

DMSG rekommandation 2008 for cytogenetisk prognosticering af patienter med nydiagnosticeret myelomatose

Overordnet beskrivelse (lægmandsbeskrivelse):

Myelomatose er en alvorlig form for knoglemarvkræft, som årligt rammer ca. 300 personer i Danmark. Årsagen til myelomatose er ukendt. Incidensen stiger med alderen, og gennemsnitsalderen er mellem 65 og 70 år, når diagnosen stilles. Sygdommen er i princippet uhelbredelig, men overlevelsen med sygdommen varierer meget fra individ til individ. Levetiden med sygdommen spænder fra få måneder til mere end 15 år. De sidste 10 år er prognosen forbedret. Specielt har behandling med højdosis kemoterapi med stamcellestøtte, såkaldt autolog stamcelletransplantation, bedret prognosen hos de forholdsvis yngre patienter, som kan tåle denne behandling. Stamcelletransplantation kan tåles af patienter, som er op mod 70 år gamle, hvilket vil sige at behandlingen kan tilbydes op mod halvdelen af de nydiagnosticerede patienter. Selv om den intensive behandling med stamcelletransplantation har bedret den gennemsnitlige overlevelse med ca. 2 år er der stadig stor forskel i overlevelsen fra patient til patient. Tidligere har der ikke været klare informative parametre, som har kunnet forudsige prognosen eller effekten af at give højdosis kemoterapi. Der er nu kommet ny viden på dette område. Der kan hos de fleste patienter med myelomatose påvises skader på kromosomerne i kræftcellerne (arveanlæggene i cellerne). Nogle skader er forbundet med en særlig alvorlig prognose, selv efter højdosis kemoterapi. Andre skader er forbundet med en god prognose, og disse patienter synes især at profitere af højdosis kemoterapi. At bestemte skader på kromosomerne ofte er afgørende for prognosen ved en cancersygdom er kendt fra en række andre kræftsygdomme, herunder fra kroniske og akutte leukæmier, brystkræft etc.

Udover behandlingen med højdosis kemoterapi er der indenfor de seneste år tilkommet nye behandlingsmuligheder, først og fremmest lægemidlerne thalidomid, bortezomib (Velcade^R) og senest lenalidomid (Revlimide^R). Velcade og Revlimide er nu begge indregistrerede til behandling af patienter med tilbagefald af myelomatose (såkaldt 2. linje behandling). Thalidomid ventes indregistreret inden for de kommende måneder til 1. linje behandling, og anvendes allerede i stort omfang til behandling af patienter med tilbagefald af sygdommen på en generel dispensation fra Lægemiddelstyrelsen. De nye medikamenter har forbedret behandlingsmulighederne og overlevelsen ved myelomatose. Disse nye medikamenter er dyre og indgår i national varslings af ny medicin fra Dansk Myelomatose Studie Gruppe (DMSG) under Dansk Hæmatologisk Selskab. Der foreligger nu holdepunkter for, at patienter med visse former for kromosomskader har særlig god effekt af behandling med de nye lægemidler.

For at påvise de prognostisk afgørende skader på kromosomerne skal der udover almindelig kromosomundersøgelse (karyotypering) benyttes en særlig laboratorieteknik kaldet FISH, som står for Fluorescence In Situ Hybridisering. FISH undersøgelser udføres internationalt i stigende omfang, og forventes fremover at være en nødvendig parameter i kliniske protokoller (nødvendig for at kunne få publiceret behandlingsresultater). FISH teknikker er opsat og valideret i Danmark, og udføres nu inden for hæmatologisk diagnostik ved de 3 universitetshospitaler i Århus, Odense og København. Det har imidlertid indtil nu ikke været almindelig standard at undersøge alle patienter med myelomatose med FISH eller kromosomundersøgelse. Rutinemæssig undersøgelse af alle nydiagnosticerede patienter med kromosomundersøgelse og FISH bør nu etableres af følgende årsager:

