

Place de la cytogénétique dans la prise en charge du myélome multiple : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Cytogenetics in the management of multiple myeloma: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Agnès Daudignon¹
Benoît Quilichini²
Geneviève Ameye³
Hélène Poirel⁴
Christian Bastard⁵
Christine Terré⁶

¹ UF de cytogénétique hématologique, Pôle biologie-hygiène, Valenciennes, France
<daudignon-a@ch-valenciennes.fr>

² Service de cytogénétique, Laboratoire Biomnis, Lyon, France

³ Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires St-Luc-Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

⁴ Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires St-Luc & de Duve Institute-Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

⁵ Département de génétique, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

⁶ Laboratoire de cytogénétique, Centre de transfusion sanguine, Le Chesnay, France

Résumé. La cytogénétique du myélome multiple a beaucoup évolué ces dernières années avec la possibilité d'enrichissement du prélèvement par un tri cellulaire ciblé permettant d'obtenir des plasmocytes purifiés. La recherche des marqueurs pronostiques s'y effectue majoritairement par techniques d'hybridation in situ, mais d'autres protocoles alternatifs existent. Les cibles les plus recherchées sont la délétion 17p avec perte d'un allèle de *TP53* et la translocation t(4;14)(p16;q32) avec réarrangement des gènes *FGFR3* et *IGH*. D'autres marqueurs d'intérêt émergent impliquant entre autres plusieurs régions du chromosome 1 (région 1q21 et 1p32). La présence de ces marqueurs génétiques associés à d'autres facteurs biologiques tels que le taux de b2-μglobuline et d'albumine (score ISS) a permis d'établir des scores pronostiques avec indications de choix thérapeutique. Cependant, l'évolution rapide des traitements et du nombre de marqueurs d'intérêt implique une mise à jour constante des données de la littérature. Le GFCH propose une actualisation des recommandations pour la prise en charge cytogénétique optimale du myélome multiple en 2016.

Mots clés : *cytogénétique, FISH, tri cellulaire, myélome*

Abstract. Cytogenetics of multiple myeloma has evolved in recent years by the emergence of Interphasic fluorescence in situ hybridization (FISH) performed on sorted plasma cells detecting abnormalities independently of a proliferative and infiltrative index. Cytogenetic analysis plays a major part in the risk stratification of myeloma diagnosis due to prognostic impact of various cytogenetic abnormalities as well as to the association between emerging therapeutic approaches in MM. Thus, practice guidelines now recommend interphasic FISH or alternative molecular techniques as the initial analysis for multiple myeloma. The Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH) proposes in this issue an update of managing multiple myeloma cytogenetics.

Key words: *cytogenetic, FISH, plasma cells sorted, myeloma*

Article reçu le 24 février 2016,
accepté le 29 février 2016

Le myélome multiple (MM) représente 1 % de tous les cancers et 10 % des hémopathies malignes de l'adulte. C'est une maladie « multistep » dans laquelle les plasmocytes, cellules cibles du processus tumoral, se transforment et

peuvent progresser suite à des accumulations de « hits » génétiques successifs. Le MM peut être précédé par un état pré-néoplasique ou *Monoclonal gammopathy of unknown significance* (MGUS) qui peut évoluer vers un MM dans un délai variable avec un risque de progression d'environ 1 % par an [1]. Le MM peut se présenter sous forme

Tirés à part : A. Daudignon

asymptomatique ou myélome indolent (*smoldering myeloma*) (le risque de progression passe à 10 % par an dans les premières 5 années) ou symptomatique MM [2, 3]. Le traitement bien que non curatif, a pour but de limiter et freiner l'évolution de la maladie. L'introduction de l'auto-greffe (ASCT) et de nouvelles molécules telles que les immunomodulateurs (thalidomide, lenalidomide et pomalidomide), ou plus récemment les inhibiteurs de protéasomes (1^{re} génération le bortezomib, carfilzomib) ont permis d'améliorer la survie des patients avec une médiane de survie globale (OS) passant de 2 à 3 ans ces dix dernières années à 8 ans aujourd'hui. Cependant au sein même du groupe de patients atteints de myélome, on observe une grande hétérogénéité de réponse aux traitements (EFS) et d'évolution (OS). Avec l'augmentation des possibilités de traitement et l'amélioration de la survie, il est devenu important de stratifier les patients : différents marqueurs biologiques permettent de définir des groupes de patients à haut risque de progression ou de patients à maladie de forme plutôt indolente avec un risque évolutif dit « standard » [4]. La prise en charge thérapeutique repose sur la détermination de ces sous-groupes pronostiques. Tous les groupes coopérateurs intègrent un système de score multidisciplinaire pour la stratification thérapeutique intégrant et associant des facteurs de risques génétiques intrinsèques aux cellules tumorales et d'autres facteurs de risques biologiques reflétant soit la masse tumorale soit l'état général du patient tels que le score ISS (bêta₂-microglobuline et albumine) ou encore le taux de LDH. Il s'agit du groupe de la Mayo Clinic (Minnesota, Arizona et Floride, USA) qui publie ses recommandations de stratification des patients atteints de MM pour une prise en charge clinique adaptée (*mSMART Mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy* [5], de l'Intergroupe francophone du myélome (IFM, France) [6–8] et du groupe de *Medical research council* (MRC) du myélome (UK) [9]. Un grand nombre de marqueurs cytogénétiques ont été identifiés ces dernières années qui pour la plupart ont été validés sur des cohortes de patients traités avant les protocoles actuels et l'émergence des nouvelles molécules. Le risque évolutif lié à ces marqueurs doit être régulièrement évalué en fonction des nouveaux protocoles thérapeutiques (*tableau 1*). En tant que cytogénéticiens, nous devons donc rechercher et déterminer ces anomalies cytogénétiques qui participent aux différents scores pronostiques voire qui orientent les choix thérapeutiques pour les patients atteints de myélome.

