

**Dalla biopsia liquida al paziente:
il monitoraggio della malattia in corso di
mieloma multiplo**

Luca Bertamini

Erasmus Medical Center, Rotterdam



**Convegno Regionale SIES
Delegazione Emilia Romagna**

Biopsia liquida:

**CHE TRAFFICO
IN PERIFERIA!**

Bologna

28 Febbraio – 1 Marzo 2025

Aula 1 – Complesso UniOne, Università di Bologna

Conflitti di interesse

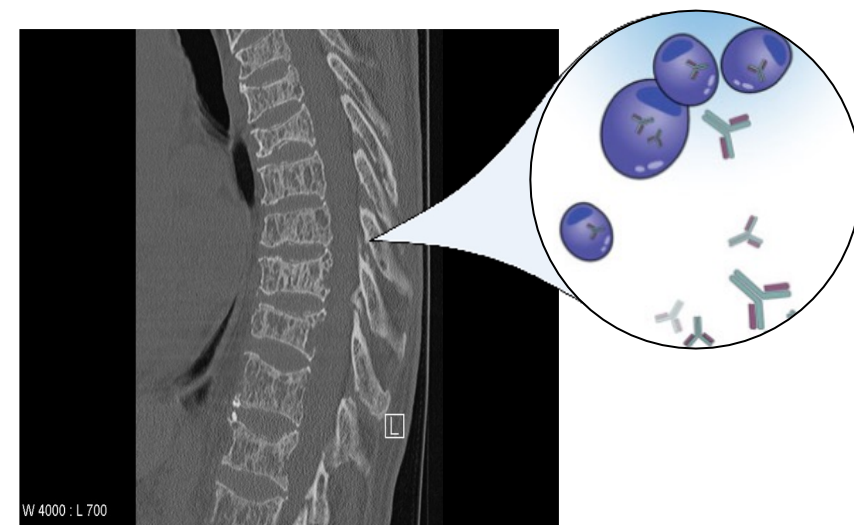
nulla da dichiarare



Mieloma multiplo

- **Neoplasia plasmacellulare**

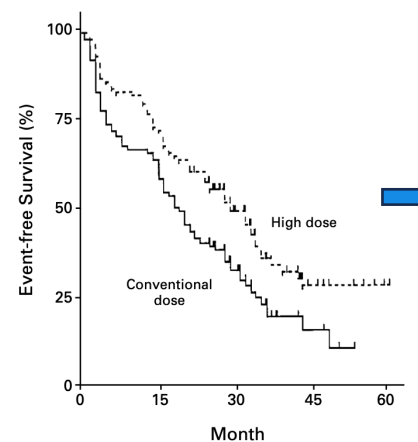
- origina generalmente nel midollo osseo
- produce una proteina monoclonale (componente), biomarcatore per diagnosi e monitoraggio
- multiple localizzazioni ossee → fratture ossee



Case courtesy of Frank Gaillard, Radiopaedia.org

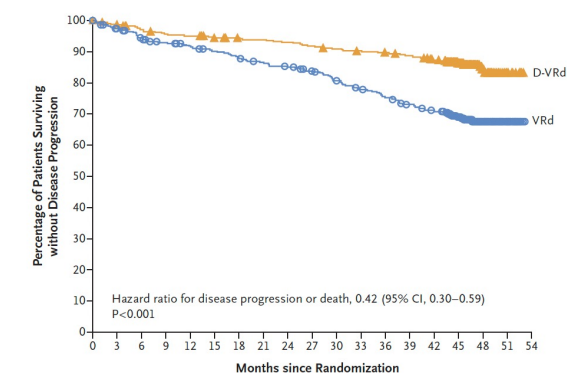
- **Incurabile, ma prognosi migliorata con nuove terapie**

- anti CD38, immunomodulanti, inibitori del proteasoma, alchilanti, anti BCMA



	0	15	30	45	60
Conventional dose	58 (48-68)	32 (23-42)	15 (7-28)	10 (3-27)	
High dose	71 (61-79)	50 (39-55)	28 (18-40)	28 (18-40)	

Attal, et al. NEJM 1996



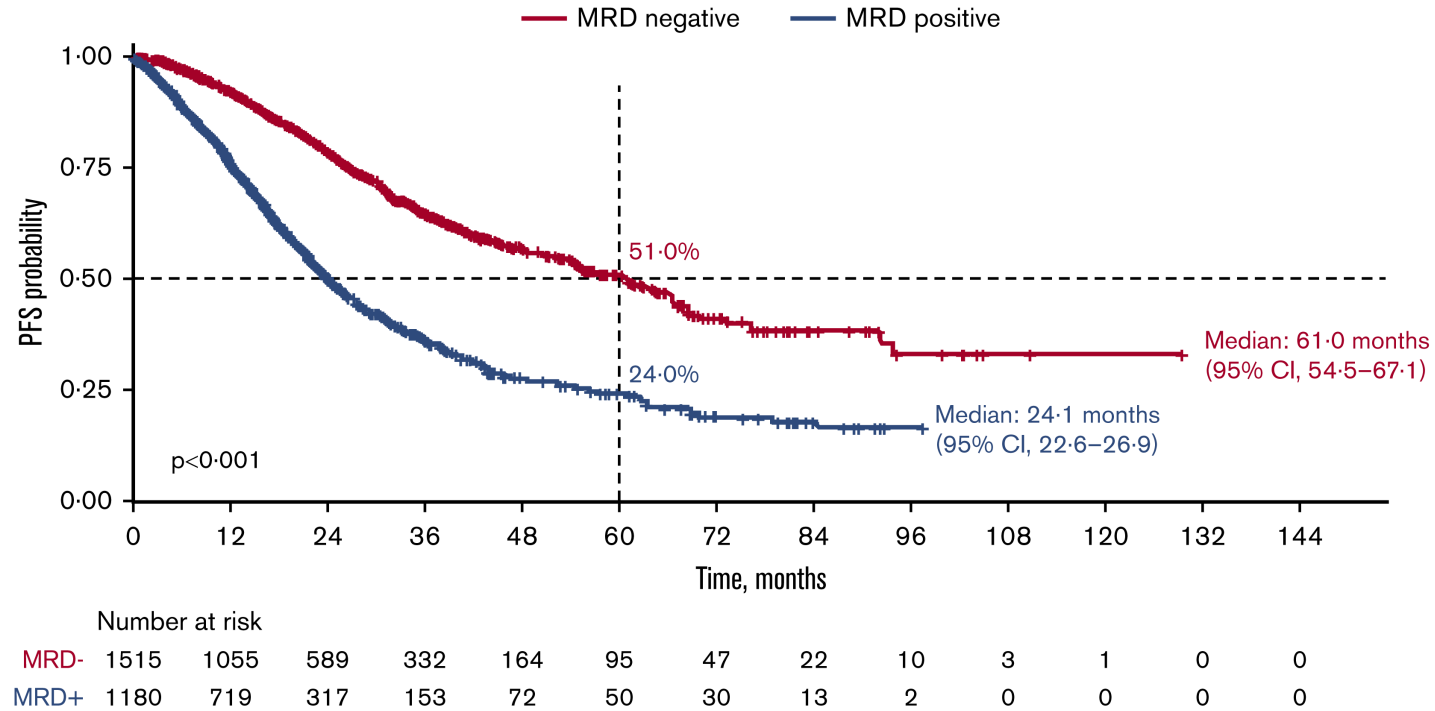
No. at Risk	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51	54
D-VRd	355	345	335	329	327	322	318	316	313	309	305	302	299	295	286	226	90	11	0
VRd	354	335	321	311	304	297	291	283	278	270	258	247	238	228	219	175	67	13	0

