



Multiple Myelomun tanı, tedavi ve izleminde
Laboratuvar testleri

Dr. Çağatay Kundak
DÜZEN LABORATUVARLAR GRUBU, Ankara

Tarihçe:

- ▶ Thomas Alexander McBean (38 yaşında, Londra)
- ▶ 1844 yılında İskoçya'da bir seyahatte iken ani göğüs ağrısı (bişey kopmuş ya da gevşemiş gibi) tarif ediyor
- ▶ Geleneksel tedaviler, tekrarlayan ağrı atakları
- ▶ 30 Ekim 1845 Pratisyen Dr. William MacIntyre (şiddetli kemik ağrıları ve periferik ödem)
- ▶ Nefroz olasılığı=İdrarda Albumin
- ▶ Dr. Henry Bence Jones
- ▶ - Sevgili Dr. Jones, tüp çok yüksek özgül ağırlığa sahip idrar içeriyor. Kaynatıldığında hafifçe opak hale geliyor. Nitrik asit eklendiğinde köpürüyor, kırmızımsı bir renk alıyor ve oldukça berraklaşıyor, ancak soğudukça gördüğünüz kıvamı ve görünümü alıyor. Isı onu tekrar sıvılaştırıyor. Bu nedir?
- ▶ Sarah Newburry (Solly tarafından tanımlanmış); 1844 iyi tanımlanmış ilk hasta.



Multiple Myelom: Monoklonal bir immünoglobulin (M protein) üretebilen plazma hücrelerinin anormal çoğalması ile karakterize B hücreli malignite (PCD) Plazma Hücre Diskrazileri olarak adlandırmak daha doğru olabilir.

Klinik semptomlar

- ▶ Kemik ağrıları, patolojik kırıklar
- ▶ Halsizlik ve yorgunluk
- ▶ Ciddi, tekrarlayan enfeksiyonlar
- ▶ Böbrek yetmezliği
- ▶ Kanama bozuklukları



Laboratuvar Bulguları

- ▶ ESR > 100
- ▶ Anemi, trombositopeni
- ▶ P.Yaymada Rulo formasyonu
- ▶ K iliğinde Plazma hücreleri > %10
- ▶ Hiperproteinemi
- ▶ Hiperkalsemi
- ▶ Proteinüri
- ▶ Azotemi



Guidelines Summary

The following organizations have published guidelines on multiple myeloma (MM):

- (2024) National Comprehensive Cancer Network (NCCN)^[2] – Diagnosis and treatment
- (2021) European Hematology Association and European Society for Medical Oncology (EHA-ESMO)^[27] – Diagnosis and treatment
- (2022) International Myeloma Working Group^[28] – Prognostic staging
- (2021) International Myeloma Working Group^[104] – Management of MM-related bone disease
- (2019) International Myeloma Working Group^[29] – Imaging
- (2018) American Society of Clinical Oncology^[40] – Role of bone-modifying agents
- (2015) International Myeloma Working Group^[26] – Diagnosis

e



cancers



Review

Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future

Alejandro Medina-Herrera¹, María Eugenia Sarasquete^{*}, Cristina Jiménez¹, Noemí Puig and Ramón García-Sanz¹

TKBD XXV. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi 8-11 Mayıs 2025

Received: 8 June 2024 | Accepted: 11 June 2024
DOI: 10.1002/ajh.27422

ANNUAL CLINICAL UPDATES IN
HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES



Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management

S. Vincent Rajkumar¹

Division of Hematology, Mayo Clinic,
Rochester, Minnesota, USA

Correspondence

S. Vincent Rajkumar, Division of Hematology,
Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester,
Minnesota 55905, USA.
Email: rajkumar.vincent@mayo.edu

Funding Information

National Institutes of Health, Grant/Award
Numbers: CA168762, CA186781

Abstract

Disease overview: Multiple myeloma accounts for approximately 10% of hematologic malignancies.

Diagnosis: The diagnosis requires $\geq 10\%$ clonal bone marrow plasma cells or a biopsy proven plasmacytoma plus evidence of one or more multiple myeloma defining events (MDE): CRAB (hypercalcemia, renal failure, anemia, or lytic bone lesions) attributable to the plasma cell disorder, bone marrow clonal plasmacytosis $\geq 60\%$, serum involved/uninvolved free light chain (FLC) ratio ≥ 100 (provided involved FLC is ≥ 100 mg/L and urine monoclonal protein is ≥ 200 mg/24 h), or >1 focal lesion on magnetic resonance imaging.

ULUSAL TANI VE TEDAVİ KILAVUZU 2020

MULTİPL MYELOM TANI VE TEDAVİ KILAVUZU

Sürüm 1.03 - Mart 2020

TÜRK HEMATOLOJİ DERNEĞİ



Multiple Myelom

- ▶ Tüm kanserlerin %1 ila 1.8'i, Hematolojik kanserlerin %10'u (En sık 2.)
- ▶ İnsidansı yılda 100.000'de 5 ila 7
- ▶ A.B.D verilerinden yola çıkarak ülkemizde tahminen yılda 7500 yeni tanı ve 3000 kayıp
- ▶ Ortanca tanı yaşı 66-70 arası
- ▶ Tanı anında <65 yaş hasta oranı % 37, <40 yaş hasta oranı % 2
- ▶ Erkek > Kadın
- ▶ Genetik kalıtsal hastalık olmadığı halde nadir ailesel olgular bildirilmiş
- ▶ Halen kesin tedavi edilebilen bir hastalık değil ancak yeni ilaçlar ile birlikte; 5 yıllık genel sağkalım oranı %30'lardan %50'lerin üzerine çıkmış durumda

- 
- ▶ Tanı öncesinde asemptomatik selim evre: MGUS
 - ▶ Önemi belirsiz monoklonal gamopati
(Monoclonal gammopathy of undetermined significance=MGUS)
 - ▶ Klinik olarak heterojen bir hastalık:
 - ▶ Tedavi gerektirmeyen sessiz-sinsi myelom
(Smoldering Multiple Myeloma-SMM)
 - ▶ Tedavi gerektiren aktif MM

Multiple Myeloma Tanısı

- ▶ Diğer kanserlerden farkı (tanı-bir dizi faktörün bileşimi)
- ▶ Kemik iliği veya ilgili doku çalışması
- ▶ Plazma hücre >%60 ise olası tanı
- ▶ Plazma hücre yeterince yüksek değilse diğer destekleyici faktörler
- ▶ Uluslararası Myelom Çalışma Grubu (IMWG) 2014 Tanı kriterleri revizyonu
- ▶ SMM hastalarının %80'i, 2 yıllık izlemde tedavi gerektiren myeloma evrimekte
- ▶ Bu revizyonda daha önce tedavi gerektiren myelomu tanımlayan CRAB (Hiperkalsemi, Böbrek Yetmezliği, Anemi, Kemik Hastalığı) bulgularına SLiM kısaltması ile üç yeni belirteç eklenmiş
- ▶ Bu bulgular bütününe myelom Tanımlayıcı Olaylar (Myeloma Defining Events-MDE) adı verildi.

Tanı için güncellenen kriterler – hastalığa yaklaşımda bir paradigma – değişimi – hastalığın yönetimine önemli etkiler

- ▶ Semptomatik hastalığa ilerleme riski yüksek hastaların erken tedavisi,
- ▶ Tedavi faydası yüksek,
- ▶ Ciddi organ hasarlarının önüne geçmek mümkün,
- ▶ Yaşam süresi uzatılabilir.

Myelom Tanımlayıcı Olaylar

Myeloma Defining Events (MDE)

CRAB Belirti ve bulguları

- ▶ hyper**C**alcemia +1 mg/dL ya da >11mg/dL
- ▶ **R**enal dysfunction Cr Cl <40 mL/dk ya da Cre > 2mg/dL
- ▶ **A**nemia - 2g/dL ya da < 10g/dL
- ▶ Destructive **B**one lesions Tüm vücut BT ya da PET-BT'de 1 veya daha fazla osteolitik lezyon

SLiM Kriterleri

- ▶ > %60 Bone Marrow Clonal Pla**S**ma Cells
- ▶ **L**ight Chain Ratio, with an involved/uninvolved serum-free light-chain ratio of $\geq 100^*$
- ▶ More than one focal lesions (≥ 5 mm) on **M**RI

(*)Etkilenen hafif zincir düzeyi 100 mg/L'nin üzerinde olmalıdır. Eğer tek MDE; hafif zincir oran bozukluğu ise ilgili hafif zincirin idrar atılımının gösterilerek klinik değerlendirme yapılması gerekir.

