



II-3. INTÉGRATION DES INFORMATIONS PHÉNOTYPIQUES ET GÉNÉTIQUES DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DU MYÉLOME.

S.Max, C.Herens, N.Schaaf-Lafontaine, A.Gothot.

UnilabLg, Faculté de médecine/CHU, Liège; (boursier du FRIA, stephmax26@gmail.com).

Le myélome multiple est une hémopathie maligne chronique d'évolution variable. La recherche de biomarqueurs améliorant la prise en charge des patients constitue un défi capital. Deux catégories de marqueurs sont utilisables : les anomalies chromosomiques et phénotypiques identifiées par FISH interphasique et par cytométrie en flux respectivement.

Nous avons comparé 4 kits d'enrichissement des cellules plasmocytaires de manière à augmenter la sensibilité des analyses FISH : le kit de sélection négative RosetteSep™ Human Multiple Cell Enrichment Cocktail de Stem Cell Technologies, l'EasySep™ Human Whole Blood CD138 Selection Kit (Stem Cell Technologies), l'EasySep™ Human CD138 Positive Selection Kit (Stem Cell Technologies) et la séparation MACS CD138 Human MicroBeads (Miltenyi Biotec).

	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS TESTÉS	TAUX D'ENRICHISSEMENT	PURETÉ MOYENNE (%)
RosetteSep™ Human Multiple Cell Enrichment Cocktail	9	2.2	43.5
EasySep™ Human Whole Blood CD138 Selection Kit	5	5.8	27.6
EasySep™ Human CD138 Positive Selection Kit	12	4.01	22.8
MACS CD138 Human MicroBeads	20	3.99	65

Le kit MACS offre le plus haut degré de pureté et nécessite moins de manipulations ce qui garantit la viabilité des plasmocytes pour les étapes d'analyses ultérieures.



.../...

Afin de déterminer l'utilité des sélections plasmocytaires, nous avons comparé les résultats FISH classiques (50 patients) avec ceux obtenus après enrichissement MACS (40 patients). Les anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic ont été recherchées : t(4,14), del(13q14) et del(17p13). En FISH classique, les informations obtenues sont peu contributives et ne sont détectées que dans 11% des cas. Lorsque les FISH sont réalisées post-enrichissement, on observe un plus grand nombre d'anomalies décelées (60% des cas).

Nous avons ensuite estimé et comparé les fréquences d'apparition des anomalies cytogénétiques sur 41 patients myélomateux.

Des t(4,14) sont mises en évidence dans 40% des cas alors que les del(13q14) et del(17p13) sont observées chez 15% et 7.5% des patients respectivement.

Les expressions antigéniques ont été analysées par une technique de marquage multiparamétrique CD38/CD138/CD45, CD38/CD45/CD19/CD56, CD38/CD138/CD28 et CD38/CD138/CD20/CD117. La répartition des anomalies phénotypiques est représentée ci-dessous :

	CD19-	CD56+	CD28+	CD20+	CD117+
Total des patients (41)	92.5 %	75 %	40 %	42.5 %	62.5 %
Patients présentant une t(4,14) (16)	100 %	87.5 %	31.2 %	43.7 %	62.5 %
Patients sans anomalies cytogénétiques (20)	80 %	65 %	45 %	45 %	55 %

L'absence d'expression du CD19 est majoritairement observée, les anomalies du CD56 et du CD117 sont également fréquents.

Sur cette série limitée de patients, on observe que les aberrations phénotypiques semblent indépendantes du statut cytogénétique des plasmocytes tumoraux analysés. Le profil d'expression antigénique est similaire en présence ou non d'une translocation.

Dans la suite des recherches, nous envisageons la réalisation de CGH-arrays sur plasmocytes sélectionnés permettant un screening de l'entièreté du génome des plasmocytes tumoraux. Les données cytogénétiques et phénotypiques seront comparées et confrontées aux différents stades de la maladie.