Marqueurs cytogénétiques

Délétion 17p

La majorité des délétions 17p sont hémizygotes. Parfois, il s'agit de monosomie 17. La fréquence est d'environ 10 % au

moment du diagnostic de MM et augmente dans les stades évolués. Le gène dérégulé est le gène suppresseur de tumeur *TP53*. Dans les cas sans del(17p), le taux de mutation de la p53 est de 1 %, alors qu'il se situe entre 25 et 37 % dans les cas avec del(17p). Le gène *TP53* en 17p13 est un régulateur de la transcription qui contrôle l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose suite à une lésion de l'ADN. La délétion 17p est l'anomalie la plus stratifiante pour le pronostic du MM. Elle est associée à une présentation plus agressive, un degré important d'envahissement extramédullaire et une survie diminuée quelle que soit la thérapeutique appliquée.

Translocations t(14q32 ;v)

t(4;14)(p16;q32)

Elle est observée dans 12 % à 14 % des MM, et est associée à un pronostic défavorable dans de nombreuses études cliniques [6, 10, 11]. Cependant l'utilisation des inhibiteurs du protéasome en phase initiale et/ou en consolidation serait susceptible de gommer la valeur pronostique de la t(4;14) [12]. La t(4;14) est responsable de la surexpression de 2 gènes *FGFR3* et *MMSET* par juxtaposition avec des enhanceurs du gène *IGH*. Environ 30 % des t(4;14) sont déséquilibrées avec perte du dérivé 14 et donc perte de l'expression de *FGFR3*. Mais dans ces cas, la valeur pronostique défavorable persiste et c'est donc probablement *MMSET* qui est en cause [13]. Son rôle exact dans la pathogenèse n'est pas clair, bien qu'une dérégulation épigénétique et un rôle dans la réparation de l'ADN aient été suggérés.

t(14;16)(q32;q23)

Elle est observée dans un peu moins de 3 % des MM et provoque une augmentation de l'expression d'un oncogène de la famille *c-MAF*. Elle a été associée à un pronostic défavorable mais des études rétrospectives ont récemment montré que cette valeur pronostique n'était pas retenue en analyse multivariée [14].

t(14;20)(q32;q12)

Elle est observée dans moins de 1 % des MM et provoque également l'augmentation de l'expression d'un oncogène de la famille *MAFB*. Elle a été associée à une valeur pronostique défavorable mais sa présence dans des MGUS et SMM longtemps indolents suggère que ce sont des anomalies additionnelles qui sont responsables d'un mauvais pronostic dans les MM avec t(14;20) [15].

t(11;14)(q13;q32)

On la retrouve dans environ 20 % des MM. Elle est responsable d'une surexpression de la cycline D1 (*CCND1*). Elle n'a pas de valeur pronostique particulière et est classée dans le groupe pronostique dit « standard » ou neutre [6].

Tableau 1. Liste des principaux marqueurs cytogénétiques du myélome multiple et leur impact pronostique et/ou thérapeutique.