Myelom ilişkili ve Myelom Öncülü durumların Tanı Kriterleri

MGUS (Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gamopati)

IgM dışı MGUS (IgG & IgA) [Bütün kriterler karşılanmalı]

- Serum M (Monoklonal) Proteini < 3 g/dL
- Kemik İliği Klonal Plazma Hücre Oranı < %10*
- İdrar M proteini < 500 mg/24 saat

IgM MGUS [Bütün kriterler karşılanmalı]

- Serum M Proteini IgM < 3 g/dL
- Kemik İliği Lenfoplazmositer Hücre İnfiltrasyonu < %10*
- Lenfoplazmatik süreçle bağlı B semptomları, anemi, hiperviskosite, organomegali, lenfadenopati olmaması

Hafif Zincir MGUS [Bütün kriterler karşılanmalı]

- Anormal Serum FLC Oranı (< 0,26 veya > 1,65) : Tutulu serum hafif zincir düzeyinde artış (artmış olan kappa ise FLC Oranı > 1,65 , artmış olan lambda ise FLC Oranı < 0,26) (son dönem böbrek yetmezliğinde referans değerler 0.37–3.1 olarak kullanılması uygun olacaktır.)
- İmmündefiksasyonda immünglobulin ağır zincir karşılığının bulunmaması (IgD ve IgE tipinin de ayırt edilmesi uygundur.)
- Kemik İliği Klonal Plazma Hücre Oranı < %10*
- İdrar M proteini < 500 mg/24 saat

Ve

Hiçbir myelom Tanımlayıcı Olayın (SLiM ve CRAB) bulunmaması ve Amiloidozun eşlik etmemesi

SMM (Smoldering Multipl myelom)

- Serum M Proteini ≥ 3 g/dL
 - İdrar M Proteini ≥ 500 mg/ 24 saat
 - Kemik İliği Klonal Plazma Hücre Oranı % 10-60*
- Veya
- Ve/Veya
- Ve

- Amiloidozun eşlik etmemesi

Ve

Hiçbir myelom Tanımlayıcı Olayın (SLiM ve CRAB) bulunmaması

Multipl myelom

- Kemik İliği Klonal Plazma Hücre Oranı $\geq$ %10*
 - Biyopsi ile kanıtlanmış ekstrapedüller plazmasitom
- Veya
- Ve



Myelom Tanımlayıcı Olay Varlığı:

En az bir veya daha fazla CRAB belirti veya bulgusunun olması

Veya

En az bir veya daha fazla SLiM kriterinin bulunması

Ölçülebilir Hastalık Kriterlerini Karşılamayan Multipl Myelom Hastalık Tanımları

Oligosecretory Multiple Myeloma (OSMM)
Non-Secretory Multiple Myeloma (NSMM)

Ölçülebilir Hastalık Kriterlerini Karşılamayan Multipl Myelom Hastalık Tanımları	Serum M Proteini (g/dL)	İdrar M Proteini (mg/gün)	sFLC (sSHO)	Tutulu Hafif Zincir (mg/dL)
Oligosekretuar Myelom	< 1	< 200	Normal/Anormal	< 10
Gerçek Non-Sekretuar Myelom	IF negatif	IF negatif	Normal	Normal

IMWG Ölçülebilir Hastalık Tanımı: Serum M proteininin ≥ 1 g/dL olması veya 24 saat idrar M proteininin ≥ 200 mg olması veya serum tutulu serbest hafif zincir düzeyinin ≥ 10 mg/dL olması (Serbest hafif zincir oranının bozuk olması şartı ile).

Güncel risk belirleme sistemleri

Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS)¹

- I. Serum B2 Mikroglobulin düzeyi <3,5 mg/L ve Serum Albumin Düzeyi $\geq$ 3,5 g/dL
- II. ISS evre 1 ve evre 3 kriterlerinin sağlanmaması
- III. Serum B2 Mikroglobulin düzeyi $\geq$ 5,5 mg/L

ISS'ye göre ortalama genel sağkalım

- ISS evre I: 62 ay
- ISS evre II: 44 ay
- ISS evre III: 29 ay

Güncellenmiş Uluslararası Evreleme Sistemi (R-ISS)²

ISS evre gruplarına ek olarak

Interfaz FISH ile kromozomal anomaliler

- Yüksek Risk: del 17p varlığı ve/veya t(4;14) varlığı ve/veya t(14;16) varlığı
- Standart Risk: Yüksek risk sitogenetik anomalilerin yokluğu

LDH

- Normal: Laboratuvar üst limitinin altında serum LDH düzeyi
- Yüksek: Laboratuvar üst limitinin üstünde serum LDH düzeyi

Yeni risk modellemesi (R-ISS)

R-ISS evresi

- I. ISS evre 1 ve iFISH ile standart risk kromozomal anomaliler ve normal LDH
- II. R-ISS evre 1 ve evre 3 kriterlerinin sağlanmaması
- III. ISS evre 3'e ek olarak ya iFISH ile yüksek risk kromozomal anomaliler ya da yüksek LDH varlığı

R-ISS'ye göre ortalama genel sağkalım

- R-ISS evre I: Ortanca sağkalıma erişilememiş
- R-ISS evre II: 83 ay
- R-ISS evre III: 43 ay

Multiple Myelom'da yüksek riski belirleyen Faktörler

Hastaya Özgül Faktörler

- Yaş
- Komorbiditeler (Kardiyak Hastalıklar, Diyabetes Mellitus gibi)
- Düşük performans durumu
- Böbrek Hastalığı

Kötü Prognostik Sitogenetik Anomaliler

- Kompleks karyotipik anomali
- t(4;14)*, t(14;16)*, t(14;20)*
- del 17p* (heterozigot TP53 mutasyonuna neden olur)
- 1q amplifikasyonu (+ kopya sayısı)*
- Yüksek Riskli Gen Ekspresyon Profili
- 1p delesyonları
- Hipodiploidi

* Bu genetik anomalilerin herhangi ikisinin birlikte varlığı Double Hit, üçünün birlikte varlığı Triple Hit Myelom olarak adlandırılmaktadır.

Hastalığa Özgül Faktörler

- ISS evresi – R-ISS evresi
- Kötü prognostik etkileri bilinen sitogenetik anomalilerin varlığı
- Yüksek LDH, Plazmablastik hücre morfolojisi
- Artmış plazma hücre proliferasyon hızı
- Tanıda böbrek fonksiyon bozukluğu
- Yüksek sayıda (>400 hücre / mikrolitre) dolaşan plazma hücre sayısı*
- İlik dışı hastalık (Ekstramedüller plazmasitom veya plazma hücreli lösemi)
- Yanıtsızlık durumu (Optimal tedaviyi takiben gelişen erken nüksler)
- Tedavi sonrası minimal kalıntı hastalık ve kötü sitogenetik (veya eklenen kötü sitogenetik özellikler)
- İndüksiyon tedavisine yetersiz yanıt

Kötü Prognostik Etkisi Olmayan Sitogenetik Anomaliler (Standart risk veya nötral etki)

- Trizomiler (Tek sayılı kromozomların trizomileri) (1,13,21 hariç)
- t(6;14)
- t(11;14)*
- Hiperdiploidi (tek sayılı kromozomların trizomileri kötü sitogenetik özellikleri dengeleyebilir)

* Plazma Hücreli Lösemi veya AL-Amiloidoz ile ilişkili Olabilir.

Not: daha önce del13q da kötü risk grubundaydı ancak neredeyse çoğu myelom hastasında saptandığından dolayı risk gruplandırmasından çıkarılmıştır.

