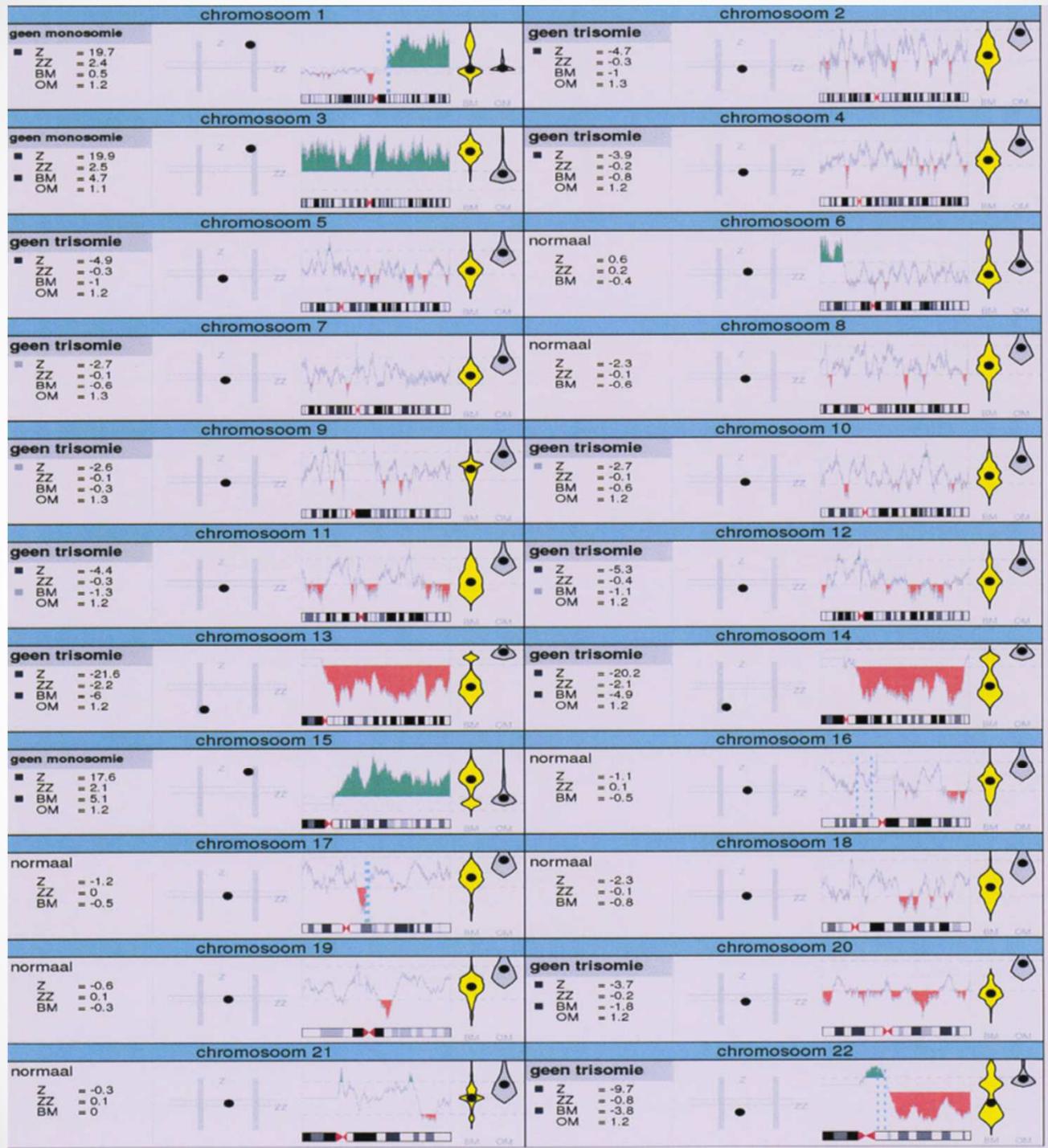


# Découverte incidente d'un myélome multiple lors d'un DPNI

Mélanie MARTIN  
Laboratoire de cytogénétique  
CHU Nîmes

# Cas clinique

- Patiente de 40 ans
- Ø atcd médicaux
- DPNI (12 SG)



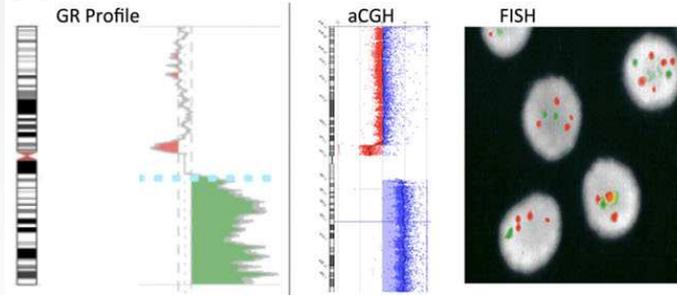
# Cas clinique

- Patiente asymptomatique (15SG)
- Suspicion de découverte incidentelle de cancer maternel

