

# Detekce MRD u MM

Mgr. Pavla Všianská

RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.

Babákova myelomová skupina, ÚPF, LF MU Brno

A

OKH, FN Brno



XIII. workshop mnohočetný myelom  
a Roční setkání České myelomové skupiny  
10.-11.dubna 2015, Mikulov

# Minimální residuální choroba

- přetrvávající klonogenní buňky
- standardními metodami nezachytitelné
- detekce pomocí průtokové cytometrie (FC) a PCR
- využití pro klinické studie a diagnostiku

# Detekce MRD pomocí FC

## Stanovení přítomnosti klonálních PC v KD

1. Na základě analýzy abnormálního fenotypu PC detekovaného v době stanovení dg.
  - Analýza povrchových znaků: CD19, CD20, CD27, CD28, CD33, CD45, CD56, CD81, CD117
2. Na základě stanovení klonality v kombinaci s abnormálním fenotypem PC

# Detekce MRD pomocí FC

## Stanovení přítomnosti klonálních PC v KD

$MRD_{neg}$  – nepřítomnost fenotypově aberantních/klonálních PC

$MRD_{poz}$  – přítomnost jednoznačné populace (min 20-50bb)  
fenotypově aberantních/klonálních PC

# Detekce MRD pomocí FC

## Standardizace v rámci ČR

- Nutnost zachování min. počtu markerů → min. 6-barevná analýza
- Senzitivita stanovení min.  $10^{-5}$
- Využití jednotného protokolu - Euroflow?
- Výhodou je znalost fenotypu PC v době stanovení dg.

# Detekce MRD pomocí FC

FC	vs.	Molekulární metody
až $10^{-5}$	senzitivita	$10^{-6}$
≈95% pacientů	aplikovatelnost	70% pacientů
3 hodiny	rychlost	3 dny - týdny
ne příliš vysoká	cena	vysoká

# Detekce MRD pomocí FC

- Polychromatická FC je „zlatým standardem“ pro stanovení MRD
- Při analýze dostatečného počtu buněk je senzitivita až  $10^{-5}$  a blíží se přístupům na DNA úrovni

# Detekce MRD pomocí PCR

- amplifikace tumor-specifického molekulárního markeru
- u MM: VDJ přestavba těžkého řetězce imunoglobulinu (IgH)
- sekvenace hypervariabilní oblasti (IGHV) pro navržení alelově-specifických (ASO) primerů a sond
- detekce specifického klonu myelomových buněk



# Marker: VDJ přestavba IgH

## Výhody

- stabilní marker
- specifita
- vysoká citlivost (až  $10^{-6}$ )
- prediktivnost
- vhodné pro retrospektivní studie

## Nevýhody

- nižší aplikovatelnost (60 - 75 %)
- komplexní metodika
- časová náročnost
- finanční náročnost
- obtížná standardizace

# Schéma pro jednoho pacienta

Vzorek při diagnóze  
detekce tumor-specifické IGHV přestavby



Léčba



Vzorek po léčbě  
detekce sekvence specifické pro daný klon (MRD)

# Výhled do budoucnosti

- kompletní standardizace metodiky
- navýšení využití detekce MRD pomocí PCR v multicentrických klinických studiích
- porovnávání různých léčebných režimů

# ACKNOWLEDGMENTS

**Babak Myeloma Group,**  
Dep. of Pathological  
Physiology,  
Faculty of Medicine, MU

**Ševčíková Sabina**

Bešše Lenka  
Kubaczková Veronika  
Sedlaříková Lenka  
Gromesová Barbora  
Stanková Monika  
Kutálková Kateřina  
Bollová Božena

**Dep. of Clinical Hematology,**  
Faculty Hospital Brno



**Penka Miroslav**

Almáši Martina  
Bezděková Renata  
Hanáková Božena  
Říhová Lucie  
Sáblíková Barbora  
Suská Renata  
Štouračová Marcela  
Všianská Pavla

**Dep. of Clinical Hematology**  
Faculty Hospital Ostrava

**Hájek Roman**



Jelínek Tomáš  
Kryukov Fedor  
Kryukova Elena  
Kufová Zuzana

**Laboratory of molecu-  
l. cytogenetics**



**Dep. of Experimental Biology,**  
Faculty of Science, MU

**Kuglík Petr**

Mikulášová Aneta  
Smetana Jan  
Wayhelová Markéta



**Dep. of Internal Medicine -  
Hematooncology**

Faculty Hospital Brno

Adam Zdeněk  
Krejčí Marta  
Pour Luděk

**Institute of biostatistics  
and analysis**  
Faculty of Medicine, MU



Jarkovský Jiří  
Brožová Lucie  
Budinská Eva  
Ihnatová Ivana

# Děkuji za pozornost