Myelom öncülü durumlarda riski belirleyen faktörler

Yüksek Riskli Smoldering Multipl myelom*

- Mayo: Serum M Protein düzeyi ≥ 3 g/dL, Kemik iliğinde Klonal Plazma Hücre Oranı $\geq 10\%$, SHO >8 (tutulu/tutulu olmayan SHD)
- İspanyol Grubu: Kemik iliğinde Klonal Plazma Hücre Oranı $\geq 10\%$, kemik iliğinde immünofenotipleme ile normal plazma hücre yokluğu (aPC/nPC $> 95\%$) (aPC:Anormal plazma hücresi/Normal plazma hücresi), bir veya daha fazla immünglobinde immünparezi
- Ek Olarak Diğer Çalışmalarda Kötü Prognostik Rolü Gösterilmiş Durumlar
 - Anormal sFLC Oranı (8-100)
 - IgA SMM
 - İki tutulu olmayan Ig izotipinin düşüklüğü ile karakterize immün parezi
 - Del 17p veya t(4,14) veya 1q amp
 - İlerleyiş hızı*
 - Kemik iliği klonal plazma hücre oranının $50-60\%$ arasında olması
 - Periferik kanda artmış dolaşan plazma hücre sayısı
 - Diffüz değişiklikler gösteren MR, veya MR'da bir adet fokal lezyon
 - PET-BT'de altta yatan osteolitik kemik yıkımının gösterilemediği fokal lezyon ve artmış FDG tutulumu
- İlerleyici Hastalık: 6 aylık periyot içerisinde ölçülen iki serum M protein değerinde 25% 'in üzerinde artış

Yüksek Riskli MGUS*

- Serum M Protein Düzeyi $\geq 1,5$ g/dL veya
- IgG dışı ağır zincir tutulumu veya
- Anormal sFLC Oranı ($<0,26$ veya $>1,65$)

Yeni/Revize IMWG Risk Belirleme Kriterleri:

- Kemik iliğinde 20% 'nin üzerinde klonal plazma hücre artışı (KİPH $> 20\%$)
- M protein miktarının 2 g/dL'nin üzerinde olması (M protein > 2 g/dL)
- Serbest hafif zincir oranının 20% 'nin üzerinde olması (SHO > 20)

Bahsi geçen risk faktörlerinin hiçbirini içermeyen hastalarda düşük risk, en fazla birini içeren hastalarda orta risk, iki veya daha fazlasına sahip hastalarda yüksek riskli Smoldering Myelom'dan bahsetmek mümkündür ve bu modellemeye göre yüksek riskli Smoldering Myelom hastalarında 2 yıl içerisinde tedavi gerektiren Multipl Myelom'a dönüşüm oranı 46% 'dır.

Multiple Myelom'da Tedavi Öncesi Değerlendirme

- ▶ Hemogram, Periferik Yayma
- ▶ Serum BUN, Kreatinin, Ürik asit, Elektrolitler, Ca, P, KCFT
- ▶ Serum Albumin, T.Protein
- ▶ Kreatinin Klirensi (eGFR ya da 24 saatlik idrar)
- ▶ Nutrisyonel Faktörler (Ferritin, Vit B12)
- ▶ Beta-2 mikroglobulin, LDH
- ▶ Serum Protein elektroforezi M protein kantitasyonu
- ▶ Serum Immüfiksasyon Elektroforezi
- ▶ Kantitatif immünglobulinler (IgG, IgA, IgM)
- ▶ Serum serbest hafif zincir DÜZEY ve ORANI (Serumda total HZ ölçümünün yeri yok)
- ▶ 24 saat idrarda Protein ve Total Hafif zincirler (İdrarda serbest hafif zincirler doğru sonuç vermez)
- ▶ İdrar Protein elektroforezi, M protein kantitasyonu
- ▶ İdrar İmmüfiksasyon Elektroforezi
- ▶ Gerekirse IgD ve IgE spesifik İmmüfiksasyon
- ▶ AL Amiloidoz düşünülüyor ise NT-ProBNP ve Troponin T

Multiple Myelom'da Tedavi Öncesi Değerlendirme

Kemik İliği Tetkikleri

- ▶ Kemik İliği aspirasyonu ve Biyopsi
- ▶ Dikkat: Yamalı tutulum = biyopsi hedefi için görüntüleme kullanılabilir.
- ▶ Genetik inceleme; Plazma hücrelerinde interfaz FISH tekniği
- ▶ Tüm kemik iliğinde değil Myelom hücre popülasyonunda yapılmalı.
- ▶ FISH panellerinde translokasyon problemlerinin yanı sıra, sentromerik problemler (trizomi tespiti için)
- ▶ **del 17p**, **t(4;14)**, t(14;16), t(14;20), +1q veya del1p (Yüksek riskli hastalar %25)
- ▶ Next Generation Sequencing (NGS) + Gene Expression Profile (GEP) ileri genetik analizler = özgül tedavi seçimi, prognoz ve MRD takibi
- ▶ Flow Sitometri için ilk örnek, **en az 2cc**, ideal panel seçimi, etkin kullanım MRD takibi
- ▶ Uzmanlaşmış Merkezler

European Hematology Association (EHA) European Society of Medical Oncology (ESMO)



SPECIAL ARTICLE

Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[†]

M. A. Dimopoulos¹, P. Moreau², E. Terpos¹, M. V. Mateos³, S. Zweegman⁴, G. Cook⁵, M. Delforge⁶, R. Hájek⁷, F. Schjesvold^{8,9}, M. Cavo¹⁰, H. Goldschmidt¹¹, T. Facon¹², H. Einsele¹³, M. Boccadoro¹⁴, J. San-Miguel¹⁵, P. Sonneveld¹⁶ & U. Mey¹⁷, on behalf of the EHA Guidelines Committee* and ESMO Guidelines Committee*

Table 1. Recommendations on examinations at diagnosis, response assessment, during follow-up and at relapse of MM

	Tool	Diagnosis	At response	At follow-up	At relapse
Blood	Blood count and blood smear	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Serum electrophoresis and IF	Obligatory	Obligatory (IF for CR confirmation)	Obligatory (IF for CR patients)	Obligatory
	Serum-free light chain	Obligatory	Obligatory to confirm sCR	Obligatory	Obligatory
	Serum immunoglobulin levels	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Renal and liver function tests	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Calcium	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Lactate dehydrogenase	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Albumin, $\beta 2m$	Obligatory	Not required	Optional	Obligatory
	Flow cytometry	Optional	Not required	Not required	Optional
Urine	Urine sample from 24 h urine collection to check for proteinuria and light-chain proteinuria	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Urine electrophoresis and IF electrophoresis	Obligatory	Obligatory (IF for CR confirmation)	Obligatory (IF for CR patients)	Obligatory

ASCT, autologous stem cell transplantation; $\beta 2m$, beta-2 microglobulin; BM, bone marrow; CR, complete response; CT, computed tomography; FISH, fluorescent *in situ* hybridisation; GEP, gene expression profiling; IF, immunofixation; IMWG, International Myeloma Working Group; MM, multiple myeloma; MRD, minimal residual disease; MRI, magnetic resonance imaging; NGF, next-generation flow cytometry; NGS, next-generation sequencing; PET, positron emission tomography; PFS, progression-free survival; sCR, stringent complete response; WBLD-CT, whole-body low-dose computed tomography.

^a Sustained MRD negativity is supported by IMWG guidelines,³ although it is not fully reimbursed in several countries. In a recent 'Real-World' study, MRD assessments were carried out in 139 patients before starting lenalidomide maintenance after ASCT and/or at the achievement of CR, while additional assessments were subsequently carried out on an annual basis until sustained MRD negativity was confirmed. In total, 34.3% of patients who were MRD-positive after induction treatment achieved MRD-negative status during maintenance and ultimately had improved PFS. Sequential MRD assessments identified patients with progressively decreasing MRD levels who also had better PFS outcomes, compared with patients not showing a decreasing pattern of MRD.⁹⁰

^b Recommended based on panel consensus in order to confirm extramedullary MRD negativity in patients who are MRD-negative in the bone marrow.

