

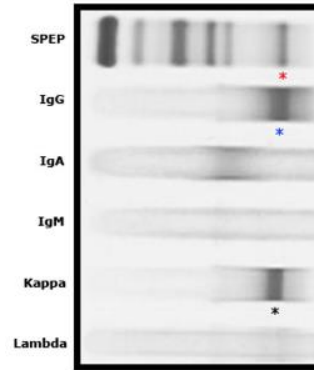
Notkun frumflæðisjártækni og MRD (Minimal/Measurable Residual Disease) í mergæxli

Jón Þórir Óskarsson
Doktorsnemi í líf- og læknávisindum
jto@hi.is

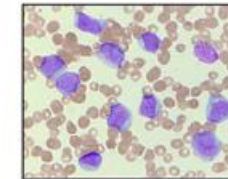
IMF – Perlúvinir 2023

Aðferðir við að magngreina (einstofna) plasmafrumur

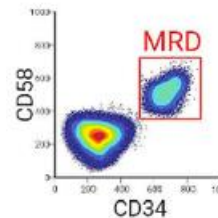
- Einstofna prótein (M-prótein)
 - Próteinrafráttur (SPEP)
 - Massagreining (Mass-spec)
- Plasmafrumutalning í beinmergssýni
- Fjöldi einstofna plasmafrumna
 - Frumuflæðisjargreining
 - NGS
 - PCR
- Myndrannsóknir
 - PET/CT



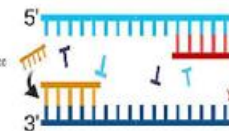
Methods of MRD detection



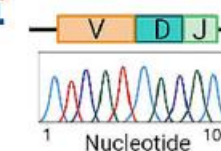
Light microscopic evaluation



Multicolor flow cytometry



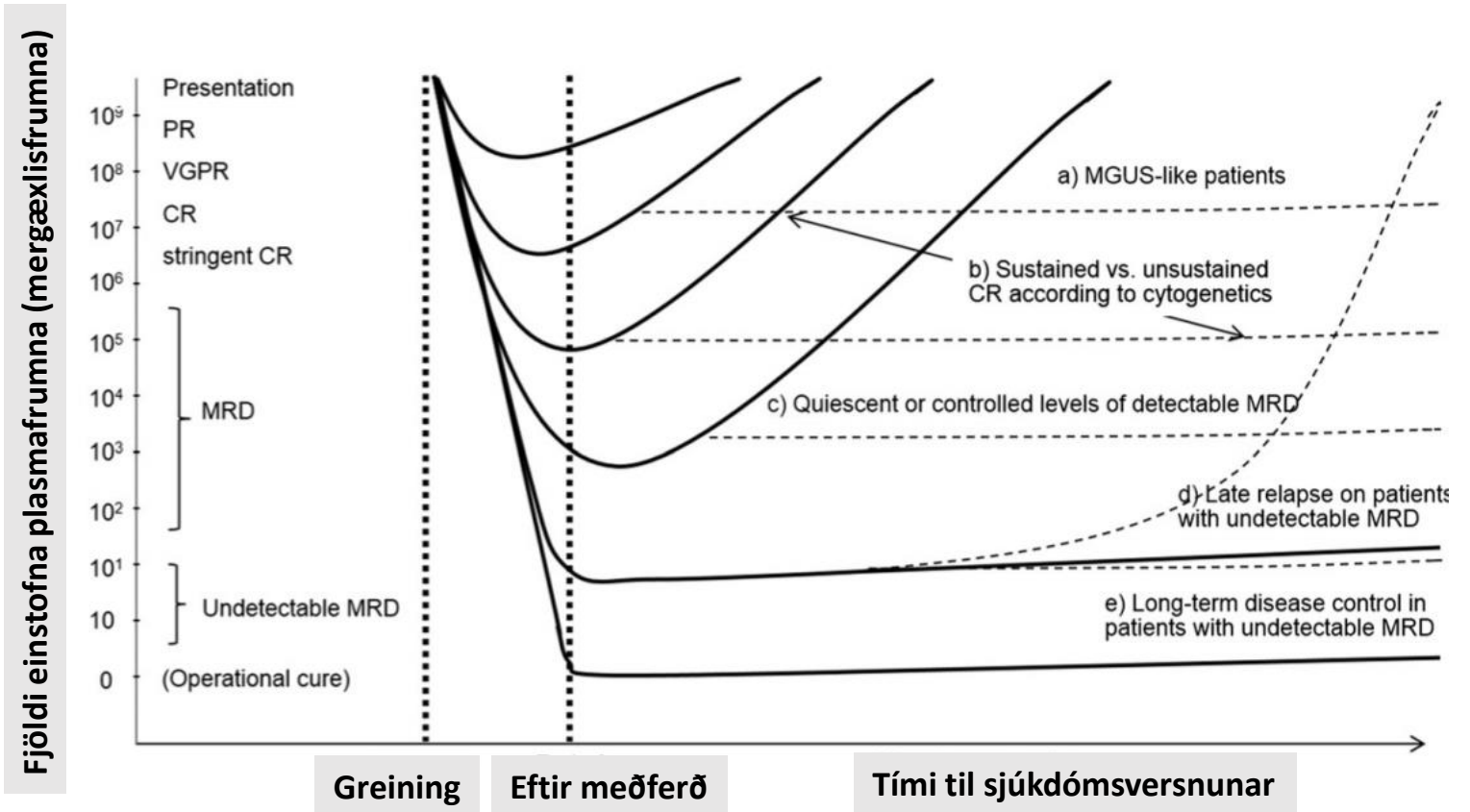
Real time PCR



Next generation sequencing

Dýpt meðferðarsvörunar

- Mikilvæg vísbending um langtíma horfur
- Beint eða óbeint mat á fjölda mergæxlisfrumna
- Næmni aðferða skiptir máli
- Viðmiðunargildi (response criteria) notuð til að skilgreina dýpt meðferðarsvörunar og áætlaðar horfur
- Staðgönguviðmið (surrogate end-point) í klínískum meðferðarrannsóknum



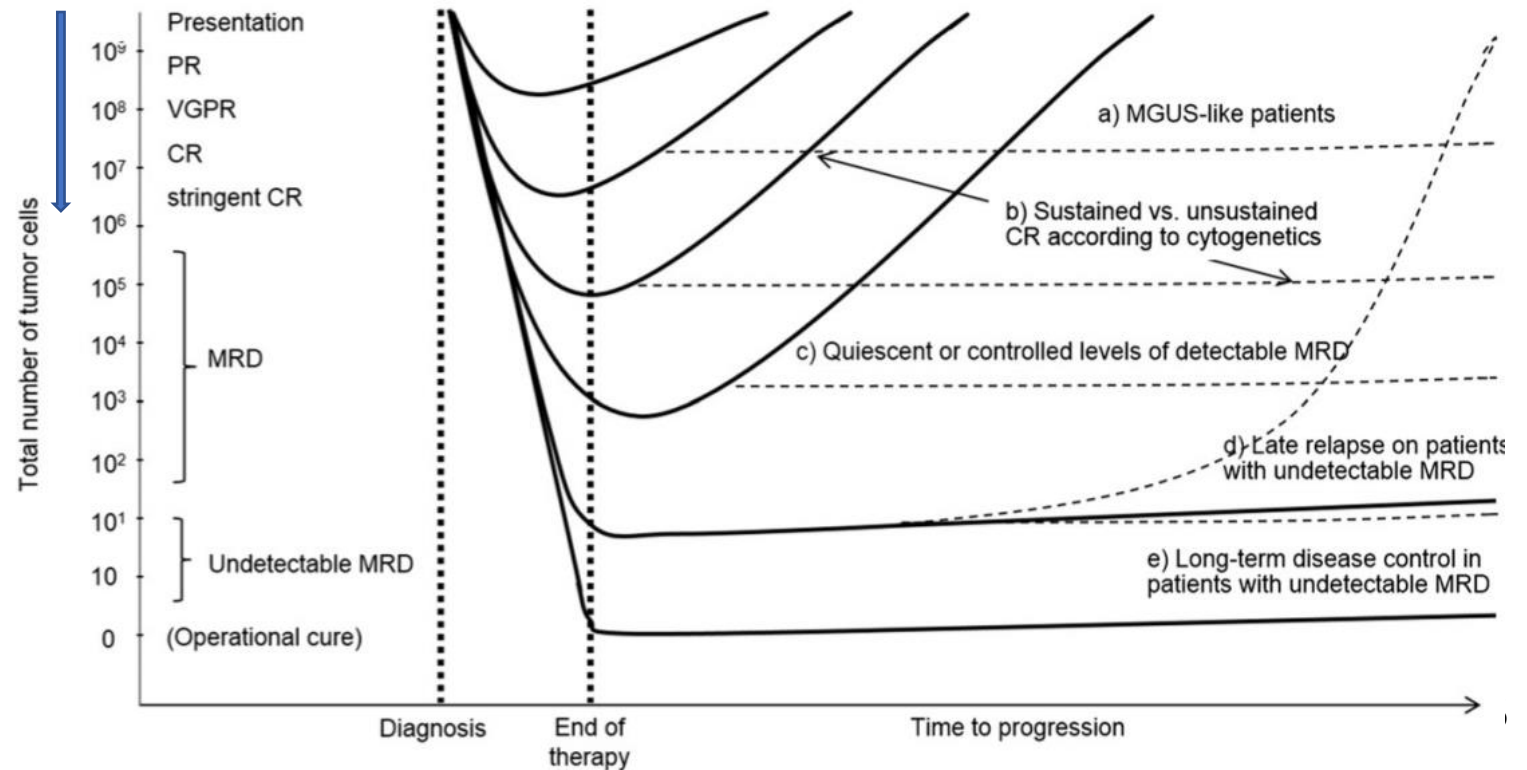
Dýpt meðferðarsvörunar: Complete response

(stringent) Complete Response (CR):

Ummerki mergæxlis greinist ekki með „klassískum aðferðum“

- Einstofna mótefni greinist ekki í sermi með rafrætti
- Eðlileg plasmafrumutalning í beinmerg
- Eðlilegt hlutfall léttra keðja

Með tilkomu nýrra meðferðarúrræða hefur svörun batnað og hærra hlutfall einstaklinga nær CR