Anomalies cytogénétiques	Incidence	Valeur pronostique anciens traitements	Valeur pronostique avec inhibiteur de protéasomes	Remarques	Références
Délétion 1p32	7 % à 17 %	Impact négatif sur PFS Impact négatif sur OS Marqueur pronostique indépendant	Conserve sa valeur pronostique défavorable		[23, 25, 26, 34]
Gain 1q21* (3 copies) Amp 1q21 (> 3 copies)	34 % à 40 % 8 %	Impact négatif sur PFS Impact négatif sur OS Marqueur pronostique indépendant	Conserve sa valeur pronostique défavorable	Pourrait avoir un rôle dans la résistance au bortezomib	[9, 17–21, 23, 38]
Hyperdiploïdie trisomies chr. impairs (1-3-5-7-9-11-15-17-19-21)	50 à 60 %	Pronostic standard sauf si associée à des marqueurs de mauvais pronostic	Idem	Certaines trisomies pourraient moduler (diminuer ou potentialiser) les impacts pronostiques de la del17p ou la t(4;14) : chr 3,5 et 15	[34, 35, 39]
Délétion 13q14	44 % à 49 %	Pas de valeur pronostique indépendante	Idem		[21, 40]
Délétion 17p	5 % à 15 %	Impact négatif sur PFS Impact négatif sur OS Marqueur pronostique indépendant	Conserve sa valeur pronostique défavorable	Marqueur le plus stratifiant Valeur pronostique défavorable quels que soient les traitements à ce jour	[8, 9, 11, 12, 17]
t(4;14)	11 % à 24 %	Impact négatif sur PFS Impact négatif sur OS Marqueur pronostique défavorable indépendant	Bascule en facteur pronostique intermédiaire	L'association d'une t(4;14) à un gain 1q21 modifie le pronostic : bascule vers défavorable avec 1q21 pour les traitements au bortezomib	[6, 10, 12, 45]
t(14;16)	2 % à 3 %	Controversée Mauvais pronostic ?	Idem	Mauvais pronostic pour la Mayo clinic et MRC. N'est pas considérée comme de mauvais pronostic en analyse multivariée par l'IFM	[14, 34]
t(14;20)	< 1 %	N'est pas marqueur pronostique indépendant	Idem	Sa valeur pronostique défavorable dans le MM serait liée à d'autres anomalies génétiques associées	[15, 34, 41]
t(11;14)	19 % à 20 %	Pronostic standard	Idem		
t(6;14)	2 %	Pronostic standard	Idem		[42]
t(8,v)(q24;v)	15 % des MM et 50 % des stades avancés	Mauvais pronostic en lien avec le stade évolutif	Idem	À rechercher en rechute	[30, 43]

*Attention, vérifier qu'il s'agit d'un gain 1q21 et non d'une trisomie 1.

t(6;14)(p21;q32)

Rare (2 % des patients atteints de MM), elle provoque la surexpression de *CCND3* [16]. Tout comme la t(11;14), sa valeur pronostique est « standard » ou neutre [6].

Anomalies du chromosome 1

Gain 1q21

Le gain 1q21 est retrouvé dans 35 à 40 % des MM [17]. Il est associé à un pronostic défavorable chez les patients traités

autant par les chimiothérapies haute dose classiques que par les nouvelles molécules de type inhibiteurs de protéasomes [18–21]. C'est un marqueur pronostique indépendant. Plusieurs oncogènes candidats pourraient être impliqués tels que *CKS1B*, *ANP32E*, *BCL-9*, *PDZK1* et *PSMD4*. Récemment, une relation entre le gain 1q21 et la résistance au bortezomib a été démontrée via une possible sur-expression du gène *PSMD4* [20, 22]. L'anomalie 1q21 la plus fréquemment retrouvée est le gain à 3 copies du locus *CKS1B*, mais 8 % des patients présentent une amplification de 4 à 5 copies : une étude récente a démontré que l'augmentation au-delà de 3 du nombre de copies du locus 1q21 potentialiserait son impact négatif sur la survie [23]. Les anomalies 1q21 sont associées à une instabilité génomique et pourraient être un marqueur de progression dans le MM.

Délétion 1p22-1p32

Deux régions minimales du bras court du chromosome 1 sont retenues comme ayant un impact pronostique négatif sur l'OS et la PFS : elles incluent les régions 1p22.1-1p22.3 et 1p32.3 [24, 25]. Les gènes candidats sont *CDKN2C* et *FAF1* pour la région 1p32 et *HTF2* et *TMED5* pour la région 1p22. La délétion 1p32 est retrouvée dans 7 à 11 % des MM, et la délétion 1p22 entre 15 et 22 % des MM. Les deux marqueurs ont un impact négatif sur l'OS et la PFS en analyse multivariée chez les patients traités avec chimiothérapie intensive avec auto-greffe [24, 25]. D'un point de vue cytogénétique, les délétions 1p sont étendues et incluent pour la plupart toute la région de 1p12 à 1p32 [24, 26].

Anomalies de MYC

Les réarrangements de *MYC* sont retrouvés dans 20 % à 47 % des MM selon les études [27, 28] ; 39 % à 50 % des remaniements de *MYC* impliquent des partenaires autres que les gènes d'immunoglobulines [27, 29, 30]. Ce sont en général des remaniements complexes impliquant 3 chromosomes ou plus, associés à des amplifications, des duplications ou mêmes des inversions de *MYC*. Plusieurs régions partenaires sont récurrentes, les régions 1p11-13, 1p21-22, 6q21, 13q14 et 16q22. Quatre gènes au moins sont identifiés, *FAM46C*, *KRAS*, *CCND1* et *XBPI* [28]. Le mécanisme de sur-expression de *MYC* reste classiquement lié à la mise sous contrôle du gène par un « super-enhancer » au locus du gène partenaire [31]. Les différentes études montrent qu'il s'agit d'une anomalie d'apparition tardive liée à la progression du MM vers un stade plus avancé. On retrouve 15 % de *MYC* réarrangé dans les MM débutants et jusqu'à 47 % dans les cas de MM de stade plus avancé [27, 29]. L'impact pronostique reste controversé : Avet Loiseau *et al.* ne mettent pas en évidence d'association significative entre la présence de *MYC* réarrangé et une survie diminuée, considérant plutôt le remaniement de *MYC*