Bone marrow	BM cytology and biopsy to confirm plasmacytosis and monoclonality NGF or NGS to detect clonal plasma cells	Obligatory	Obligatory to confirm CR or for non-secretory MM	Not required	Optional (obligatory for non-secretory disease)
		Obligatory	Obligatory to confirm MRD negativity in CR or sCR patients	Every 12 months in CR and/or MRD-negative patients ^a	Optional
	Cytogenetics: karyotype and FISH for detection of del17p, t(4;14), t(14;16), ampl 1q/ gain 1q, t(11;14) Advanced techniques: GEP, NGS	Obligatory	Not required	Not required	Obligatory for del17p, ampl 1q/ gain 1q and t(11;14)
		For clinical trials use only	For clinical trials use only	For clinical trials use only	For clinical trials use only
Imaging	WBLD-CT	Obligatory	Not required	When symptomatic (or CT of the symptomatic area)	Obligatory
	PET-CT	Optional (it may be carried out instead of WBLD-CT if available)	Obligatory to confirm imaging MRD	Every 12 months in bone marrow MRD-negative patients ^b	Optional
	Whole-body MRI	Obligatory in WBLD-CT-negative cases and if PET-CT is not carried out	Not required	When symptomatic	Optional

ASCT, autologous stem cell transplantation; $\beta 2m$, beta-2 microglobulin; BM, bone marrow; CR, complete response; CT, computed tomography; FISH, fluorescent *in situ* hybridisation; GEP, gene expression profiling; IF, immunofixation; IMWG, International Myeloma Working Group; MM, multiple myeloma; MRD, minimal residual disease; MRI, magnetic resonance imaging; NGF, next-generation flow cytometry; NGS, next-generation sequencing; PET, positron emission tomography; PFS, progression-free survival; sCR, stringent complete response; WBLD-CT, whole-body low-dose computed tomography.

^a Sustained MRD negativity is supported by IMWG guidelines,³ although it is not fully reimbursed in several countries. In a recent ‘Real-World’ study, MRD assessments were carried out in 139 patients before starting lenalidomide maintenance after ASCT and/or at the achievement of CR, while additional assessments were subsequently carried out on an annual basis until sustained MRD negativity was confirmed. In total, 34.3% of patients who were MRD-positive after induction treatment achieved MRD-negative status during maintenance and ultimately had improved PFS. Sequential MRD assessments identified patients with progressively decreasing MRD levels who also had better PFS outcomes, compared with patients not showing a decreasing pattern of MRD.⁹⁰

^b Recommended based on panel consensus in order to confirm extramedullary MRD negativity in patients who are MRD-negative in the bone marrow.

IMWG MRD Kriterleri

Tam Yanıt (CR)
Mükemmel Tam Yanıt (Stringent CR)
Çok iyi Kısmi Yanıt (VGPR)
Kısmi Yanıt (PR)
Minimal Yanıt (MR)
Durağan/Stabil hastalık

Yanıt Durumu	Yanıt Kriterleri
IMWG MRD Kriterleri (Tam yanıt elde edilmesi durumunda uygulanabilir)	
Kalıcı MRD Negatifliği	Hem kemik iliği (NGF veya NGS veya her ikisi) hem görüntüleme ile en az 1 yıl ara ile yapılmış 2 farklı değerlendirmede süregiden MRD negatifliği. Daha uzun süreli kalıcı MRD negatifliği ilerleyen dönemde de değerlendirilebilir (Örneğin 5. Yıldaki MRD negatifliği gibi)
FLOW ile MRD Negatifliği	En az 10^5 hücrede bir veya daha yüksek hassasiyet ile Multipl Myelom için Euroflow MRD tespit standart işlem prosedürü (veya eşdeğer valide edilmiş farklı bir metot) uygulanarak yapılan NGF'de kemik iliği aspirasyonunda fenotipik olarak aberan klonal plazma hücrelerinin gösterilememesi.
Sekanslama ile MRD Negatifliği	En az 10^5 hücrede bir veya daha yüksek hassasiyet ile ve ClonoSeq platformu (veya eşdeğer valide edilmiş farklı bir metot) kullanarak kemik iliği aspirasyonunda klon varlığının DNA sekanslaması sonrası ikiden az örtüşen sekans okuması şeklinde tanımlanması durumunda NGS ile klonal plazma hücrelerinin gösterilememesi.
Görüntüleme ile MRD Negatifliği	NGF veya NGS ile MRD negatifliğine ek olarak baz alınan PET BT'de artmış SUV tutulumu gösteren tüm bölgelerde tutulumun kaybolması veya tutulumun mediastinal kan havuzu SUV'u veya etraf normal doku düzeyinin altına düşmesi.



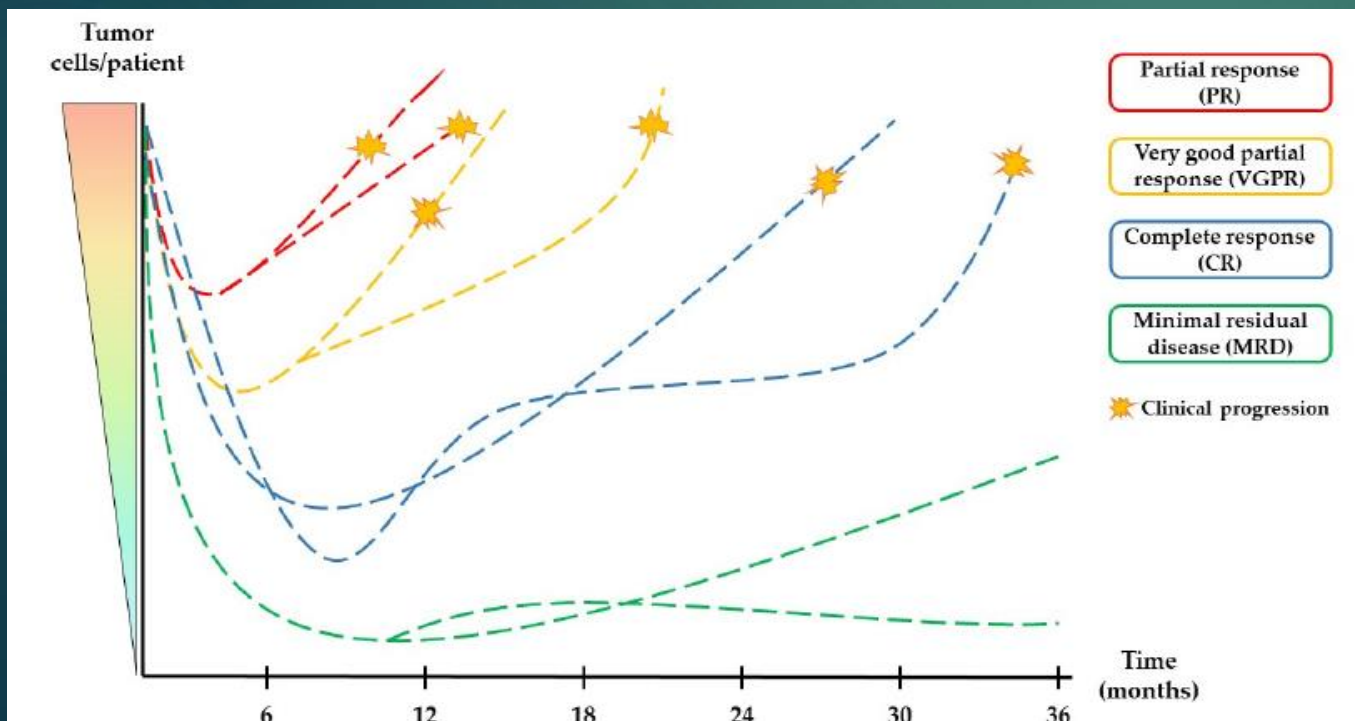
Review

Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future

Alejandro Medina-Herrera ¹, María Eugenia Sarasquete *, Cristina Jiménez ², Noemí Puig and Ramón García-Sanz ³

Department of Hematology, University Hospital of Salamanca (HUSA/IBSAL), CIBERONC, CIC-IBMCC (USAL-CSIC), 37007 Salamanca, Spain; amedinah@saludcastillayleon.es (A.M.-H.); jscri@usal.es (C.J.); npuig@saludcastillayleon.es (N.P.); rgarcias@usal.es (R.G.-S.)

