

Anno 2 - Numero 1 - 2015

Ematologia **Oncologica**.it

**Il mieloma multiplo
nell'era dei nuovi
farmaci**

Organo Ufficiale
della **Fondazione Matarrelli** - Milano

Con il supporto non condizionato di



Il mieloma multiplo nell'era dei nuovi farmaci

Patogenesi

Nicola Giuliani, Federica Costa, Paola Storti, Marina Bolzoni, Benedetta Dalla Palma **7**

Fattori prognostici

Alessandro Corso **27**

Terapia continuativa

Chiara Cerrato, Alessandra Larocca, Mario Boccadoro, Antonio Palumbo **33**

Trapianto autologo di cellule staminali

*Beatrice Anna Zannetti, Elena Zamagni, Paola Tacchetti, Lucia Pantani,
Annamaria Brioli, Katia Mancuso, Serena Rocchi, Michele Cavo* **41**

Gestione delle complicanze

Maria Teresa Petrucci, Paola Finsinger, Marta Chisini **51**

Ematologia Oncologica.it

Vol 2 - n.1 - 2015

Direttore Responsabile

Giorgio Maggiani

Direttore Scientifico

Giorgio Lambertenghi Deliliers

Fondazione Matarrelli, Milano

Comitato Editoriale

Sergio Amadori

Università degli Studi Tor Vergata, Roma

Mario Boccardo

Università degli Studi, Torino

Alberto Bosi

Università degli Studi, Firenze

Michele Cavo

Università degli Studi, Bologna

Antonio Cuneo

Università degli Studi, Ferrara

Marco Gobbi

Università degli Studi, Genova

Cristina Mecucci

Università degli Studi, Perugia

Fabrizio Pane

Università degli Studi, Napoli

Francesco Passamonti

Università degli Studi, Varese

Gianni Pizzolo

Università degli Studi, Verona

Giorgina Specchia

Università degli Studi, Bari

Ematologia Oncologica.it

È una rivista quadrimestrale monotematica, di aggiornamento in lingua italiana, che ha essenzialmente lo scopo educativo di rendere disponibili le informazioni più aggiornate su argomenti pertinenti alle malattie del sangue, in particolare quelle neoplastiche. Per raggiungere questo obiettivo la rivista desidera coinvolgere gli specialisti italiani più qualificati e informare il lettore sui più recenti progressi nel campo della ricerca di base, della clinica e della terapia.

La rivista si attiene alle raccomandazioni indicate dal World Association of Medical Editors (WAME) riguardante l'etica delle pubblicazioni in ambito sanitario.

Registrazione Tribunale di Milano

n. 348 del 19/11/2013

Progetto grafico

Dynamicom srl

Sito Internet

www.ematologiaoncologica.it

Coordinamento editoriale

Dynamicom - Milano

Tel. (+39)0289693750 - Fax (+39)02201176

Editore

Fondazione Matarrelli

Periodicità

Quadrimestrale

Avvertenze ai lettori

L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni eventualmente citati negli articoli, ed invita il lettore a controllare personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

Norme per gli Autori

- L'accettazione dei testi inviati è comunque subordinata al parere del Comitato Editoriale che deve verificare la loro compatibilità con le norme redazionali.

- Gli Autori dei testi sono gli unici responsabili del loro contenuto, e della riproduzione delle immagini allegate.

- Il primo Autore è tenuto ad ottenere l'autorizzazione di "Copyright" qualora utilizzi figure e/o tabelle già pubblicate altrove.

- La proprietà dell'articolo, una volta pubblicato, appartiene alla Fondazione Matarrelli, (Largo Crocetta, 2 - 20122 MI) che ha depositato il nome della rivista presso il Tribunale di Milano in data 19/11/2013

- Il manoscritto deve essere inviato a Dynamicom Edizioni (segreteria@ematologiaoncologica.it) che, dopo averlo controllato ed impaginato, lo invierà al Direttore Scientifico (giorgio.lambertenghi@unimi.it) per la revisione e il controllo della stesura secondo le norme redazionali. Le bozze di stampa verranno quindi rinviate all'Autore per le opportune correzioni, che dovrà provvedere entro cinque giorni lavorativi a rinviarle a: segreteria@ematologiaoncologica.it

Norme redazionali

Il contenuto dell'articolo, redatto utilizzando il programma Microsoft Word per Windows o Macintosh, non deve superare le 30-35 cartelle dattiloscritte (2000 battute cad.) compresa la bibliografia, e corredato delle illustrazioni (tabelle, grafici, figure) nel numero che l'Autore ritiene necessario, in file ad alta risoluzione (salvate in formato pdf, jpg o eps).

Lo stile del manoscritto, le citazioni bibliografiche e il loro riferimento nel testo del manoscritto devono seguire le raccomandazioni dell'International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). Per le relative informazioni, gli Autori sono pregati di consultare il sito <http://www.icmje.org>.

