas is also required
Minimal response	≥25% but ≤49% reduction of serum M-protein and reduction in 24-h urine M-protein by 50–89%. In addition to the above listed criteria, if present at baseline, a ≥50% reduction in the size (SPD)§§ of soft tissue plasmacytomas is also required

Objectif primaire des essais cliniques

La MRD comme endpoint pourrait permettre un **enregistrement** des drogues plus rapide



Anderson et al. Clin Can Res 2017



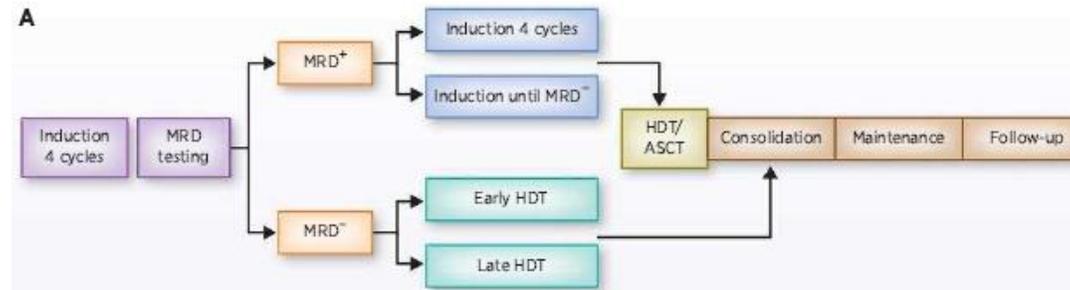
Holstein et al. Biol Blood Marrow Transplant 2020

MRD = “surrogate marker” de la survie ?

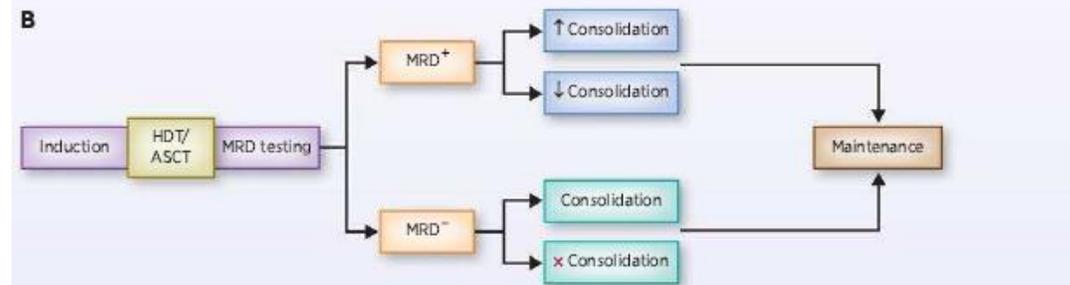
→ i²TEAMM (International Independent Team for End - point Approval of Myeloma MRD)

La MRD décisionnelle ?

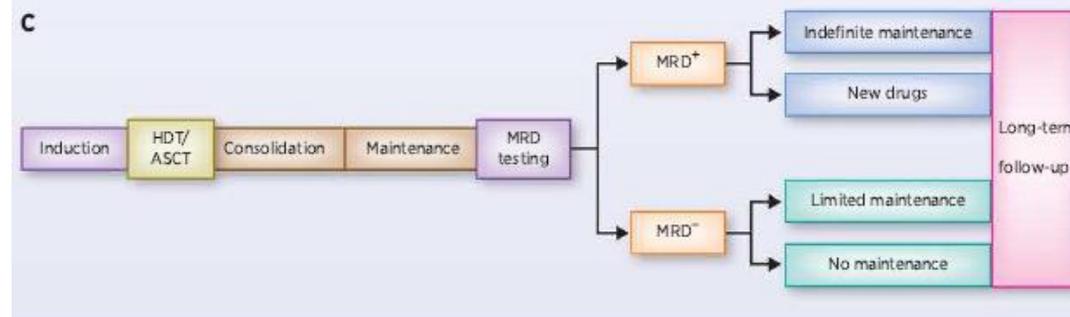
Post induction



Post intensification

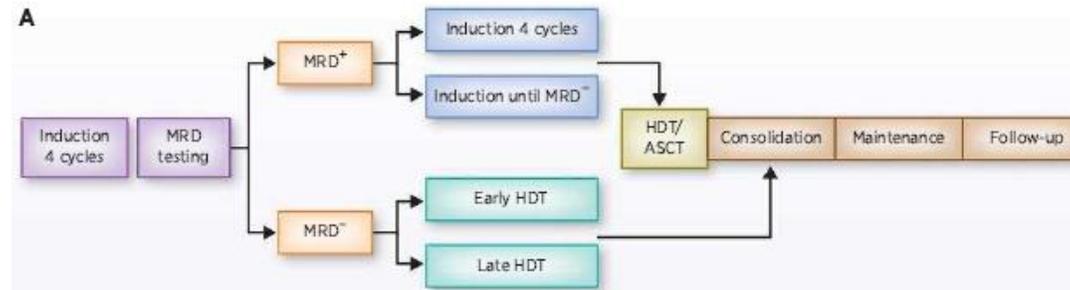


Per maintenance

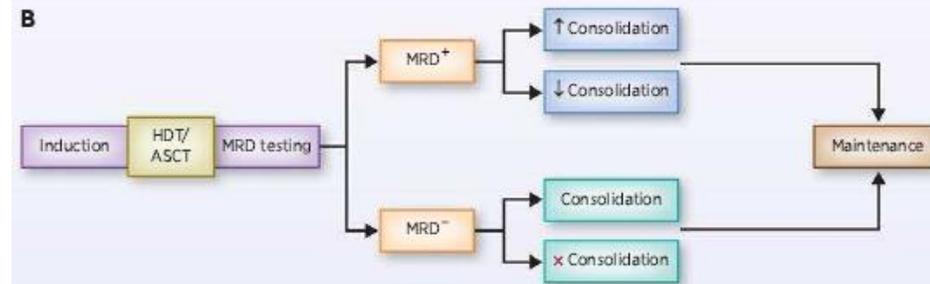


La MRD décisionnelle ?