* Correspondence: mealonsos@saludcastillayleon.es

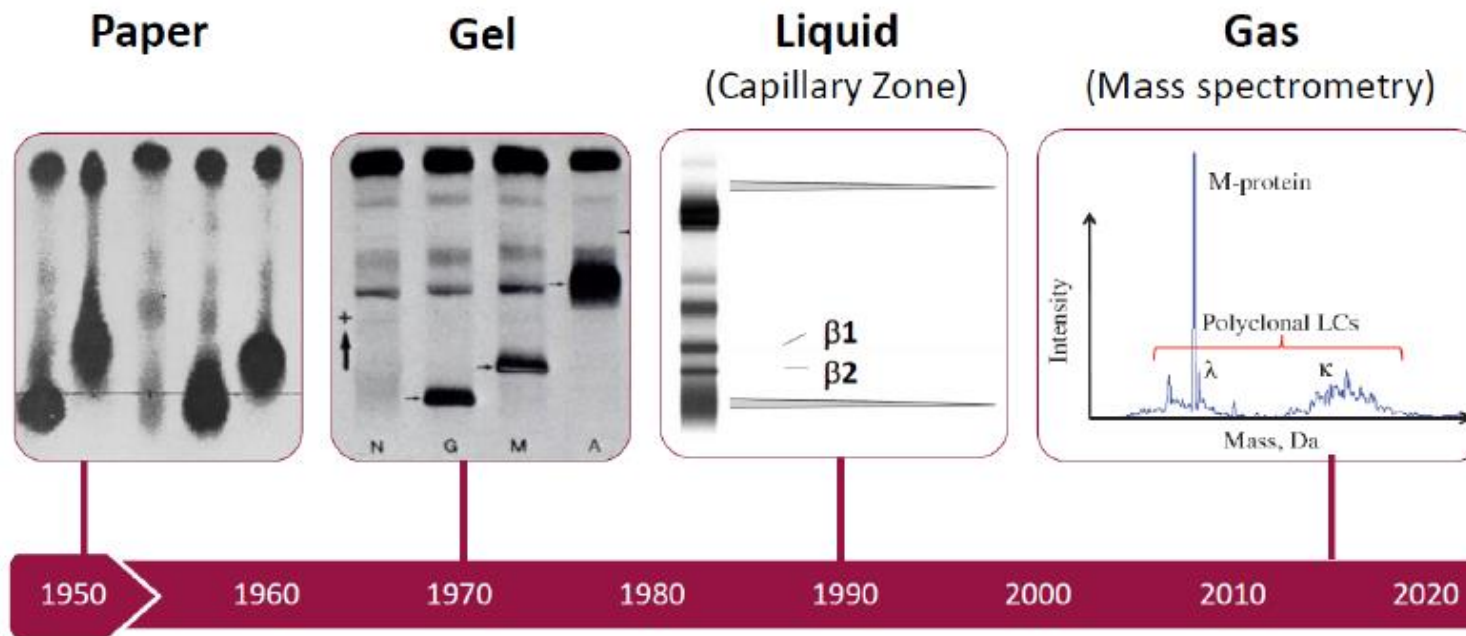


Multiple Myelom MRD değerlendirilmesinde; Konvansiyonel Flow-Sitometri ve kantitatif PCR gibi moleküler teknikler geleneksel olarak kullanımda

Yeni tedavi protokolleri ile sağlanan 'derin yanıt' nedeni ile residü hücrelerin tespiti için artık daha 'yüksek düzey hassasiyet' sağlayan tekniklere ihtiyaç var.

Bu hassasiyete ulaşmak için; Next Generation Flow (NGF) & Next Generation Sequencing (NGS), birlikte digital PCR (ddPCR), mass spectrometry ve görüntüleme teknikleri gelişti.

Evolution of Electrophoresis



Monoklonal Protein tespiti ve miktar belirtiminde yeni bir paradigma: MALDI-TOF MS (Matrix Asisted Laser Desorption Ionizaiton Time-Of-Flight)

- ▶ M protein tespiti için kullanılan MS yöntemlerinin temeli antijen bağlanma bölgesinin benzersiz dizisidir. (Complementary Determining Region CDR)
- ▶ Her plazma hücresi, Ig'in hedef antijenine olan affinitesini artırmak amacı ile belirli bir CDR'a sahip (aminoasit dizisi) benzersiz bir Ig üretir.
- ▶ Her plazma hücre klonunun farklı bir peptid dizisi ve genel kütlesi vardır. Bu da MS ile M-proteini tespitinin temelidir.
- ▶ Hasta Ig'lerinin zenginleştirmesi ile başlayan, fakat analitik hedefte farklılaşan iki yöntem var:

Monoklonal Protein tespiti ve miktar belirtiminde yeni bir paradigma: MALDI-TOF MS (Matrix Asisted Laser Desorption Ionizaiton Time-Of-Flight)

Clonotypic Peptide Approach

- ▶ Ig'in tripsin ile sindirimi sonrası ortaya çıkan M-proteine spesifik peptidlerin tespiti prensibine dayanır.
- ▶ Kullanım: CR hastalarında MRD değerlendirmesi, M-proteininin Daratumumab'dan ayrımı
- ▶ Hassasiyeti çok yüksek (0.001g/L) (Serum based MRD Method)
- ▶ Tüm hastalar için uygun değil
- ▶ Özellikle M-proteini > 10 g/L olan bazı hastalarda sabit/çerçeve peptidleri, M-proteini tespit ya da takibini imkansız hale getirebilir.
- ▶ Ayrıca CDR da polikonal arka planda daha az çeşitliliğe sahip çerçeve bölgeleri içerdiğinden, klonotipik peptidin M-proteinine özgü olduğundan emin olmak için dikkatli bir şekilde seçim yapılması gerekir.

Monoklonal Protein tespiti ve miktar belirtiminde yeni bir paradigma: MALDI-TOF MS (Matrix Asisted Laser Desorption Ionizaiton Time-Of-Flight)

Clonotypic Peptide Approach

- ▶ Başarısı hala, kötü huylu plazma hücrelerinden genetik CDR dizi bilgisi gerektirir. Olası bir klonotipik peptid belirlendikten sonra, benzersizliğini garantilemek için insan proteomunun aranması gerekir.
- ▶ Ne yazık ki, olası insan CDR triptik peptidlerinin tam bir kütüphanesi henüz mevcut değil.
- ▶ Tüm bunlar kesin test sonuçlarını garantilemek için immünoglobulin CDR bölgesinin çok kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını gerektirir.
- ▶ Son olarak, klonotipik peptit yöntemi kullanılarak M-proteinleri için tarama gösterilmemiştir. IFE'yi tarama rolünden çıkarmaz.
- ▶ Klonotip yöntemiyle MRD pozitifliğinin hastalıksız ve genel sağkalım faydalarına dönüşüp dönüşmediğini belirlemek için daha fazla klinik veriye ve zamana ihtiyaç vardır.

Monoklonal Protein tespiti ve miktar belirtiminde yeni bir paradigma: MALDI-TOF MS (Matrix Asisted Laser Desorption Ionizaiton Time-Of-Flight)

Intact Ig Light Chain Approach

- ▶ Mprotein tespiti için ikinci, daha basit ve pratik yaklaşım,
- ▶ Kimyasal olarak hafif ve ağır zincirlerine denatüre edilmiş intakt Ig LC'lerin genel kütle dağılımının taranmasına dayanır.
- ▶ Kappa ve Lambda 2 poliklonal dağılım
- ▶ İntakt LC kütle ölçüm yönteminin ilk versiyonu, sıvı kromatografisi ile daha yüksek performanslı kütle spektrometrelerinde (ESI-Q-TOF'lar) gerçekleştirildi.
- ▶ Bu yöntemin (monoclonal immunoglobulin Rapid Accurate Mass Measurement = **miRAMM**) 0,05 g/L analitik kantitasyon sınırına ve 0,01 g/L'lik bir tespit sınırına sahip olduğu bulunmuştur. Daha sonra bu yöntem, kromatografi adımı ortadan kaldıran ve analitik süreyi 20 dakikadan 10 saniyeye düşüren (MALDI-TOF MS)'e uyarlanmıştır.

Monoklonal Protein tespiti ve miktar belirtiminde yeni bir paradigma: MALDI-TOF MS (Matrix Asisted Laser Desorption Ionizaiton Time-Of-Flight)

Intact Ig Light Chain Approach

- ▶ Sonuç olarak, MALDI-TOF yöntemi, IFE'ne benzer şekilde M-protein izotipini kesin olarak tanımlamak için immüno-zenginleştirmeleri içerecek şekilde değiştirildi.
- ▶ Mayo Clinic; IFE benzerliğini vurgulamak için Mass-Fix adını verdi ve validasyonu tamamladı (> 40.000 çalışma)
- ▶ Mass-Fix; turnaround time ve yorumlama kolaylığı açısından IFE ile karşılaştırılabilir ve ayrıca daha az emek gerektirir.
- ▶ Bu özellikler, intakt LC yöntemini klonotipik yöntemle kıyasla ekonomik olarak daha cazip hale getirir.
- ▶ Otomatikleştirmek ve rutin laboratuvar uygulamaları için yaygın olarak erişilebilir olacak yüksek verimli bir yöntem sağlamak mümkün.