L'articolo deve essere così strutturato:

- **Titolo conciso** e pertinente con il tema della rivista;
- **Prima pagina** con nome e cognome degli Autori, istituzione di appartenenza, foto tessera a colori del primo Autore;
- **Introduzione iniziale** che esponga in maniera chiara lo scopo dell'articolo;
- **Corpo del testo** suddiviso in sottocapitoli a contenuto omogeneo;

Pagina finale:

- 1) nome e cognome del primo autore, con telefono, fax, e-mail al quale andrà indirizzata la corrispondenza;
- 2) eventuali **ringraziamenti** a persone e/o associazioni;
- 3) 3-5 parole chiave.

Bibliografia

Per lo stile nella stesura seguire le seguenti indicazioni o consultare il sito "International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals Sample References". Le **voci bibliografiche** non devono superare il numero massimo di 150, numerate secondo l'ordine di comparsa nel testo, citate tra parentesi con il testo in apice e con i numeri arabi, tenendo presente gli esempi sottostanti.

Articoli con 1-6 autori

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 2000;30(1):100-1.

Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 2000;30(1):100-1.

Articoli con più di 6 autori

Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E, De Giglio I, Baldoni A, et al. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 2000;30(1):100-1.

Abstract e Congressi

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2000;100(10):1000.

Capitoli di libri

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. In: Spagnoletti M. ed. *The Hemoglobin*, Vol 10. London: Raven Livingstone. 1980:10-15.

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 1980:10-15.

Editoriale

Giorgio Lambertenghi Delilieri

Fondazione Matarrelli - Milano



Nell'ambito delle emopatie neoplastiche il mieloma multiplo è forse la patologia che più di altre ha beneficiato della scoperta di farmaci innovativi che, sebbene non risolutivi in termini di guarigione, hanno migliorato la qualità nonché aumentato significativamente la durata di vita dei pazienti. In questo primo numero dell'annata 2015 *Ematologia Oncologica.it* vuole fare il punto sui più recenti risultati della ricerca clinica, partendo anzitutto da una revisione dei meccanismi patogenetici della malattia, la cui conoscenza è alla base dei nuovi protocolli terapeutici.

Nello sviluppo del mieloma multiplo, dalla gammopatia monoclonale di incerto significato e/o dalla fase smoldering, si susseguono numerosi e complicati eventi che interessano sia il clone plasmacellulare che il microambiente midollare. Tra questi in particolare: - le lesioni genetiche, eterogenee, acquisite attraverso percorsi non lineari nella progressione della malattia; - le complesse interazioni nella nicchia midollare tra cellule mielomatose, osteoblasti, osteoclasti e componenti del sistema immunitario, mediate dall'iperproduzione di citochine e fattori di crescita; - le alterazioni del rimodellamento osseo; - il processo di neoangiogenesi midollare. Questa eterogeneità biologica spiega anche la variabilità clinica, nonché la difficoltà di identificare parametri di laboratorio e clinici con un ruolo prognostico definito. Infatti la maggior parte dei fattori ancora adottati dalla pratica clinica non ha più un ruolo predittivo dopo l'introduzione dei nuovi farmaci. I dati relativi al significato delle anomalie cromosomiche sono contrastanti, tranne quando è presente la del(17p); solo l'insufficienza renale e la presenza di malattia extramidollare sembrano aver un impatto negativo sulla sopravvivenza.

Il motivo della scarsa affidabilità prognostica di molti fattori, sia clinici che biologici, è dovuto alla persistenza di cellule mielomatose clonali residue nei pazienti che hanno raggiunto

una remissione completa dopo chemioterapia e/o trapianto di cellule staminali. Da qui il tentativo di dilazionare la progressione della malattia con una terapia continuativa, così da ridurre le probabilità di recidiva. Mentre i tentativi del recente passato basati su una chemioterapia di mantenimento hanno fallito nel migliorare la sopravvivenza, l'avvento dei nuovi farmaci, disponibili anche nella formulazione orale, ha significativamente incrementato l'aspettativa di vita nei pazienti sia giovani che anziani.

Bortezomib, talidomide e lenalidomide sono entrati di diritto anche nell'autotrapianto di cellule staminali, oggi considerato lo standard terapeutico per pazienti di nuova diagnosi di età inferiore a 65 anni. L'efficacia della loro associazione con il desametasone nella fase di induzione è ormai supportata da un'ampia esperienza clinica. Mentre nella terapia di mantenimento consentono di mantenere più a lungo la risposta clinica, il loro ruolo nel consolidamento attende di essere validato da studi prospettici.