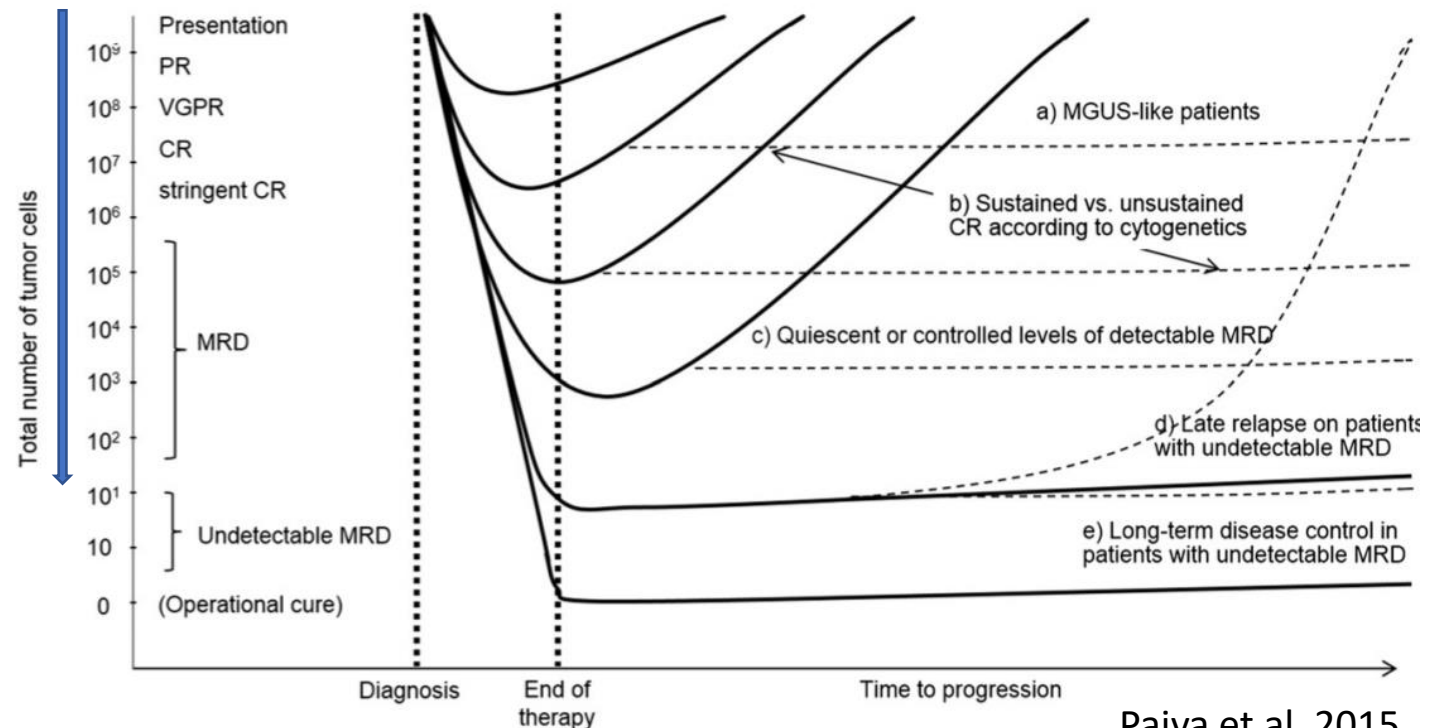
Dýpt meðferðarsvörunar: MRD

Minimal residual disease (MRD)

- Mælanlegur sjúkdómur sem greinist ekki með „klassískum aðferðum“
- Næmari aðferðir
 - Next-generation Flow cytometry (NGF)
 - Next-generation Sequencing (NGS)
 - PET/CT

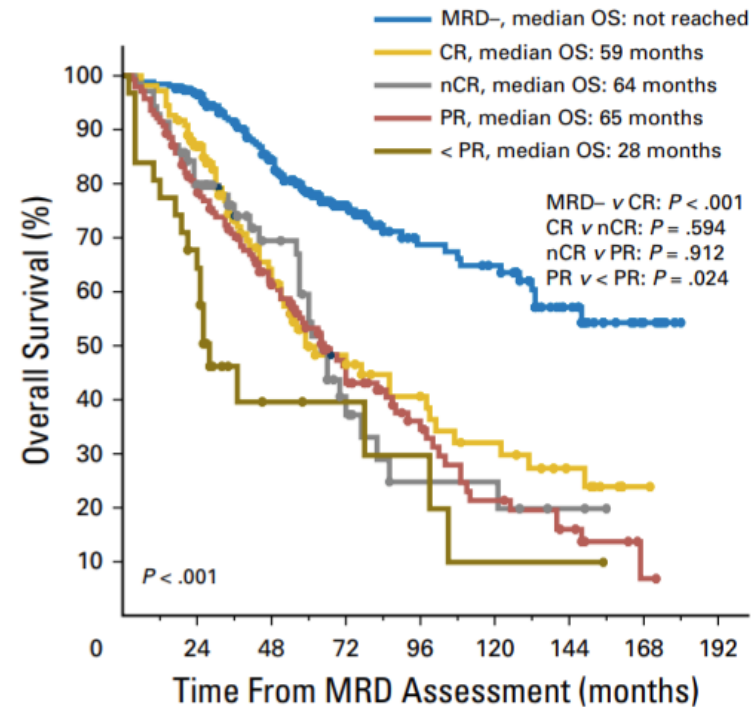
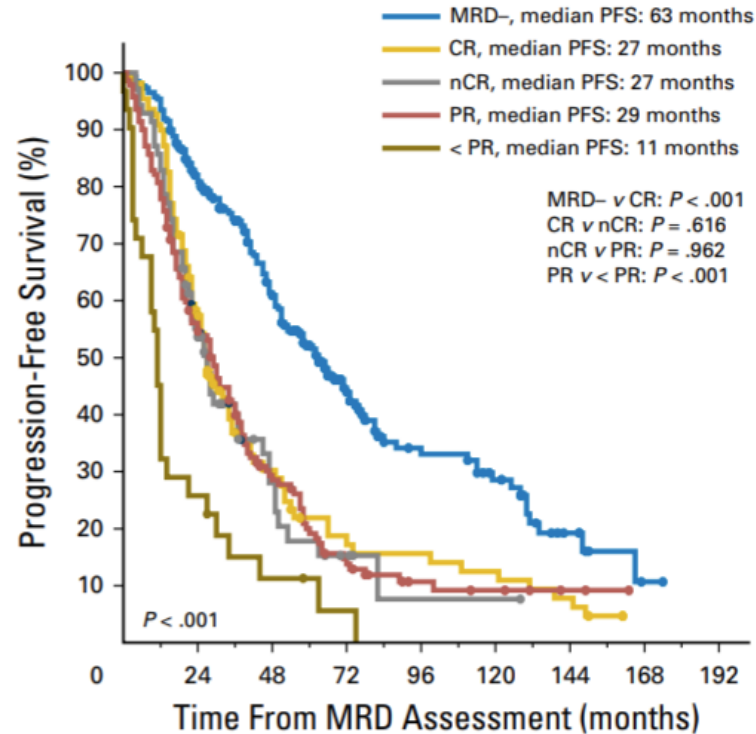
MRD viðmiðunargildi (IMWG response criteria)

- **MRD^{pos}**: Einstofna plasmafrumur greinast með NGF or NGS
- **MRD^{neg}**: Einstofna plasmafrumur greinast ekki með NGF eða NGS með lágmarksnæmni 1 af 100.000 beinmergsfrumum
 - Sustained MRD negativity: MRD^{neg} með eins árs millibili
 - Imaging plus MRD negativity: MRD^{neg} and PET/CT^{neg}



Response	MRD (sensitivity)
Complete response (CR)	1 in 1,000
Stringent CR	1 in 10,000
MRD by Next-Generation Flow cytometry	1 in 100,000 to 500,000
MRD by Next-Generation Sequencing	1 in 100,000 to 1,000,000