comme un marqueur de progression du MM [29]. Une étude plus récente démontrerait néanmoins un impact négatif sur la PFS et l'OS chez les patients atteints de MM [28].

Hyperdiploïdies

On la retrouve dans environ 50 % des MM, plus fréquemment chez les patients âgés. Les gains chromosomiques touchent tous les chromosomes impairs, sauf le chromosome 13, et moins fréquemment le chromosome 1 ou 17. Les hyperdiploïdies ont été décrites initialement comme de pronostic favorable [32, 33], sauf si elles sont associées à une anomalie de mauvais pronostic. Des études plus récentes ont montré que certaines trisomies peuvent modifier l'impact pronostique associé aux autres anomalies soit en améliorant le pronostic comme la trisomie 15 [34], soit en l'aggravant comme la trisomie 5 [35].

Scores pronostiques

Il y a dans le myélome une grande variabilité dans les résultats publiés selon le schéma d'étude et le type de thérapeutique utilisé. Les marqueurs pronostiques définis dans les études initiales, pour la plupart validés sur des cohortes de patients traités avant les protocoles actuels et l'émergence des nouvelles molécules, sont pour certains rétrogradés avec les nouveaux traitements, comme cela s'est déjà vu pour d'autres pathologies. Trois grands groupes pronostiques à risque dit « standard », « intermédiaire » ou « défavorable » sont définis qui incluent les facteurs génétiques et le score ISS [5]. Les médianes de survie et le pourcentage de patients pour chaque groupe sont très proches selon les études.

	Risque standard	Risque intermédiaire	Haut risque
OS médiane	8-10 ans	4-5 ans	3 ans
Incidence	60 %	20 %	20 %

D'après Mikhael JR. *Mayo Clin Proc* 2013 ; 88 : 360-76.

En revanche, les marqueurs génétiques intégrés dans les modèles statistiques des différentes études varient : les plus grandes études publiées recensent des cohortes de patients intégrées dans les essais de l'IFM (France), de la Mayo clinic (USA), du MRC Myelome IX (UK), et des études multicentriques intégrant jusqu'à 2 500 patients IMWG (9 centres européens). Ces études se sont centrées sur les deux marqueurs initiaux connus la del(17p) et la t(4;14) [4, 5, 7, 8, 17, 36], et parfois y intègrent des marqueurs plus récemment identifiés comme l'amplification 1q21 [9, 17, 23, 37]. L'intégration des anomalies du chromosome 1 (gain 1q21 et délétion 1p32) dans les modèles

de stratification pronostique n'est pas encore consensuelle. Pourtant ces anomalies semblent garder leur valeur pronostique défavorable même lorsque le traitement inclut le bortezomib contrairement à ce qui se passe pour la translocation t(4;14) (20,21). La liste des marqueurs génétiques principaux et leur impact pronostique et/ou thérapeutique est détaillée dans le *tableau 1*.

D'autres anomalies sont décrites, avec des valeurs pronostiques pas encore clairement établies : délétion 12p [44], délétion 8p [21].

Les combinaisons ou associations des marqueurs cytogénétiques cités dans le *tableau 1* chez un même patient ont des répercussions pronostiques :

- au moins deux études (IFM et MRC) ont analysé l'impact de la délétion p53, la t(4;14) et le gain 1q21 sur l'EFS et l'OS chez les patients MM : ces 3 marqueurs sont des marqueurs pronostiques indépendants en analyse multivariée autant sur la PFS que sur l'OS. Leur impact pronostique sur la survie est similaire et plutôt modéré quand l'anomalie est isolée. Leur combinaison a un impact plus fort et les auteurs définissent ainsi des scores tenant compte du nombre cumulé d'anomalies de mauvais pronostic. Ces scores deviennent plus puissants lorsque le score ISS y est associé [9, 17] ;

- plus récemment, deux études ont démontré que certaines anomalies numériques (trisomie 3, 5 et 15) ou structurales (délétion 22q) pourraient moduler la valeur pronostique des marqueurs classiques comme la délétion 17p ou la t(4;14). Ces anomalies impactent soit l'OS soit la PFS, jamais les deux [34, 35] ;

- enfin, alors que les inhibiteurs du protéasome avaient gommé l'impact pronostique défavorable de la t(4;14) isolée, l'amplification 1q21 associée semble restaurer ce pronostic défavorable, potentiellement par un mécanisme de résistance au bortezomib [45].