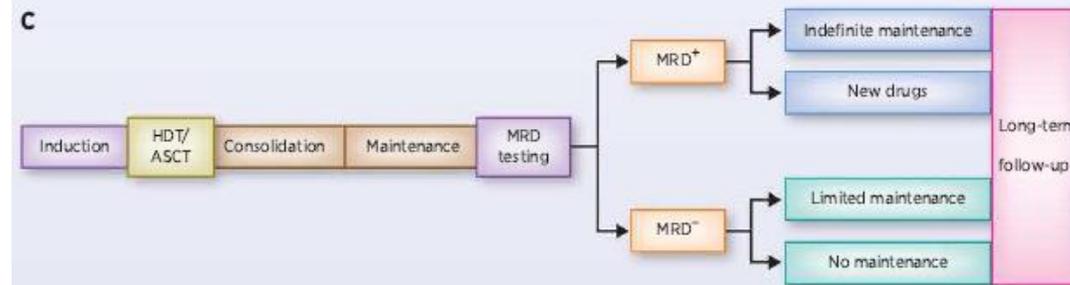
Post induction



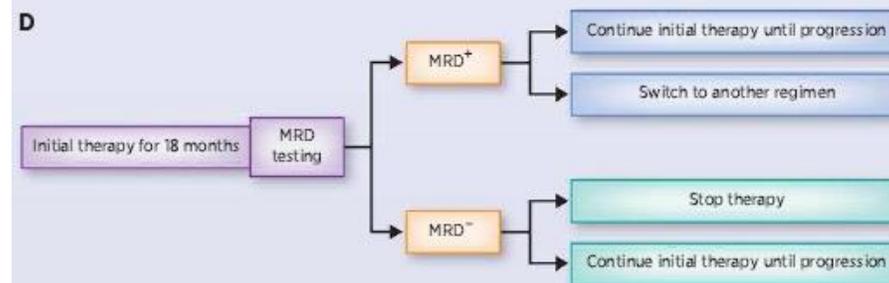
Post intensification



Per maintenance



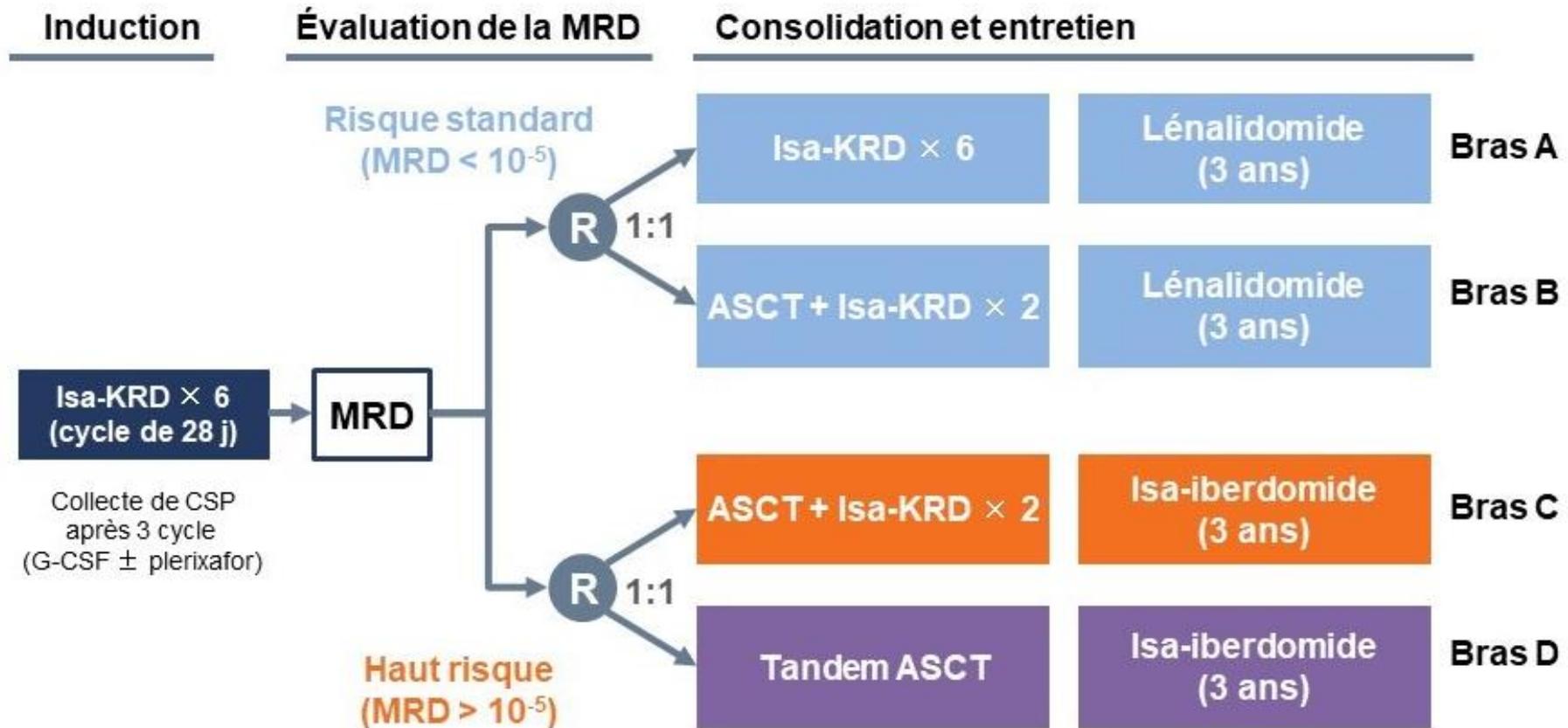
Patients non éligibles



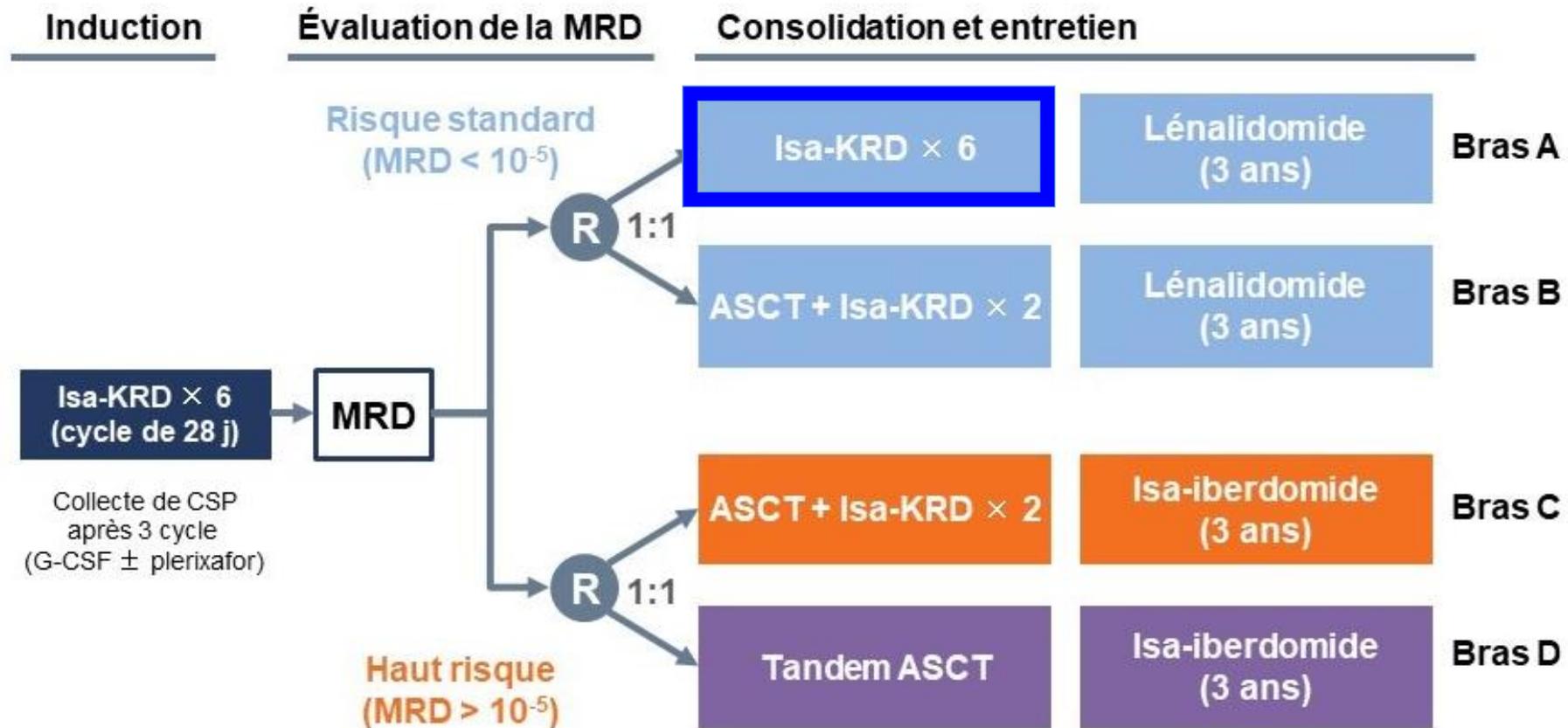
Essai MIDAS (1^{ère} ligne sujet jeune)

Minimal residual Disease Adapted Strategy

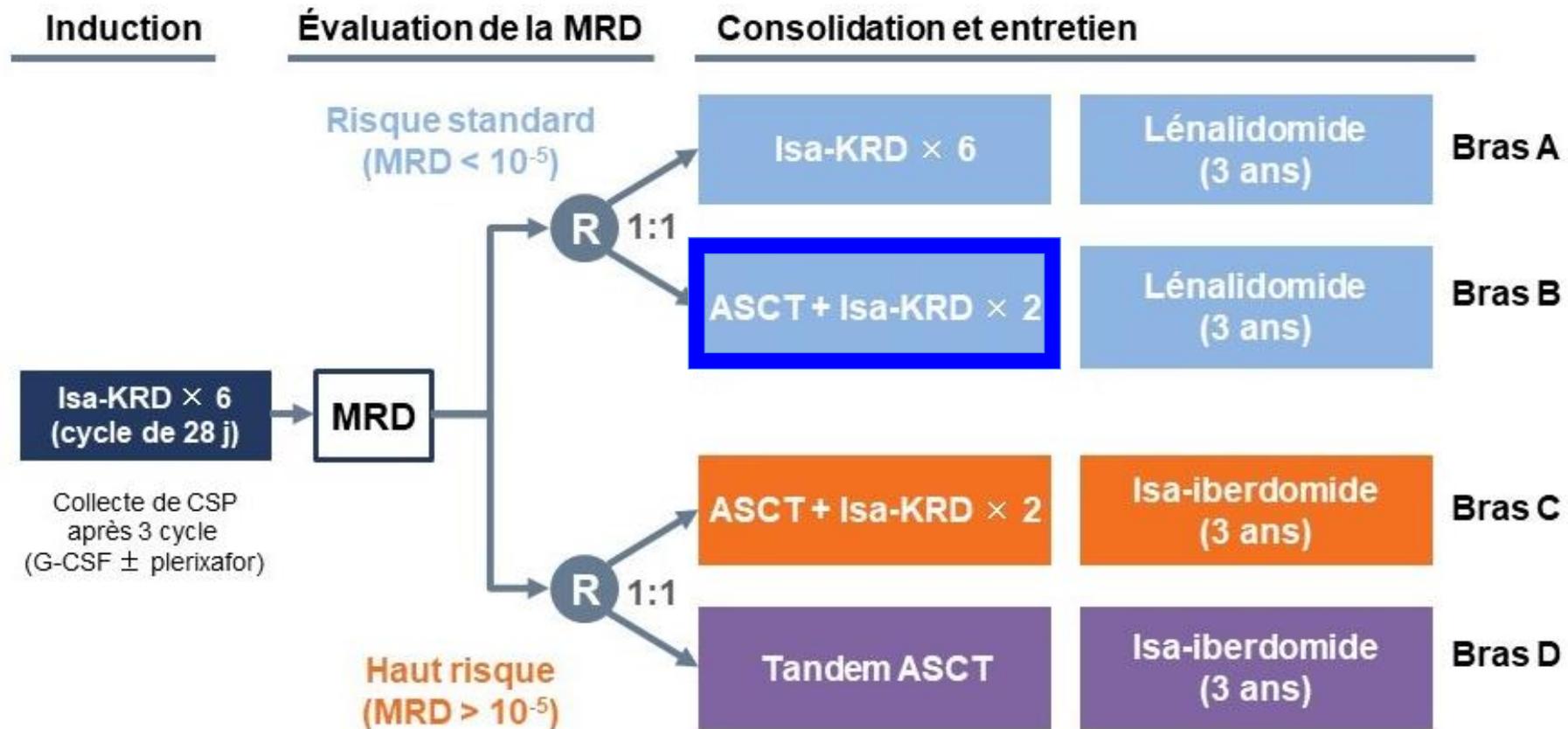
→ Faut-il adapter le traitement à la MRD post-induction ?



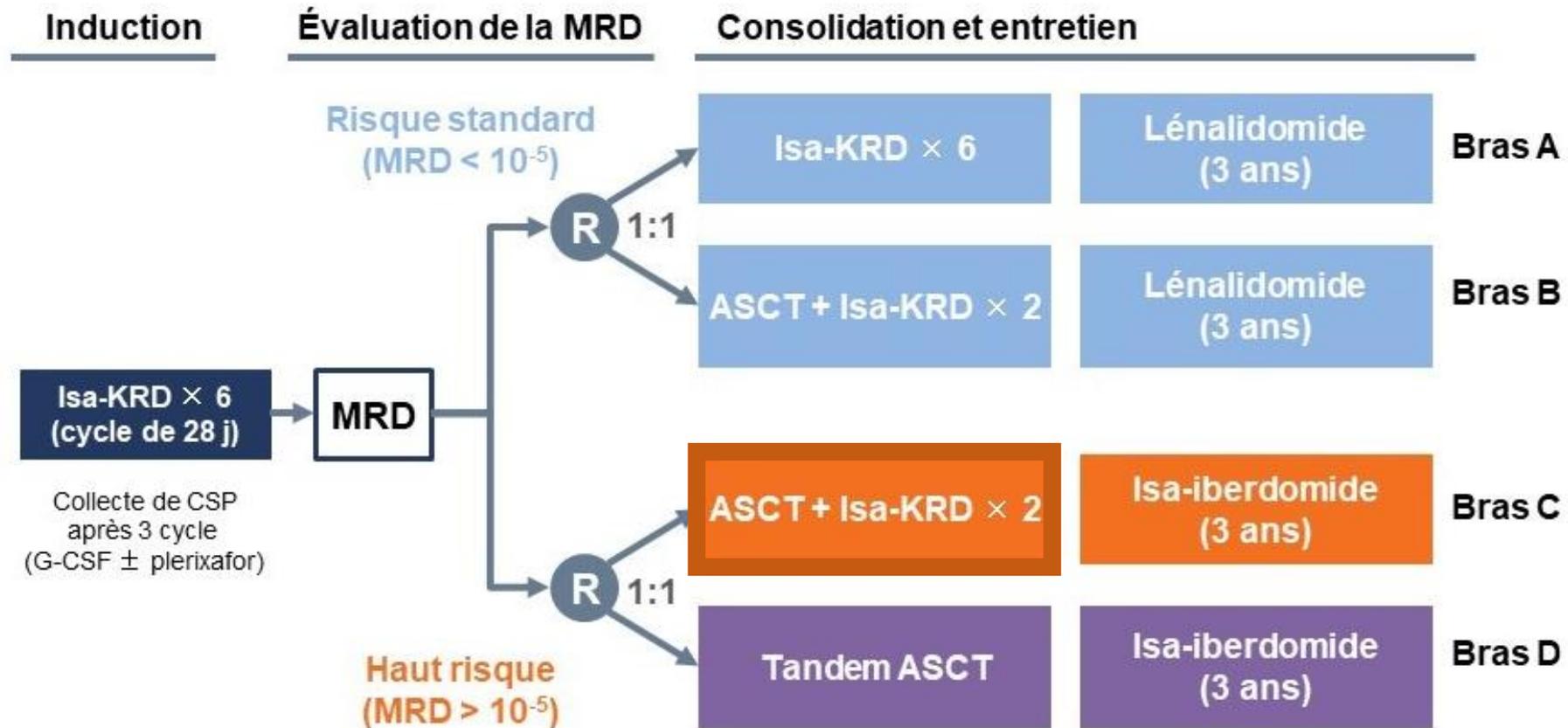
Essai MIDAS (1^{ère} ligne sujet jeune)