- Vil forbedre prognosticeringen af nydiagnosticerede patienter
- Vil fremtidigt bedre muligheden for at vælge den optimale behandling for patienterne
- Vil fremtidigt muliggøre en udvælgelse af hvilke patienter, som vil profitere bedst af de nye dyre lægemidler
- Vil sikre muligheden for at publicere danske behandlingsresultater, som kan udhentes fra den nationale kvalitetsdatabase, i anerkendte internationale tidsskrifter
- Forventes at være nødvendig som led i klinisk, protokollerede behandlinger, hvis resultaterne skal publiceres i de mest anerkendte tidsskrifter. Dette gælder både protokoller for yngre og ældre patienter.
- Vil tilfredsstille patienternes forventning om information. Udover de lægefaglige begrundelser for at indføre FISH undersøgelser er der således fra patienterne en øget opmærksomhed på området. Det forekommer oftere og oftere, at patienterne forespørger hvilke kromosomskader, der er påvist ved deres kræftsygdom. Der er særlig fokus på emnet i Dansk Myelomatose Forening, patientforeningen for myelomatose i Danmark.

At indføre rutinemæssig FISH undersøgelse ved diagnosetidspunktet vil medføre en omkostning på ca. 3,4 mio kr. per år.

Faglig resumé af litteraturen og vurdering af evidens

Som ved andre hæmatologiske neoplasier er cytogenetiske abnormiteter afgørende for prognosen. Denne erkendelse er kommet senere ved myelomatose, idet abnormiteterne ofte ikke kan påvises ved karyotypering pga. myelomcellernes nedsatte evne til at vokse og danne metafaser efter celledyrkning i varmeskab.

Tabel 1: Risiko stratifikationsparametre

	14q32-translokationer	Deletion	Kromosomantal
Højrisiko (25%)	t(4;14), t(14;16), t(14;20)	del(13q)*, del(17p)	Hypodiploidi
Standard risiko (75%)	t(11;14), t(6;14)	-	Hyperdiploidi

* kun ved bekræftelse i metafaser

Højdosismelfalan med stamcellestøtte

Fravær af monosomi 13 og hypodiploidi ved karyotypering, og fravær af t(4;14), t(14;16), t(14;20) og 17p- ved FISH, medfører den bedste prognose ved højdosiskemoterapi med stamcellestøtte (1-9). Modsat indebærer tilstedeværelsen af disse abnormiteter en dårligere prognose, og dette er bekræftet af talrige undersøgelser (1-9). Den prognostisk negative betydning af t(4;14) persisterer trods mere intensiv behandling med dobbelt højdosisbehandling med stamcellestøtte (10). 13q- påvist ved FISH har mindre prognostisk betydning end monosomi 13 påvist ved karyotypering.

Duplikation af 1q er for nylig også beskrevet som en negativ prognostisk faktor, men værdien heraf er mindre dokumenteret (11-12).

Konklusion: Monosomi 13 og hypodiploidi påvist ved G-båndsanalyse, og t(4;14), t(14;16) og 17p- påvist ved FISH er forbundet med dårligere prognose ved højdosiskemoterapi med stamcellestøtte. (Evidens IIA; Styrke B)

Nye behandlinger

Flere studier har observeret, at behandling med Velcade mindsker eller ophæver den negative prognostiske betydning af kromosom 13q deletion og t(4;14), såvel ved recidivbehandling som ved

primærbehandling (13-16). Der foreligger endnu ikke tilsvarende valide data for prognoseforbedring ved behandling med thalidomid eller lenalodimid af udvalgte prognosegrupper.
Konklusion: Behandling med Velcade reducerer den prognostiske betydning af kromosom 13q deletion og t(4;14)
(Evidens IIA; Styrke B)

Stratificering af behandling efter cytogenetisk risikoprofil

Risikostratificeret behandling efter cytogenetiske abnormiteter anbefales nu i rekommandationer fra store centre, herunder fra Mayo klinikkerne i USA (17-19). Disse rekommandationer er dog ikke baserede på randomiserede, kontrollerede undersøgelser, men alene på observationsstudier. Risikostratificeret protokollert behandling har været anvendt i franske højdosisprotokoller, idet patienter med dårlige prognostika (13q-) har været allokeret til mere intensiv terapi (20). Disse studier har således ikke været designet til at vise, at risikostratificering i sig selv medfører en prognoseforbedring, men derimod alene undersøgt om visse patientkategorier med givne prognostika kan profitere af f.eks. mere intensiv behandling.
Konklusion: Førende hæmatologiske centre anbefaler risikostratificeret behandling efter tilstedeværelsen af prognostisk betydende kromosomale aberrationer.