MRD neikvæðni sterkasta vísbending um langtímahorfur í mergæxli

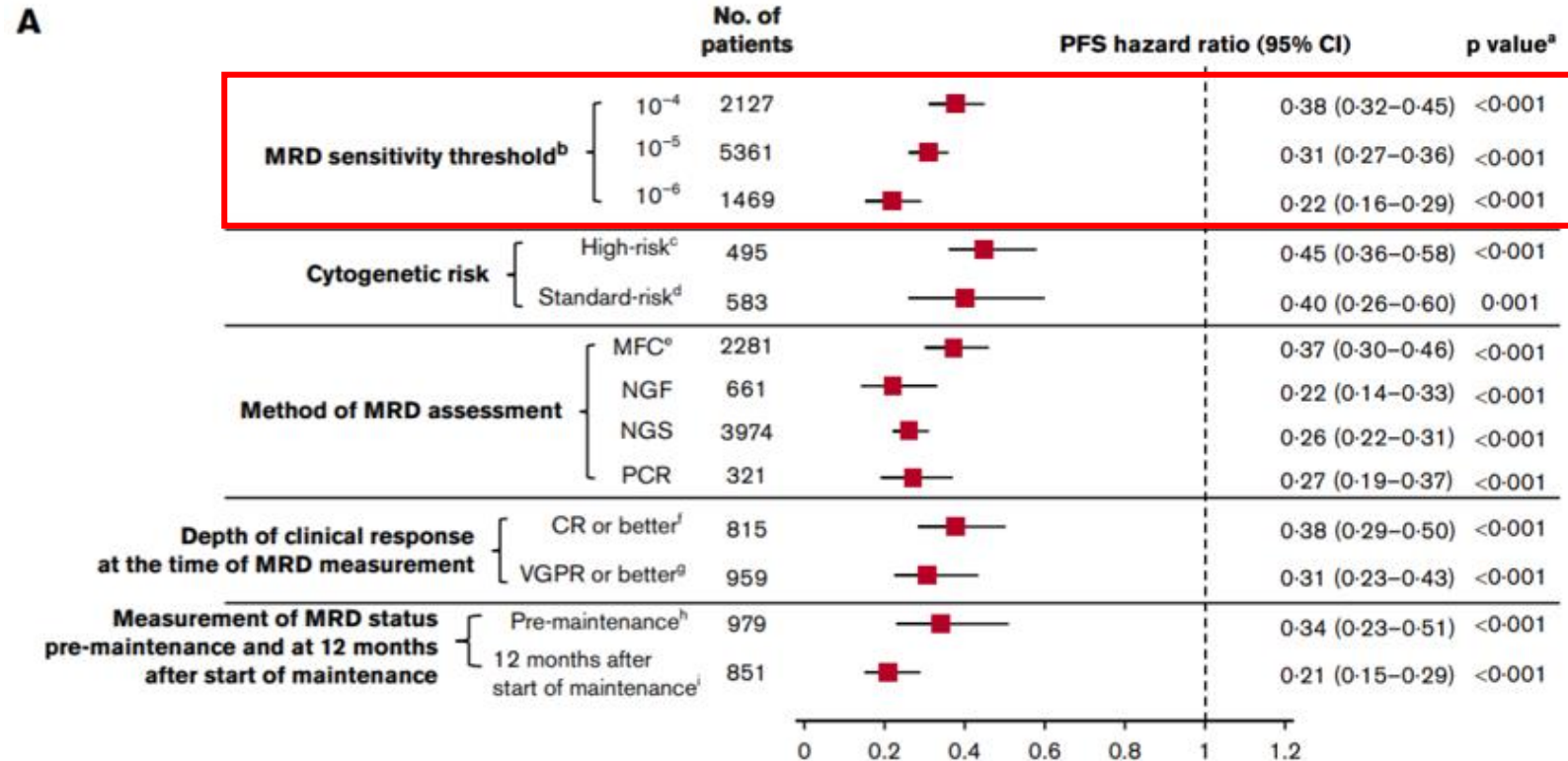


- MRD metið með frumuflæðisjargreiningu (næmni of 10^{-4} to 10^{-5})

Næmni aðferða við mat á MRD skiptir máli

Næmni MRD

- $10^{-4} = 1:10.000$
- $10^{-5} = 1:100.000$
- $10^{-6} = 1:1.000.000$



Aðferðir til að greina MRD

Frumuflæðisjargreining

- Next-generation flow cytometry

Molecular aðferðir

- ASO-qPCR (DNA mögnun)
- Next-generation sequencing (háhraðaraðgreining)

Myndgreining

- PET/CT (jæindaskönnun)

Mat á MRD í blóðsýnum? (í þróun)

- Mass spectrometry of M-protein
- BloodFlow
- Circulating tumor DNA

Aðferðir til að greina MRD

Frumuflæðisjargreining

- Next-generation flow cytometry

Molecular aðferðir

- ASO-qPCR (DNA mögnun)
- Next-generation sequencing (háhraðaraðgreining)

Myndgreining

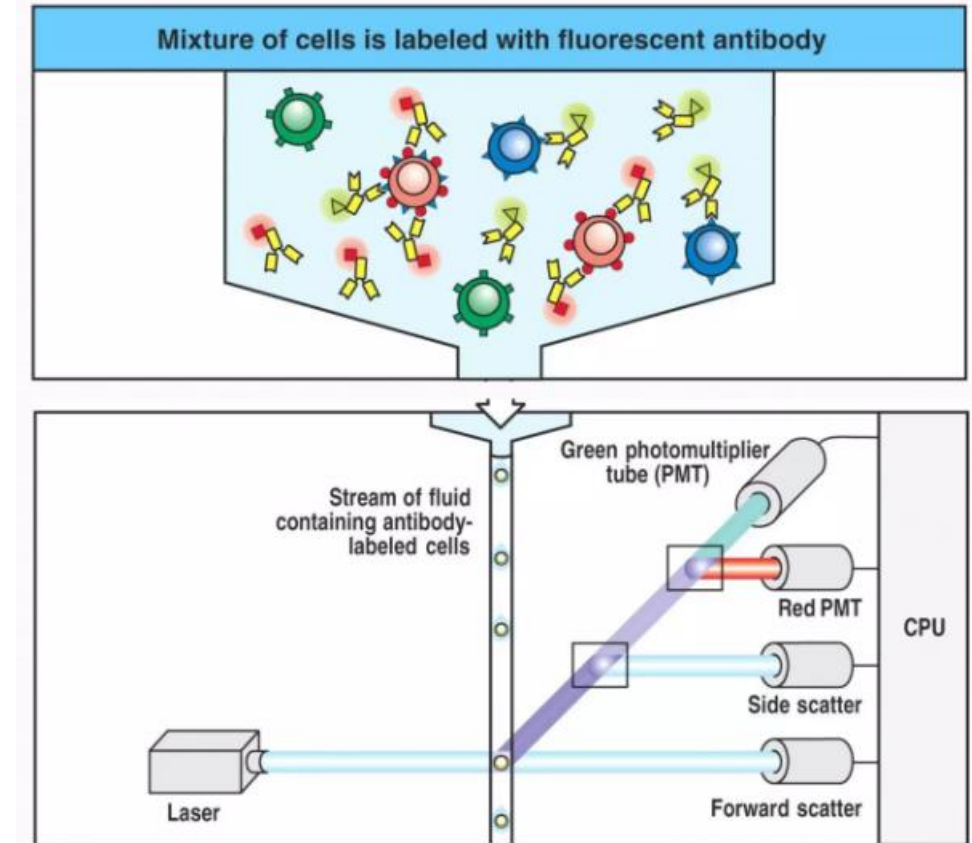
- PET/CT (jæindaskönnun)

Mat á MRD í blóðsýnum? (í þróun)