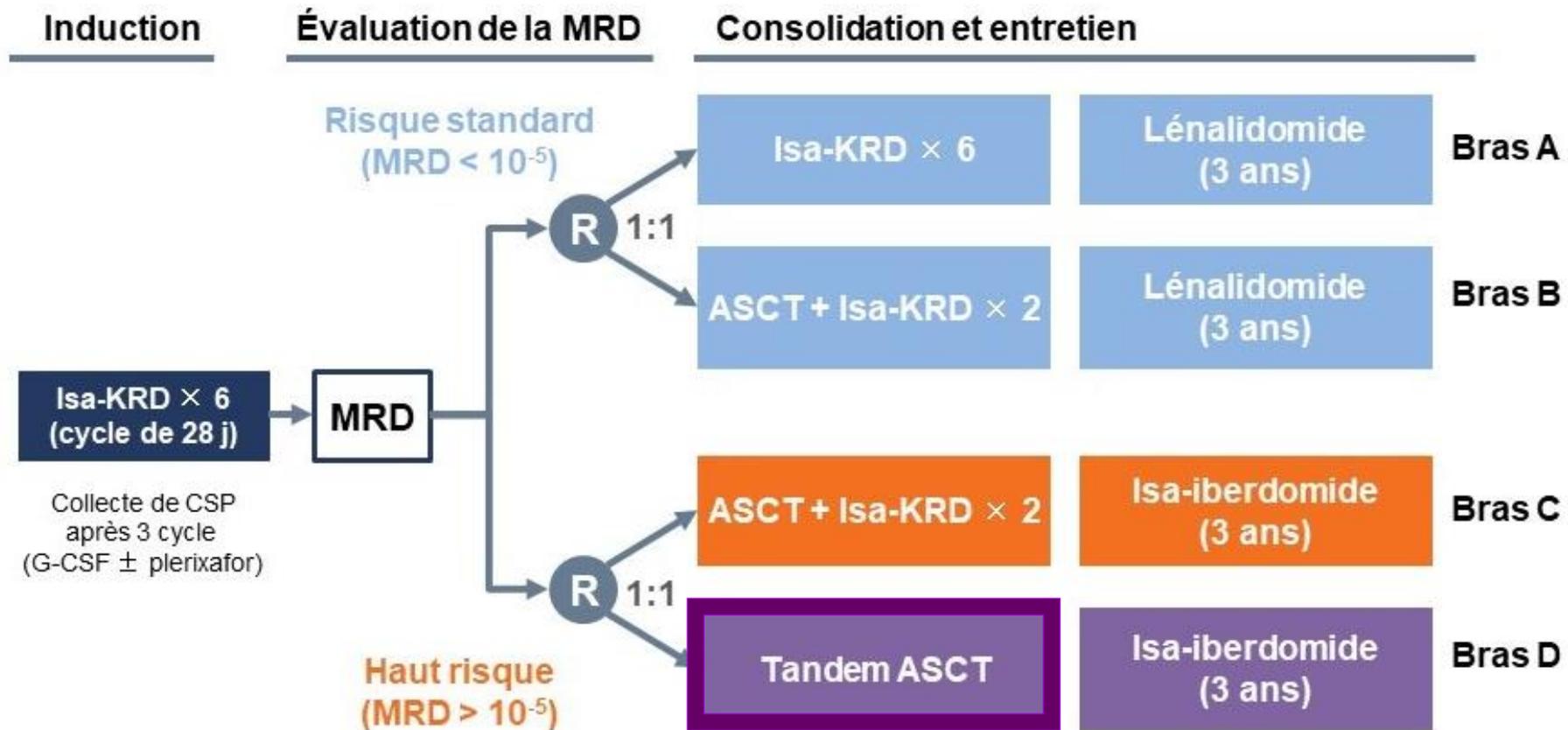
Essai MIDAS (1^{ère} ligne sujet jeune)



Essai MIDAS (1^{ère} ligne sujet jeune)



Essai MIDAS (1^{ère} ligne sujet jeune)

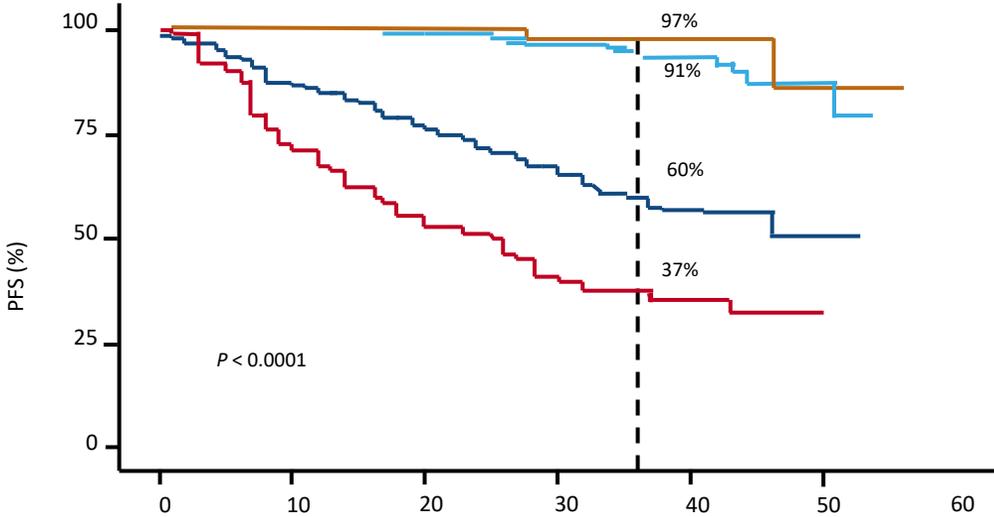


Conclusion sur la MRD dans le Myélome

- ✓ Nouvel **endpoint** primaire des essais cliniques, bientôt d'enregistrement ?
- ✓ Seuil de **10⁻⁶** le plus informatif
- ✓ Outil essentiel de “médecine personnalisée” pour **stratifier** les patients :
quelle consolidation, quelle maintenance, durée de la maintenance ? ...
- ✓ Élément central de la définition de la **guérison**
- ✓ Objectif thérapeutique des myélomes de **haut risque** +++

La MRD peut changer la donne

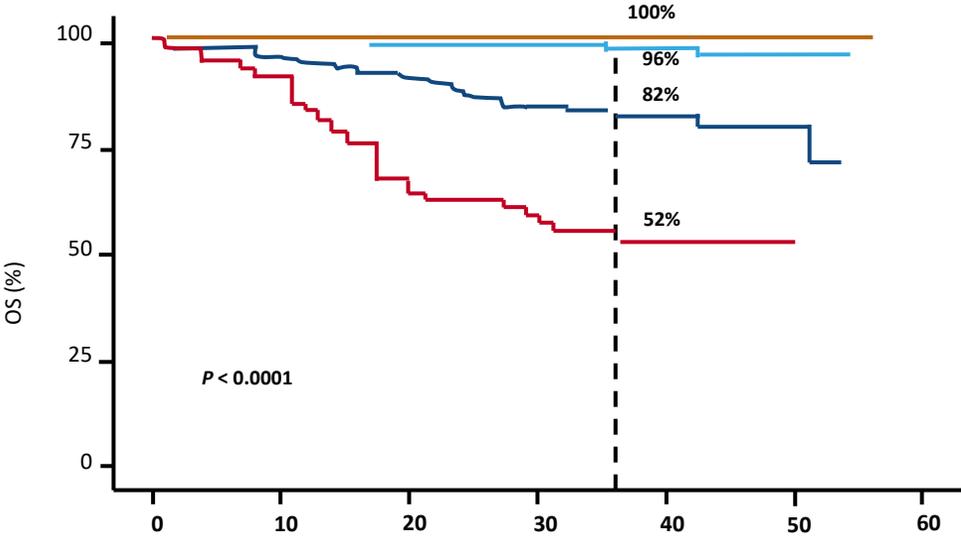
2x10⁻⁶ (GEM2012MENOS65 trial)



Numbers at risk

—	136	136	134	126	65	14	0
—	32	32	32	30	17	4	0
—	164	142	125	104	45	5	0
—	58	42	32	24	13	1	0

— standard-risk CA – undetectable MRD — standard-risk CA – persisting MRD
 — high-risk CA – undetectable MRD — high-risk CA – persisting MRD



Numbers at risk

—	136	136	134	129	67	14	0
—	32	32	32	31	18	5	0
—	164	157	147	128	63	12	0
—	58	53	39	33	16	2	0

— standard-risk CA – undetectable MRD — standard-risk CA – persisting MRD
 — high-risk CA – undetectable MRD — high-risk CA – persisting MRD

La MRD dans la vie réelle

- Sujets jeunes première ligne post essais (IFM2009, Cassiopeia.....)
- Sujets jeunes post consolidation, pour adapter surveillance
- Maintenance mal tolérée
- Critère d'éligibilité de la transplantation rénale du MM en rémission ($<10^{-5}$ à l'inscription + à levée CIT)
- Exemples :
 - ✓ Madame X. 58 ans au diagnostic, del17p + del1p32.
Double auto prévue mais première ne se passe pas bien (neutropénie fébrile...) : la patiente ne veut pas faire la 2^{ème}.
MRD ? $<10^{-6}$ → stop
 - ✓ Madame Z. 65 ans, 1^{ère} rechute post-intensification, devenue haut risque. KRd → RC rapide.
A 9 mois elle veut arrêter (pourtant pas de complication).
MRD ? $<10^{-6}$ → A dû arrêter sur kyste hydatique, opérée, non repris

Quel est le bon timing pour évaluer la MRD ?

- Sujets éligibles à l'intensification :
 - Post induction
 - Post ASCT
 - Pré maintenance / observation
 - Puis périodiquement
- Sujets non éligibles :
 - Dès qu'un prélèvement de MO est fait pour évaluer RC
 - Puis périodiquement tant que le patient maintien sa RC

REMNANT (1^{ère} rechute sujet jeune)

Que faire d'une rechute moléculaire ?