(Evidens III-IV; Styrke C-D)

Konklusion

Der er tilstrækkelig evidens for, at der i Danmark anbefales rutinemæssig kromosomal G-bånds analyse og FISH undersøgelse for udvalgte kromosomale aberrationer hos patienter med nydiagnosticeret, behandlingskrævende myelomatose.

Cytogenetiske metoder

Karyotypering: Standard G-bånds analyse anbefales til verificering af hypodiploidi (21) og monosomi kromosom 13.

FISH: Der anbefales analyse for følgende abnormiteter: 1. linje: del(13q14), del(17p13), t(14q32); og ved positiv 14q32rearrangement: t(4;14), t(11;14) og t(14;16), trisomi 1q. Der anbefales anvendt kommercielle prober, og det anbefales, at der anvendes samme prober ved alle diagnostiske centre i Danmark.

For opnåelse af tilstrækkelig sensitivitet er det afgørende, at der udføres positiv myelomcelle identifikation. Der er forskellige ligeværdige metoder hertil: Let-kæde kappa-lambda immunfarvning på imprints/udstryninger af knoglemarv, MRD-baseret Fiction-teknik eller oprensning ved flowsortering eller immunmagnetiske beads (anti-CD138).

Der anbefales analyse af 100 identificerede plasmaceller. Analyseens *cut-off* værdier for positiv test vil variere mellem laboratorierne. Der er bred enighed om, at der i praksis indtil videre anvendes *cut-off* niveauer for påviste translokationer og duplikationer på 10% og for deletioner på 20%.

Der afgives svar med %-angivelse af abnorme celler for hver enkelte påviste abnormitet, og der anføres konklusion.

Der følges således rekommandationerne fra European Myeloma Networks FISH Workshop, som afholdtes Royal Marsden Hospital, London i marts 2005 (Tabel 2).

Laboratorier

Karyotypering og FISH undersøgelser indenfor hæmatologi og specifik myelomatose er etableret og valideret ved Cancercytogenetisk laboratorium, Aarhus Universitetshospital; Patologisk Institut,

Odense Universitetshospital, og ved Kromosomlaboratoriet, Rigshospitalet. Disse 3 laboratorier dækker behovet for Danmark.

Kvantitet og økonomi

Der er i Danmark årligt ca. 300 nydiagnosticerede patienter med myelomatose. Enkelte af disse patienter får konstateret sygdommen i en meget høj alder med samtidig svær co-morbiditet, og vil ofte ikke kandidere til andet en rent palliativ behandling. Til gengæld vil nogle patienter mistænkt for at have myelomatose i stedet vise sig at have smouldering myelomatose eller MGUS, og således ikke være behandlingskrævende.

Det bedste estimat vil således være at ca. 300 patienter årligt vil få lavet cytogenetisk diagnostik.

Pris for G-bånds analyse: 4.400-5.500 kr.

Pris for FISH analyse efter ovenstående plan: ca. 6.000 kr.

Samlede pris per patient (2008 priser): ca. 10.500-11.500 kr.

Tabel 2: Forslag til retningslinier udarbejdet ved *EMN FISH Workshop, Royal Marsden Hospital, London, UK, marts 2005.*

Quality of material	Plasma cell identification IMPERATIVE	Nos. of plasma cells scored	Nos. of independent observers	Cut off levels IMPERATIVE	Probes	Abnormalities investigated	Reporting of results
Bone marrow: Aspirate 1st draw	Either sorting (CD138+ cells) or immunostaining	100 optional give exact figure	2 observers, if disagreement: 3. Optional: 1 in large laboratories.	Deletions: 20% Translocations: 10%. Trisomies: 10%	Optional: Commercial preferred for diagnostic and prognostic purposes. “in-house”: always test for efficacy on metaphases.	del(13)(q14) del(17)(p13) der(14)(q32) t(4;14) t(11;14) if two 13q14 signals: test for tetrasomy. Test for tri/tetrasomies: #2 and #4 centromere. Optional test for trisomies: #5,9,15.	ISCN 1995/2005 not recommendable Give %. Make a conclusion.