Hazard ratio for disease progression or death, 0.42 (95% CI, 0.30-0.59)
P<0.001

Sonneveld, et al. NEJM 2023



Mieloma: monitoraggio della malattia residua (MRD)



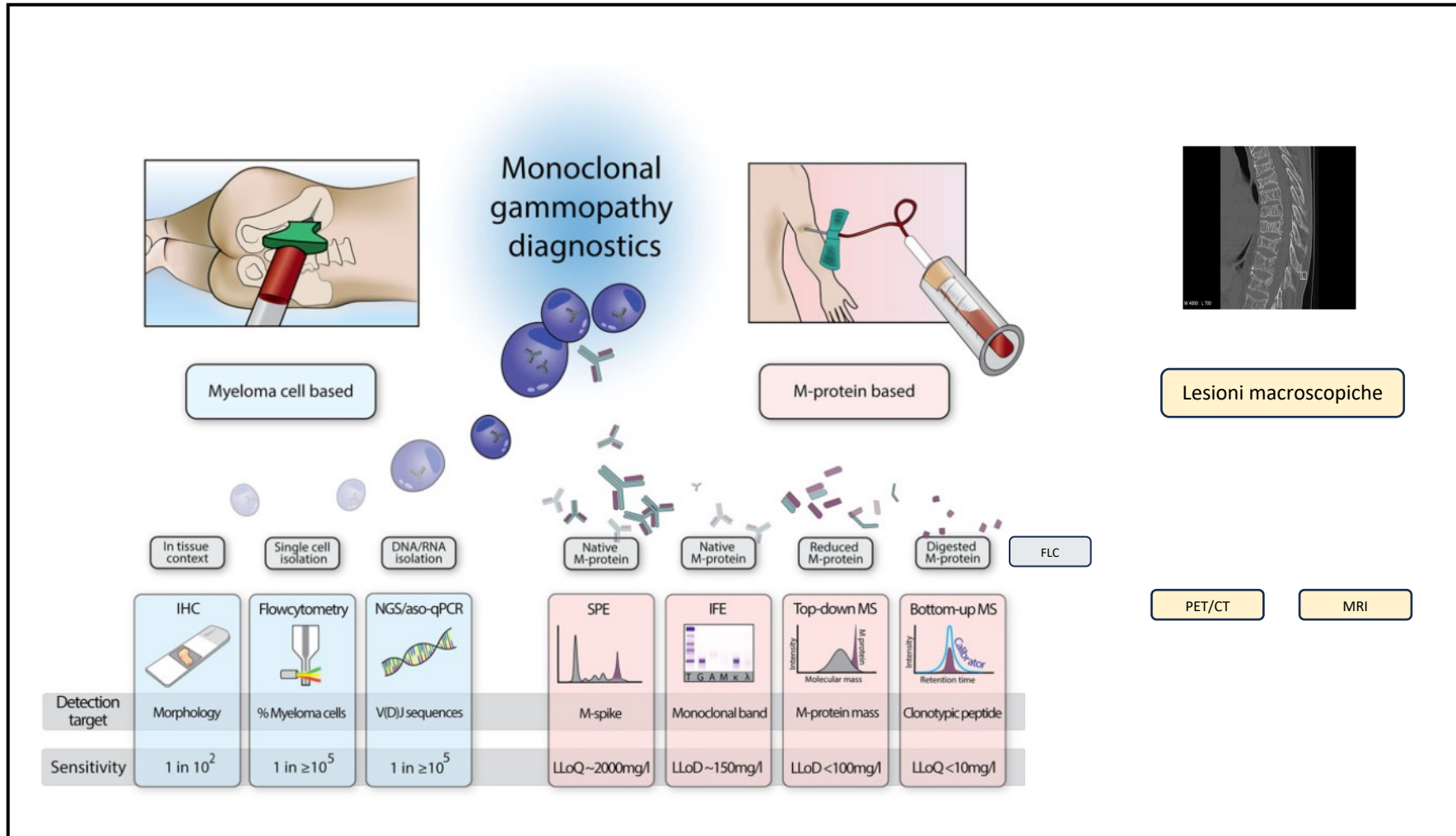
Nel 2024 FDA ha supportato l'utilizzo della negatività alla MRD come endpoint precoce per l'approvazione accelerata di nuovi trattamenti per il MM¹

Munshi et al, Blood Advances (2020)

1. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. <https://www.fda.gov/media/180108/download>. Accessed 3 December 2024.