En conclusion, certaines anomalies donnent des informations pronostiques, d'autres plutôt une orientation thérapeutique. Outre une del(17p) dans au moins 60 % des plasmocytes, aucune autre anomalie cytogénétique ne définit à elle seule un « haut risque ». La détermination de la présence de 2 ou plus anomalies FISH reste le paramètre le plus important pour déterminer les patients à risque plus défavorable [46].

Recommandations du GFCH

Quelle(s) technique(s) ?

Obligatoire : FISH sur cellules triées (billes magnétiques et anti CD138) ; Technique alternative : FISH, QMPSF, CGH array.

Facultative : le caryotype standard a sa place dans certains contextes (maladies proliférantes, leucémie à plasmocytes).

Le caryotype n'est informatif que dans 30 % des cas : il s'agit de patients dont la moelle est bien envahie. En général, il s'agit de MM en phase proliférative, quand les plasmocytes sont en phase stroma-indépendante et se divisent facilement *in vitro*. L'obtention de métaphases des plasmocytes est donc en soi un marqueur pronostique. Cependant, la plupart des diagnostics concernent des patients à des stades plus précoces, avec faible envahissement médullaire et faible capacité de prolifération. L'analyse ciblée de loci sur plasmocytes triés est donc nécessaire, que ce soit par FISH ou biologie moléculaire : le taux d'anomalies retrouvées varie de 60 % à plus de 75 % des cas en fonction du nombre de remaniements recherchés.

Quand ?

Se référer à la définition du myélome : plasmocytose médullaire $\geq 10\%$ ou $< 10\%$ avec anomalies cytologiques.

Tenir compte de la dilution fréquente du prélèvement médullaire à destination de la cytogénétique.

Ne pas trier les MGUS : en effet on retrouve les mêmes anomalies cytogénétiques dans les MGUS et dans les myélomes, mais les MGUS ne sont pas traités.

Il faut exclure à ce stade l'hypothèse d'un syndrome lymphoprolifératif chronique B avec mise en culture pour caryotype.

Le prélèvement médullaire peut être conservé jusqu'à J3, à température ambiante (ou + 37 °C) soit dans son support de prélèvement, soit en milieu de culture à 37 °C. À noter qu'à J3, on obtient moins de matériel.

Même si l'infiltration est massive, il faut trier les cellules car le prélèvement pour la cytogénétique peut être hémodilué.

Choix des cibles cytogénétiques

Le panel de marqueurs à tester dans cette pathologie doit être régulièrement revu, et adapté en fonction des nouvelles données de la littérature et des protocoles thérapeutiques en place dans chaque centre. Au diagnostic et pour tout patient en intention de traitement il est recommandé de rechercher une délétion 17p, une t(4;14) ainsi qu'un gain 1q21 et une délétion 1p32. Au moment du suivi et/ou d'une rechute, la recherche de remaniement de *MYC* peut être effectuée (*tableau 2*).

Validation de la FISH

À partir de quel rendement de tri (nb de plasmocytes/nb de cellules totales après tri) valide-t-on un résultat FISH ?

Un bon rendement est un rendement $\geq 80\%$.

Si le rendement est $< 80\%$, le résultat FISH est rendu sous réserve en cas d'absence d'anomalie.

Tableau 2. Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique du myélome multiple.

Myélome multiple		
Au diagnostic : recommandé pour tout patient avec intention de traitement		
Obligatoire : FISH* sur plasmocytes triés Optionnel : Caryotype		
Recommandations	Marqueurs cytogénétiques	Gènes - Locus
Panel minimum recommandé ¹ :	del(17p) t(4;14)(p13;q32) ² gain 1q21 del(1)(p32)	<i>TP53</i> <i>FGFR3</i> et <i>MMSET/IGH</i> <i>CKS1B</i> <i>CDKN2C, FAF1, FAM46C</i>
Optionnel :	t(14;16)(q32;q23) ² t(14;20)(q32;q12) ² t(11;14)(q13;q32) ² hyperdiploïdie del(13q) t(8;v)(q24;v) ³	<i>MAF/IGH</i> <i>MAFB/IGH</i> <i>MYEOV-CCND1/IGH</i> chr 3,5,7,9,11,15,19 <i>RB1, D13S319</i> <i>MYC</i>
En suivi : optionnel		
Obligatoire : FISH* sur plasmocytes triés Optionnel : Caryotype		
Recommandations	Marqueurs cytogénétiques	Gènes - Locus
Tout marqueur cytogénétique détecté au diagnostic + anomalies plutôt d'apparition secondaire avec valeur pronostique	del(1)(p32) gain 1q21 t(4;14)(p13;q32) t(8;v)(q24;v) del(17p)	<i>CDKN2C, FAF1, FAM46C</i> <i>CKS1B</i> <i>FGFR3</i> et <i>MMSET/IGH</i> <i>MYC</i> <i>TP53</i>

*d'autres techniques moléculaires peuvent être utilisées. ¹ Le panel minimum recommandé évolue en fonction des données de la littérature. ² ces translocations sont exclusives : l'ordre de recherche du marqueur cytogénétique doit tenir compte de la fréquence de chaque anomalie et du possible changement pronostique qui lui est associé (voir dans le texte : stratégie FISH pour les t(14q32;v)). ³ à rechercher si forme d'embée agressive, envahissement médullaire massif.