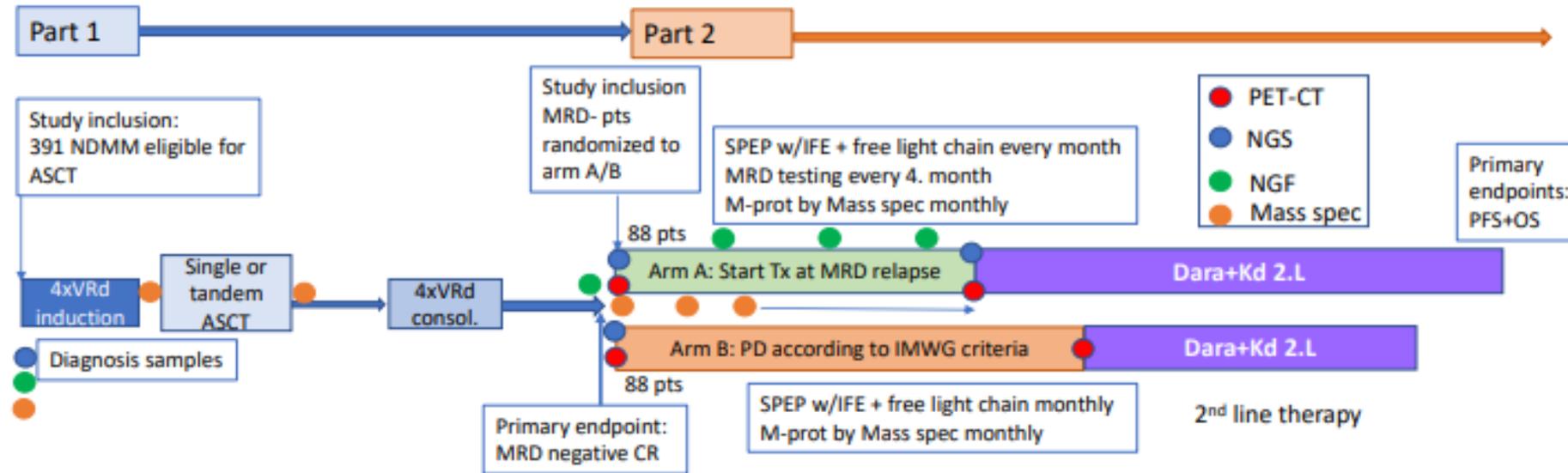
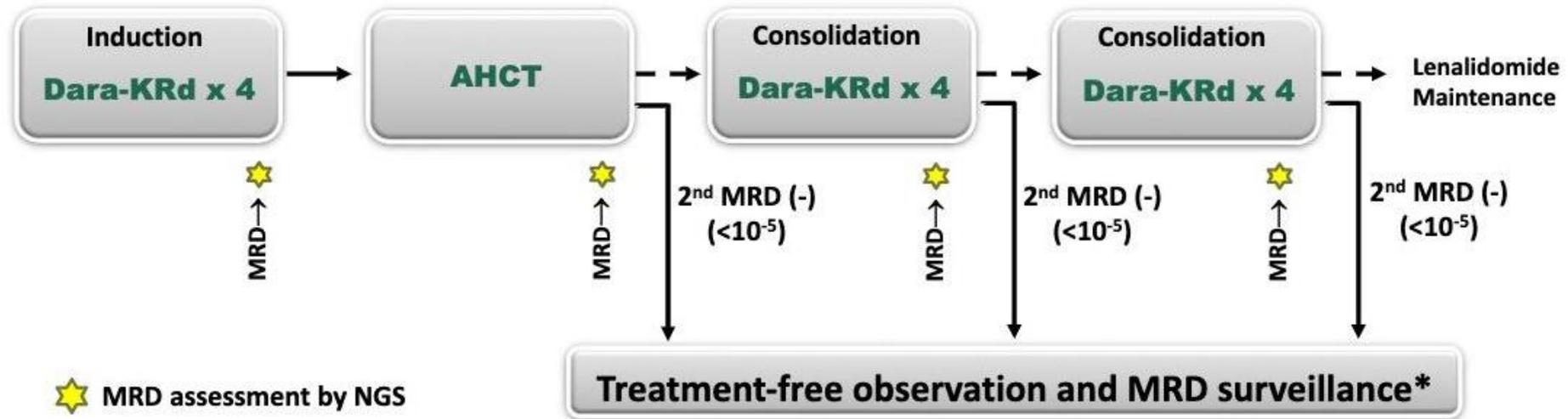


Figure 4. Study design. Abbreviations: VRd: Bortezomib, lenalidomide, dexamethasone; NDMM: Newly diagnosed multiple myeloma; ASCT: Autologous stem cell transplant; MRD: Minimal residual disease; PET-CT: Positron emission tomography-computed tomography; NGS: Next generation sequencing; NGF: Next generation flow; Mass.spec: Mass spectrometry; Dara+Kd: Daratumumab, carfilzomib, dexamethasone.

MASTER (1^{ère} ligne sujet jeune)

La MRD décisionnelle à toutes les étapes



★ MRD assessment by NGS

*24 and 72 weeks after completion of therapy

MASTER trial

Primary Endpoint : taux de MRD $< 10^{-5}$

Evaluation de la MRD par biopsie liquide

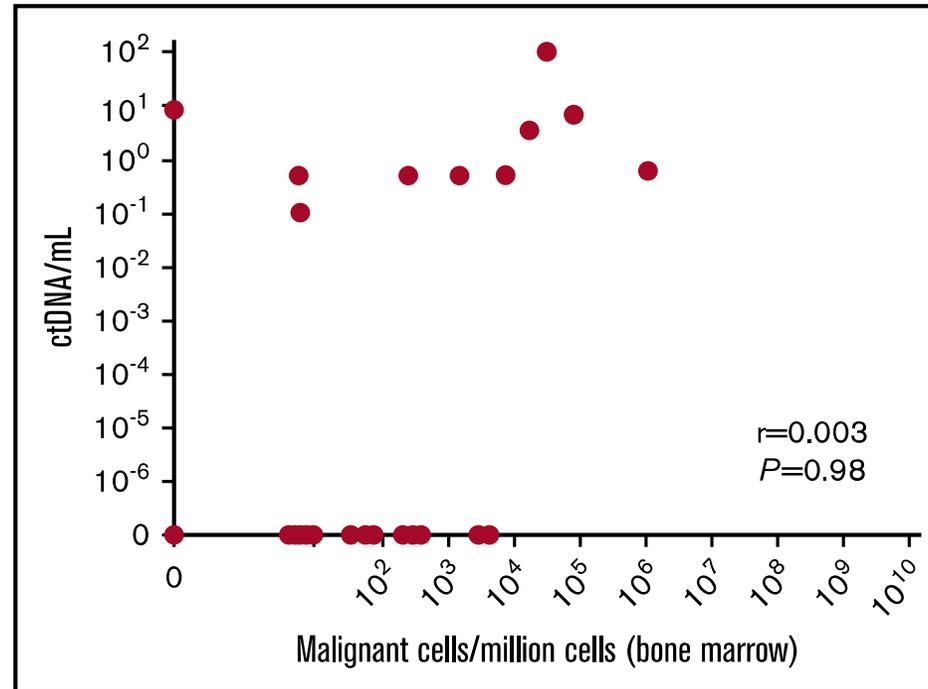
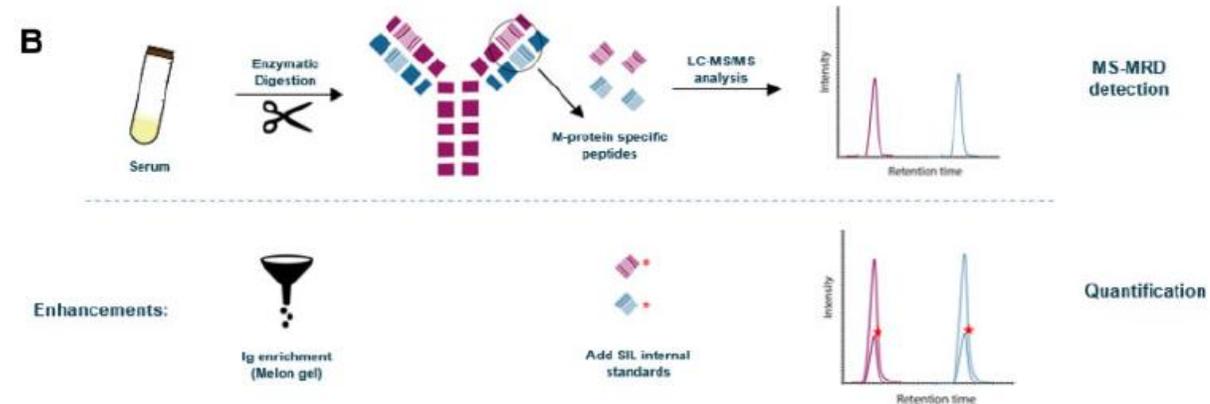
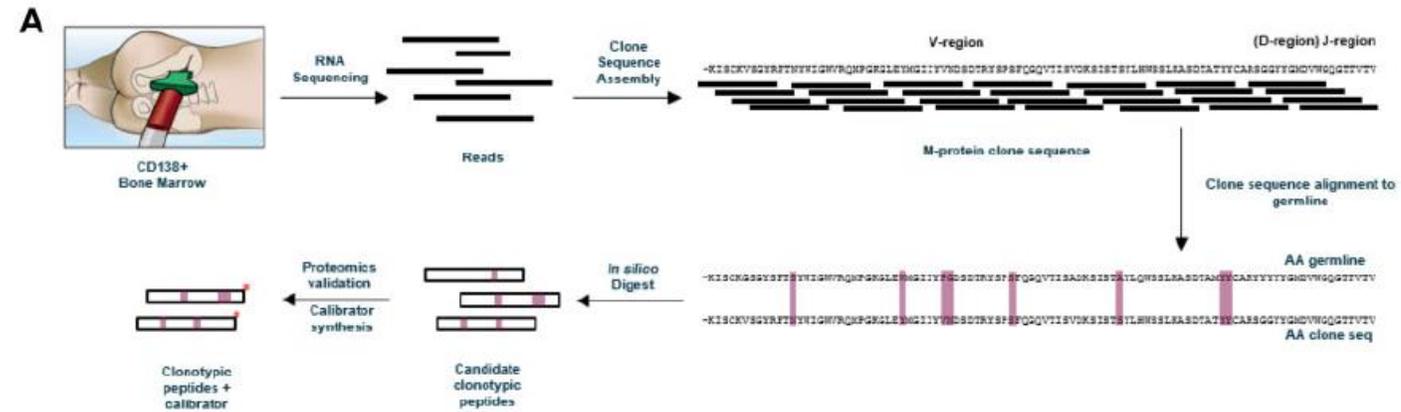


Figure 1. Relationship between myeloma ctDNA and bone marrow MRD.