Mieloma: monitoraggio della malattia residua

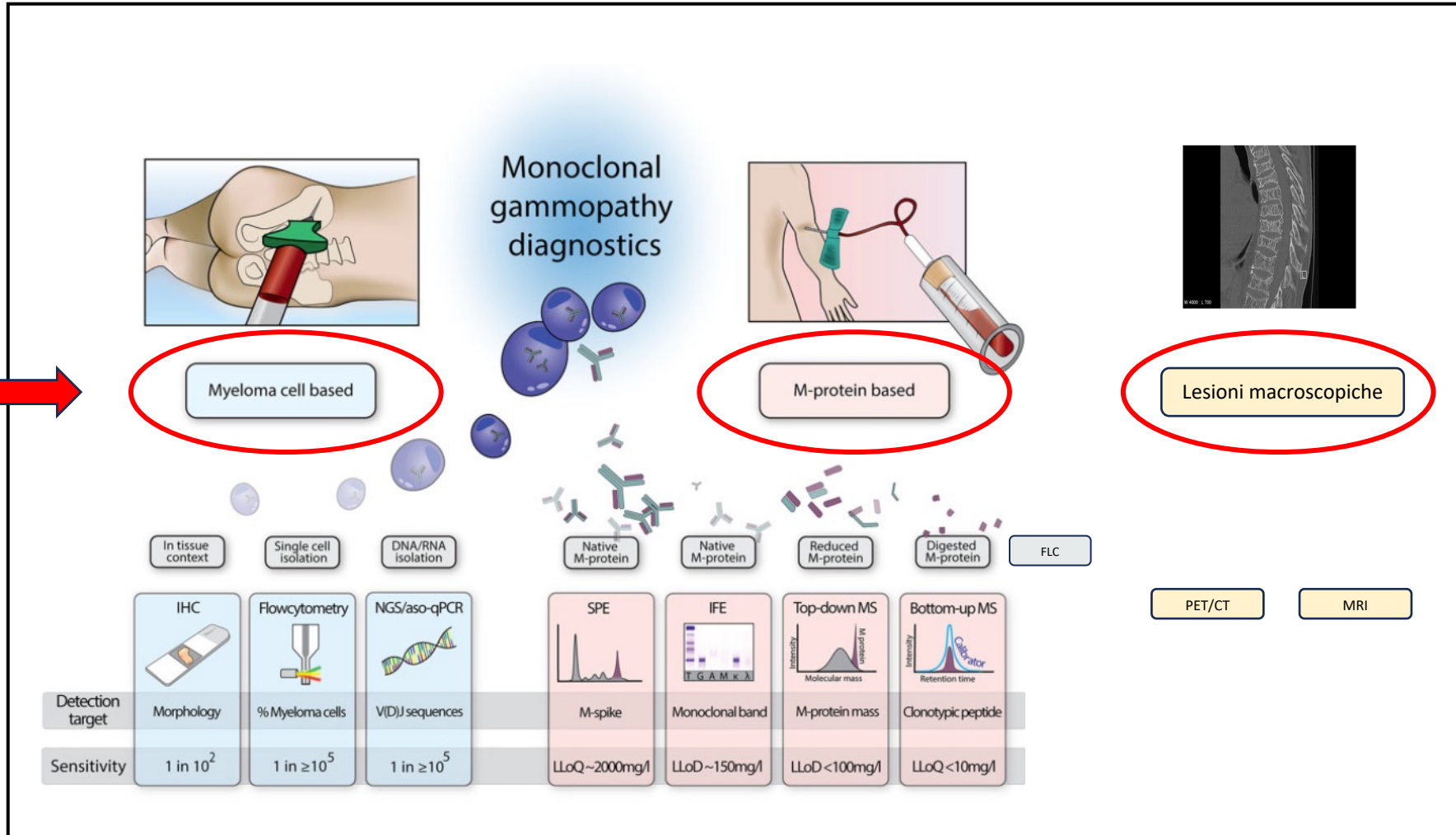


adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: monitoraggio della malattia residua

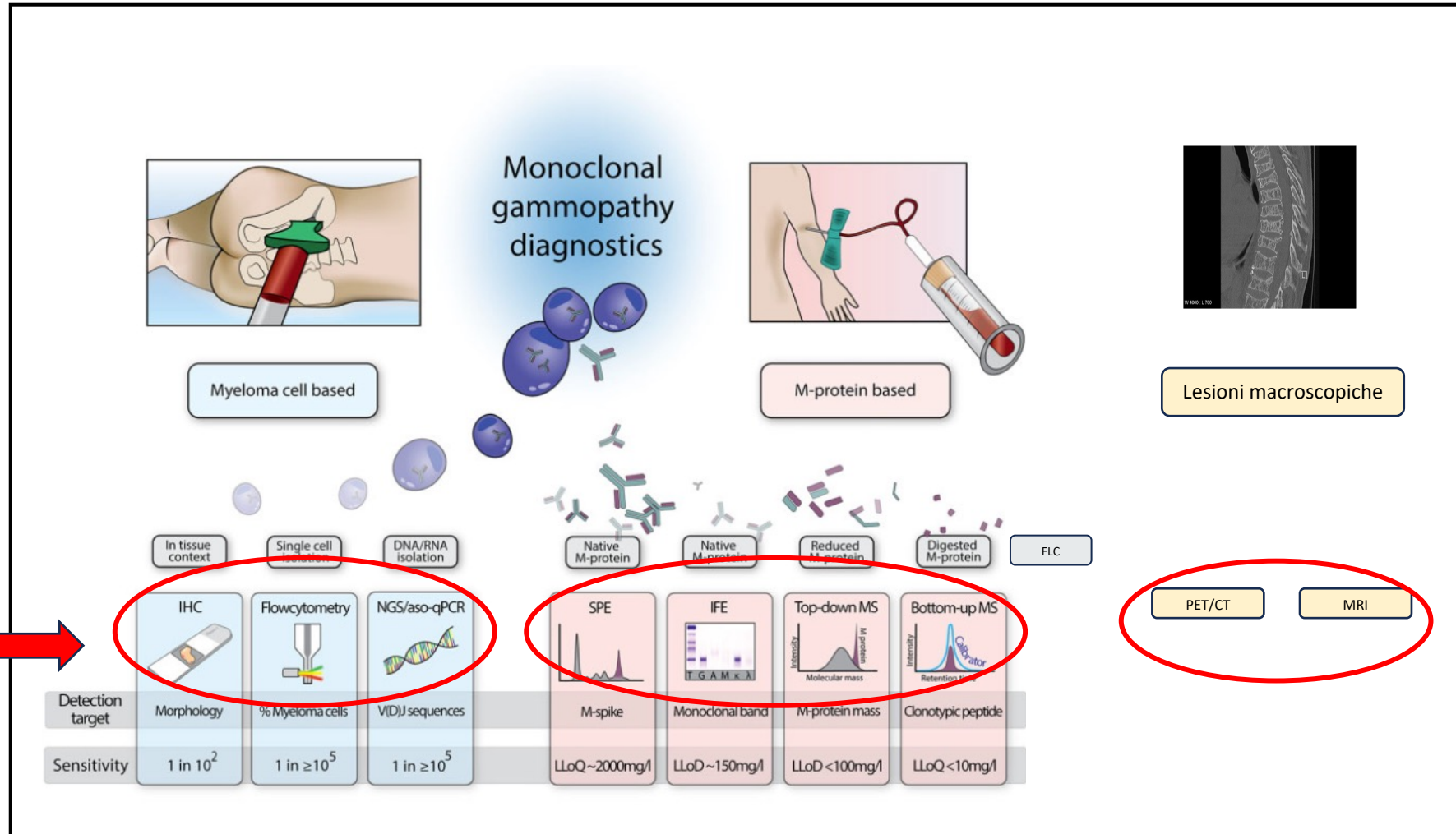
marcatore



adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: monitoraggio della malattia residua