Les seuils techniques FISH ou cut-off sont à fixer par chaque laboratoire

Les seuils de positivité technique ne sont pas superposables aux seuils pronostiques établis dans les différentes publications : la littérature fait état de seuil pronostiques à partir de 10 % de plasmocytes avec anomalies cytogénétiques et jusqu'à 60 % pour la délétion *TP53* dans les études de l'IFM [7, 45, 47]. Ces différences notables n'empêchent pas de décrire l'existence de clones et de sous clones minoritaires comme il en existe dans le myélome [48–50]. Dix pour cent de cellules porteuses d'un remaniement chromosomique est une valeur raisonnable pour définir un clone. En deçà, il est difficile d'affirmer le caractère clonal de l'anomalie et encore plus de lui attribuer une valeur pronostique.

Les stratégies FISH sont à établir par chaque centre en fonction de ses propres pratiques

Il faut tenir compte de la richesse en plasmocytes disponibles qui limite le nombre de test possible. Il faut privilégier les sondes avec contrôle interne.

Pour les t(14q32;v), on peut suggérer plusieurs stratégies :
– soit utilisation de sondes de fusion de *IGH* avec les différents gènes partenaires pronostiques (*FGFR3*, *MYEOV/CCND1*, *MAF(s)*) ;

– soit par étape, avec détection d'un remaniement *IGH* avec une sonde break-apart, puis recherche des partenaires dans l'ordre pronostique. Ou recherche tout d'abord d'une t(11;14) plus fréquente et qui permet d'éliminer un réarrangement de mauvais pronostic, les translocations *IGH* étant mutuellement exclusives.

Remerciements

Les auteurs remercient les docteurs H. Avet-Loiseau, V. Smadja et C. Bastard pour leur contribution lors de la parution de la première version de ces recommandations (*Pathol Biol (Paris)* 2004 : 53).

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Landgren O, Kyle RA, Rajkumar SV. From myeloma precursor disease to multiple myeloma : new diagnostic concepts and opportunities for early intervention. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2011 ; 17 : 1243-52.

