



Approche cytogénétique des proliférations plasmocytaires dans le Myélome Multiple

Rappels

Le Myélome Multiple (MM) est la 2^{ème} hémopathie maligne la plus fréquente en France ; elle représente environ 2 % de la mortalité par cancer. La médiane d'âge de survenue se situe entre 60 et 70 ans. Le myélome multiple reste une maladie incurable. Le diagnostic biologique du myélome multiple repose sur une triade : la présence d'une immunoglobuline monoclonale, d'une plasmocytose médullaire et de manifestations clinico-biologiques d'une atteinte viscérale (les critères CRAB : hypercalcémie, atteinte rénale, anémie et atteinte osseuse).

Le bilan paraclinique initial doit permettre de répondre à plusieurs objectifs : confirmer le diagnostic, évaluer le pronostic et disposer de paramètres permettant d'évaluer la réponse thérapeutique.

La classification de Salmon et Durie (1975) et l'ISS (*International Staging System - 2005*) sont à ce jour les 2 classifications reconnues pour évaluer le pronostic du MM. La classification de Salmon et Durie est basée sur les valeurs de l'hémoglobine, de la calcémie, du type d'immunoglobuline et sur des données radiologiques. L'ISS est basée sur le dosage de la β 2microglobuline sérique et de l'albuminémie.

Depuis peu, un nouveau facteur pronostique important a fait son apparition : l'étude cytogénétique des plasmocytes tumoraux. Le traitement cytoréducteur du MM symptomatique repose, en fonction du stade de la maladie et de l'âge du patient, sur l'association de chimiothérapies et sur l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Cytogénétique du Myélome Multiple

L'étude cytogénétique dans le MM a deux buts : évaluer le pronostic et adapter dans un futur proche la prise en charge thérapeutique.

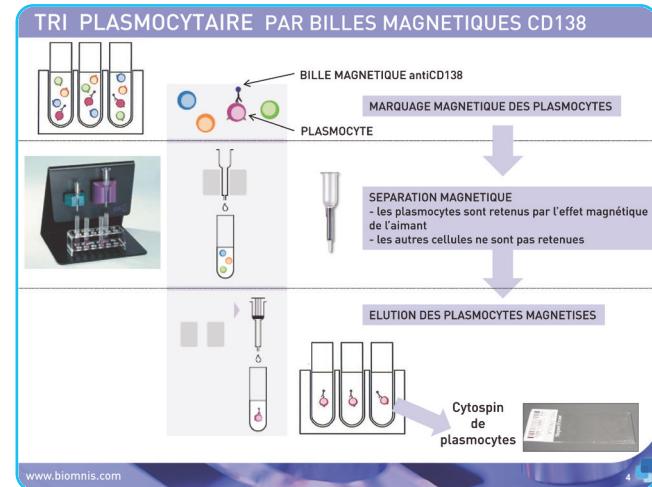
L'étude cytogénétique dans le MM présente des difficultés techniques

Les études cytogénétiques réalisées dans le cadre du MM sont techniquement difficiles pour 2 raisons. D'une part, il existe fréquemment une "dilution" des plasmocytes tumoraux dans les échantillons médullaires par agrégation des plasmocytes médullaires tumoraux en colonies cellulaires (hétérogénéité des îlots plasmocytaires) et l'infiltration plasmocytaire médullaire est souvent partielle. Ce phénomène entraîne une variabilité

du pourcentage d'infiltration observé. D'autre part, les plasmocytes tumoraux présentent un index mitotique faible et les agents mitogènes utilisés sont plus ou moins efficaces. Ces deux raisons expliquent le retard de mise en place des facteurs cytogénétiques comme facteurs pronostiques majeurs dans la prise en charge du MM.

La purification des plasmocytes tumoraux pour l'étude cytogénétique est indispensable

Il est donc indispensable de réaliser une purification des prélevements médullaires. Le tri sélectif sur billes magnétiques CD138 permet d'enrichir des préparations interphasiques avant d'effectuer une technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) à visée pronostique. Les sondes fluorescentes sélectionnées permettent d'évaluer les anomalies à valeur pronostique. Un caryotype est également réalisé afin de préciser parfois les résultats obtenus par FISH interphasique.



Quelles sont les anomalies chromosomiques décrites dans le MM ?

Les principales anomalies cytogénétiques décrites dans le MM sont soit des anomalies de nombre, soit des anomalies de structure.

Les anomalies de nombre sont schématiquement séparées en 2 groupes : d'une part, les hyperdiploïdies et d'autre part les hypodiploïdies, les pseudodiploïdies et les near tétraploïdies.