L'utilizzo dei nuovi farmaci richiede un'attenta valutazione del loro profilo di tossicità, in relazione alle caratteristiche biologiche e cliniche del paziente. La conoscenza della possibile insorgenza di complicanze ematologiche e non ematologiche è indispensabile al fine di prevenirle o quanto meno di affrontarle con tempestività. Tra queste in particolare: la neutropenia che richiede una copertura antibiotica, soprattutto nei pazienti anziani con comorbidità polmonari o metaboliche; la neuropatia che deve essere attentamente monitorata; la trombosi venosa che impone una profilassi sulla base dei fattori di rischio dei singoli pazienti. Tuttavia in caso di eventi avversi un'appropriata riduzione del dosaggio farmacologico è spesso in grado di evitare la sospensione delle nuove molecole, considerate oggi le migliori per il trattamento del mieloma multiplo.

Patogenesi



Nicola Giuliani, Federica Costa, Paola Storti,
Marina Bolzoni, Benedetta Dalla Palma

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Parma e Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

Introduzione

Il mieloma multiplo (MM) è una gammapatia monoclonale caratterizzata dall'accumulo a livello del midollo osseo di elementi plasmacellulari clonali, in grado di sopravvivere ed espandersi attraverso la stretta interdipendenza con il microambiente midollare circostante^(1,2). Da un punto di vista patogenetico, e talora anche clinico, la presenza di una gammapatia monoclonale indolente o asintomatica, quale la gammapatia monoclonale d'incerto significato (MGUS) o il MM *smoldering* (SMM), contraddistingue la fase d'esordio della forma maligna del MM sintomatico⁽³⁾. Quest'ultimo deriva pertanto da un processo di progressione neoplastica, dovuto ad eventi molecolari sequenziali che interessano il clone plasmacellulare, ed alterazioni del microambiente, che, a loro volta, supportano la crescita e la progressione neoplastica^(2,4).

Nello sviluppo del MM sono coinvolte numerose alterazioni cromosomiche e molecolari, con interessamento prevalente della regione 14q32, sito dei geni codificanti per le catene pesanti delle immunoglobuline (Ig), della regione 13q14 e anomalie come l'iperdiploidia^(2,4). Mutazioni coinvolgenti i *pathway* del fattore nucleare kB (NF-kB), di RAS, MYC e p53 sono considerate eventi più tardivi nello sviluppo e progressione del MM^(2,4) (Figura 1). Recentemente è emerso come già nelle fasi d'esordio della malattia quale la MGUS, la progressione delle gammapatie monoclonali possa essere dovuta ad un meccanismo di selezione clonale, indotto dal microambiente, fra più cloni pre-esistenti tra i quali prevale quello che acquisisce mutazioni favorevoli per crescere nel microambiente midollare⁽⁴⁾. Attraverso questo meccanismo emergerebbero, nel corso della storia naturale della malattia, i cloni che hanno acquisito alterazioni in grado di conferire maggiore adattabilità e resistenza ai farmaci. In particolare, l'eterogeneità intraclonale delle *myeloma-propagating cells* (MPC) sta emergendo come possibile meccanismo patogenetico di sviluppo iniziale del MM⁽⁴⁾ (Figura 1). A questo proposito si usano le definizioni di MPC e/o di MM *cancer stem cells* (CSC), che incorporano il concetto di auto-rinnovamento e la capacità di sostenere il clone mielomatoso, il quale è in

grado di acquisire successivi eventi genetici che possono portare alla progressione della malattia e alla recidiva⁽⁴⁾. Nella patogenesi del MM, accanto agli eventi molecolari che interessano il clone plasmacellulare, giocano un ruolo determinante le alterazioni del microambiente quali, in particolare, l'iperproduzione di citochine, lo *switch* angiogenico, l'immunosoppressione e le alterazioni del rimodellamento osseo, che distinguono il MM in fase sintomatica dalle forme indolenti, quali la MGUS e il SMM⁽⁵⁾.

Patogenesi molecolare

Biologia della plasmacellula e trasformazione neoplastica

Alla base della trasformazione neoplastica e dello sviluppo del MM vi sono eventi mutazionali che interessano la plasmacellula (PC)⁽²⁾. Da un punto di vista fisiologico, come è noto, dopo il riarrangiamento dei geni delle Ig, i linfociti B, precursori delle PC, lasciano il midollo osseo come cellule B vergini. Queste ultime, successivamente all'incontro con antigeni affini, vengono attivate e migrano verso il centro germinativo del linfonodo, all'interno del quale solo le cellule B che esprimono un recettore funzionale vanno incontro a maturazione⁽⁴⁾. Questo processo richiede che il DNA, che codifica le regioni iper-variabili della catena pesante del locus delle Ig (IgH), subisca una mutazione iper-somatica (SHM) per produrre anticorpi altamente specifici⁽⁶⁾. La funzionalità di questi anticorpi è aumentata dalla *class switch recombination* (CSR), che produce diversi isotipi d'anticorpo. In particolare, sia l'SHM che la CSR richiedono l'espressione dell'enzima *activation-induced deaminase* (AID) e sono mediati dalla generazione di doppie rotture nel filamento di DNA (DSB) nei loci delle Ig⁽⁶⁾. Sebbene le DSB AID-indotte siano per lo più riparate localmente, esse possono essere unite ad altre DSB che si verificano altrove nel genoma. Ciò si traduce in traslocazioni cromosomiche aberranti, uno dei tratti molecolari distintivi del MM. Le traslocazioni derivate da una singola DSB hanno una frequenza di 0,4-1% e si stima che fino a 1.000 cellule per giorno possano