- Mass spectrometry of M-protein
- BloodFlow
- Circulating tumor DNA

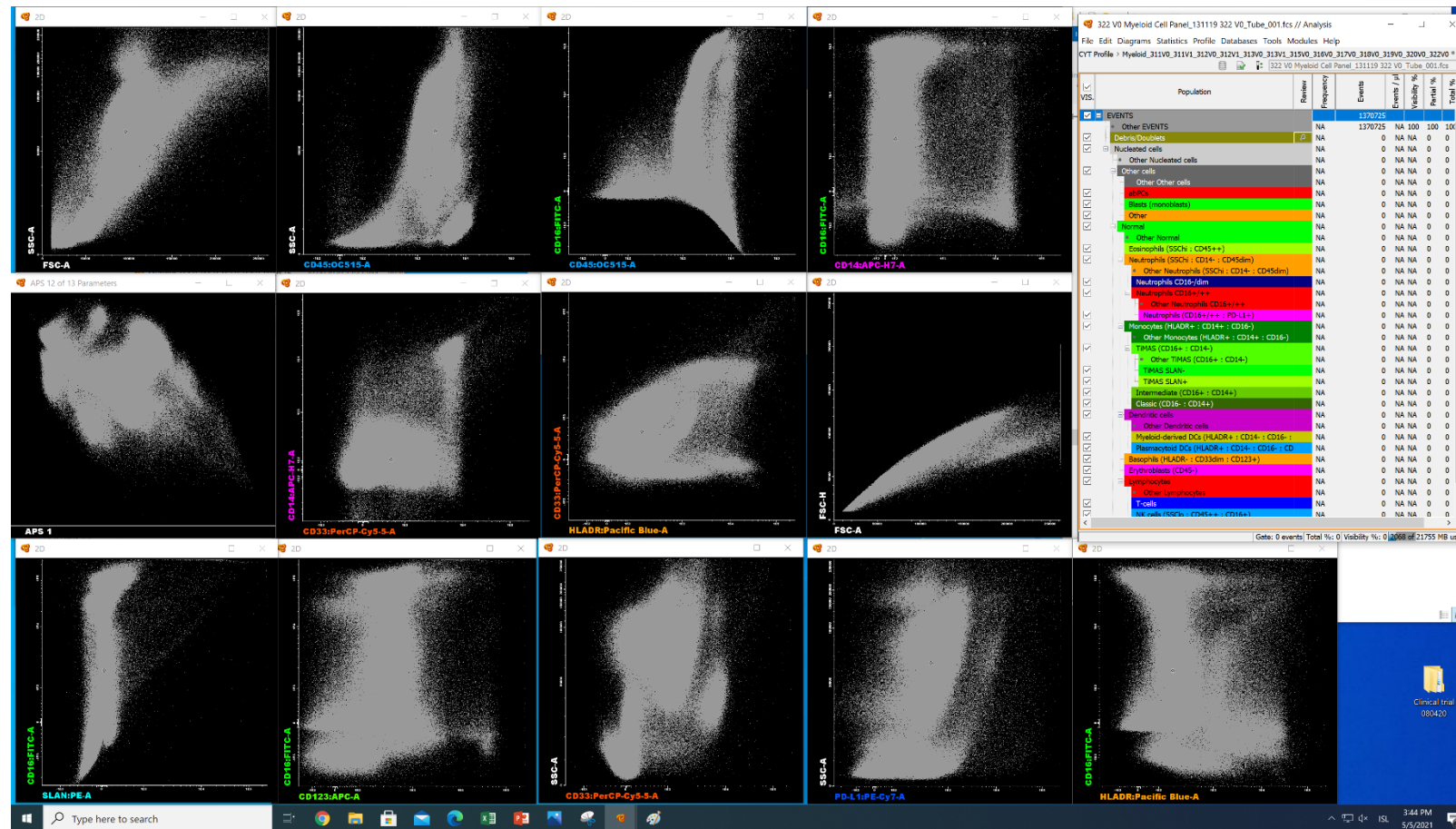
Frumuflæðisjárrannsóknir

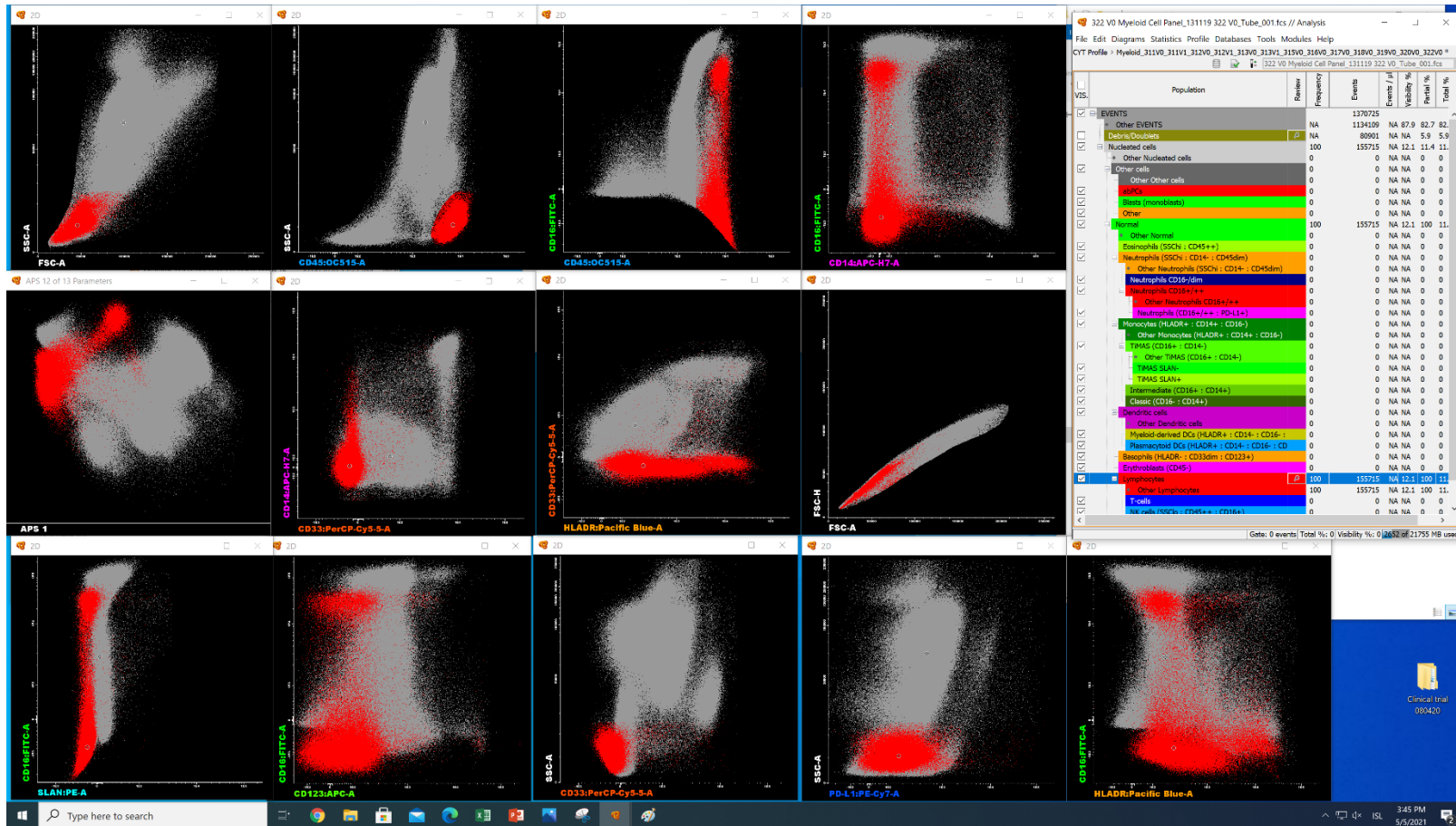
- Frumur eru merktar með flúrljómandi mótefnum sem eru sértæk fyrir einkennandi yfirborðssameindum
- Notað til að aðgreina og magngreina mismunandi frumuhópa
- Mikið notað í greiningu á blóðkrabbameinum og ónæmisfræðilegum rannsóknum

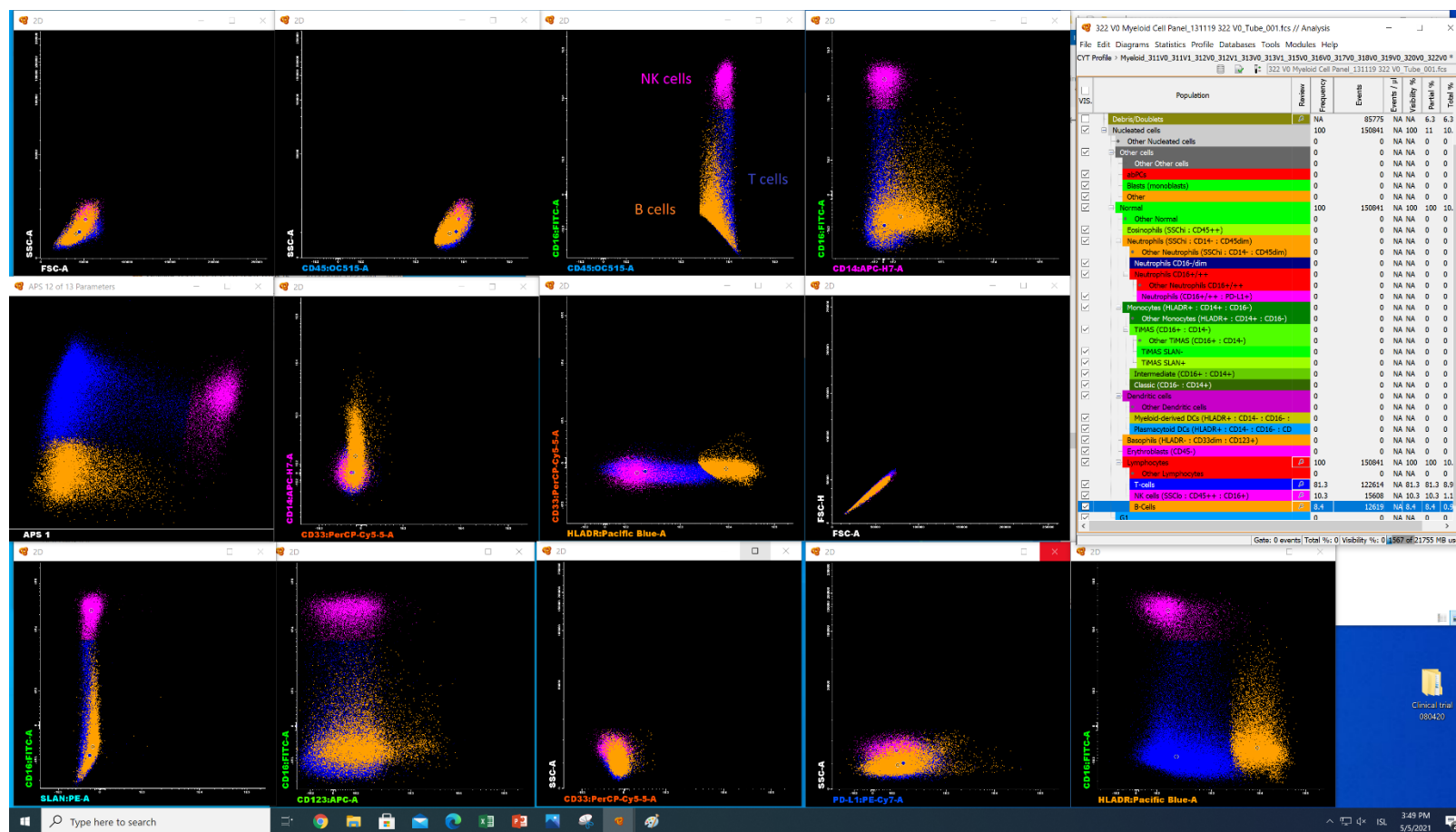


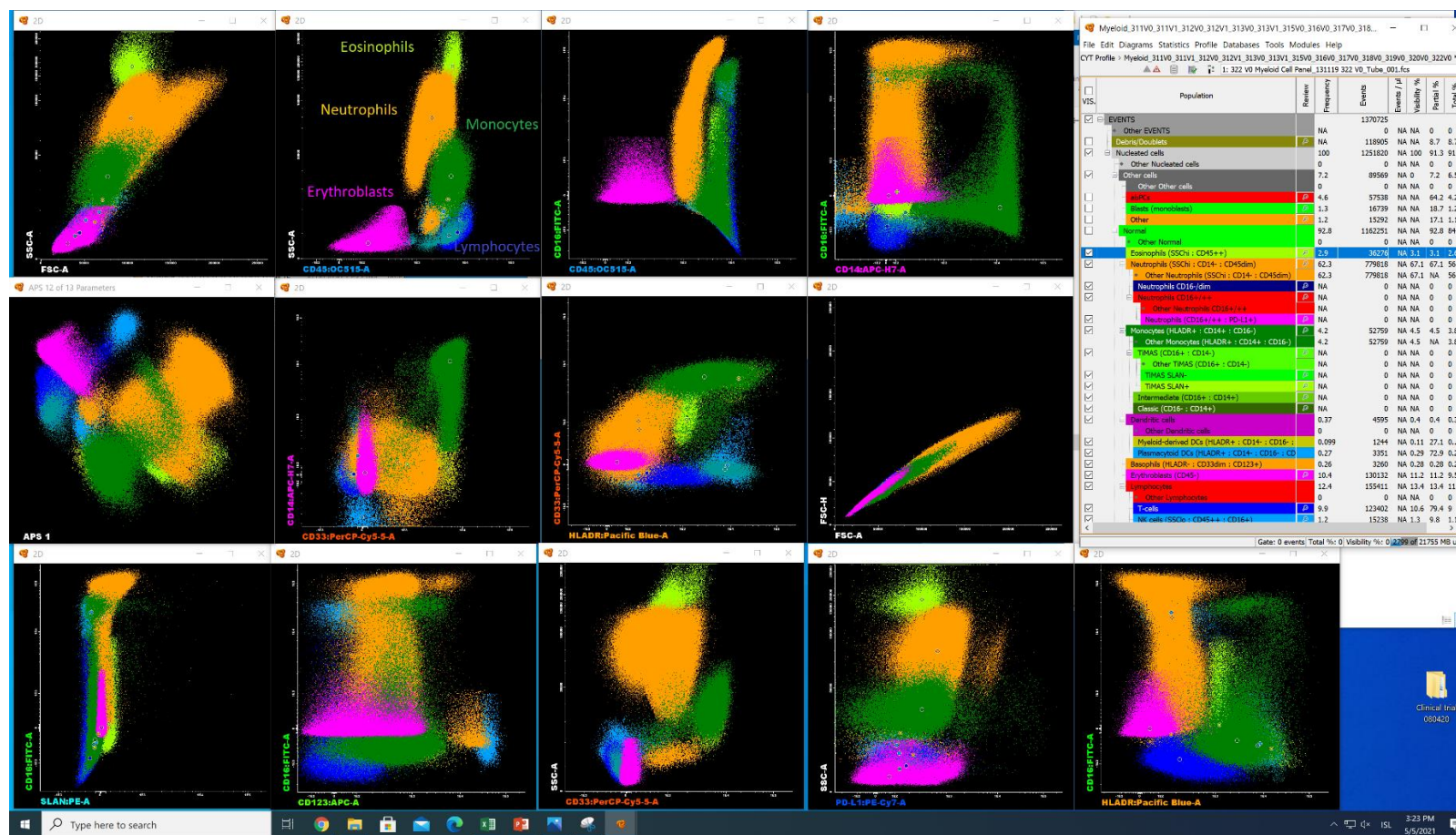
(Janeways immunobiology)