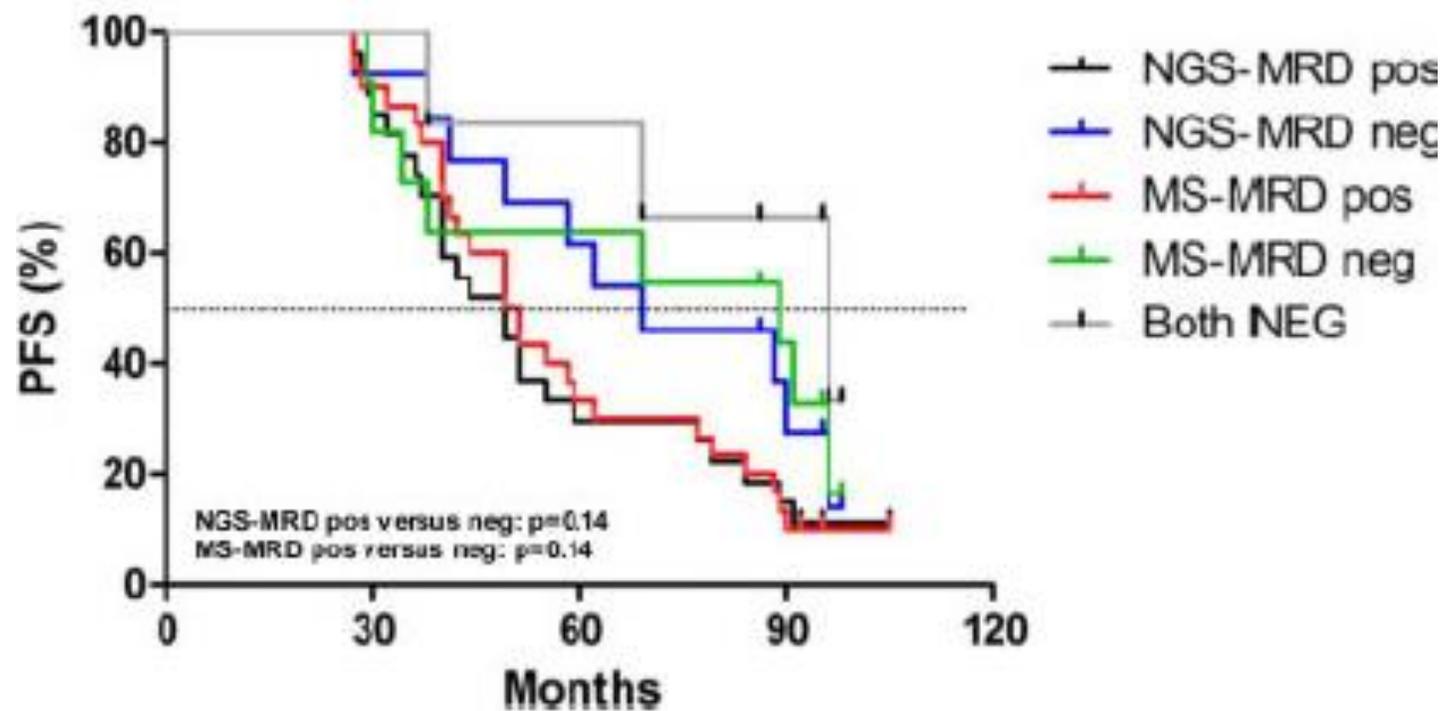
Paired bone marrow and blood samples were obtained from 37 patients during follow-up. MRD was performed using deep sequencing. r = Pearson's correlation coefficient.

Evaluation de la MRD par spectrométrie de masse : approche clonotypique



Evaluation de la MRD

par spectrométrie de masse : approche clonotypique



Evaluation de la MRD

**par spectrométrie de masse : bonne valeur prédictive
négative = outil complémentaire pour décider le
moment d'évaluer la MRD dans la moelle osseuse**

Phénotype des plasmocytes

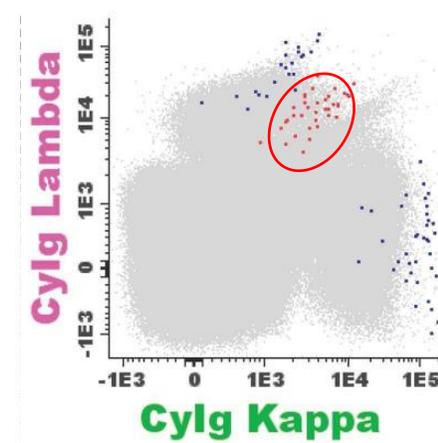
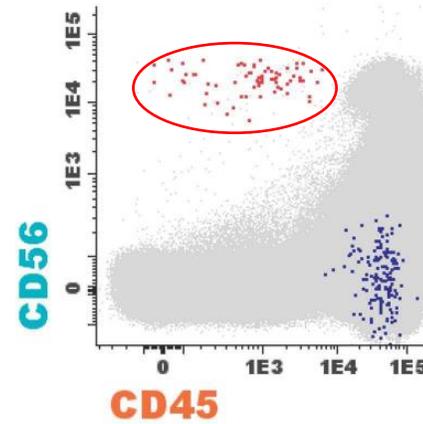
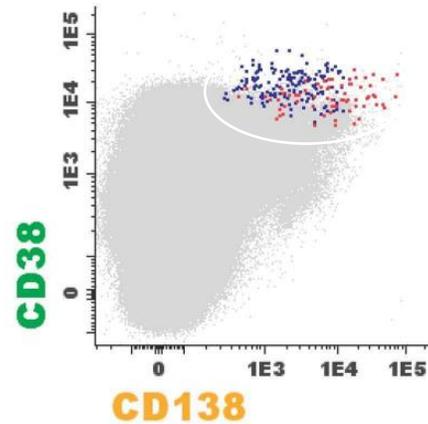
	Plasmocytes normaux	Plasmocytes normaux atypiques (<30%)	Plasmocytes tumoraux
CD38	+ bright		+ low (80%)
CD138	+		+
CD19	+	-	- (96%)
CD45	+	-/low	- (73%)
CD27	+	low	-/low (40-68%)
CD81	+		-/low (55%)
CD56	-	+	+ (60-75%)
CD117	-		+ (30-32%)
clgκ/λ	polyclonal		clonal

Nécessité d'un panel d'anticorps pour distinguer spécifiquement plasmocytes normaux et tumoraux

MRD par CMF

= Nombre de plasmocytes phénotypiquement anormaux /
Nombre de leucocytes analysés sur le cytomètre

- Plasmocytes normaux
- Plasmocytes malins
- Autres cellules



Plasmocytes = 0.005% des leucocytes

Plasmocytes malins = 127 cellules = 0.001% des leucocytes
= 1 cellule sur 100 000 analysées
= MRD positive à 10^{-5}

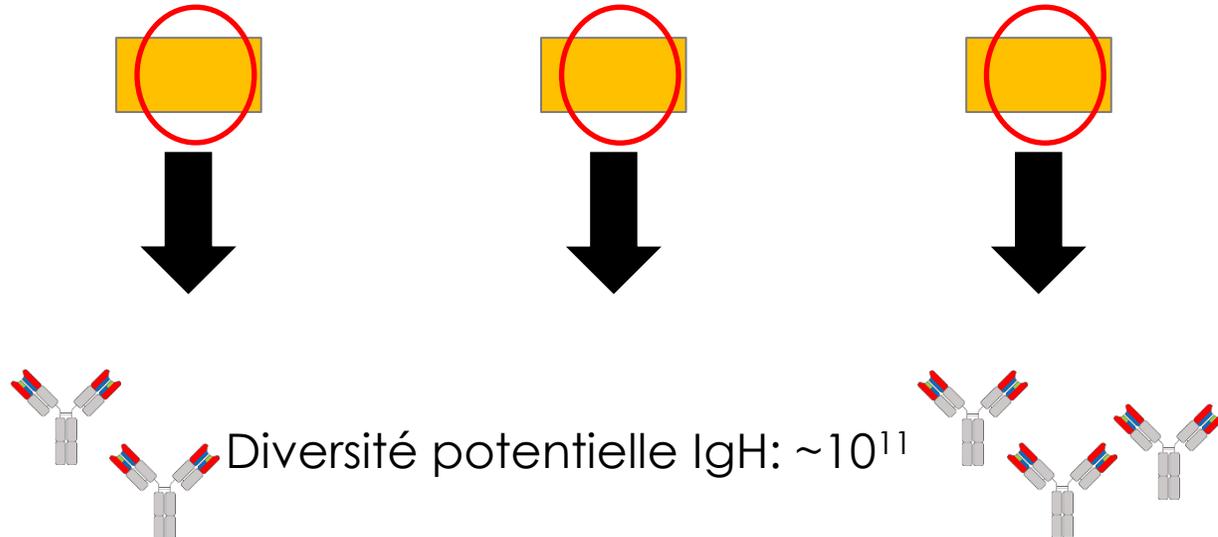
NGS

Outil permettant de séquencer de l'ADN à haut débit

Quelle séquence d'ADN est à la fois spécifique du myélome et stable ?

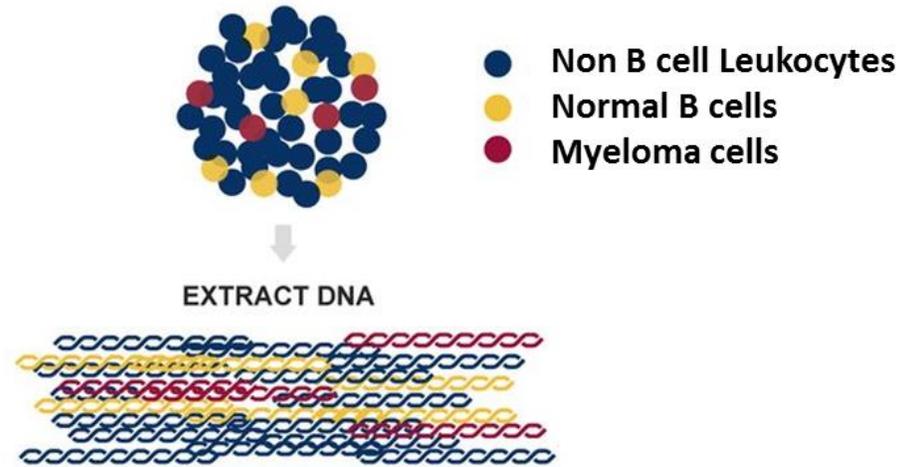


Diversité additionnelle
introduite aux jonctions (SHM)