2. Moreau P, San Miguel J, Ludwig H, Schouten H, Mohty M, Dimopoulos M, *et al.* Multiple myeloma : ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO* 2013 ; 4(Suppl. 6) : vi133-7.
3. Dimopoulos M, Terpos E, Comenzo RL, Tosi P, Beksac M, Sezer O, *et al.* International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple myeloma. *Leukemia* 2009 ; 23 : 1545-56.
4. Chng WJ, Dispenzieri A, Chim CS, Fonseca R, Goldschmidt H, Lentzsch S, *et al.* IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia* 2014 ; 28 : 269-77.
5. Mikhael JR, Dingli D, Roy V, Reeder CB, Buadi FK, Hayman SR, *et al.* Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma : updated Mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy (mSMART) consensus guidelines 2013. *Mayo Clin Proc* 2013 ; 88 : 360-76.
6. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, *et al.* Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma : the experience of the Intergroupe francophone du myélome. *Blood* 2007 ; 109 : 3489-95.
7. Avet-Loiseau H, Durie BGM, Cavo M, Attal M, Gutierrez N, Haessler J, *et al.* Combining fluorescent in situ hybridization data with ISS staging improves risk assessment in myeloma : an International myeloma working group collaborative project. *Leukemia* 2013 ; 27 : 711-7.
8. Moreau P, Cavo M, Sonneveld P, Rosinol L, Attal M, Pezzi A, *et al.* Combination of international scoring system 3, high lactate dehydrogenase, and t(4;14) and/or del(17p) identifies patients with multiple myeloma (MM) treated with front-line autologous stem-cell transplantation at high risk of early MM progression-related death. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2014 ; 32 : 2173-80.
9. Boyd KD, Ross FM, Chiecchio L, Dagrada GP, Konn ZI, Tapper WJ, *et al.* A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS : analysis of patients treated in the MRC myeloma IX trial. *Leukemia* 2012 ; 26 : 349-55.
10. Fonseca R, Blood E, Rue M, Harrington D, Oken MM, Kyle RA, *et al.* Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003 ; 101 : 4569-75.
11. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Greipp PR, Litzow MR, Henderson KJ, *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.
12. Avet-Loiseau H, Leleu X, Roussel M, Moreau P, Guerin-Charbonnel C, Caillot D, *et al.* Bortezomib plus dexamethasone induction improves outcome of patients with t(4;14) myeloma but not outcome of patients with del(17p). *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2010 ; 28 : 4630-4.
13. Keats JJ, Reiman T, Maxwell CA, Taylor BJ, Larratt LM, Mant MJ, *et al.* In multiple myeloma, t(4;14)(p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression. *Blood* 2003 ; 101 : 1520-9.
14. Avet-Loiseau H, Malard F, Campion L, Magrangeas F, Sebban C, Lioure B, *et al.* Translocation t(14;16) and multiple myeloma : is it really an independent prognostic factor ? *Blood* 2011 ; 117 : 2009-11.
15. Ross FM, Chiecchio L, Dagrada G, Protheroe RKM, Stockley DM, Harrison CJ, *et al.* The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long-term stable disease in monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Haematologica* 2010 ; 95 : 1221-5.
16. Shaughnessy J, Gabrea A, Qi Y, Brents L, Zhan F, Tian E, *et al.* Cyclin D3 at 6p21 is dysregulated by recurrent chromosomal translocations to immunoglobulin loci in multiple myeloma. *Blood* 2001 ; 98 : 217-23.
17. Avet-Loiseau H, Attal M, Campion L, Caillot D, Hulin C, Marit G, *et al.* Long-term analysis of the IFM 99 trials for myeloma : cytogenetic abnormalities [t(4;14), del(17p), 1q gains] play a major role in defining long-term survival. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2012 ; 30 : 1949-52.
18. Chang H, Jiang A, Qi C, Trieu Y, Chen C, Reece D. Impact of genomic aberrations including chromosome 1 abnormalities on the outcome of patients with relapsed or refractory multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Leuk Lymphoma* 2010 ; 51 : 2084-91.
19. Nemeč P, Zemanova Z, Greslikova H, Michalova K, Filkova H, Tajtlova J, *et al.* Gain of 1q21 is an unfavorable genetic prognostic factor for multiple myeloma patients treated with high-dose chemotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant* 2010 ; 16 : 548-54.
20. An G, Acharya C, Deng S, Yi S, Xu Y, Qin X, *et al.* Cytogenetic and clinical marks for defining high-risk myeloma in the context of bortezomib treatment. *Exp Hematol* 2015 ; 43 : 168-76, e2.
21. Nahi H, Våtsveen TK, Lund J, Heeg BMS, Preiss B, Alici E, *et al.* Proteasome inhibitors and IMiDs can overcome some high-risk cytogenetics in multiple myeloma but not gain 1q21. *Eur J Haematol* 2016 ; 96 : 46-54.
22. Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27Kip1 and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematol Amst Neth* 2005 ; 10(Suppl. 1) : 117-26.
23. Boyle EM, Proszek PZ, Kaiser MF, Begum D, Dahir N, Savola S, *et al.* A molecular diagnostic approach able to detect the recurrent genetic prognostic factors typical of presenting myeloma. *Genes Chromosomes Cancer* 2015 ; 54 : 91-8.
24. Boyd KD, Ross FM, Walker BA, Wardell CP, Tapper WJ, Chiecchio L, *et al.* Mapping of chromosome 1p deletions in myeloma identifies FAM46C at 1p12 and CDKN2C at 1p32.3 as being genes in regions associated with adverse survival. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2011 ; 17 : 7776-84.
25. Hebraud B, Leleu X, Lauwers-Cances V, Roussel M, Caillot D, Marit G, *et al.* Deletion of the 1p32 region is a major independent prognostic factor in young patients with myeloma : the IFM experience on 1195 patients. *Leukemia* 2014 ; 28 : 675-9.
26. Boyd KD, Ross FM, Walker BA, Wardell CP, Tapper WJ, Chiecchio L, *et al.* Mapping of chromosome 1p deletions in myeloma identifies FAM46C at 1p12 and CDKN2C at 1p32.3 as being genes in regions associated with adverse survival. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2011 ; 17 : 7776-84.
27. Gabrea A, Martelli ML, Qi Y, Roschke A, Barlogie B, Shaughnessy JD, *et al.* Secondary genomic rearrangements involving immunoglobulin or MYC loci show similar prevalences in hyperdiploid and nonhyperdiploid myeloma tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 2008 ; 47 : 573-90.
28. Walker BA, Wardell CP, Brioli A, Boyle E, Kaiser MF, Begum DB, *et al.* Translocations at 8q24 juxtapose MYC with genes that harbor super-enhancers resulting in overexpression and poor prognosis in myeloma patients. *Blood Cancer J* 2014 ; 4 : e191.
29. Avet-Loiseau H, Gerson F, Magrangeas F, Minvielle S, Harousseau JL, Bataille R, *et al.* Rearrangements of the c-myc oncogene are present in 15 % of primary human multiple myeloma tumors. *Blood* 2001 ; 98 : 3082-6.