generare una traslocazione anomala, alcune delle quali potrebbero causare una de-regolazione di oncogeni⁽⁴⁾. Queste traslocazioni avvengono preferenzialmente in geni attivamente trascritti, noti come *hot-spot* di ricombinazione⁽⁶⁻⁸⁾. Tuttavia, la gamma di traslocazioni CSR-indotta nel MM è limitata: ciò potrebbe significare che tali traslocazioni avvengano preferenzialmente tra geni con alcune relazioni spaziali e/o che solo un sottoinsieme di queste traslocazioni causi effetti biologici vantaggiosi per la cellula. Le DSB

AID-indotte possono anche portare a mutazioni in geni al di fuori dei loci Ig, anche se con una frequenza inferiore^(4,8). Quindi, le rare mutazioni aberranti e le traslocazioni che sono in grado di spingere la PC verso una successiva espansione clonale possono essere il risultato di un processo fisiologico normale. Questi riarrangiamenti sono in genere tollerati perché, nella maggior parte dei casi, migliorano la funzione immunitaria e, di conseguenza, la capacità di riprodurre e trasmettere i geni alla generazione suc-

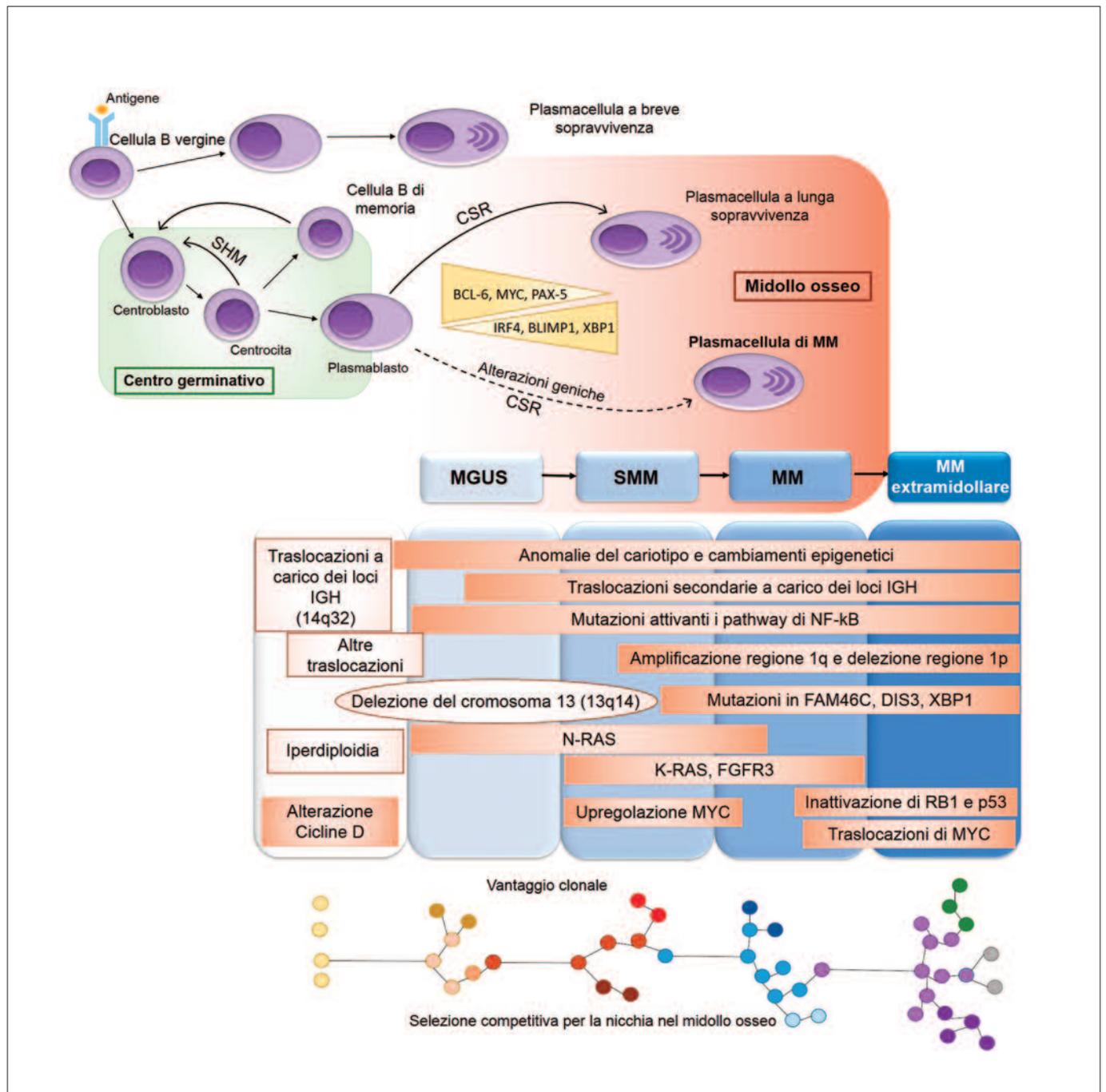


Figura 1 – Meccanismi coinvolti nella generazione delle plasmacellule e patogenesi molecolare del mieloma. L'instabilità genomica alla base del differenziamento fisiologico delle plasmacellule può produrre delle alterazioni geniche che portano al fenotipo della cellula di mieloma multiplo (MM). Inizialmente, la cellula