Séquences d'ADN uniques =
marqueur de chaque cellule B

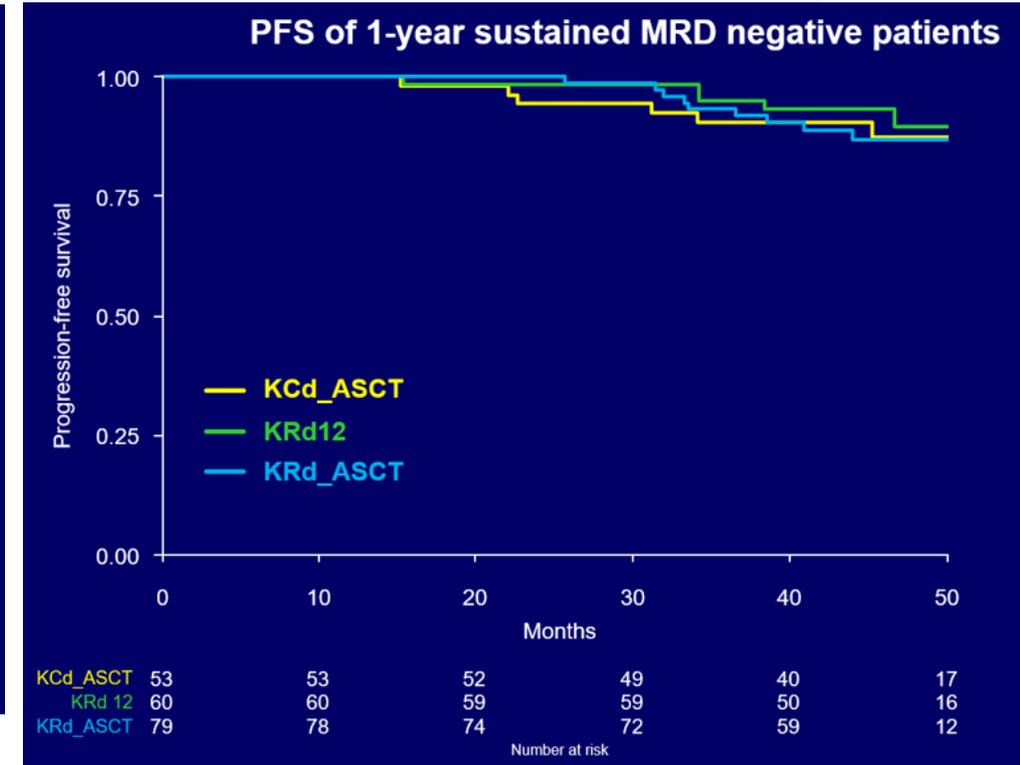
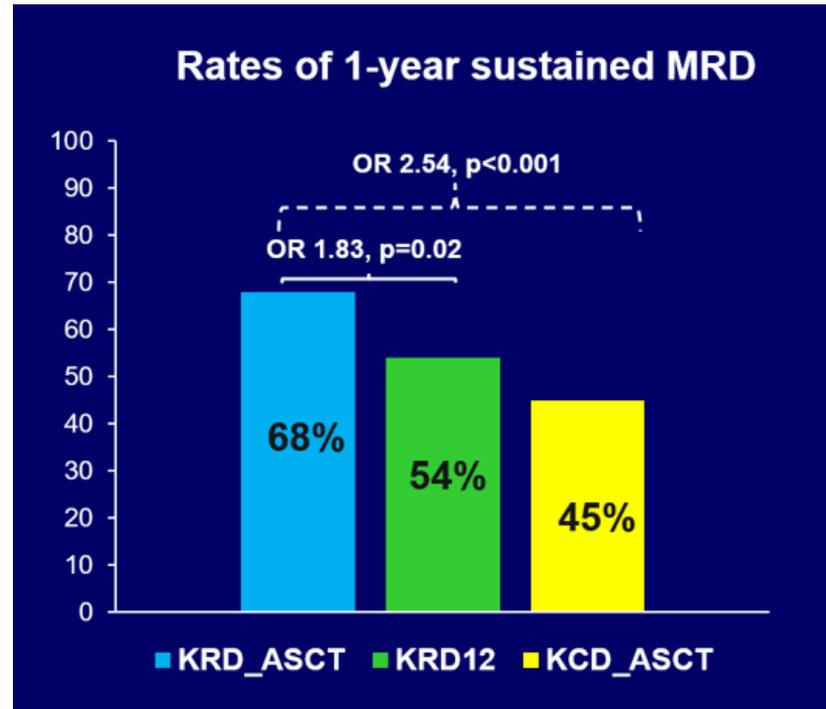
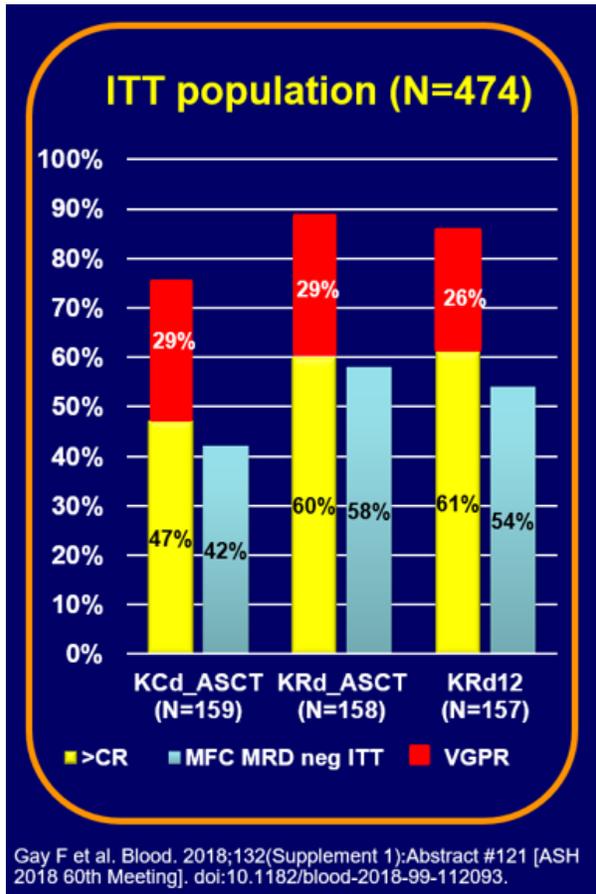
NGS



= Nombre de plasmocytes clonaux / Nombre total de leucocytes analysés

Importance d'une MRD indétectable maintenue

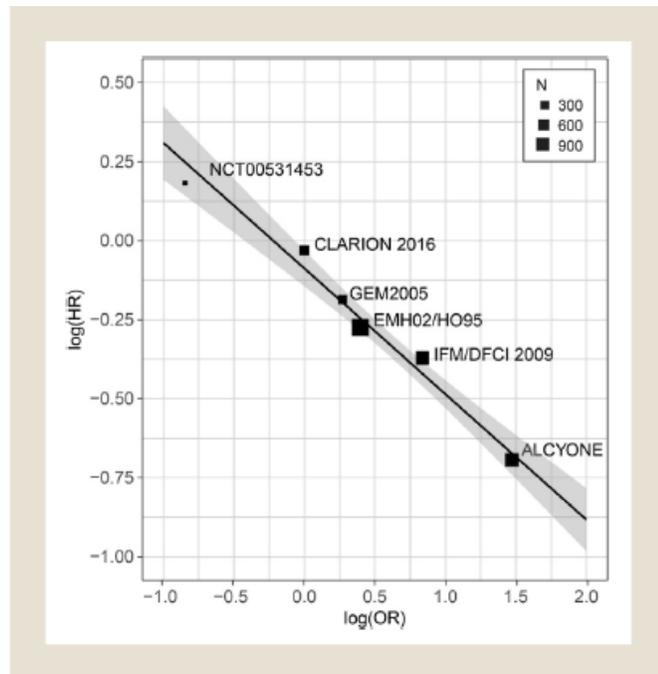
En première ligne
exemple de l'essai FORTE : KRd vs KRd-ASCT vs KCD-ASCT (CMF 10^{-5})



MRD = surrogate?

Doit répondre aux 2 critères de **Prentice** :

- 1) **PREDICTION** : doit être corrélé au bénéfice clinique à l'échelle du patient indépendamment du traitement
exemple : le traitement qui a le taux de MRD négatives le plus élevé entraîne la survie la plus longue
- 1) **CAPTURE** : doit refléter l'effet net du traitement sur le bénéfice clinique : l'effet du traitement sur la MRD doit prédire de façon fiable son effet sur la survie
exemple : 1 log reduction = 6 mois de survie

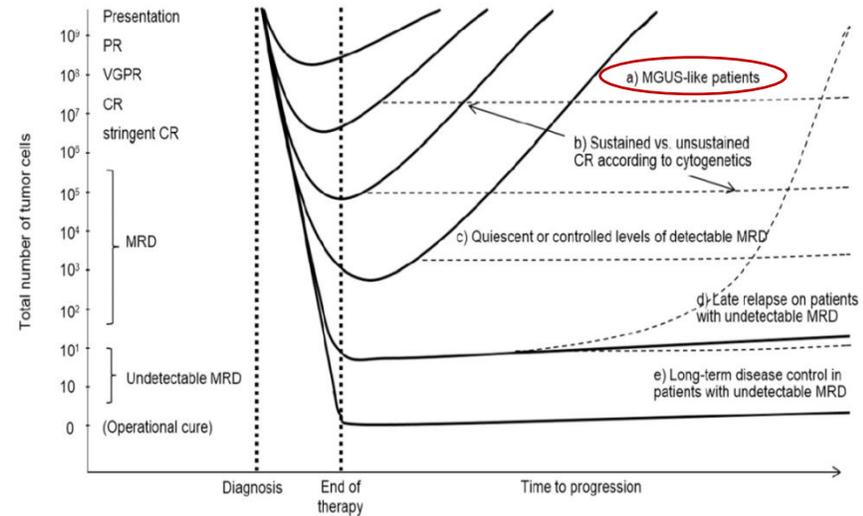


Weighted Regression Plot Comparing the MRD ORs With the PFS HRs in a Logarithmic Scale Among the 6 Randomized Trials (Adjusted R-squared of 0.97). The Equation for the Weighted Regression Model is $\text{Log (HR)} = -0.4 * \text{Log (OR)} - 0.09$

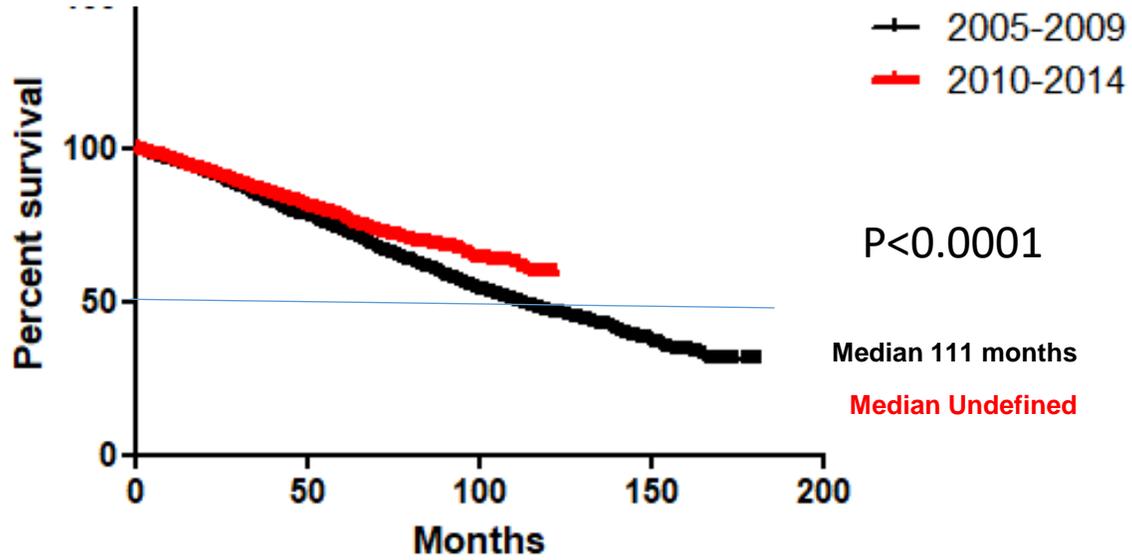
OUI pour la PFS ?...