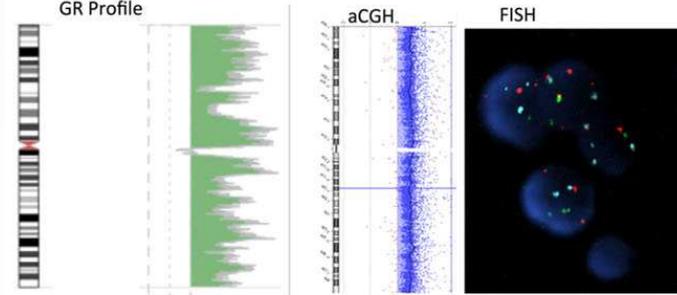
# Cas clinique

- Evaluation du stade de la maladie
  - Hypogammaglobulinémie modérée
  - Immunofixation : chaîne légère libre Lambda monoclonale
  - Lambda : 212 mg/L ; Kappa : 1,03 mg/L
  - ratio chaînes légères > 100
  - Ø critères CRAB
  - myélogramme : 8 % plasmocytes, jusqu'à 22%
- Evaluation du pronostic cytogénétique
  - ACPA : même profil de déséquilibre chromosomique que DPNI
  - FISH : gain 1q21 ≈ 87 % des noyaux  
réarrangement FGFR3-IGH ≈ 77 % des noyaux

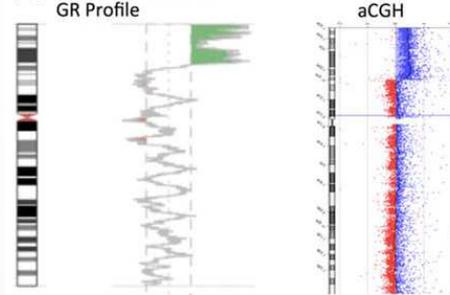
**(A) Chromosome 1**



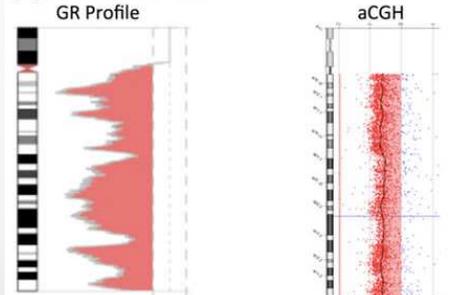
**(B) Chromosome 3**



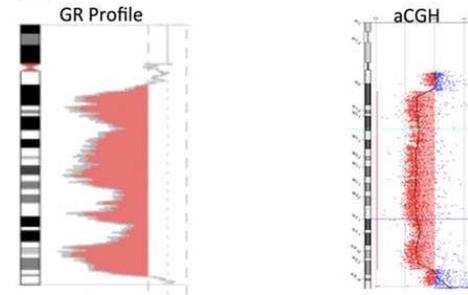
**(C) Chromosome 6**



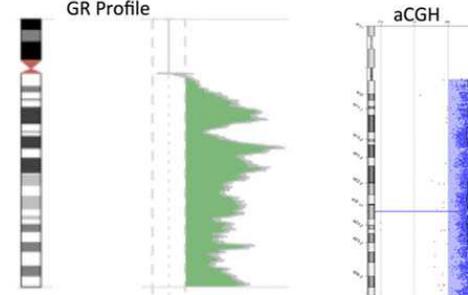
**(D) Chromosome 13**



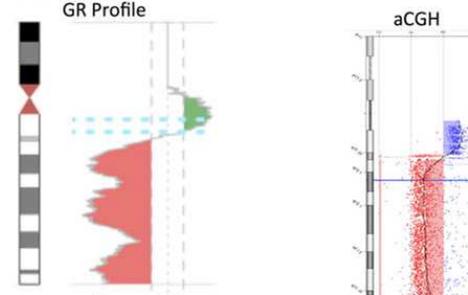
**(E) Chromosome 14**



**(F) Chromosome 15**



**(G) Chromosome 22**



**(H) Chromosome X**



# Cas clinique

- Traitement ?
  - $\lambda/\kappa > 100$  -> risque important d'évolution vers une insuffisance rénale
  - t(4;14)
- Prise en charge : suivi régulier
- Evolution : à 19 mois du diagnostic :
  - Ø évolution clinique
  - Ø anomalie TEP-TDM

# Caractéristiques de ADN circulant

- libération ADN par apoptose, nécrose ou mécanisme actif
- physiologique : 180 pb, 10-100 ng/mL, dégradation 10--15min
- ↗ inflammation, traumatisme, pathologies auto-immunes...
- ↗ +++ : cancers, stades avancés et métastatiques
  - -> j-> 1000 ng/ml - > corrélation quantitative possible entre taux de cf DNA et charge tumorale ?
  - j-> 1000 pb
- Variabilité du taux de cfDNA libéré dépend de localisation, taille, vascularisation de la tumeur.