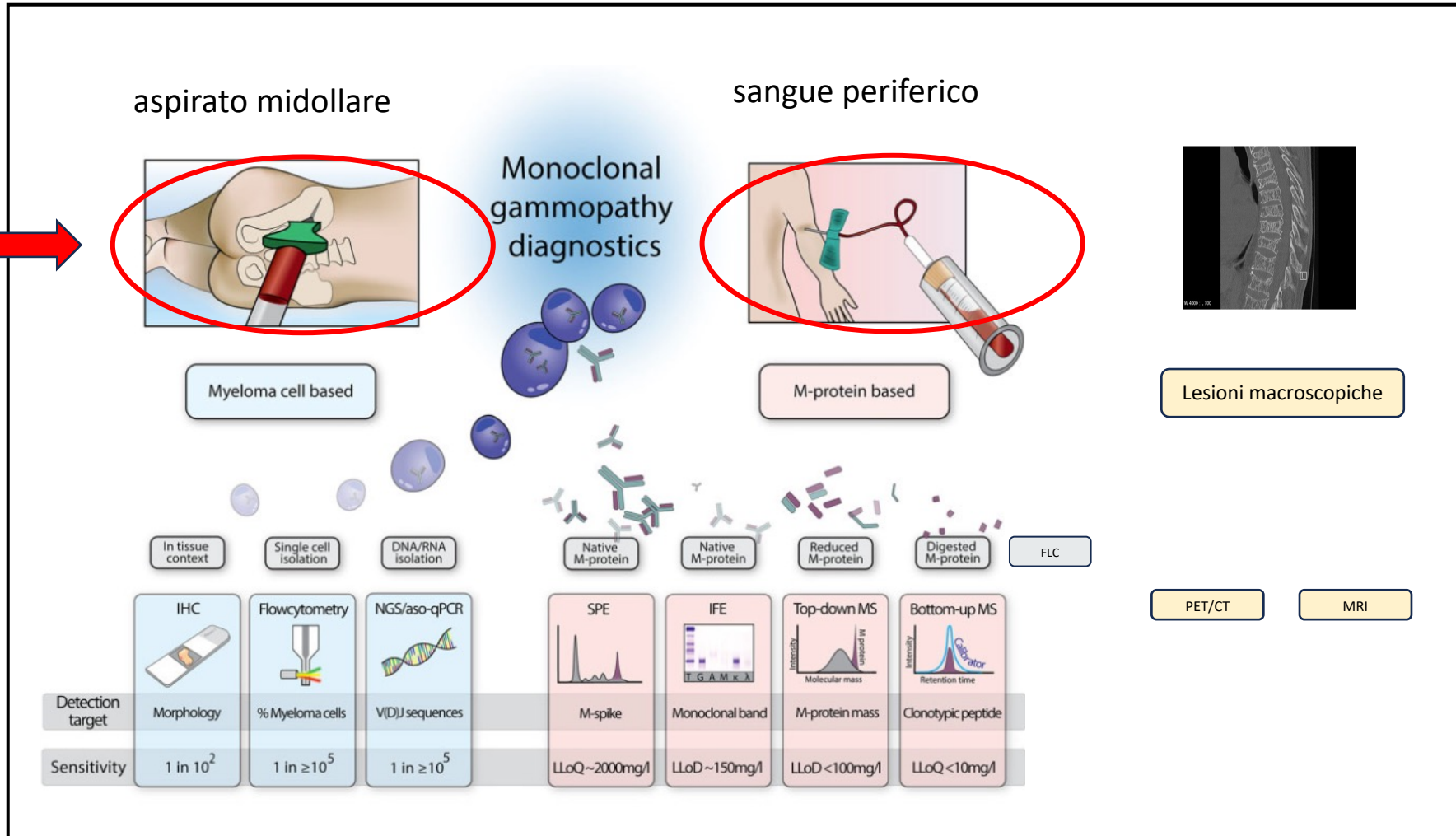
tecniche

adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: monitoraggio della malattia residua

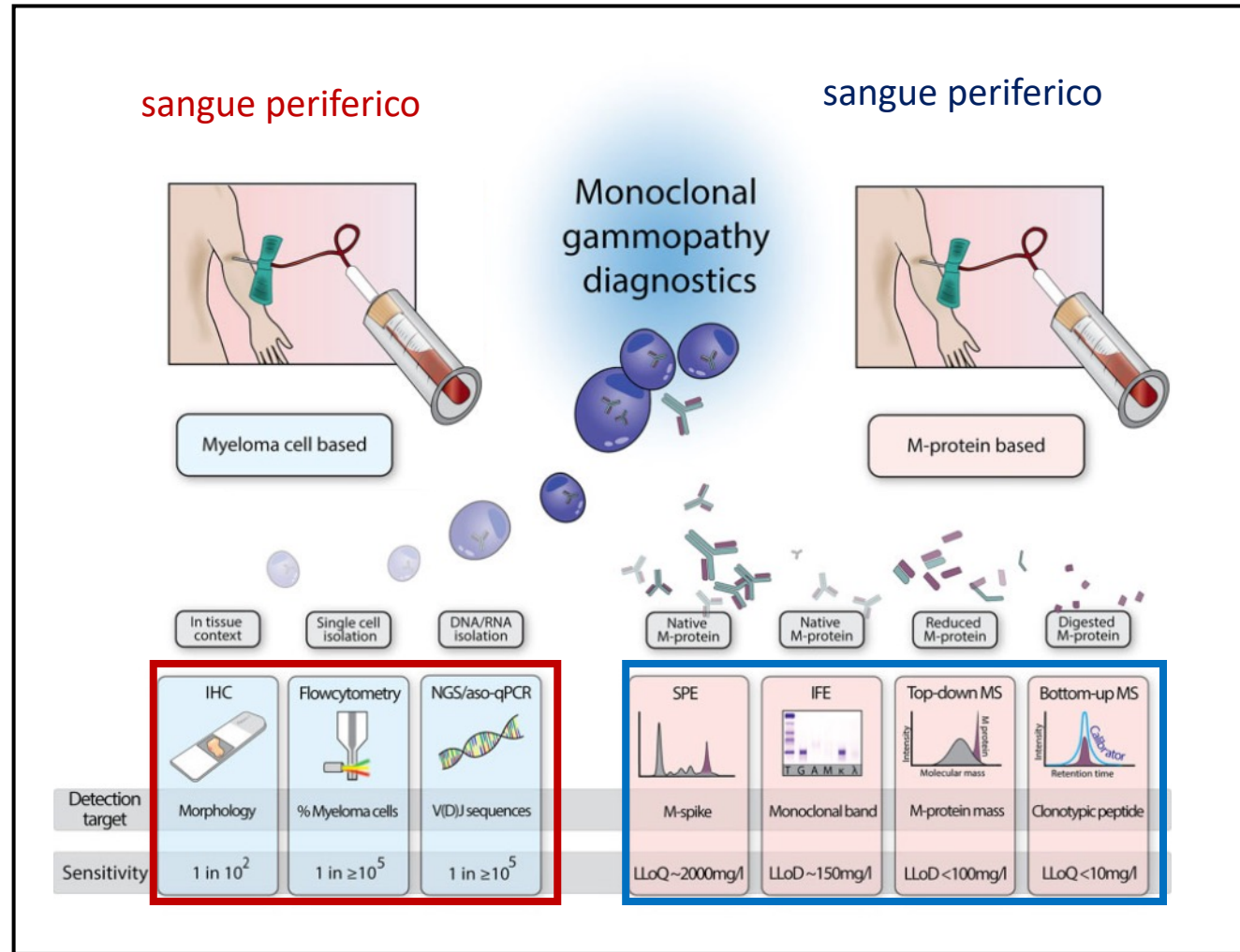
campione biologico



adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: monitoraggio della malattia residua nel *sangue periferico*



adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: biopsia liquida per monitorare malattia

PRO

- Evitare biopsie midollari ripetute
 - prelievo periferico più confortevole per pazienti e meno costoso
- Ridurre falsi negativi (emodiluizione/ midollo «patchy»)
- Monitorare malattia extra midollare
- Rendere approccio terapeutico guidato da malattia minima residua più pratico