La profondeur de la réponse et les caractéristiques biologiques de la tumeur demeurent des facteurs pronostiques indépendants

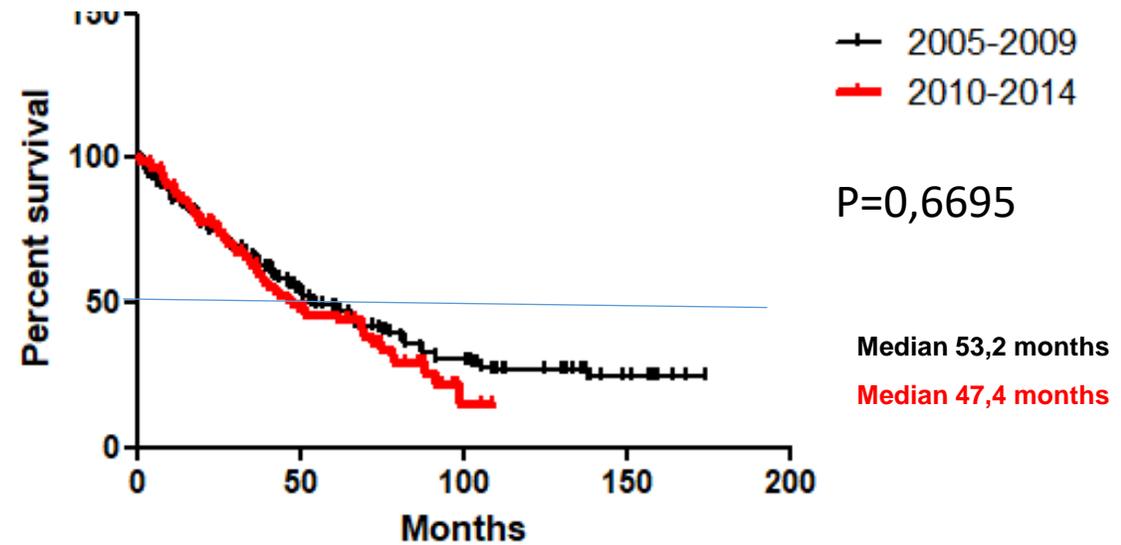
Tous les patients doivent-ils atteindre une MRD négative pour vivre longtemps ?



Transplant-eligible patients (n=3388 pts)

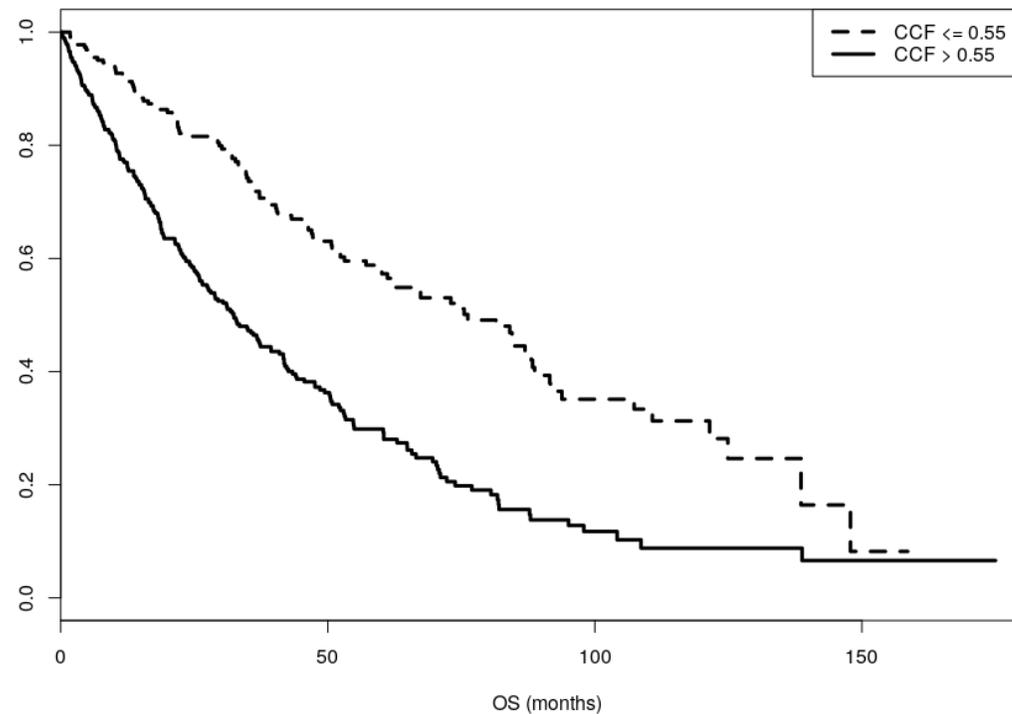


Del(17p) Transplant-eligible patients(216 pts)



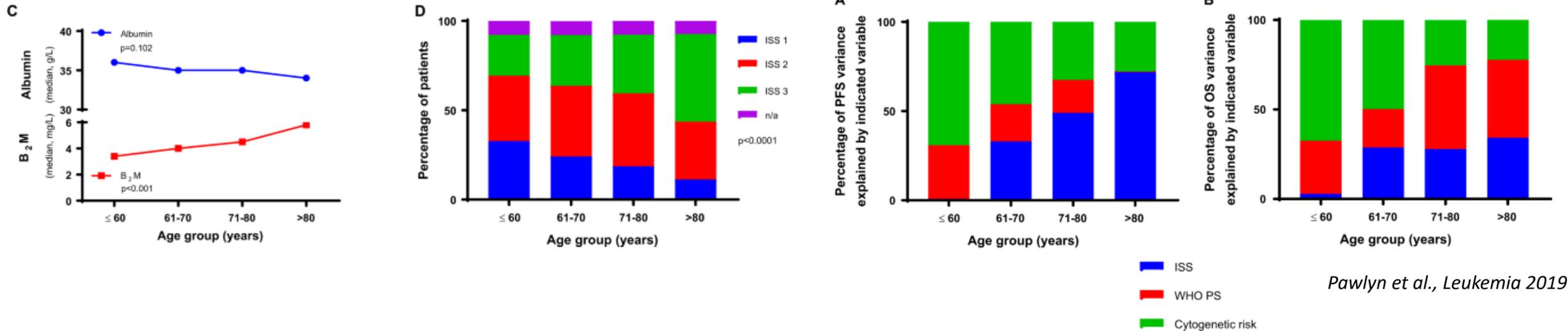
→ Délétion 17p : rôle de la taille de la fraction clonale (CCF) : **55%**

Méta-analyse de données Europe > 1,000 patients avec del(17p) à tous les niveaux



Contribution des risques « biologiques » vs « cliniques » en fonction de l'âge

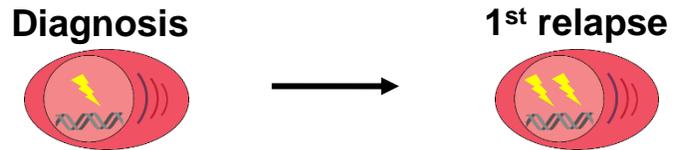
Dataset from 3894 patients of all ages uniformly treated in Myeloma XI



- With advancing age, cytogenetic risk has smaller and ISS a greater influence on outcome
- Performance status had a clear impact on outcome at all ages
- Innovative treatment approaches in younger patients should focus on target the biology underlying high-risk disease, in older more on clinical variables and intensity modification

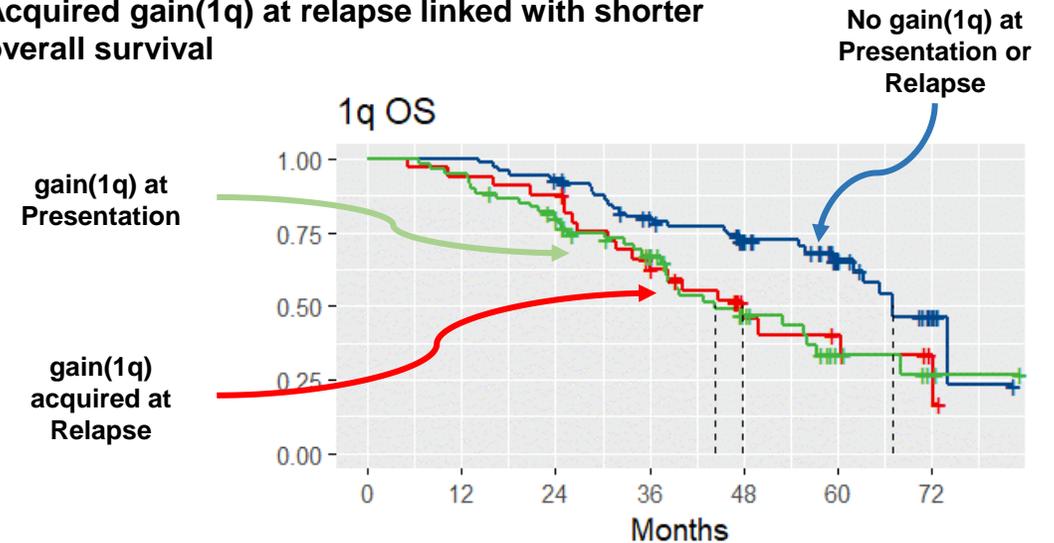
Intérêt de répéter l'analyse génétique à la rechute

Changes in copy number at relapse
Matched tumours of 178 trial patients
(Myeloma XI)



	Diagnosis	1 st relapse
gain(1q)	32%	51%
del(17p)	11%	19%
Double hit or more	21%	32%

Acquired gain(1q) at relapse linked with shorter overall survival



- Genetic re-testing at relapse clinically relevant
 - Even focused testing 1q and 17p informative
- Patients with evolving tumours = unmet need
 - ~20% of relapsing tumours
 - Not dependent on timing of relapse

Adapter le traitement à la cible ?

Quelles sont les anomalies « actionnables » ?