Frumuflæðisjargreining







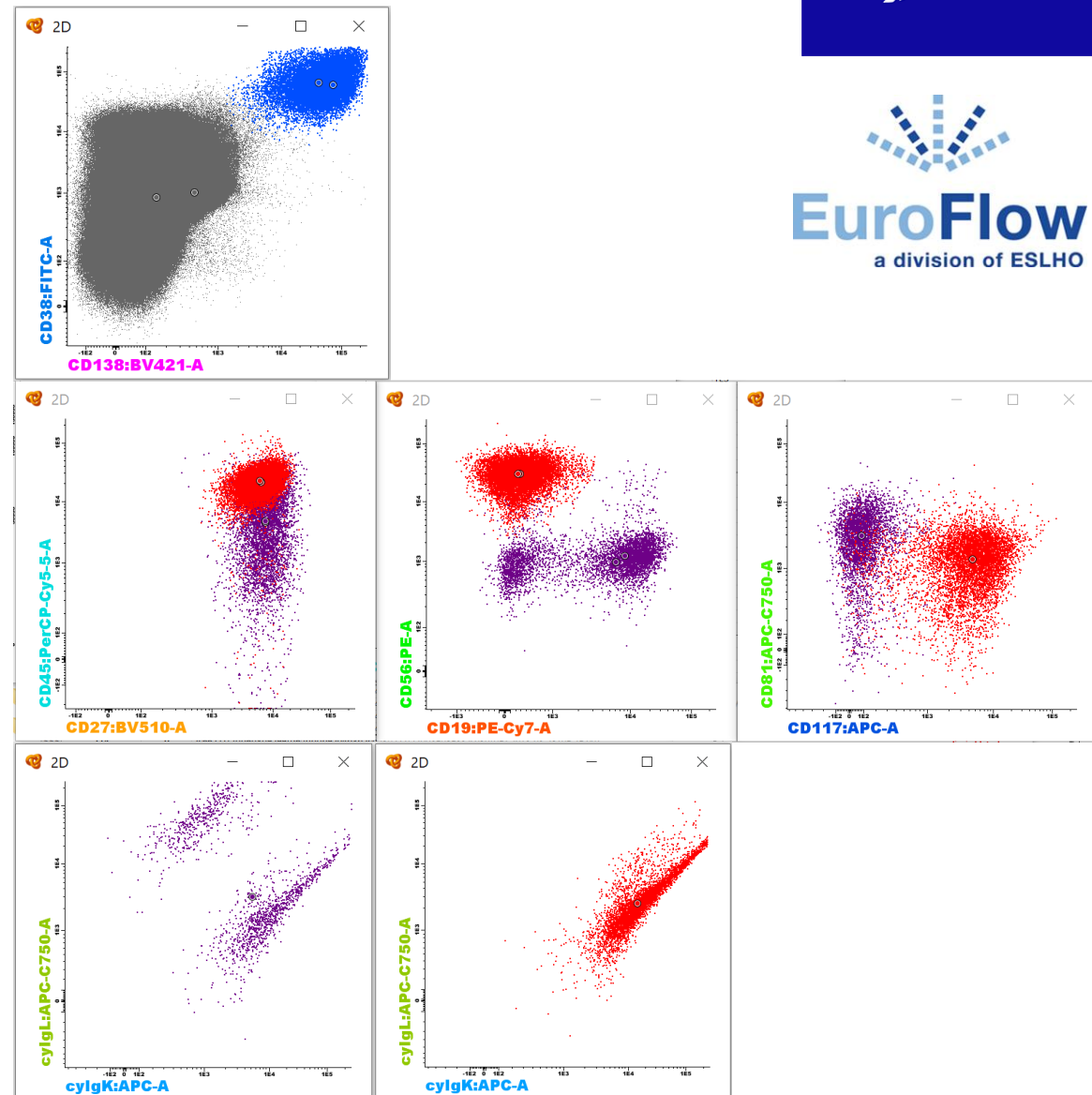


Next-generation flow cytometry (EuroFlow)

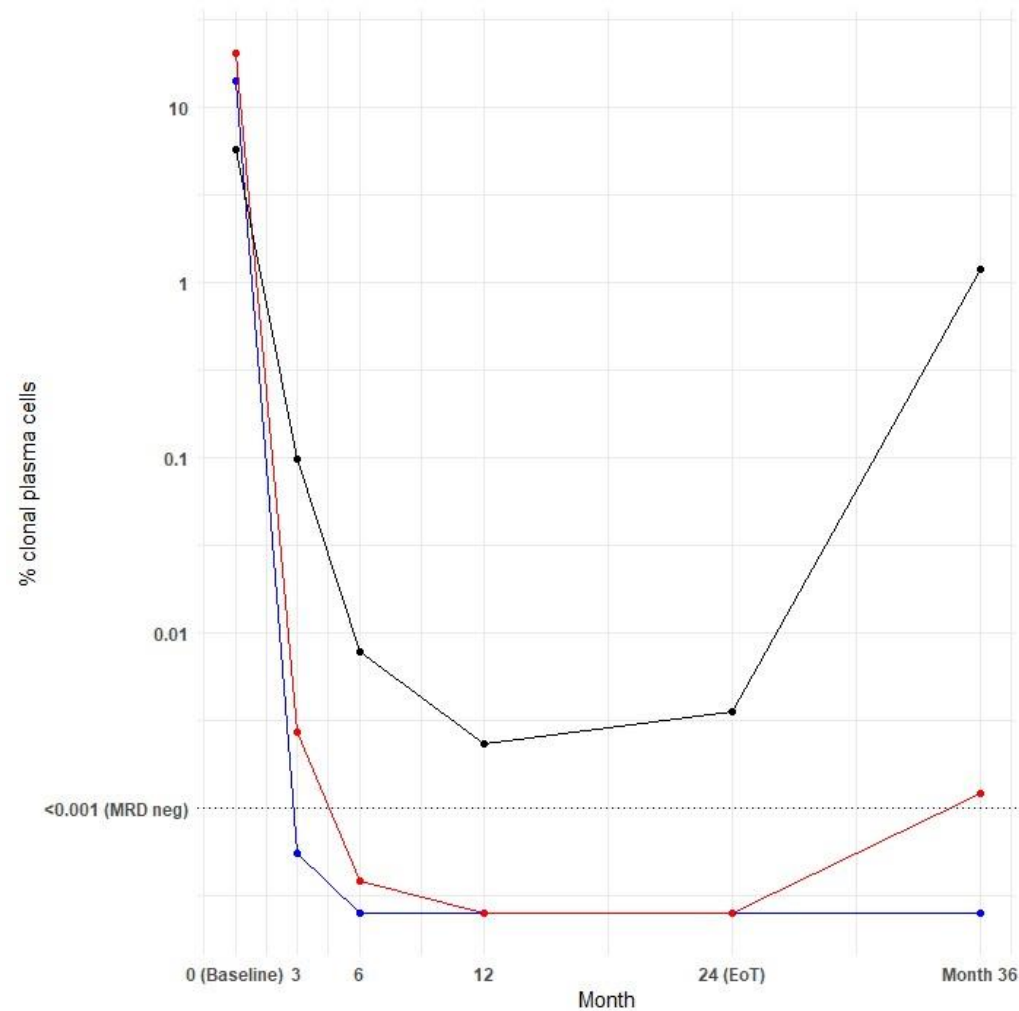
CD38
CD138 → Plasmafrumur

CD19 (↓)
CD27 (↓)
CD81 (↓)
CD117 (↑) → Einstofna plasmafrumur
CD56 (↑)
CD45 (↓)
Kappa
Lambda

MGUS (IgA Kappa einstofna mótefni)
Fjöldi beinmergsfrumna: 10.004.816
Eðlilegar plasmafrumur: 5.149 (0,05%)
Einstofna plasmafrumur: 11.176 (0,11%)