ARTICLE

Open Access

Mass spectrometry for the evaluation of monoclonal proteins in multiple myeloma and related disorders: an International Myeloma Working Group Mass Spectrometry Committee Report

David L. Murray¹, Noemi Puig², Sigurdur Kristinsson³, Saad Z. Usmani⁴, Angela Dispenzieri^{1,5}, Giada Bianchi⁶, Shaji Kumar⁵, Wee Joo Chng^{7,8,9}, Roman Hajek¹⁰, Bruno Paiva¹¹, Anders Waage^{12,13}, S. Vincent Rajkumar⁵ and Brian Durie^{1,4}

International Myeloma Working Group (IMWG) Mass Spectrometry Committee reviewed the literature in order to summarize current data and to make recommendations regarding the role of mass spectrometric methods in diagnosing and monitoring patients with myeloma and related disorders. Current literature demonstrates that **immune-enrichment of immunoglobulins coupled to intact light chain MALDI-TOF MS has clinical characteristics equivalent in performance to IFE with added benefits of detecting additional risk factors for PCDs, differentiating Mprotein from therapeutic antibodies, and is a suitable replacement for IFE for diagnosing and monitoring multiple myeloma and related PCDs.**

Table 1 List of IMWG recommendations regarding mass spectrometry.

Intact LC MALDI-TOF can be used in lieu of immunofixation in the clinically assessment of patients and the assessment of patients on clinical trials.
We endorse the use of mass spectrometry to aid in distinguishing therapeutic antibodies from endogenous M-proteins.
We recognize that using mass spectrometric methods in lieu of conventional IFE may lead to lower rates of CR, and therefore cross-comparisons of CR rates in trials done in different time periods is not recommended.
We endorse the collection of further data from mass spectrometry (MALDI-TOF, miRAMM, or clonotypic peptide approach) to document the ability to test for MRD negativity in the peripheral blood, and to guide timing of BM tests for next-generation flow cytometry and NGS studies.
We encourage further investigations to further clarify the relationship and implications of N-linked glycosylation in MGUS progression to myeloma and AL amyloidosis.

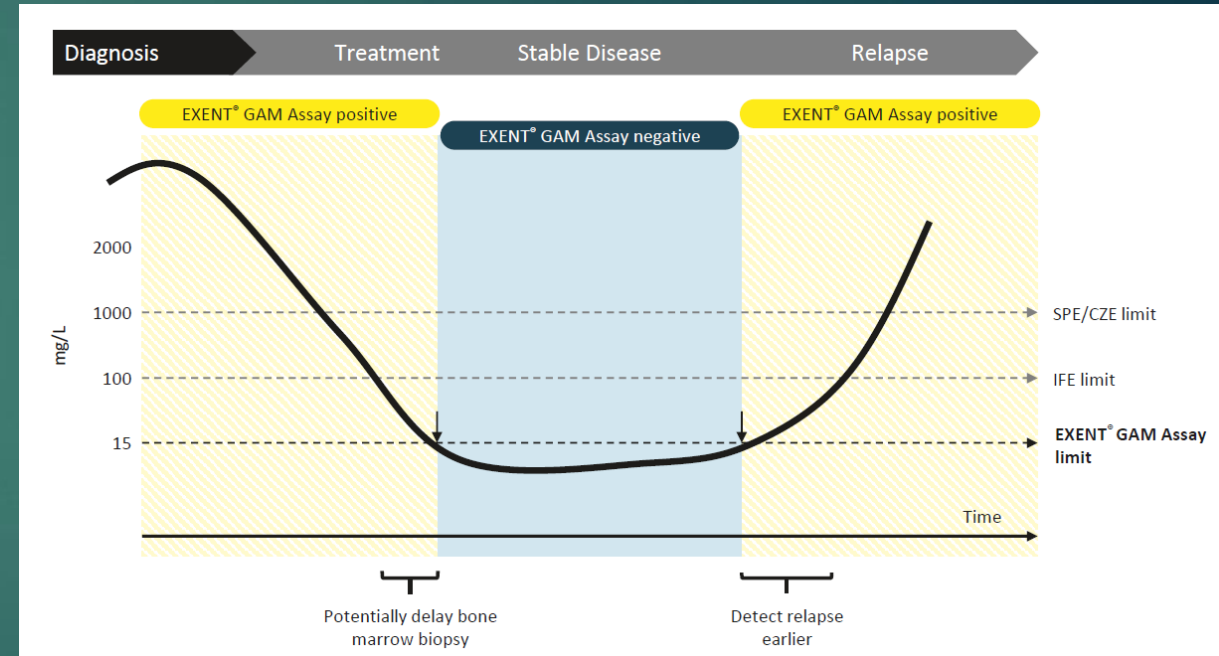
Maldi-TOF MS Monoklonal Protein Tespit Hassasiyeti:

	LOD (g/L) ¹⁻³	LOQ (g/L) ¹⁻³
SPE / CZE	0.5-1	1-3
IFE	0.05-0.1	N/A

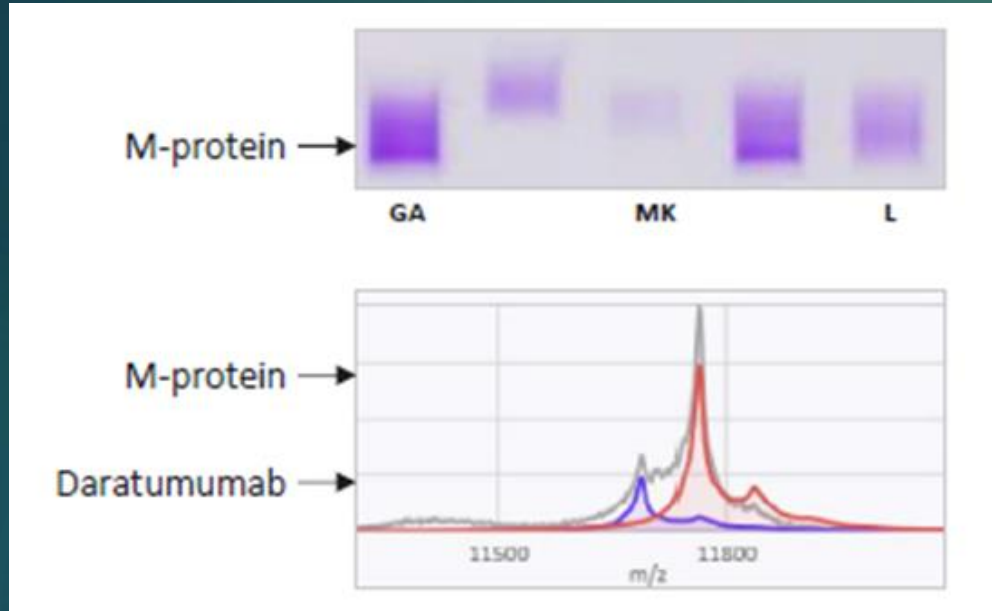
	Measuring Range (g/L)	
EXENT®GAM Assay	IgG MALDI MS*	1 0.015 – 88.9
	IgA MALDI MS*	2 0.015 – 65.9
	IgM MALDI MS*	3 0.015 – 74.2

1. Keren 2016; 54(6):947-961, 2. Turner 2020; 58(4):533-546, 3. Giles Blood 2022;10;139(6):946-950

*EXENT® GAM Assay Instruction For Use



TmAb (Therapeutic monoclonal antibodies) ayrımı



- Co-migration of tmAb commonly causes **interference** with endogenous monoclonal proteins
- In a study by Kirchhoff, **43 out of 48 patients with IgGκ** treated with daratumumab had an M-protein that co-migrated with daratumumab on immunofixation²

Monoclonal therapeutics can be identified by their unique molecular mass using mass spectrometry