- **MAPK** (KRAS, NRAS, BRAF : presque 1 patient/2 !) : MEK inhibiteurs

- **BRAFV600E** : Vemurafenib

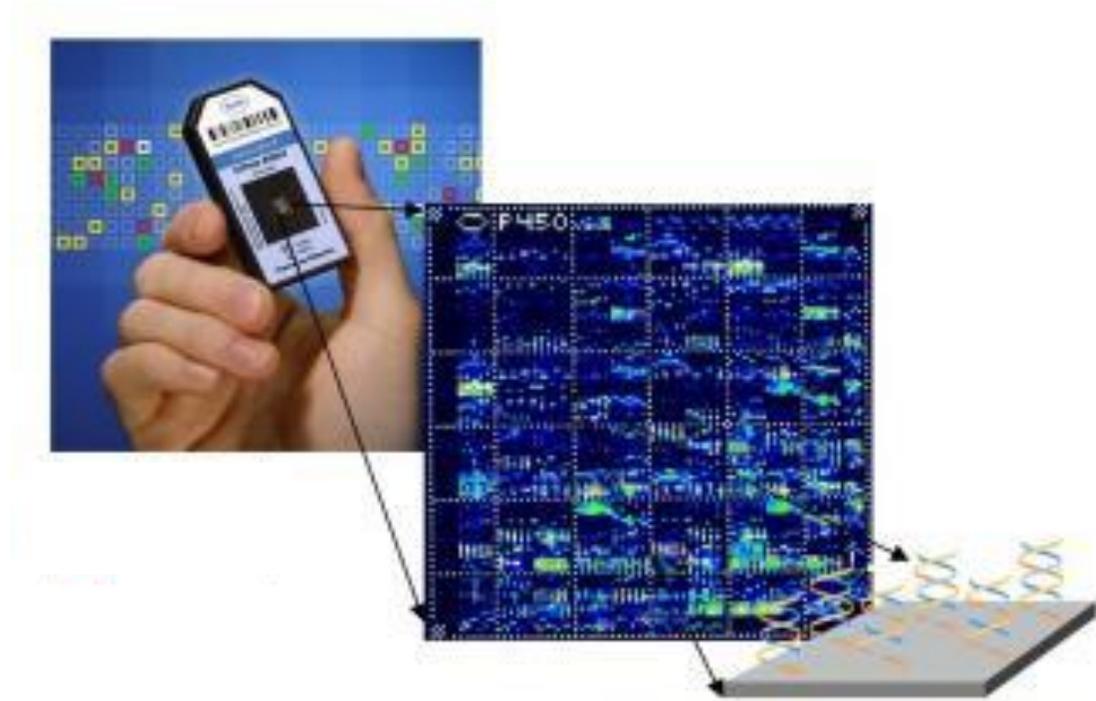
- **MYC** : BET inhibiteurs

- **MAP3K14** : NIK inhibiteurs

Quelles sont les anomalies associées à une résistance spécifique ?

- **CRBN** : IMiD

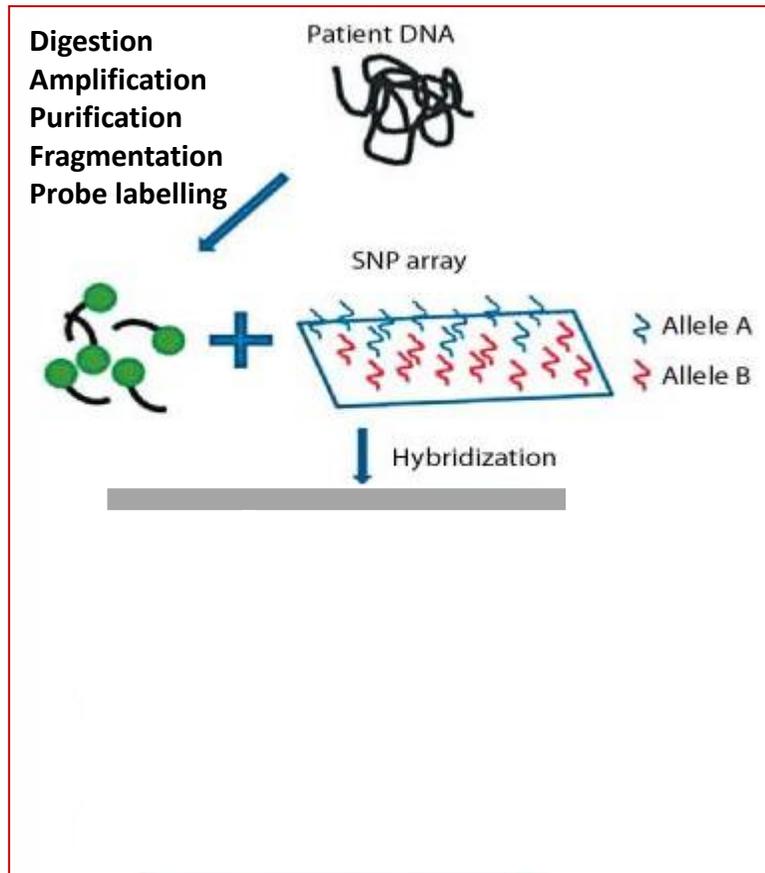
SNParray



Cytoscan Array HD® Affymetrix

- Comprehensive review of genome in one technique
- Contains more than 2.6 million markers = small fragment of DNA from human genome where there are known to be multiple alleles (Single Nucleotide Polymorphism)
- Can detect 25-50kb changes across all the genome with high specificity and sensitivity

SNParray : the modern karyotype



- Each allele is represented on the array and each position on the array corresponds to a genetic locus
- DNA from the patient is hybridized to the array (4 days)
- Patients who have the A allele at a specific locus will bind to the A allele on the array
- If the patient is homozygous, the sample will bind only to A or to B (AA or BB pattern)
- If the patient is heterozygote, the sample will bind to A and B (AB pattern)
- Copy number changes are determined by the relative intensity of bound DNA at each allele with :
 - Relative decrease in deletions
 - Relative increase in duplications

SNParray : the modern karyotype

Affymetrix Geneship Fluidic Station



- Hybridization
- Wash
- Stain
- Scan
- Data analysis

- **Processing** (*Fluidics Station 450, GeneChip Scanner 3000 7G and AGCC*)
- **Filter** (*Contrast quality control > 0.4 y MAPD < 0.35*)
- **Normalization** (*240 hapmap file*)

ANALYSIS (*Genotyping Console 4.0 –Affymetrix-, dCHIP y ChAS –Affymetrix-, SPSS 15*)

- | | |
|-----------------|-----------------------------------|
| Criteria | 1. > 10 markers per segments |
| | 2. > 100 Kb minimum genomic sizes |
| | 3. <50% overlap with known CNV |
| | 4. CNN-LOH >5 Mb |

Facturation des actes

- FISH t(4 ;14) + del(17p)

Isolement des leucocytes (code E004) = BHN 200

Tri cellulaire par billes magnétiques (code G092) = BHN 300

Cytospin + MGG (code B039) = BHN 40

FISH 1^{ère} sonde (code 0905) = B 500

FISH 2^{ème} sonde (code B035) = BHN 250

TOTAL: B500 + BHN790 (+ BHN250 par sonde supplémentaire)

- SNP array + FISH t(4 ;14)

Isolement des leucocytes (code E004) = BHN 200

Tri cellulaire par billes magnétiques (code G092) = BHN 300

Cytospin + MGG (code B039) = BHN 40

FISH 1^{ère} sonde (code 0905) = B 500

SNP Array (code B034) = BHN 4000

TOTAL: B500 + BHN4540

- NGS à visée pronostique

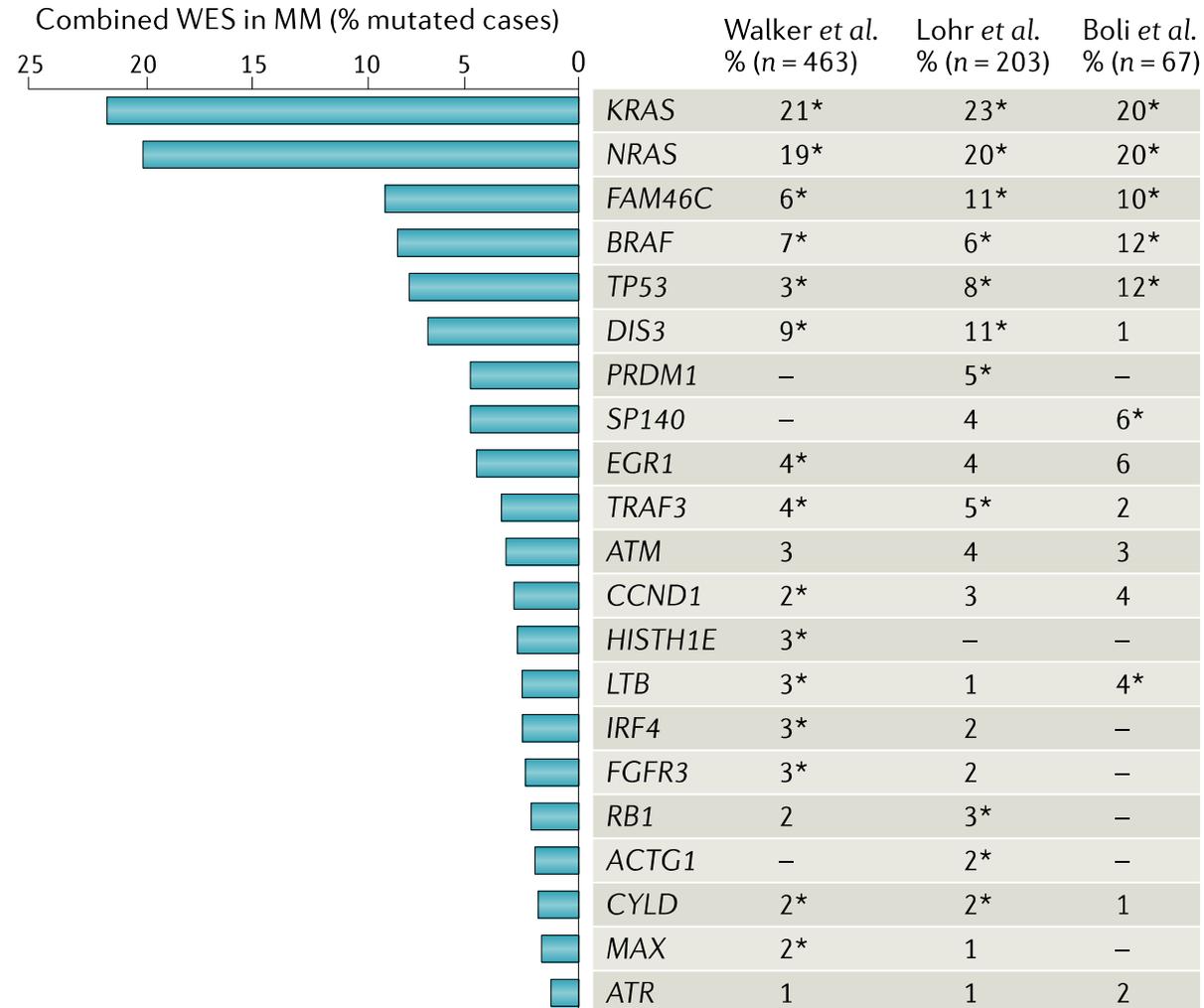
Forfait NGS > 100 kb et < 500 kb (code N454) = **RIHN 8170** (3Mb)

- NGS à visée de MRD

1^{ère} demande (Calibration + MRD) = 2 X N452 soit 2 X RIHN 3270

Demandes suivantes (MRD seule) = 1 X N452 soit RIHN 3270

Modèle oncogénique du myélome : diversité des mutations, peu de récurrences



*Mutations reaching significance