Le nombre modal des hyperdiploïdies est d'environ 53 chromosomes avec le gain des chromosomes 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 et 21. Les hyperdiploïdies représentent environ 50 % des cas. Les pertes chromosomiques rencontrées dans les hypodiploïdies concernent les chromosomes 13, 14, 16 et 22. Les near tétraploïdies pourraient dériver de clones cellulaires hypodiploïdes ou pseudodiploïdes.

Les anomalies de structure décrites dans le MM impliquent principalement les loci IgH (en 14q32), p53 (en 17p13), le chromosome 13 ou le chromosome 1 (gain en 1q). Les réarrangements de la bande 14q32 (IgH) sont identifiés dans 55 à 70 % des cas. Les translocations décrites sont : la t(11;14)(q13;q32) dans 15 à 20 % des cas, la t(4;14)(p16;q32) dans environ 15 % des cas ou les translocations t(14;16)(q32;q23), t(14;20)(q32;q11) ou t(6;14)(p21;q32) dans moins de 5 % des cas respectivement. Dans 20 % des cas le partenaire d'IgH n'est pas identifié. Dans 40 à 50 % des cas, il est observé une monosomie 13 ou plus rarement une délétion del(13q). Il existe une association fréquente entre les translocations t(4;14) ou t(14;16) et la perte d'un chromosome 13. Enfin, la délétion del(17p) est identifiée dans moins de 10 % des cas.

CYTogenétique CONVENTIONNELLE:
= CARYOTYPE MEDULLAIRE

Culture cellulaire →

CYTogenétique MOLECULAIRE:
= FISH sur PLASMOCYTES TRIÉS

ATM/p53 13q14/13q34/cep12 IgHDC

www.biommis.com

CAT en FISH

Technique FISH

www.biommis.com

Les anomalies cytogénétiques décrites dans le MM présentent une grande valeur pronostique

Les anomalies chromosomiques décrites précédemment présentent une grande valeur pronostique dans le MM : l'entité

Myélome "hyperdiploïde" est plutôt associée à un pronostic favorable alors que les myélomes présentant une del(17p), une t(4;14) ou une t(14;16) sont associés à un pronostic défavorable. La stratification pronostique proposée par la Mayo clinic est basée sur les critères représentés sur la figure suivante.

RECOMMANDATIONS (IMW) – Facteurs pronostiques

Labo biologie polyvalente

NFS-Plaq
? ↓ Hb
? ↓ Plaq

Calcémie ↑ ? Urée/Créat ? IR

Albuminémie ↓ ?

β2m ↑ ? LDH ↑ ? BJ ?

Labo biologie spécialisée cytogénétique au minimum :

FISH sur plasmocytes triés
p53
t(4;14)
t(14;16)

Level	FISH tests	Recommended testing frequency	Validation
Minimal proposed testing (essential testing)	Primary events (t(4;14)(q13;q32)) del(13q) (t(11;14)(q13;q32))	Once	Validated by several studies
Established markers	t(14;20)(q32;q23)	Once	Validated by several studies
Proposed markers	t(17p) deletion	Can be repeated	Validated by several studies
Explored markers with modest effects	t(11;14)(q13;q32)	Once	Almost always favorable but weak effect
	Chromosome 13	May be repeated	Always negative but effect weak

Fonseca, Xlith International MYELOMA WORKSHOP 2009

Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted therapy

High-risk (25% of patients)	Standard-risk (75% of patients)
FISH: Deletion of 17p t(4;14) t(14;16)	All others including Hyperdiploid t(11;14) t(6;14)
Cytogenetic deletion 13	
Cytogenetic hypodiploidy	
Plasma cell labelling index > 3%	

Standard risk also requires a beta-2-microglobulin < 5.5 and LDH < upper limit of normal

Dispenzieri et al, Mayo Clin proc. 2007

De la cytogénétique de routine à la cytogénétique moléculaire pangénomique et à la biologie moléculaire

Les techniques innovantes de cytogénétique moléculaire (CGHarray) et de biologie moléculaire (SNParray et puces à expression) semblent encore mieux préciser les groupes pronostiques établis par les classifications actuellement utilisées et les études cytogénétiques.

Conclusion et perspectives

Les paramètres clinicobiologiques des classifications de Salmon et Durie et de l'ISS restent toujours d'actualité pour la stratification pronostique des patients atteints de MM. Les données génétiques vont permettre d'effectuer une classification moléculaire de cette hémopathie maligne permettant de proposer des facteurs pronostiques forts et une aide à la prise en charge thérapeutique.

Benoit Quilichini, Biomnis Lyon