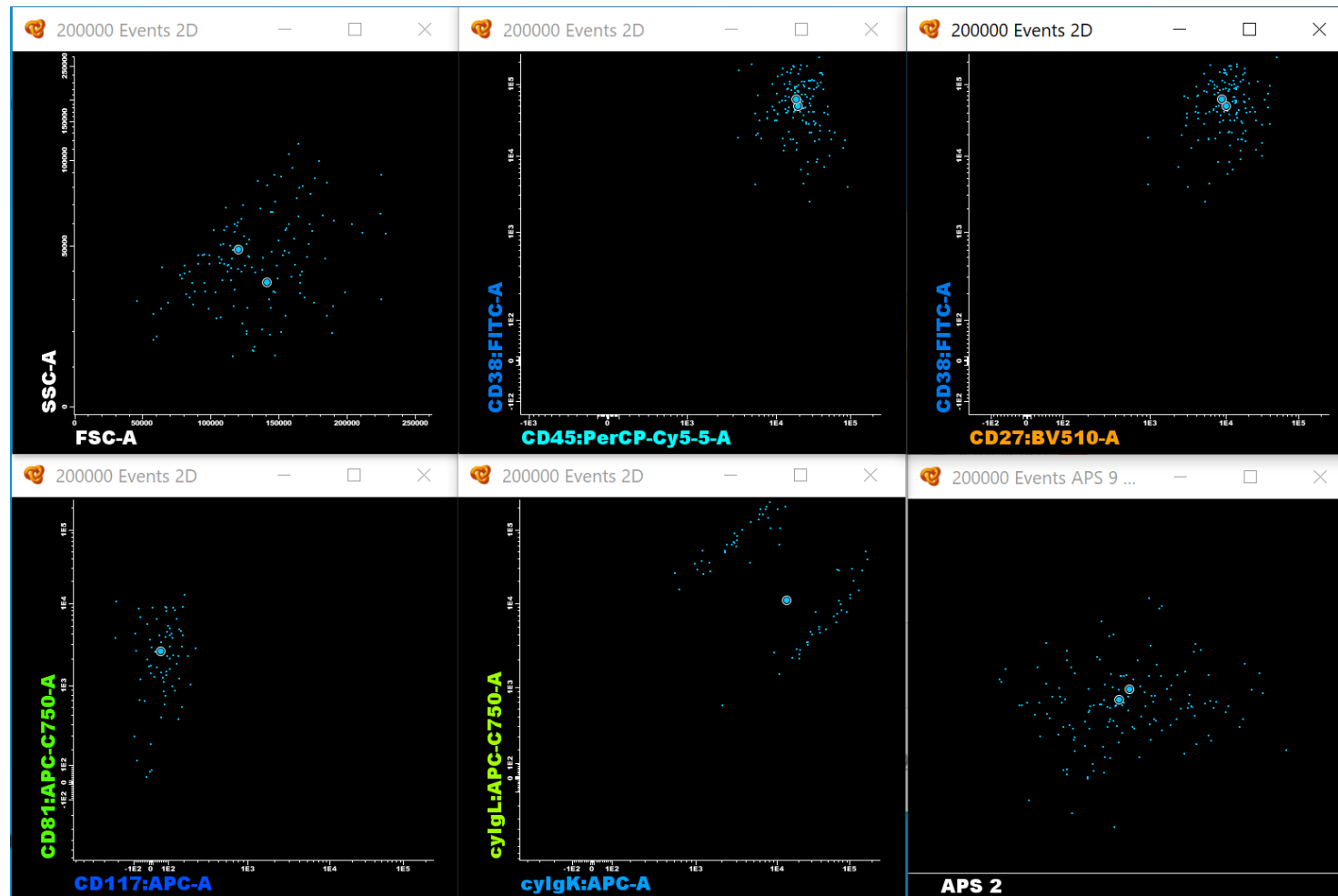


MRD mælingar hjá einstaklingum í lyfjarannsókni hjá blóðskimun til bjargar



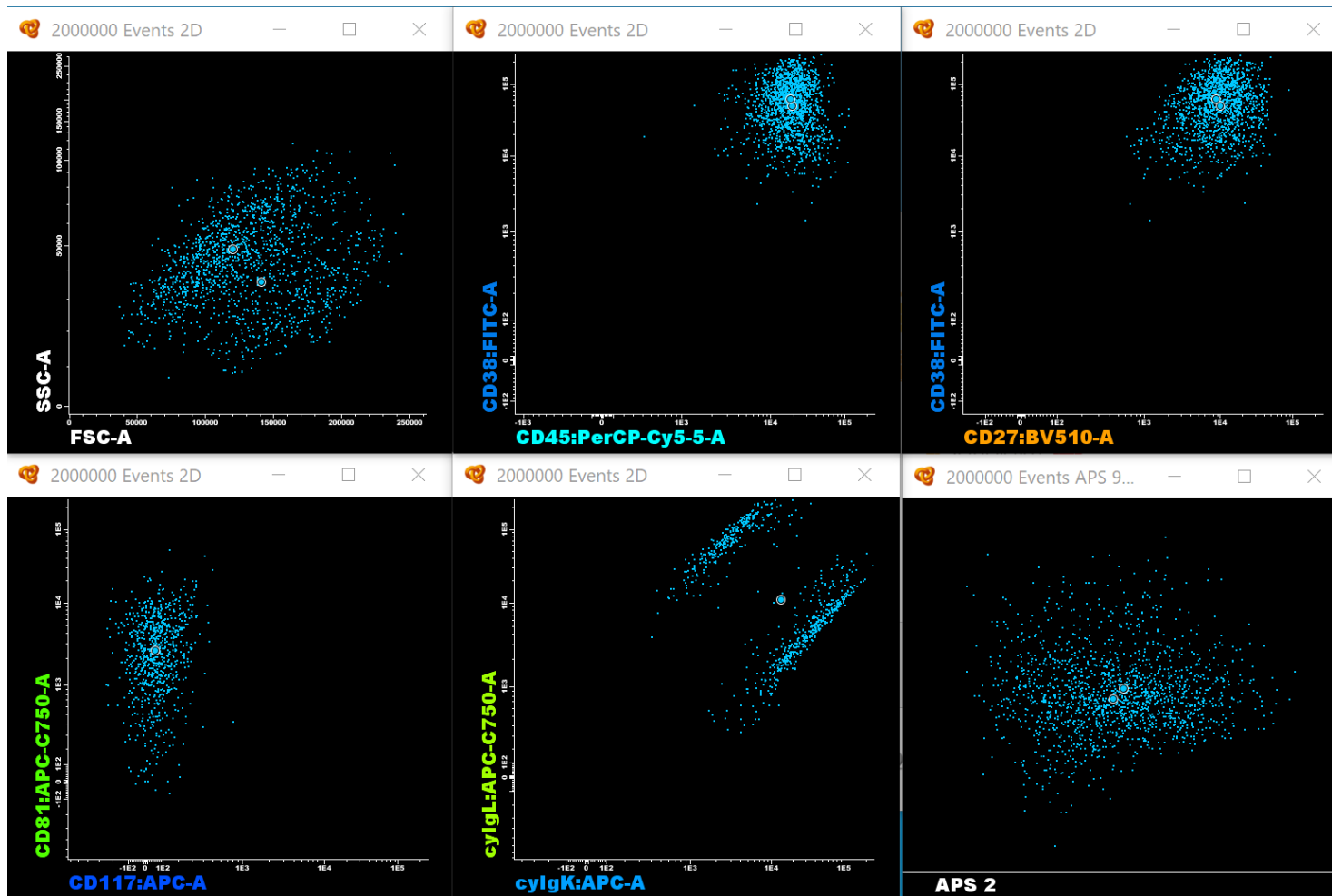
- Mynd: dæmi um MRD mælingar hjá einstaklingum með high-risk SMM eða MM á KRd (carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone) meðferð

200.000 frumur (næmni 1:10.000) ~sCR

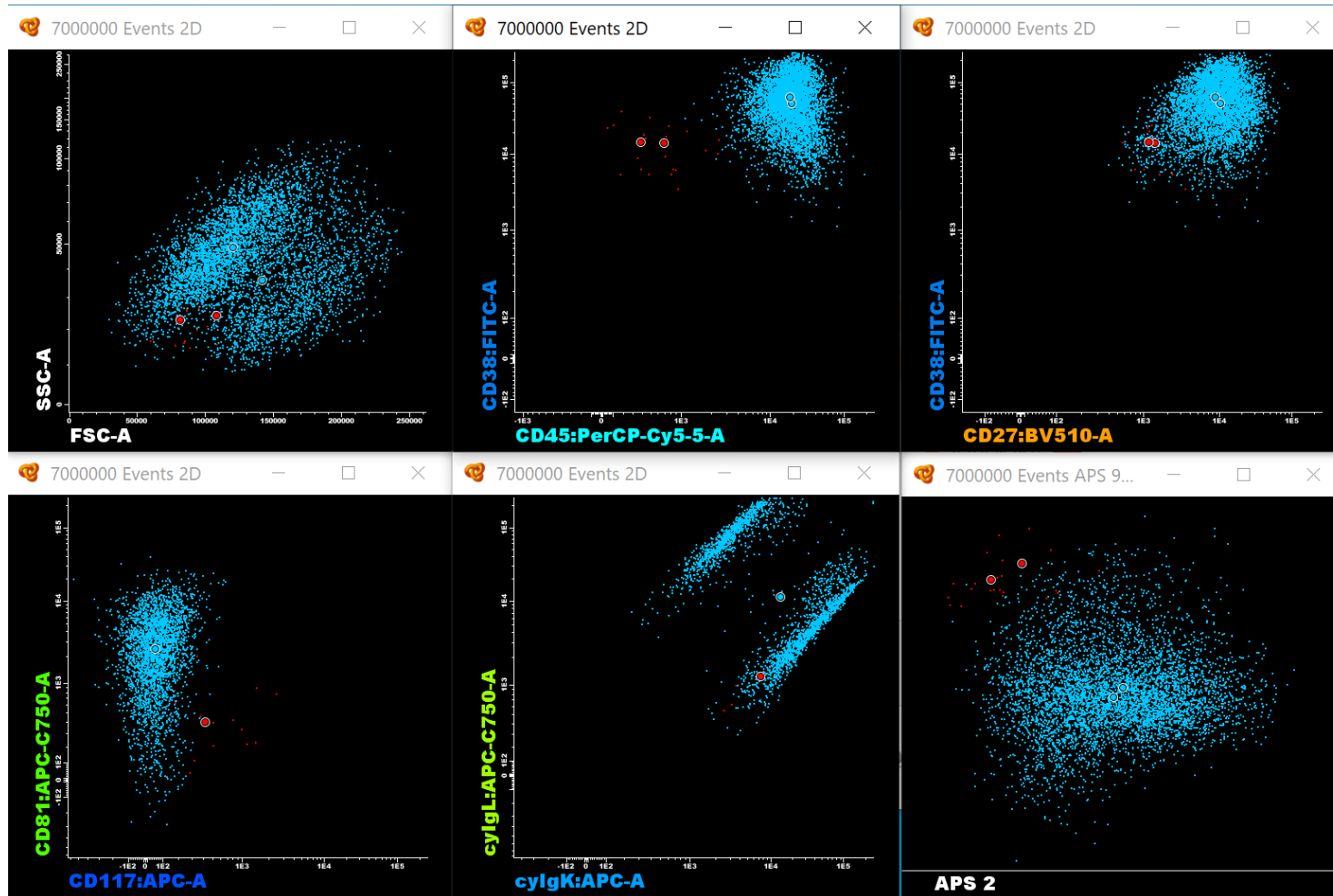


2.000.000 frumur (næmni 1:100.000)