Referencer:

1. Avet-Loiseau H. et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*, 2007; 109:3489-95.

2. Barlogie B. et al. Long-term outcome results of the first tandem autotransplant trial for multiple myeloma. *Br J Haematol.*, 2006; 135:158-64.
3. Moreau P et al. Recurrent 14q32 translocations determine the prognosis of multiple myeloma, especially in patients receiving intensive chemotherapy. *Blood* 2002; 100:1579-83.
4. Avet-Loiseau H. et al. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood*, 2002; 99:2185-91.
5. Shaughnessy J. et al. Continuous absence of metaphase-defined cytogenetic abnormalities, especially of chromosome 13 and hypodiploidy, ensures long-term survival in multiple myeloma treated with Total Therapy I: interpretation in the context of global gene expression. *Blood*, 2003; 101: 3849-56.
6. Facon T. et al. Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum beta2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy. *Blood*, 2001; 97:1566-72.
7. Fonseca R. et al. Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report. *Cancer Res.*, 2004; 64:1546-58.
8. Jaksic W. et al. Clinical outcomes in t(4;14) multiple myeloma: a chemotherapy-sensitive disease characterized by rapid relapse and alkylating agent resistance. *J Clin. Oncol.*, 2005; 23:7069-73.
9. Gertz MA et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood*, 2005; 106:2837-40.
10. Moreau P et al. Heterogeneity of t(4;14) in multiple myeloma. Long-term follow-up of 100 cases treated with tandem transplantation in IFM99 trials. *Leukemia*, 2007: 2020-4.
11. Fonseca R. et al. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia*, 2006; 20:2034-40.
12. Wu KL. et al. Abnormalities of chromosome 1p/q are highly associated with chromosome 13/13q deletions and are an adverse prognostic factor for the outcome of high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. *Br. J. Haematol.*, 2007; 136: 615-23.
13. Jagannath S. et al. Bortezomib appears to overcome the poor prognosis conferred by chromosome 13 deletion in phase 2 and 3 trials. *Leukemia*, 2007; 21:151-7.
14. Sagaster V. et al. Bortezomib in relapsed multiple myeloma: response rates and duration of response are independent of a chromosome 13q-deletion. *Leukemia*, 2007; 21:164-8.
15. Chang H. et al. Bortezomib therapy response is independent of cytogenetic abnormalities in relapsed/refractory multiple myeloma. *Leuk Res.*, 2007; 31: 779-82.
16. Rosinol L. et al. Phase II PETHEMA trial of alternating bortezomib and dexamethasone as induction regimen before autologous stem-cell transplantation in younger patients with multiple myeloma: efficacy and clinical implications of tumor response kinetics. *J Clin Oncol.*, 2007; 25: 4452-8.
17. Dispenzieri A. et al. Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-adapted Therapy (mSMART): consensus statement. *Mayo Clin Proc.*, 2007; 82: 323-41.
18. Stewart AK et al. A practical guide to defining high-risk myeloma for clinical trials, patient counseling and choice of therapy. *Leukemia*, 2007; 21:529-34.
19. Bersagel PL. Individualizing therapy using molecular markers in multiple myeloma. *Clinical Lymphoma & Myeloma*, 2007; 7: Supplement 4, S170-174.

20. Garban F et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-03 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04 trial) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood*, 2006; 107:3474-80
21. Christensen JH. et al. Interphase fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance without and with positive plasma cell identification: analysis of 192 cases from the Region of Southern Denmark. *Cancer Genet Cytogenet.*, 2007; 174: 89-99.