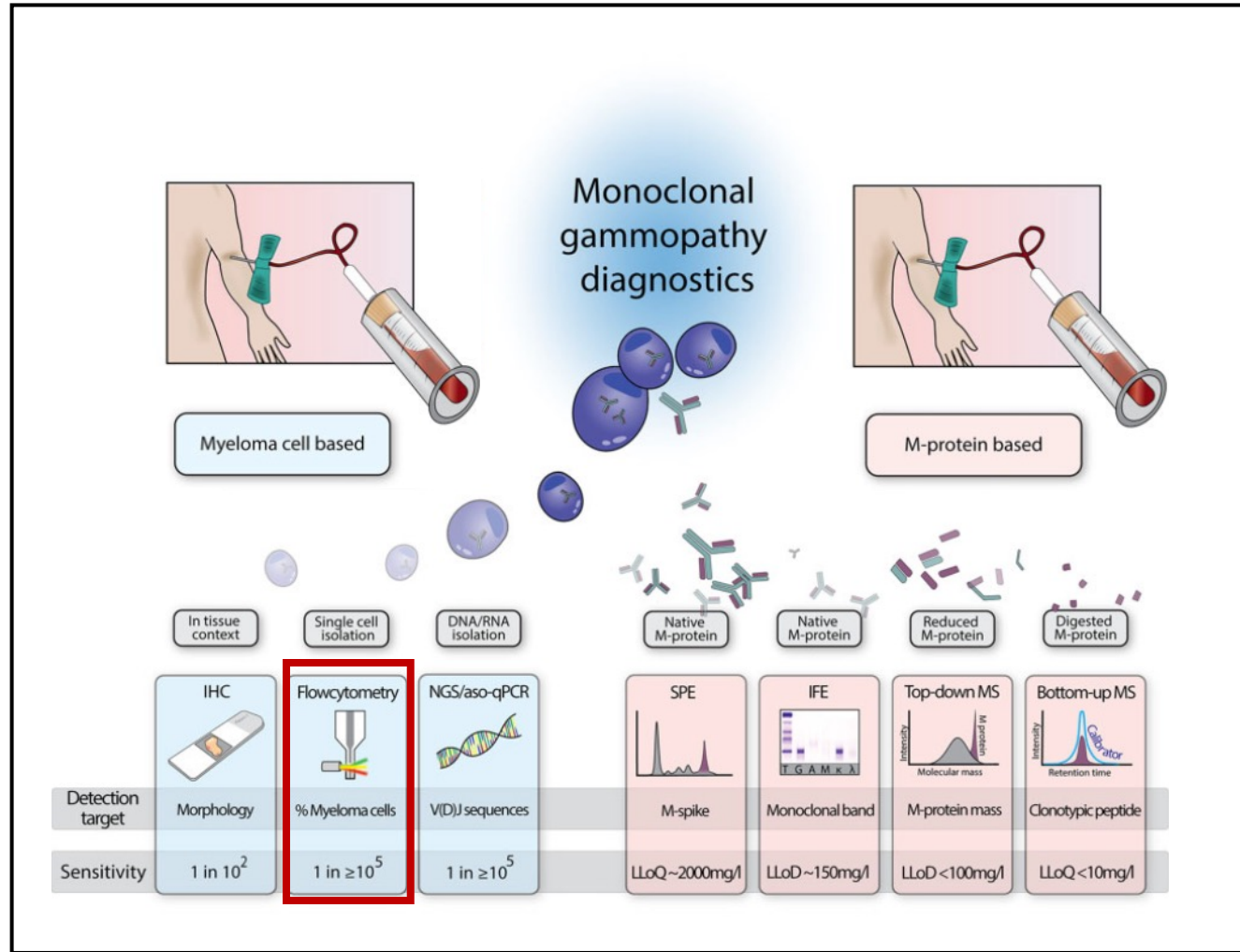
CONTRO

- Sensibilità minore del midollo
- Mancanza di confronto con metodi standardizzati (midollari)
- Mancanza di dati prospettici (dinamica)



Mieloma: monitoraggio della malattia residua nel *sangue periferico*

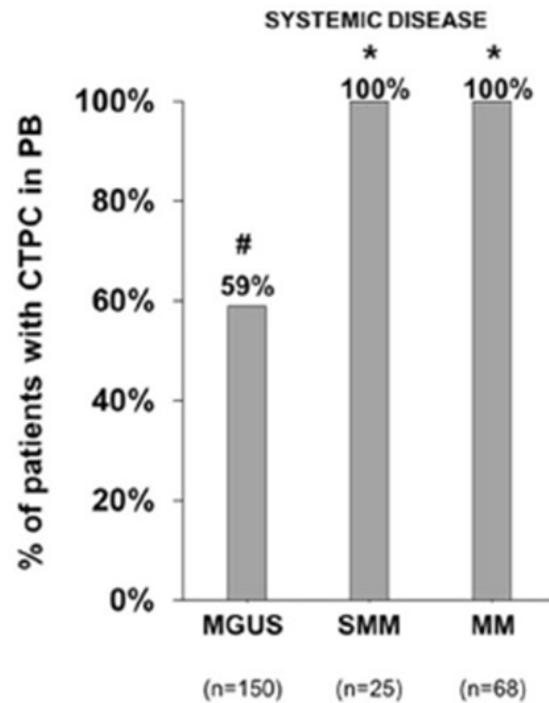
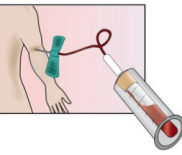
Cellule tumorali circolanti (CTC)



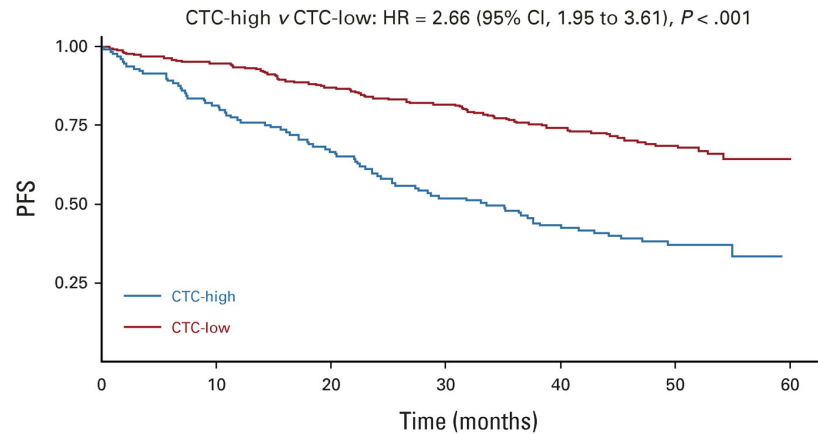
adattato da Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)



Mieloma: ruolo prognostico delle cellule tumorali circolanti (CTC)



Sanoja Flores et al, BCJ (2018)



No. at risk (censored):

	0	10	20	30	40	50	60
CTC-high	130 (0)	105 (1)	86 (1)	67 (1)	54 (3)	31 (19)	0 (49)
CTC-low	271 (0)	251 (6)	227 (10)	210 (13)	183 (21)	94 (99)	2 (186)

Bertamini et al, JCO (2022)



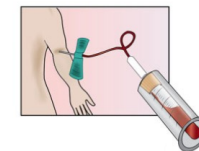
Presenti nella maggioranza (70-90%) dei pazienti alla diagnosi e nei precursori

Livelli di CTC alla diagnosi prognostiche

Sono presenti dopo la terapia?
Che sensibilità per identificare?
Prognostiche dopo terapia?



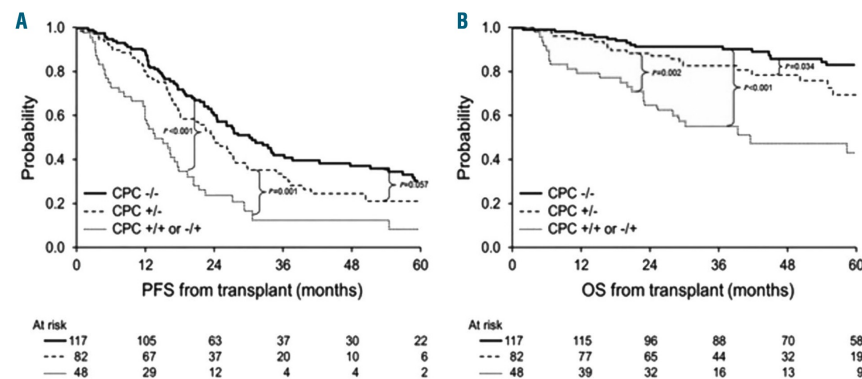
CTC: sono presenti dopo la terapia?