de-regolata appartiene al clone della gammapatia monoclonale d'incerto significato (MGUS); in seguito, con l'acquisizione di nuove lesioni geniche, ottiene un ulteriore vantaggio clonale, attraverso uno schema non lineare, che la porta ad espandersi e ad evolvere attraverso le fasi di mieloma smoldering (SMM), di MM sintomatico ed infine di MM extra-midollare.

cessiva, ma possono essere anche alla base degli eventi iniziali dell'espansione clonale delle PC ^(4,8). A questo proposito, non è sorprendente che in più del 3% degli individui di età superiore ai 60 anni sia presente un'espansione clonale di PC sotto forma di MGUS ⁽³⁾. Un'altra delle fasi cruciali nello sviluppo di una PC normale è la generazione di anticorpi. Al centro di questo processo vi è la capacità di queste cellule di differenziare da centroblasti, che si trovano all'interno del centro germinativo, a PC mature a

lunga sopravvivenza, che secernono anticorpi nel midollo osseo ⁽⁴⁾. Questo processo di differenziazione richiede l'arresto del ciclo cellulare, la compattazione della cromatina ed il silenziamento delle funzioni cellulari che sono inutili per la produzione di anticorpi, contemporaneamente all'accensione dei *pathway* necessari per la produzione e la secrezione degli anticorpi. La de-regolazione di questa rete coordinata di numerosi geni e vie di segnale potrebbe portare alla trasformazione maligna ^(4,6) (Figura 2).