30. Dib A, Gabrea A, Glebov OK, Bergsagel PL, Kuehl WM. Characterization of MYC translocations in multiple myeloma cell lines. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2008 ; 39 : 25-31.
31. Affer M, Chesi M, Chen WD, Keats JJ, Demchenko YN, Tamizhmani K, *et al.* Promiscuous MYC locus rearrangements hijack enhancers but mostly super-enhancers to dysregulate MYC expression in multiple myeloma. *Leukemia* 2014 ; 28 : 1725-35.
32. Smadja NV, Louvet C, Isnard F, Dutel JL, Grange MJ, Varette C, *et al.* Cytogenetic study in multiple myeloma at diagnosis : comparison of two techniques. *Br J Haematol* 1995 ; 90 : 619-24.
33. Smadja NV, Fruchart C, Isnard F, Louvet C, Dutel JL, Cheron N, *et al.* Chromosomal analysis in multiple myeloma : cytogenetic evidence of two different diseases. *Leukemia* 1998 ; 12 : 960-9.
34. Hebraud B, Magrangeas F, Cleynen A, Lauwers-Cances V, Chretien M-L, Hulin C, *et al.* Role of additional chromosomal changes in the prognostic value of t(4;14) and del(17p) in multiple myeloma : the IFM experience. *Blood* 2015 ; 125 : 2095-100.
35. Chretien ML, Corre J, Lauwers-Cances V, Magrangeas F, Cleynen A, Yon E, *et al.* Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis : which trisomies really matter ? *Blood* 2015 ; 125 : 2095-100.
36. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, *et al.* Revised International staging system for multiple myeloma : a report from International myeloma working group. *J Clin Oncol* 2015 ; 33 : 2863-9.
37. Greslikova H, Zaoralova R, Filkova H, Nemeč P, Oltova A, Kupska R, *et al.* Negative prognostic significance of two or more cytogenetic abnormalities in multiple myeloma patients treated with autologous stem cell transplantation. *Neoplasma* 2010 ; 57 : 111-7.
38. Biran N, Malhotra J, Bagiella E, Cho HJ, Jagannath S, Chari A. Patients with newly diagnosed multiple myeloma and chromosome 1 amplification have poor outcomes despite the use of novel triplet regimens. *Am J Hematol* 2014 ; 89 : 616-20.
39. Smadja NV, Bastard C, Brigaudeau C, Leroux D, Fruchart C, Groupe français de cytogénétique hématologique. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2001 ; 98 : 2229-38.
40. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, *et al.* International myeloma working group molecular classification of multiple myeloma : spotlight review. *Leukemia* 2009 ; 23 : 2210-21.
41. Prideaux SM, Conway O'Brien E, Chevassut TJ. The genetic architecture of multiple myeloma. *Adv Hematol* 2014 : 864058.
42. Zhan F, Huang Y, Colla S, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S, *et al.* The molecular classification of multiple myeloma. *Blood* 2006 ; 108 : 2020-8.
43. Weinhold N, Kirn D, Seckinger A, Hielscher T, Granzow M, Bertsch U, *et al.* Concomitant gain of 1q21 and MYC translocation define a poor prognostic subgroup of hyperdiploid multiple myeloma. *Haematologica* 2016 ; 101 : e116-9.
44. Li F, Xu Y, Deng P, Yang Y, Sui W, Jin F, *et al.* Heterogeneous chromosome 12p deletion is an independent adverse prognostic factor and resistant to bortezomib-based therapy in multiple myeloma. *Oncotarget* 2015 ; 6 : 9434-44.
45. An G, Acharya C, Deng S, Yi S, Xu Y, Qin X, *et al.* Cytogenetic and clinical marks for defining high-risk myeloma in the context of bortezomib treatment. *Exp Hematol* 2015 ; 43 : 168-76, e2.
46. Bhutani M, Landgren O, Usmani SZ. Multiple myeloma : is it time for biomarker-driven therapy ? *Am Soc Clin Oncol Educ Book ASCO Am Soc Clin Oncol Meet* 2015 ; 35 : e493-503.
47. Ross FM, Avet-Loiseau H, Ameye G, Gutiérrez NC, Liebisch P, O'Connor S, *et al.* Report from the European myeloma network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2012 ; 97 : 1272-7.
48. An G, Li Z, Tai YT, Acharya C, Li Q, Qin X, *et al.* The impact of clone size on the prognostic value of chromosome aberrations by fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2015 ; 21 : 2148-56.
49. Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Gouraud W, Lodé L, Decaux O, Godmer P, *et al.* Minor clone provides a reservoir for relapse in multiple myeloma. *Leukemia* 2013 ; 27 : 473-81.
50. Hébraud B, Caillot D, Corre J, Marit G, Hulin C, Leleu X, *et al.* The translocation t(4;14) can be present only in minor subclones in multiple myeloma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2013 ; 19 : 4634-7.