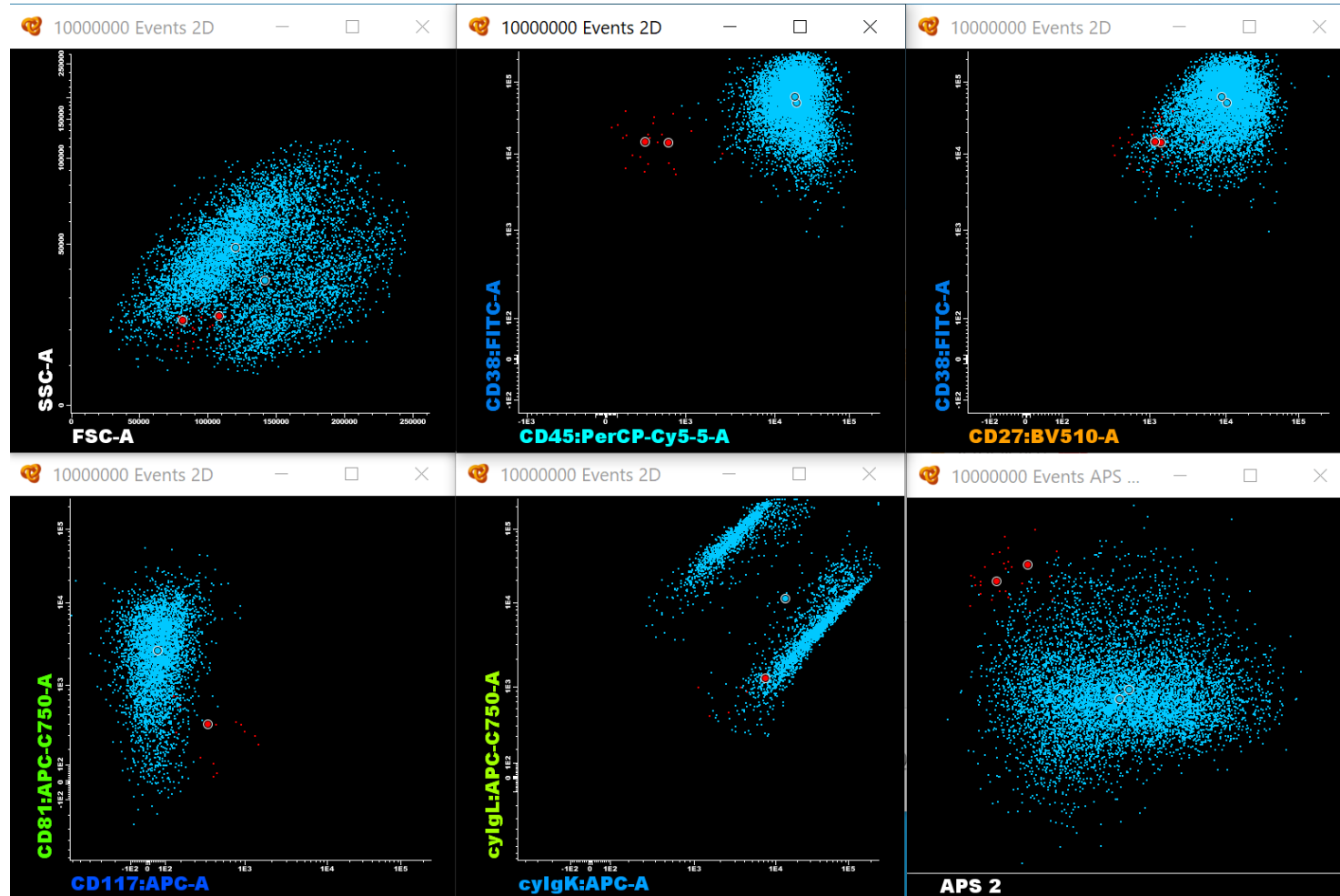
- Lágmarksnæmni fyrir mat á MRD skv. IMWG



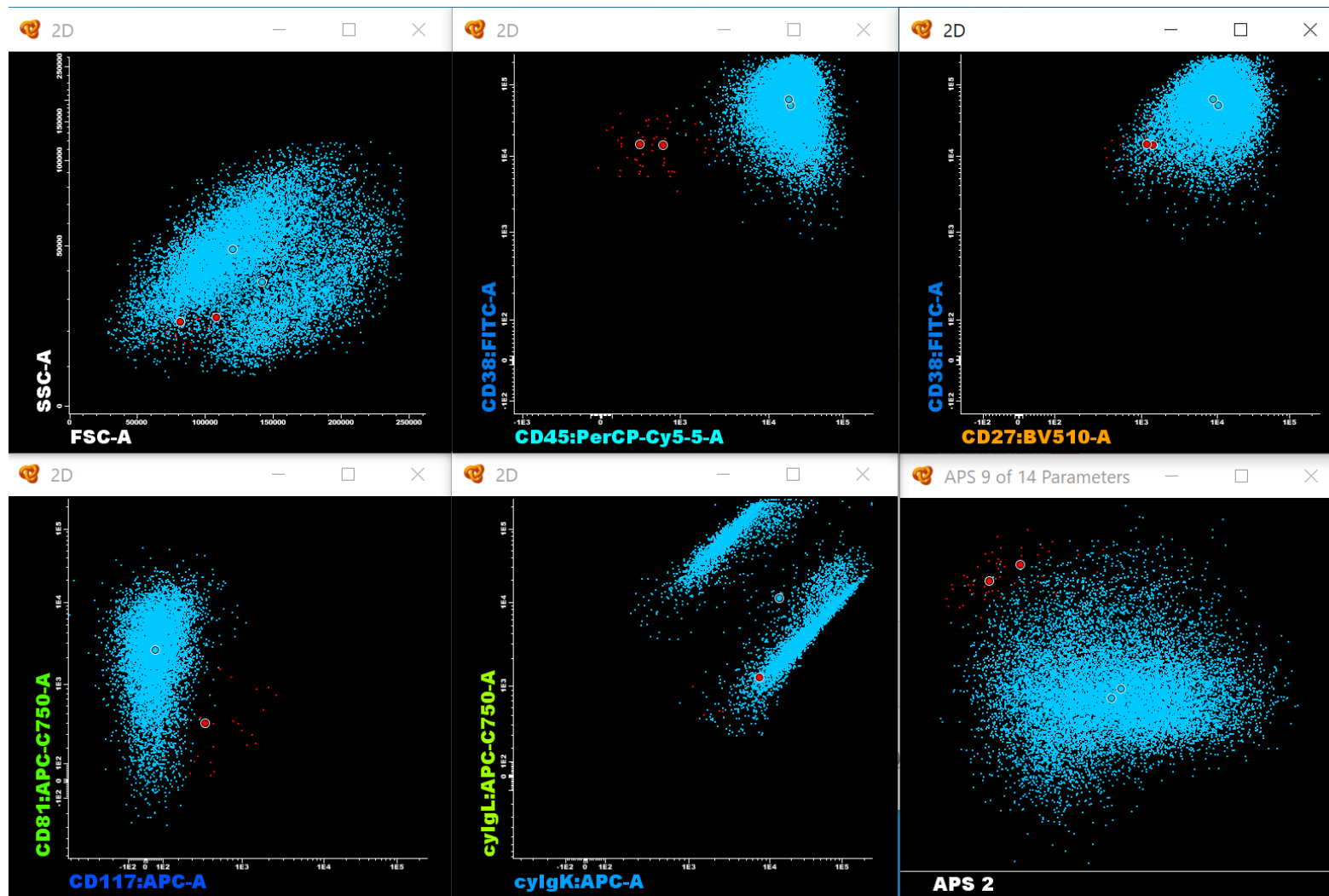
7.000.000 frumur (næmni 1:350.000)



10.000.000 frumur (næmni 1:500.000; next-generation flow cytometry)



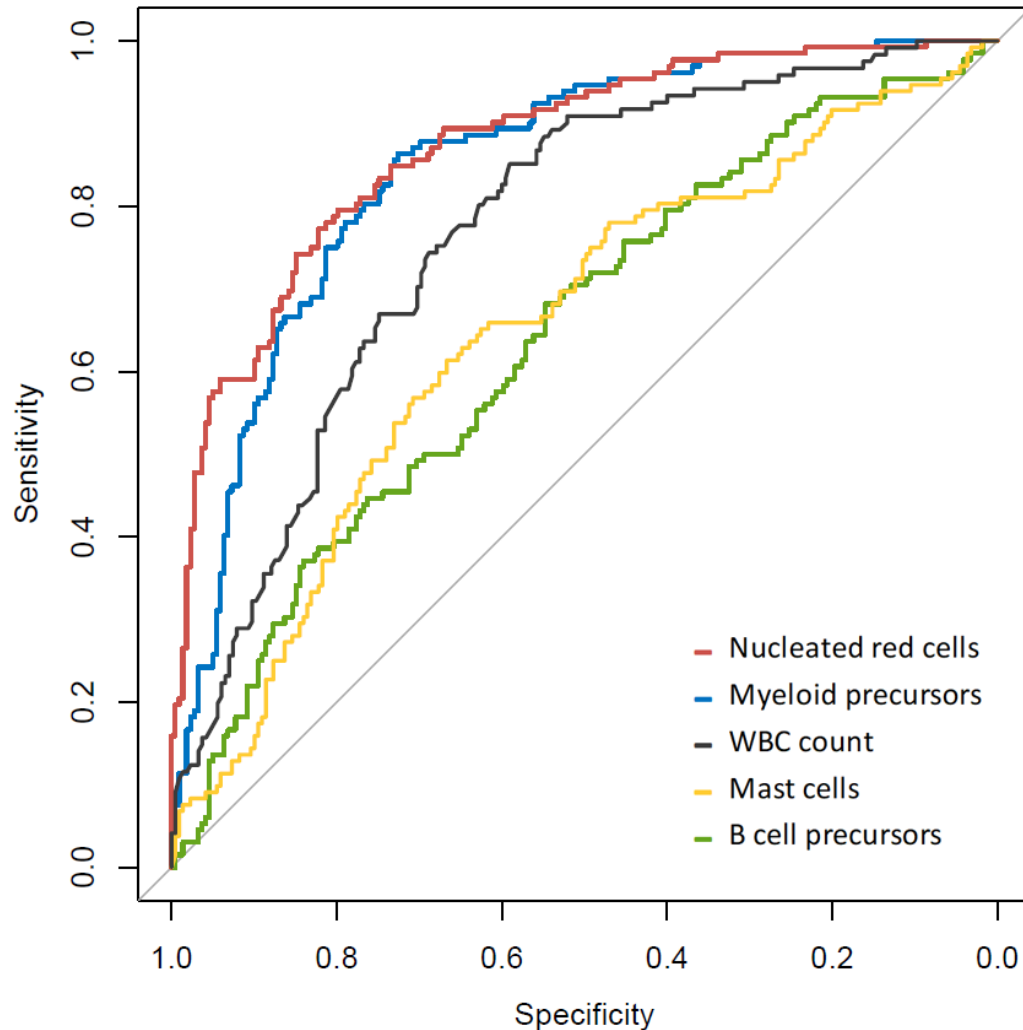
17.500.000 cells (næmni 1:875.000)
0,0003% einstofna plasmafrumur