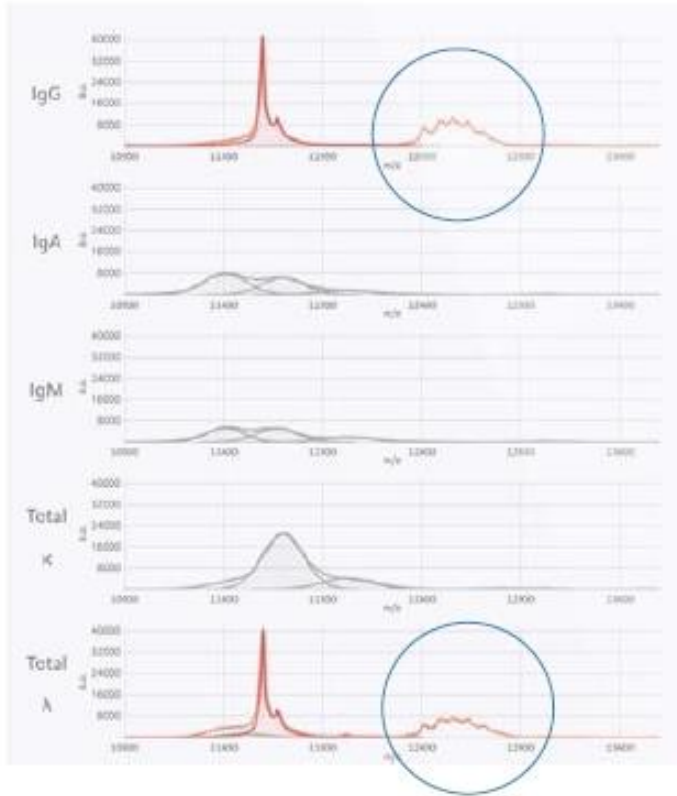
Isotype	m/z	g/L
IgGκ	11,765.3	0.956
IgGκ	11,691.9	0.294

OData

Tsumoto Immunotherapy. 2019 Feb;11(2):119-127, 2. Kirchhoff J Appl Lab Med. 2021 Nov 1;6(6):1476-1483

Glikozilasyonun varlığını gösteren modifiye olmuş hafif zincirleri tanımlayabilir

Atypical pattern: Increased molecular mass, broad overall peak, irregular-shaped peaks



“Monoclonal LC [light chain] glycosylation is a potent risk factor for progression to AL, myeloma, and other PCDs [plasma cell disorders]”

Dispenzieri Leukemia 2020; 34, 2749–2753

Non-invazif takip süresi uzar

- ▶ NGF için kemik iliği biyopsi zamanını ötelemek mümkün
- ▶ Konvansiyonel tetkiklere göre serum takibi daha uzun süre yapılabilir ve invazif bir işlem olan kemik iliği biyopsi ihtiyacını öteler, sayısını azaltır

Non-Secretory Multiple Myeloma (NSMM) Oligosecretory Multiple Myeloma (OSMM)

The same mass-to-charge ratio (m/z)

TO THE EDITOR:

Redefining nonmeasurable multiple myeloma using mass spectrometry

Hannah V. Giles,^{1,2} Mark A. Cook,^{2,3} Mark Trehane Drayson,⁴ Gordon Cook,^{5,6} Nicola Jane Wright,⁷ Simon John North,⁷ Stephen Harding,⁷ David A. Cairns,⁶ Anna Hockaday,⁶ Martin F. Kaiser,⁸ Paul Moss,^{1,2} Faith E. Davies,⁹ Gareth J. Morgan,¹⁰ Graham Jackson,^{11,12} and Guy Pratt^{1,2}

¹University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trust, Birmingham, United Kingdom; ²University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom; ³Bristol Myers Squibb, Boudry, Switzerland; ⁴Institute of Immunology and Immunotherapy, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom; ⁵St James's Institute of Oncology, Leeds, United Kingdom; ⁶Cancer Research UK Institute of Clinical Trials Research, University of Leeds, Leeds, United Kingdom; ⁷The Binding Site Ltd, Birmingham, United Kingdom; ⁸The Institute of Cancer Research, Royal Marsden Hospital, London, United Kingdom; ⁹Perlmutter Cancer Center and ¹⁰Department of Hematology, NYU Langone Health Care, New York, NY; ¹¹Northern Institute for Cancer Research, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom; and ¹²Newcastle Upon Tyne Hospitals NHS Foundation Trust, Newcastle upon Tyne, United Kingdom

- ▶ NSMM hastalarında 13/22 (%59) M-protein tespiti
- ▶ NSMM hastalarında M-protein konsantrasyonundaki değişiklikler, tedavi sürecinde tespit edilebilir ve bu hastaların serum örneği ile doğrudan izlenmesine olanak tanır
- ▶ OSMM hastalarında 25/25 M protein tespiti
- ▶ 48mg/L free kappa hasta serumu, normal serum ile 1/20 dilüsyon sonrası gösterilebilmiş
- ▶ Tedavi sonrası İFE negatif olan bir hastada 0.12 g/L IgG-lambda residü monoklonal protein tespit edilebilmiş.