Monitorare malattia dopo terapia usando flow per CTC

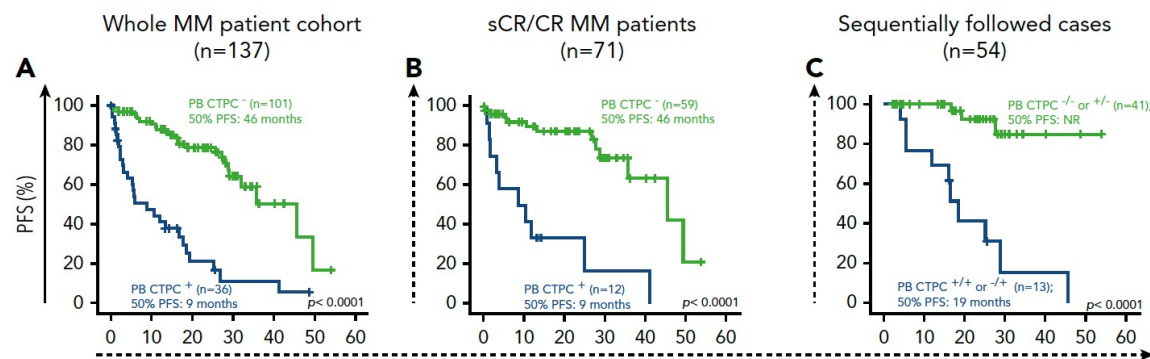
Chakraborty et al, Haematologica (2017)

- 247 pazienti con mieloma
- CTC testate alla diagnosi e pre trapianto
- 6-colori citofluorimetria (target 150,000 eventi)
- **19% con persistenza CTC (n=48)**



Sanoja Flores et al, Blood (2019)

- 137 pazienti con mieloma
- CTC testate alla diagnosi e post terapia
- 8-colori citofluorimetria next generation (NGF, target 10e+7 cellule)
- **26% persistenza CTC dopo induzione**



Conclusione: persistenza CTC dopo terapia prognostico



CTC: sensibilità MRD paragonabile alla valutazione midollare?

CAVE: CTC <<< cellule tumorali midollari alla diagnosi

- 0.02% CTC vs 5.3% cellule tumorali midollari (Garces et al, JCO 2022)



CTC: sensibilità MRD paragonabile alla valutazione midollare?

CAVE: CTC <<< cellule tumorali midollari alla diagnosi

- 0.02% CTC vs 5.3% cellule tumorali midollari (Garces et al, JCO 2022)



CTC: sensibilità MRD paragonabile alla valutazione midollare?

CAVE: CTC <<< cellule tumorali midollari alla diagnosi

- 0.02% CTC vs 5.3% cellule tumorali midollari (Garces et al, JCO 2022)

Sanoja Flores et al, Blood (2019)

- 137 pazienti con CTC testate alla diagnosi e post terapia
- citofluorimetria 8-colori (NGF, 10e+7 cellule)
- MRD con NGF su midollo e immuno fissazione sierica

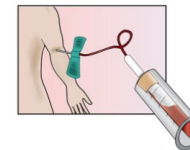
Conclusione

- **CTC meno sensibili per MRD rispetto a midollo**
- Limiti: retrospettivo, real world, numeri limitati

MRD NGF
midollo



MRD NGF
sangue

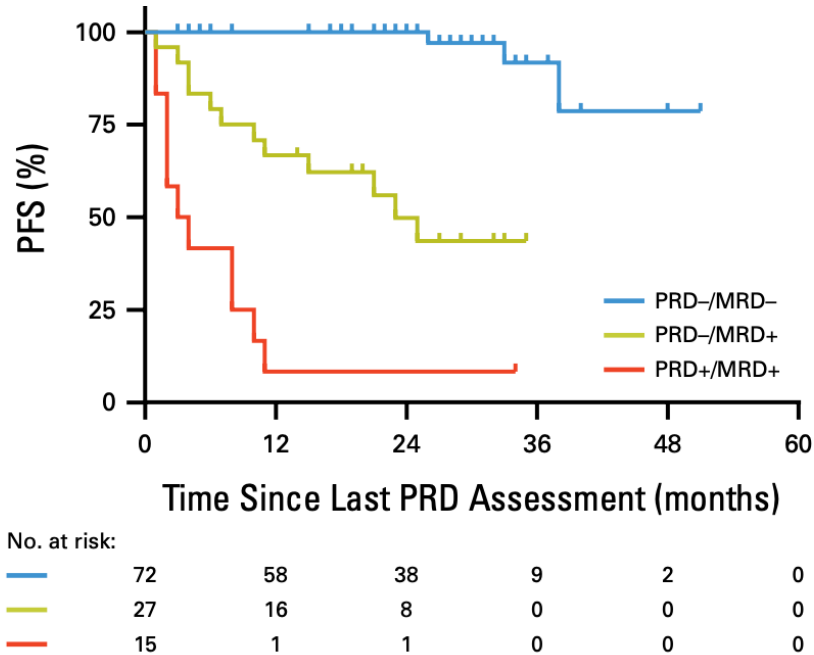


	Negativa	Positiva	Totale
Negativa	46 (34%)	55 (40%)	101
Positiva	0 (0%)	36 (26%)	36
Totale	46	91	137

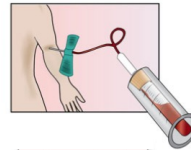
Sanoja Flores et al, Blood (2019)

CTC: MRD e comparazione con altri metodi (GEM2014 MAIN)

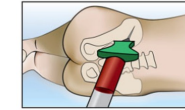
Malattia residua su sangue periferico (PRD) con citofluorimetria (NGF)



MRD NGF
sangue
(PRD)



MRD NGF
midollo



	Negativa	Positiva	Totale
Negativa	72 (63%)	27 (24%)	15
Positiva	0 (0%)	15 (13%)	99
Totale	72	42	114

PRD valore predittivo negativo 73%, valore predittivo positivo 100%

Impatto prognostico indipendente (PFS)

Lasa M et al, JCO 2024

Abbreviazioni: CTC, cellule tumorali circolanti; MRD, minimal residual disease; PRD, peripheral blood residual disease; NGF, next generation flow cytometry



Convegno Regionale SIES Delegazione Emilia Romagna

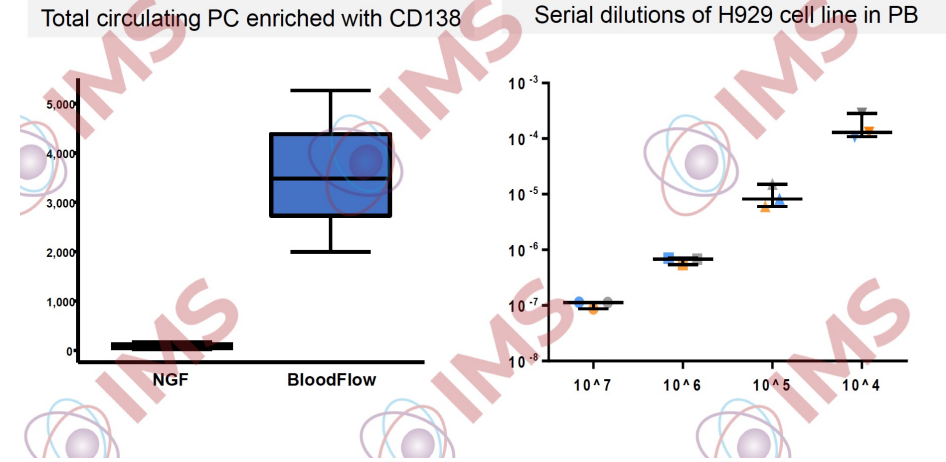
Biopsia liquida: CHE TRAFFICO IN PERIFERIA!