Blóðmengun í beinmergssýnum

- Beinmergssýnum er hætt við blóðmengun
 - Skekkir mat á hlutfalli plasmafrumna í sýni
 - Hefur áhrif á áætlaða næmni í MRD mælingum
- (Einstofna) plasmafrumur eru að langstærstum hluta staðbundnar í beinmerg
- Fjöldi plasmafrumna reiknaður út frá heildarfjölda greindra frumna

Frumuhópar sem eru staðbundnir í beinmerg spá fyrir um blóðmengun í beinmergssýnum



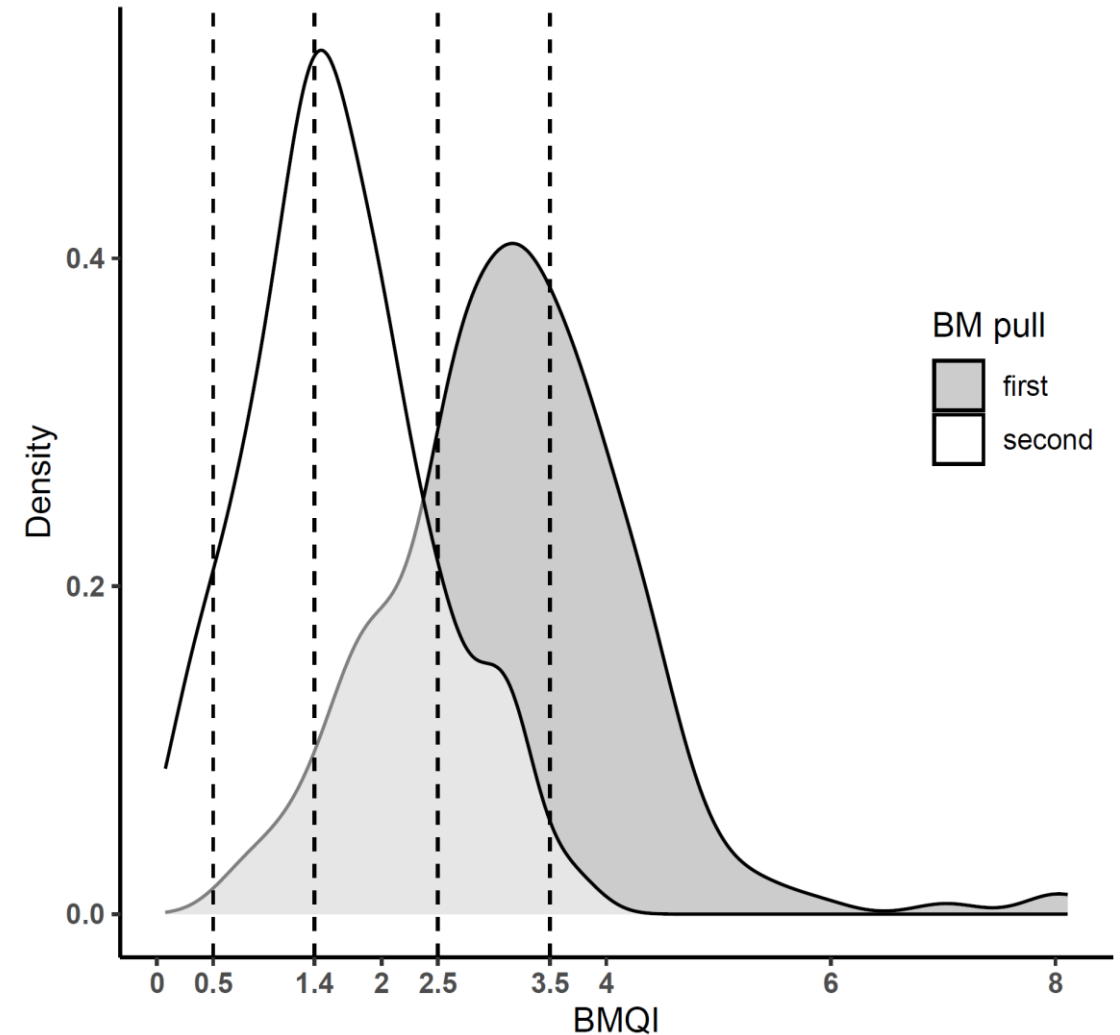
- Annar beinmergssýnadráttur almennt blóðmengaðri en fyrsti dráttur
- ROC analýsa: sýni úr fyrsta (n=219) og öðrum (n=132) beinmergssýnadrætti
- Fjöldi **rauðfrumuforvera** (nucleated red cells) og **mergfrumuforvera** (myeloid precursors) í sýni gefa sterka vísbendingu um beinmergssýnadrátt

Blóðmengun í beinmegssýnum

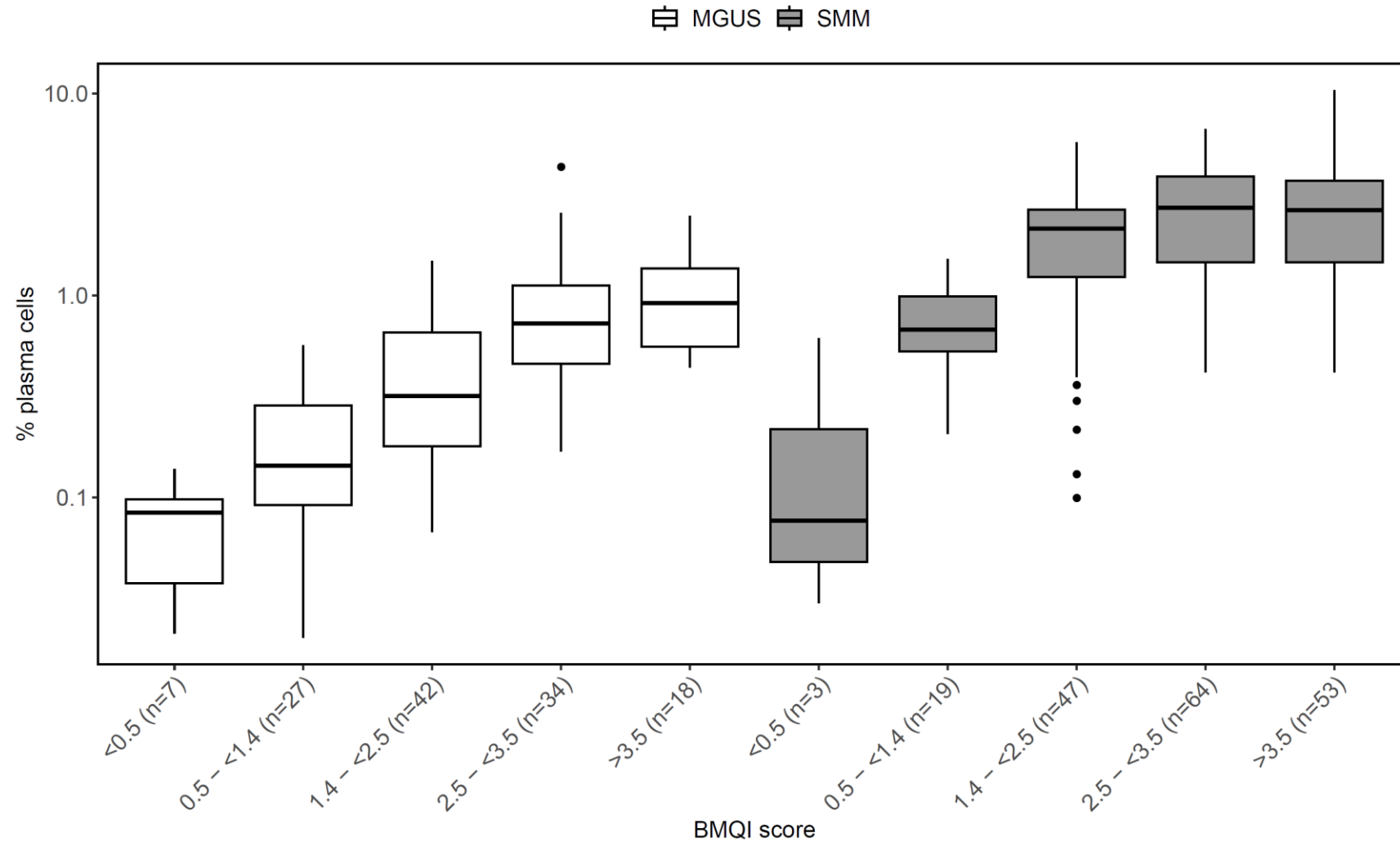
Blóðmengunarmódel:

$\% \text{ mergfrumuforverar} \times 0.37 + \% \text{ rauðfrumuforverar} \times 0.14$

- Líkindahlutfall (likelihood ratio) notað til að skora sýni eftir áætluðum gæðum
 - $\text{BMQI} \geq 2.5$ ($\text{LR}=1$): gott sýni
 - $\text{BMQI} < 2.5$ ($\text{LR}=\text{=}$): blóðmengað
 - $\text{BMQI} < 1.4$ ($\text{LR}=\text{=}$): mjög blóðmengað
 - $\text{BMQI} < 0.5$ ($\text{LR}=0.1$): blóð að mestu



% plasmafrumna í sýnum eftir skorun með blóðmengunarmódeli (BMQI): MGUS og SMM



Samantekt

- MRD status gefur sterkar vísbendingar um horfur
- MRD^{neg} er ekki það sama og MRD^{neg}
 - Mismunandi aðferðir og næmni
- Gæði beinmergssýnis skiptir miklu máli
 - Blóðmengunarmódel (BMQI)
- Aðferðir sem mæla einstofna mótefni/plasmafrumur í blóði vænlegasti kostur til að meta MRD í framtíðinni
 - Massagreining (Mass-spec)
 - BloodFlow

Takk fyrir!