Cell-free DNA - Minimally invasive marker of hematological malignancies,  
Kubackova V et al., Eur J Haematol. 2017 Oct

# ADN circulant biomarqueur dans le MM ?

- MM : répartition hétérogène MO ; hétérogénéité clonale médullaire et extramédullaire
  - cf DNA provient de l'ensemble des sites tumoraux
- Analyse de cf DNA intérêt diagnostique : détection à un stade précoce Sensibilité et spécificité élevées
- Pronostique
- Répétabilité
- Intérêt potentiel pour le suivi MRD

# Etude pilote, Sata et al., Exp Hematol. 2015 May

- **30 MM diagnostic, 23 en suivi à 6 et 12 mois.**
  - séquençage **réarrangement VDJ** IgH au diagnostic et quantification en suivi par ASO qPCR
  - cellules mononucléées moelle osseuse/sang/ADN circulant
  - **séquences identiques entre MO et cfDNA chez 18/20 patients au diagnostic et 16/20 pdt suivi.**
  - chez certains patients, persistance voire augmentation taux clone cfDNA pdt trt
    - -> Détection de séquence VDJ dans cfDNA pourrait refléter la persistance des plasmocytes tumoraux chez les patients.
  - trop peu de patients (4 en RC) pour évaluer le potentiel cfDNA pour le suivi MRD

Quantitative polymerase chain reaction analysis with allele-specific oligonucleotide primers for individual IgH VDJ regions to evaluate tumor burden in myeloma patients, Sata et al., Exp Hematol. 2015 May

# Oberle A, et al.,Haematologica. 2017 Jun

- 27 patients, **réarrangement VDJ** clonal en NGS
  - plasmocytes MO / GB sang périphérique / cfDNA
  - **Diagnostic : détectable** : 71 % GB sang périphérique vs **100 % cfDNA**
  - **Suivi** : détectable : 40 % GB sang périphérique ; 34 % cfDNA
    - corrélation entre statut non répondeur (protéine M) et « positivité » GB et cf DNA : 91 % des non répondeurs et 41 % des répondeurs
    - discordance de clonotype VDJ entre GB et cfDNA dans 30 % des cas -> cfDNA peut refléter charge tumorale de sites extravasculaires comme MO ou extramédullaire
  - résultat inattendu : chez certains patients non répondeurs, taux anormalement faible ou non détectable dans GB comme dans cfDNA -> absence de libération d'ADN tumoral -> biomarqueur avec implications biologiques différentes par rapport à protéine M.

## Mithraprabhu et al., Leukemia. 2017 Aug

- CD138+ MO vs cfDNA 15 patients au diag et 33 rechute/réfractaires
- vs cfDNA volontaires sains
- Quantité de cfDNA MM > volontaires sains, et corrélée au stade de la maladie, mais pas de corrélation avec le taux d'Ig monoclonale, chaînes légères libres, ou % plasmocytes médullaires.
- NGS diag / ddPCR suivi
- mutations activatrices KRAS, NRAS, BRAF, TP53
- Suivi 7 patients : évolution de représentativité des clones -> progression tumorale
- Rechute/réfractaires : 27,2 % de mutations uniquement retrouvées en cfDNA vs 6,6 % au diag.
- Architecture génétique évolue dans différents sites tumoraux et devient plus complexe pdt progression de la maladie.

● Circulating tumour DNA analysis demonstrates spatial mutational heterogeneity that coincides with disease relapse in myeloma., Leukemia., Mithraprabhu S et al., 2017 Aug ● 18

## Kis O, et al., Nat Commun. 2017 May

- 53 patients, 64 cfDNA (11 diag, 42 rechutes)
- [cfDNA] indépendante du stade ISS mais corrélé avec un stade avancé (rechute tardive vs rechute précoce)
- KRAS, NRAS, BRAF, EGFR, PIK3CA ;
- mutations somatiques 36/53 patients
- algorithme -> détection VAF 0,25 %
- cfDNA détecte 96 % des mutations détectées ds MO, spécificité > 98%
- profil génétique cfDNA chez 7 patients QI plasmocytes et 11 avec échec aspiration médullaire.
- VAF 11 patients : VAF concordantes entre cfDNA et MO -> détection de la hiérarchie sous-clonale

## Rustad et al., Haematologica. 2017 Jul.

- 20 patients avec 251 échantillons sur **7ans de suivi**
- NRAS, KRAS, BRAF ; ddPCR
- 17/18 patients : mutation MO retrouvée sérum
- VAF sérum corrélé à VAF MO.
- 10/11 patients : corrélation entre VAF cfDNA et protéine monoclonale, avec pour 2 patients une augmentation de VAF qui précède protéine monoclonale (pas de différence pour 3 patients)
- 1 patient avec évolution agressive : augmentation concentration mutation cfDNA 400x, augmentation non vue pour la protéine monoclonale