Bologna

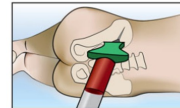
28 Febbraio – 1 Marzo 2025

CTC: MRD aumentare la sensibilita → BloodFlow

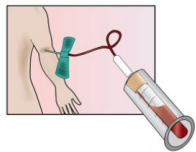
- Sensibilità maggiore → maggior materiale e cellule analizzate ($\geq 2 \times 10^8$ cellule)
- 50 mL sangue → MACS CD138+ → 100uL citofluorimetria



MRD NGF
midollo



MRD
BloodFlow
sangue



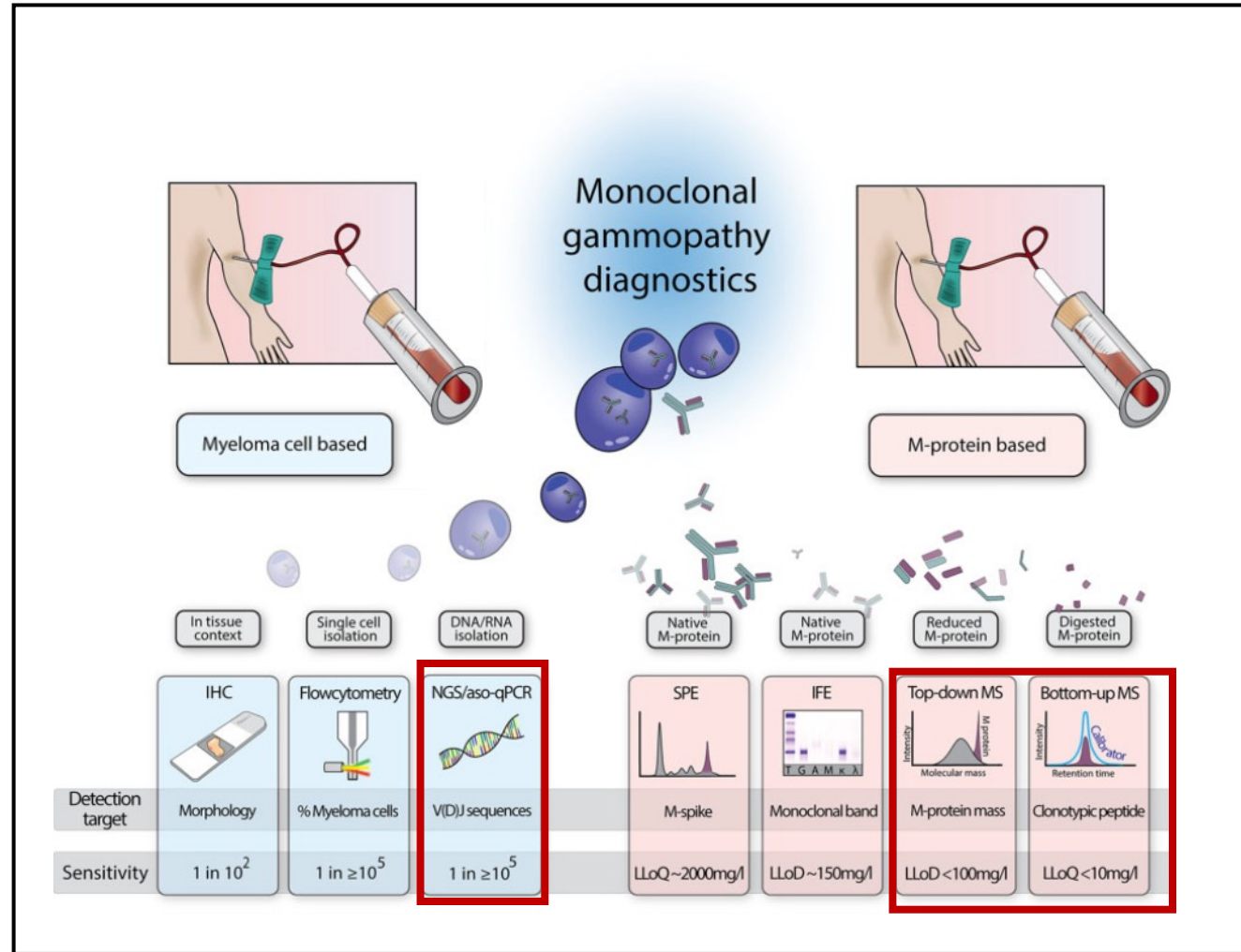
	Negativa	Positiva	Totale
Negativa	137 (69%)	41 (20.5%)	178
Positiva	2 (1%)	19 (9.5%)	21
Totale	139	60	199

BloodFlow valore predittivo negativo di 77% comparato a citofluorimetria (NGF) sul midollo

Notarfranchi L et al, ASH 2022



Altri metodi/biomarcatori per monitorare MRD con biopsia liquida



DNA tumorale circolante (ctDNA)

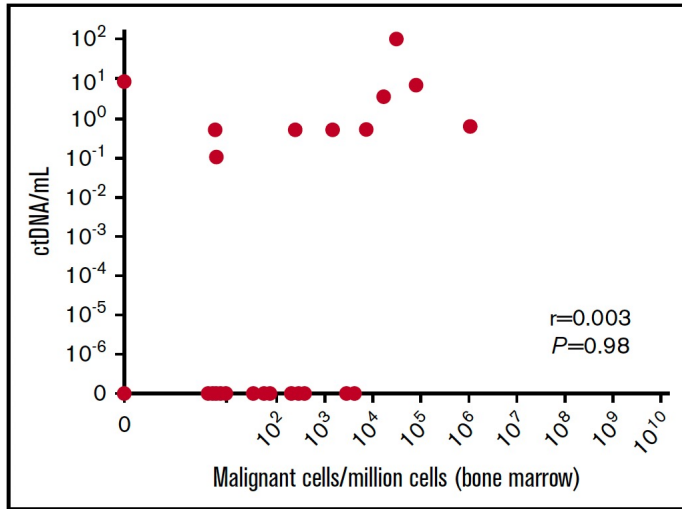
Spettrometria di massa: componente monoclonale

Adapted from Zajec et al, Clinical Chemistry (2020)

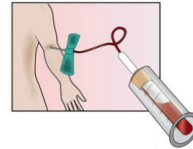


Altri metodi/biomarcatori per monitorare MRD con biopsia liquida

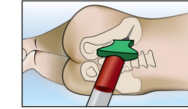
ctDNA → riarrangiamento VDJ con NGS



MRD NGS
plasma



MRD NGS
midollo



	Negativa	Positiva	Totale
Negativa	10 (27%)	18 (48%)	28
Positiva	1 (3%)	8 (22%)	9
Totale	11	26	37