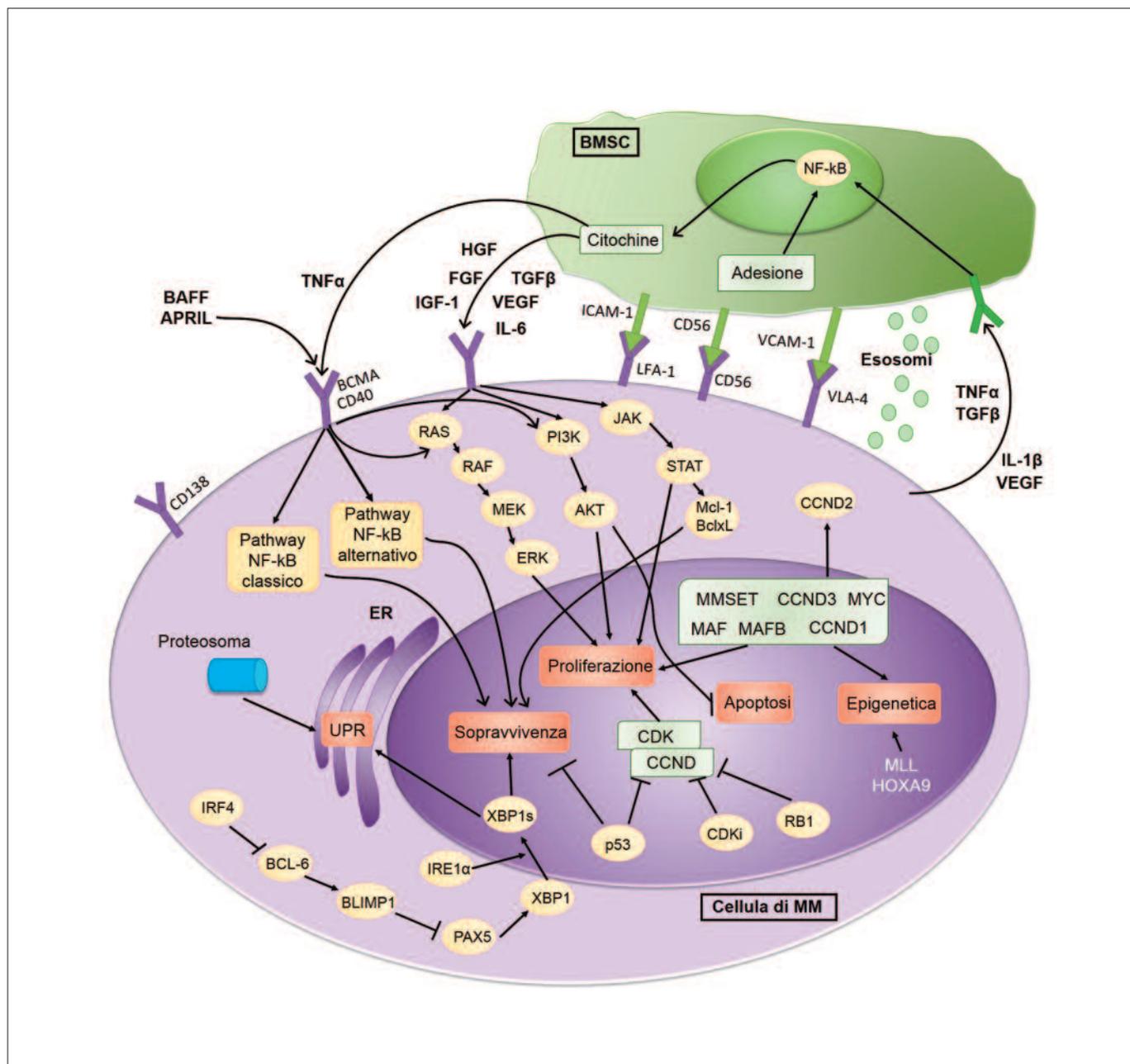


Figura 2 – Interazione tra la cellula di mieloma e la cellula stromale midollare: principali pathway de-regolati nella cellula di mieloma. Nel midollo osseo, l'interazione, attraverso l'espressione di molecole di adesione, tra le cellule di mieloma multiplo (MM) e le cellule stromali midollari (BMSC) induce un'over-produzione di citochine e fattori solubili nel microambiente, con ruolo paracrino ed autocrino, che supportano la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule di MM. Numerosi pathway, tra cui PI3K/AKT, MEK/MAPK, JAK/STAT e NF-κB, vengono attivati nella cellula di MM, sia costitutivamente che dal network citochinico. Abbreviazioni: reticolo endoplasmatico (ER); a proliferation-inducing ligand (APRIL); B-cell activating factor (BAFF); B-cell maturation antigen (BCMA); hepatocyte growth factor (HGF); intercellular adhesion molecule (ICAM); insulin-like growth factor (IGF); interleuchina (IL); lymphocyte function-associated antigen (LFA); transforming growth factor (TGF); tumor necrosis factor (TNF); vascular cell adhesion molecule (VCAM); vascular endothelial growth factor (VEGF); very late antigen (VLA).

Il differenziamento delle PC normali è controllato da diversi fattori di trascrizione. L'*interferon regulatory factor* (IRF)-4 down-regola *B-cell lymphoma protein 6* (BCL-6), con conseguente up-regolazione della *B lymphocyte-induced maturation protein* (BLIMP)-1, che a sua volta porta alla down-regolazione di *paired box gene* (PAX)-5 e l'up-regolazione della *X box-binding protein* (XBP)-1^(9,10). L'espressione di IRF4, BLIMP1 e XBP1 è necessaria per la sopravvivenza delle PC. Inoltre, XBP1 è un fattore di trascrizione fondamentale nelle fasi finali dello sviluppo delle PC^(9,10). Questo fattore è regolato da *inositol-requiring enzyme* (IRE)-1 α , un sensore chiave per lo *unfolded protein response* (UPR) e lo stress del reticolo endoplasmatico⁽⁹⁾ (Figura 1). Dopo aver terminato il differenziamento, le PC migrano verso il midollo osseo, dove vanno incontro rapidamente ad apoptosi, subito dopo la cessazione della risposta del sistema immunitario, oppure possono andare a risiedere in nicchie specializzate dove sopravvivono per molti anni come PC che forniscono la memoria sierologica⁽¹¹⁾. La competizione per l'accesso alla nicchia nel midollo osseo sembra essere importante per il mantenimento a lungo termine della risposta immunitaria, così come per l'immortalizzazione delle PC anormali⁽¹¹⁾. Lo studio dei meccanismi alla base dell'interazione fra le MPC e la nicchia midollare è fondamentale per la comprensione dello sviluppo del MM.