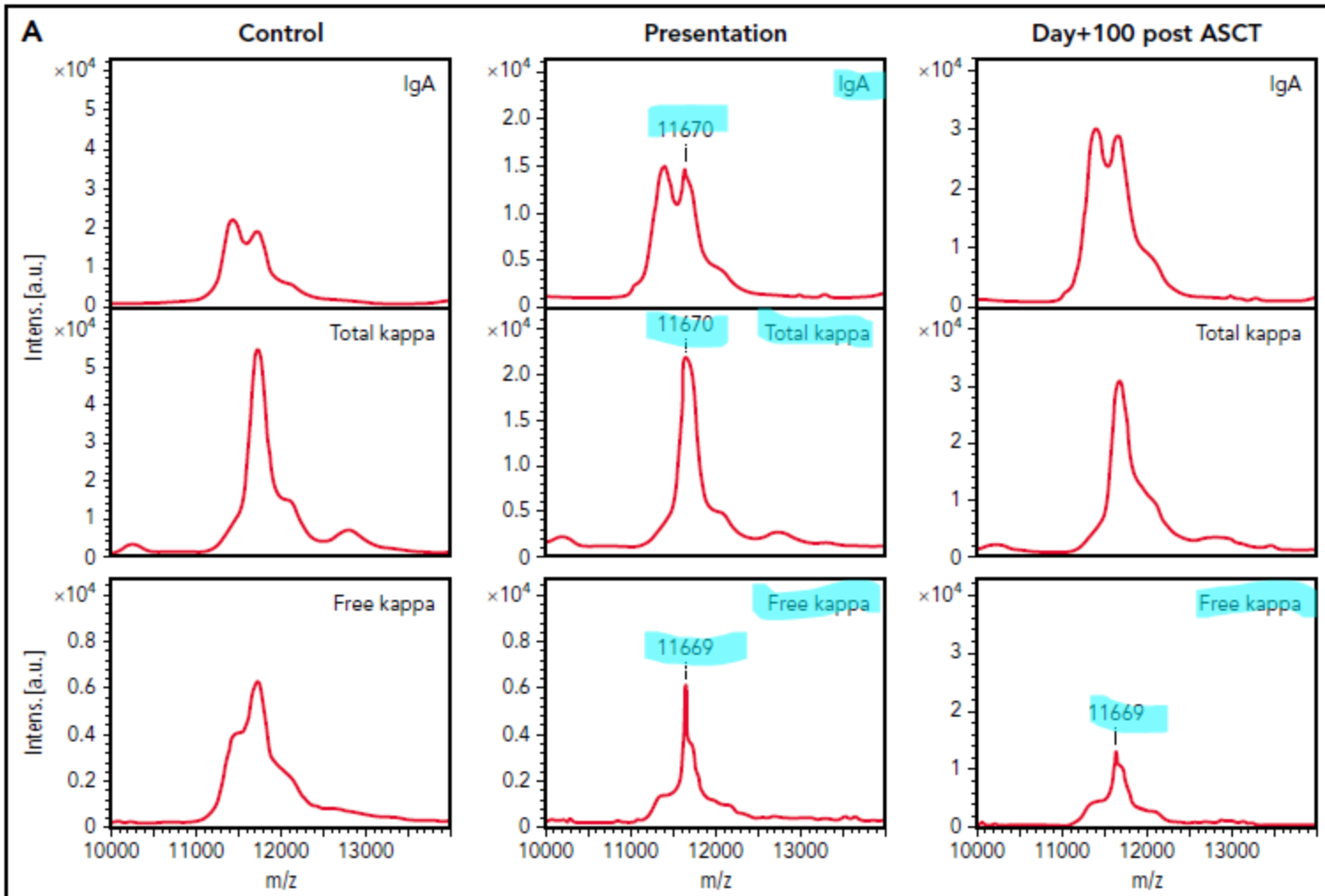


Figure 1. Paraproteins are detectable by MALDI-TOF MS in the sera of the majority of patients with NSMM and the unique m/z can be used to track the para-protein through treatment. (A) A 0.086 g/L IgA κ paraprotein that was detectable in the presentation sample of a patient with NSMM (immunofixation negative, IgG 7.31 g/L, IgA 4.1 g/L, IgM 0.8 g/L, serum free κ 79.4 mg/L, serum free λ 22.7 mg/L, sFLCr 3.50) at m/z 11 670 and monoclonal κ FLC were detectable at m/z 11 669 for the doubly charged light chains, respectively. At day+100 after ASCT, the sFLCr had normalized (serum free κ 22.7 mg/L, serum free λ 14.12 mg/L, sFLCr 1.60) but MS detected residual monoclonal κ FLC with the same m/z as detected in the baseline sample. (B) A 0.14 g/L IgG λ monodonal protein detectable by MS at m/z 11 432 for the doubly charged light chain in the presentation sample from a patient with NSMM (immunofixation negative, IgG 5.40 g/L, IgA 0.5 g/L, IgM 0.39 g/L, serum free κ 5.46 mg/L, serum free λ 6.08 mg/L, sFLCr 0.90). At day+100 after ASCT oligoclonal peaks are present in the IgG and λ spectra but no residual monoclonal protein is detectable at m/z 11 432.

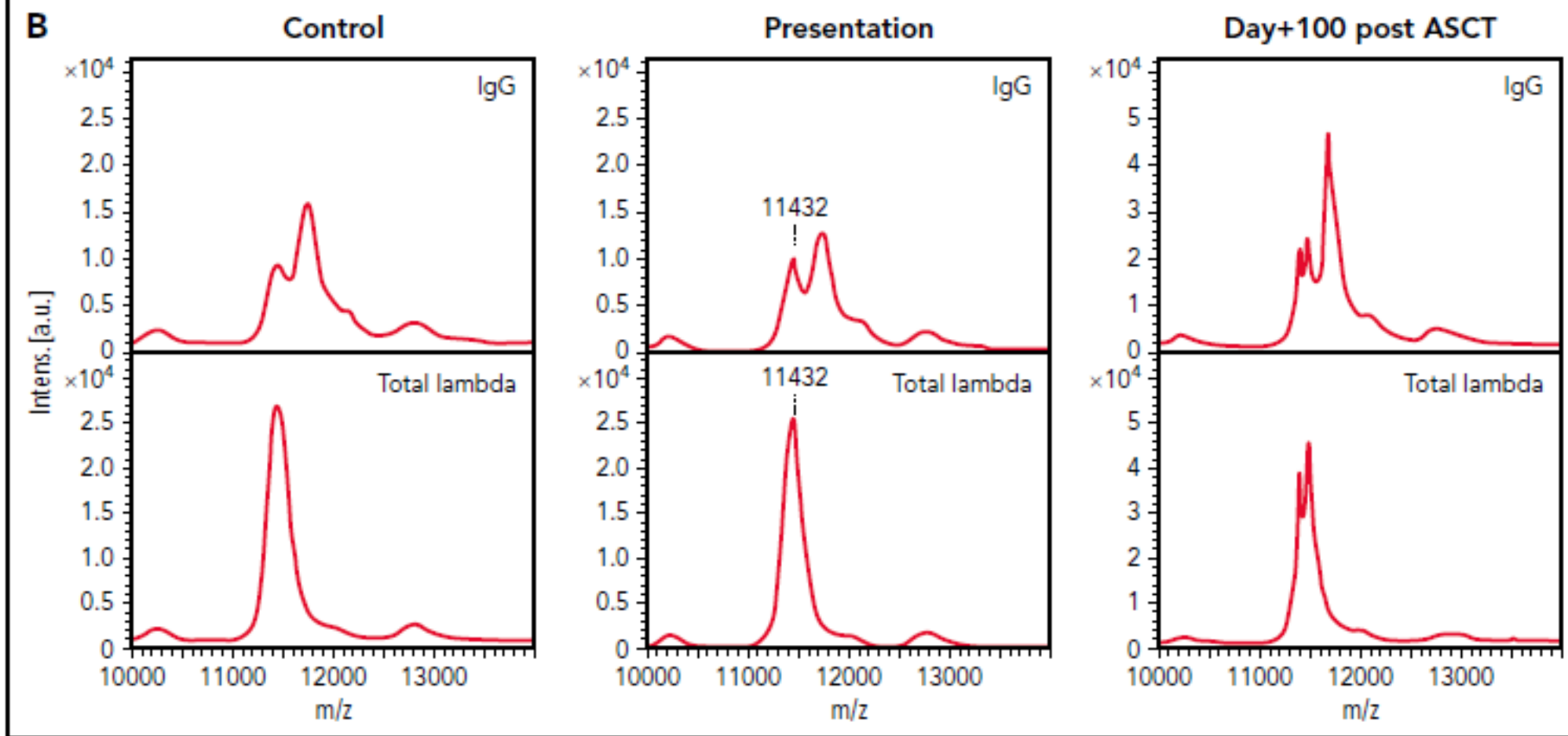


Figure 1. Paraproteins are detectable by MALDI-TOF MS in the sera of the majority of patients with NSMM and the unique m/z can be used to track the paraprotein through treatment. (A) A 0.086 g/L IgA κ paraprotein that was detectable in the presentation sample of a patient with NSMM (immunofixation negative, IgG 7.31 g/L, IgA 4.1 g/L, IgM 0.8 g/L, serum free κ 79.4 mg/L, serum free λ 22.7 mg/L, sFLCr 3.50) at m/z 11 670 and monoclonal κ FLC were detectable at m/z 11 669 for the doubly charged light chains, respectively. At day+100 after ASCT, the sFLCr had normalized (serum free κ 22.7 mg/L, serum free λ 14.12 mg/L, sFLCr 1.60) but MS detected residual monoclonal κ FLC with the same m/z as detected in the baseline sample. (B) A 0.14 g/L IgG λ monoclonal protein detectable by MS at m/z 11 432 for the doubly charged light chain in the presentation sample from a patient with NSMM (immunofixation negative, IgG 5.40 g/L, IgA 0.5 g/L, IgM 0.39 g/L, serum free κ 5.46 mg/L, serum free λ 6.08 mg/L, sFLCr 0.90). At day+100 after ASCT oligoclonal peaks are present in the IgG and λ spectra but no residual monoclonal protein is detectable at m/z 11 432.

Eve Götürülecek Mesajlar

- ▶ Multiple Myelom (Plazma hücre diskrazileri) henüz tam olarak tedavi edilebilen hastalıklar değil, ancak yeni tedavi protokolleri daha kaliteli ve uzun bir yaşam şansı sunabilmekte
- ▶ Bu nedenle hastaların etkin tedaviye zamanında ulaşabilmeleri için iyi uygulanmış ve sonuçlandırılmış laboratuvar verilerine ihtiyaç var
- ▶ Tanı, sınıflandırma ve risk belirlemede; Rutin Laboratuvar testleri ile geleneksel Elektroforez (SPE ve IFE), serum serbest hafif zincir ölçümleri yanında Flow Sitometri ve sitogenetik incelemeler çok önemlidir ve uzmanlık gerektirir.
- ▶ Son dönemde gelişen MALDI-TOF MS uygulamaları M-protein tespiti, kantifikasyonu, tmAb'lerden ayrımı, MRD takibinde potansiyel faydaları yönünden öne çıkmakta
- ▶ MRD takibinde NGS ve NGF en önemli silahlarımız ancak kemik iliği biyopsi zamanlamasında MALDI-TOF MS'in katkısı umut verici, hatta kendi başına MRD takibinde...



Sabrınız için TEŞEKKÜRLER...