Valore predittivo positivo 89%, valore predittivo negativo 36%

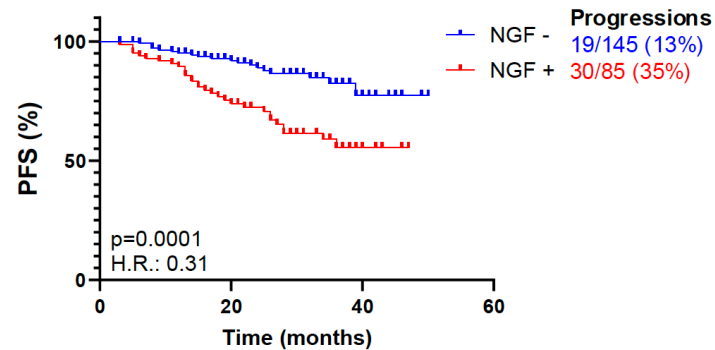
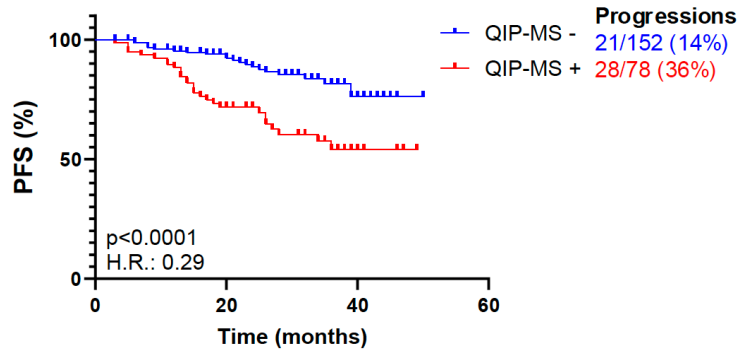
Mazzotti C et al, Blood Advances (2018)

Abbreviazioni: MRD, minimal residual disease; NGS, next-generation sequencing

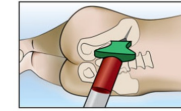


Altri metodi/biomarcatori per monitorare MRD con biopsia liquida

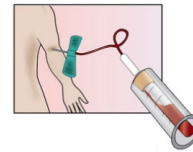
Spettrometria di massa → MALDI-TOF



MRD NGF
midollo



MRD
MALDI-TOF
siero



	Negativa	Positiva	Totale
Negativa	125 (54%)	27 (12%)	152
Positiva	20 (9%)	58 (25%)	78
Totale	145	85	230

Valore predittivo positivo 74%, negativo 82%

Limiti

- sensibilità MALDI-TOF vs altri metodi MRD
- emivita IgG e IgA

GEM2017FIT: VMPx9 vs KRdx18 vs DaraKRd x18

Abbreviazioni: QIP-MS, quantitative immunoprecipitation mass spectrometry; MRD, minimal residual disease; NGF, next-generation flow cytometry

Puig et al, ASH (2024)



Convegno Regionale SIES Delegazione Emilia Romagna

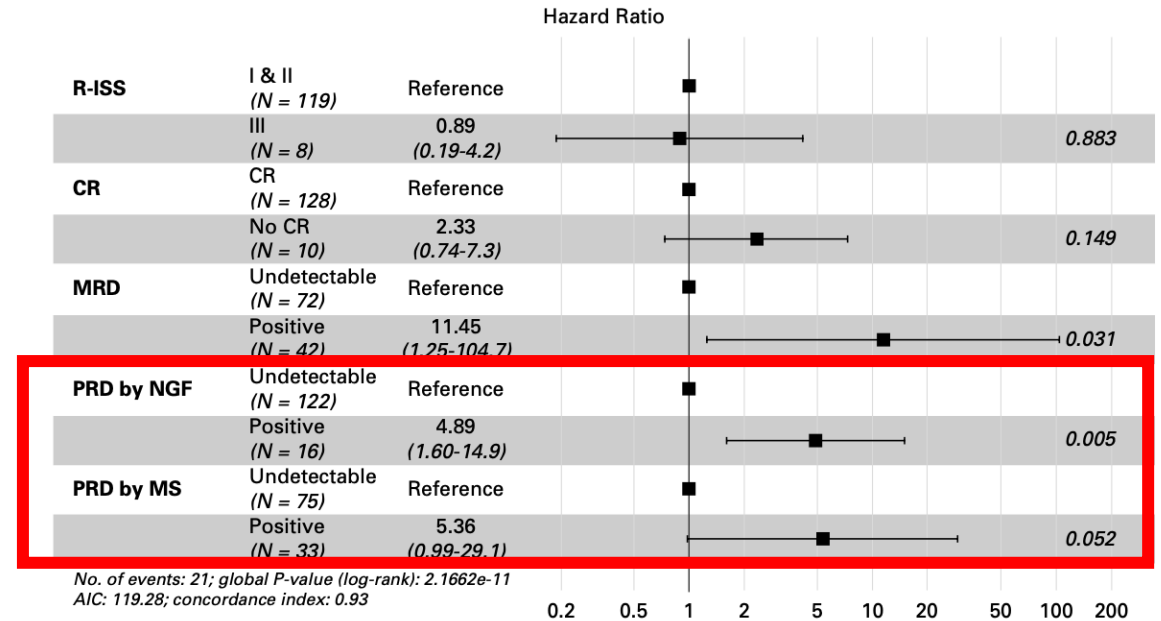
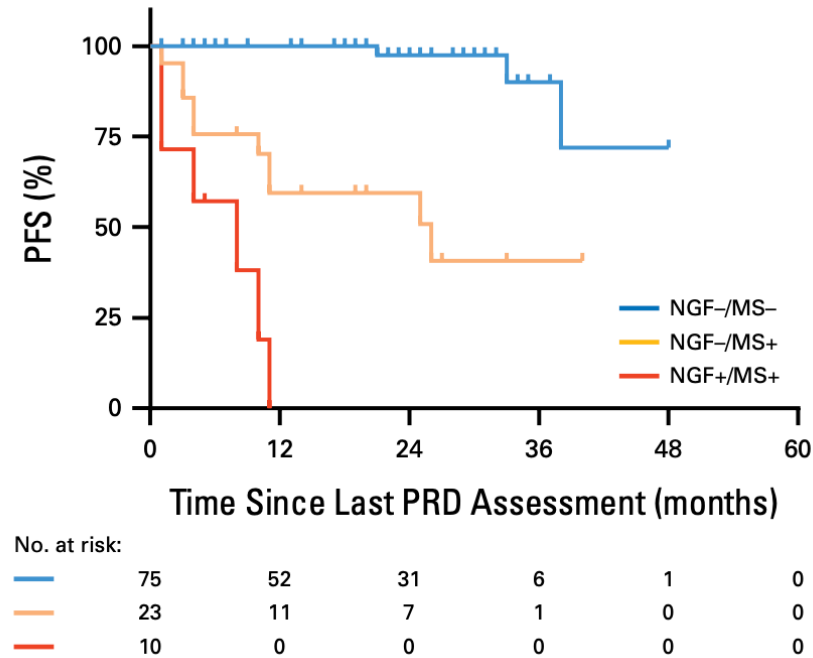
Biopsia liquida: CHE TRAFFICO IN PERIFERIA!

Bologna

28 Febbraio – 1 Marzo 2025

Altri metodi/biomarcatori per monitorare MRD con biopsia liquida

Combinare spettrometria di massa e altre metodiche



MRD su sangue periferico: utilizzo combinato di NGF e Spettrometria di massa aumenta precisione



CONCLUSIONI

- CTC e ctDNA residui dopo terapia hanno un ruolo prognostico, ma meno della valutazione midollare → **aumentare la sensibilità**
- **Dinamiche e impatto clinico**
 - non noto impatto prognostico di avere MRD positiva su midollo e negativa su sangue periferico
 - tempo di positivizzazione anche su periferico
 - tempo alla progressione biochimica/ clinica
- **utilizzo di combinato di diverse tecnologie:**
 - spettrometria di massa (MALDI-TOF), citofluorimetria e/o biologia molecolare



Grazie per l'attenzione!