Architettura genica e mielomagenesi

Il genoma del MM è noto essere complesso a livello citogenetico⁽¹²⁻¹⁵⁾ e molte delle lesioni genetiche che portano a questa patologia sono state definite negli ultimi anni; fra queste: variabilità ereditaria, traslocazioni, anomalie del *copy number*, mutazioni, stato di metilazione e anomalie dei microRNA (miRNA). L'impatto patogenetico di tali eventi è quello di modificare il comportamento delle MPC, con conseguente progressione dalla MGUS al MM. Uno studio recente ha suggerito che tutti i casi di MM passano da un punto di vista patogenetico attraverso una fase di MGUS^(2,4). Pertanto, quando si considera l'architettura genica alla base dello sviluppo del MM, è importante considerare fattori che possono portare la PC normale ad acquisire le caratteristiche molecolari delle PC di MGUS. La variabilità genetica ereditaria può predisporre allo sviluppo di MGUS⁽¹⁻⁴⁾, è nota infatti una doppia probabilità di sviluppare MGUS per i membri di famiglie con conosciuta storia clinica di gammopatia monoclonale⁽¹⁻⁴⁾. In passato, sono stati utilizzati approcci epidemiologici molecolari per individuare i fattori genici precoci che portano allo sviluppo del MM. Sono stati evidenziati i tre loci genici sulle regioni cromosomiche 2p, 3p e 7p ed, in particolare, le coppie di geni DNMT3A e DTNB (su 2p), ULK4 e TRAK1 (su 3p), e DNAH11 e CDCA7L (su 7p)⁽¹⁶⁾. Lo studio delle traslocazioni cromosomiche che sono generate da CSR aberranti mostrano che vari oncogeni, quali la ciclina D1 (CCND1), CCND3, il recettore per il fattore di crescita dei fibroblasti-3 (FGFR3), *multiple myeloma SET domain* (MMSET), MAF e MAFB, sono posti sotto il controllo dei forti

enhancer dei loci Ig, con conseguente de-regolazione dei primi^(6,17). L'alterazione dell'espressione delle cicline del gruppo D è stata riportata nelle traslocazioni CRS-indotte t(11;14) e t(6;14) ed, in particolare, sono colpite la CCND1 e CCND3, rispettivamente⁽¹⁷⁾. È nota, inoltre, un'up-regolazione di questo gruppo di cicline associata alla traslocazione t(14;16), in cui MAF up-regola CCND2 legandosi direttamente al suo promotore⁽¹⁸⁾. Questa ciclina viene up-regolata anche nei casi di MM con la traslocazione t(4;14), in cui i geni FGFR3 e MMSET sono traslocati dalla porzione cromosomica 4p16.3 alla regione degli *enhancer* delle IgH⁽¹⁷⁾. Questi eventi portano alla de-regolazione della transizione G1/S del ciclo cellulare della PC (Figura 2). Altre traslocazioni a carico del locus IgH, sono state riportate nel MM, ma contrariamente agli eventi guidati dalla CSR, le traslocazioni CSR-indipendenti tendono a verificarsi tardivamente nella progressione della malattia⁽¹⁹⁾. Il gene che è in genere deregolato da tali eventi è MYC⁽⁸⁾. Recenti risultati di sequenziamento dell'intero genoma hanno dimostrato che possono verificarsi traslocazioni che non coinvolgono i loci IgH e delle catene leggere delle IgE, che costituiscono un importante meccanismo che porta all'alterazione di geni non ancora totalmente studiati⁽¹²⁾.

Le delezioni e le amplificazioni di regioni del DNA, con conseguente alterazione del *copy number*, sono eventi comuni nel MM. L'alta frequenza e la ricorrenza delle delezioni focali e della perdita di eterozigosi (LOH) suggerisce che le regioni eliminate contengano dei geni oncosoppressori e che costituiscano degli eventi fondamentali nello sviluppo e nella progressione del MM^(13,14,20,21). Esempi di geni oncosoppressori coinvolti comprendono *family with sequence similarity 46, member C* (FAM46C), *exosome endoribonuclease* (DIS3), *cylindromatosis* (CYLD), *baculoviral IAP repeat-containing protein 2* (BIRC2, noto anche come cIAP1), BIRC3 e *tumor necrosis factor receptor-associated factor 3* (TRAF3)^(12,20-24). La de-regolazione della transizione G1/S del ciclo cellulare, conseguente all'over-espressione di una ciclina del gruppo D, è un'anomalia molecolare precoce chiave nel MM. D'altro canto, è fondamentale anche la perdita di regolatori negativi del ciclo cellulare come la down-regolazione di CDKN2C dovuta alla perdita della regione cromosomica 1p32⁽²⁴⁾ e l'inattivazione di CDKN2A per mezzo della metilazione di regioni del DNA⁽²⁵⁾. Inoltre, l'inattivazione del gene retinoblastoma 1 (RB1), può verificarsi come conseguenza della perdita della regione cromosomica 13, che è riportata nel 58% dei casi di MM^(4,20). Altre importanti regioni di LOH includono 11q (il sito dei geni BIRC2 e BIRC3), 16q (il sito di CYLD) e 14q32 (il sito di TRAF3)^(21,25). Tutti questi geni sono coinvolti nei *pathway* di NF- κ B, importanti nella patogenesi e nella progressione del MM⁽²¹⁾ (Figura 2). L'altra classe principale di anomalie geniche ricorrenti che si riscontra nel MM è l'iperdiploidia, che è associata all'aumento di copie dei cromosomi dispari, compresi 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 e 21⁽⁴⁾. Infine, l'ultima categoria di alterazioni geniche del *copy number* comprende l'amplificazione di regioni cromosomiche,

con il conseguente aumento dell'espressione genica di oncogeni coinvolti nella progressione del MM. Un classico esempio di queste anomalie è l'amplificazione della regione cromosomica 1q, che ospita numerosi oncogeni potenzialmente rilevanti per esempio, CDC28 proteina chinasi 1B (CKS1B), *acid leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family, member E* (ANP32E), BCL-9 e PDZ domain containing 1 (PDZK1) ⁽²⁰⁾. Inoltre amplificazioni della regione cromosomica come l'amplificazione di NIK (noto anche come MAP3K14), di TAC1 (noto anche come TNFRSF13B) e del *lymphotoxin receptor* (LTBR) possono attivare le vie di NF-κB ⁽²¹⁾.

La presenza di mutazioni geniche ricorrenti nel MM è stata recentemente identificata utilizzando strategie di *whole genome sequencing*. La maggior parte delle mutazioni ricorrenti ricadono in oncogeni noti; tuttavia, sono stati identificati alcuni nuovi geni, ad esempio FAM46C nel 13% dei casi e DIS3 nell'11% ^(12,22). Queste osservazioni sono coerenti con l'ipotesi per cui risulta patogeneticamente importante la de-regolazione di diversi *pathway*, piuttosto che la de-regolazione di un gene specifico. Ad esempio, l'alta frequenza di mutazioni nella via *extracellular-signal-regulated kinases* (ERK) (NRAS nel 24% dei casi, KRAS nel 27% dei casi e BRAF nel 4% dei casi) indica che il *pathway* è cruciale per la progressione del MM ⁽⁴⁾ (Figura 2). Tuttavia, è interessante come, anche per importanti oncogeni come NRAS o KRAS, sia possibile identificare una variazione delle dimensioni della popolazione clonale che porta la mutazione, indicando pertanto la presenza di eterogeneità intraclonale ⁽⁴⁾.

Recentemente è stato confermato che l'oncosoppressore FAM46C è ricorrentemente inattivato nel MM, e si associa con il sottogruppo iperdiploide dei pazienti con MM ⁽²⁶⁾. Inoltre, sono stati descritti come nuovi candidati onco-soppressori i geni SP140 e *lymphotoxin beta* (LTB), colpiti da mutazioni inattivanti ricorrenti. Un altro gene frequentemente mutato ed inattivato è *early growth response 1* (EGR1) che fisiologicamente codifica per una proteina che agisce a valle del *pathway* JUN, attivando un meccanismo di apoptosi nelle cellule di MM attraverso la down-regolazione di survivina e l'aumento delle caspasi ⁽²⁶⁾. Fra gli eventi molecolari che caratterizzano in particolare le fasi avanzate dello sviluppo del MM troviamo le delezioni mono-alleliche o le mutazioni del gene oncosoppressore p53 localizzato sul cromosoma 17 (17p13), che si verificano nell'8% dei casi alla diagnosi, e nel 20-40% nelle fasi avanzate, con un impatto prognostico sfavorevole ^(2,4). Recentemente, sono state descritte alterazioni di miRNA che interessano il *pathway* di p53, fra cui, in particolare, il miR-192, la cui down-regolazione potrebbe essere coinvolta nella perdita di funzione di p53 e nella progressione del MM ⁽²⁷⁾. Diversi studi hanno suggerito che i miRNA abbiano un ruolo sia nel normale sviluppo delle PC che nella patogenesi del MM ⁽²⁷⁾. In particolare, l'espressione del cluster di miRNA miR-17-92 (che si trova sul cromosoma 13) varia durante la progressione da MGUS a MM ⁽²⁷⁾. Un'up-regolazione specifica dei miR-32 e miR-17 è stata dimostrata

nei pazienti con MM ma non nelle MGUS o nelle PC normali ⁽²⁷⁾. I geni che codificano per miRNA possono essere alterati dalla metilazione del DNA, da alterazioni del *copy number* e da mutazioni, sebbene la rilevanza di tali anomalie nella patogenesi del MM sia ancora poco conosciuta. Si ritiene che i cambiamenti epigenetici più importanti durante la trasformazione da MGUS a MM siano l'ipo-metilazione globale del DNA e l'iper-metilazione di specifici geni ⁽¹⁵⁾. Il cambiamento dello stato di metilazione del DNA più pronunciato è riportato nel 15% dei pazienti con la traslocazione t(4;14), in cui vi sono specifiche regioni di iper-metilazione del DNA rispetto agli altri sottogruppi citogenetici. Questo sottogruppo over-esprime MMSET, che codifica per un repressore trascrizionale della metiltransferasi istonica e media la metilazione della lisina 36 dell'istone H3 (H3K36) ^(28,29). Infine, la sua de-regolazione porta a cambiamenti globali nella metilazione degli istoni promuovendo la sopravvivenza cellulare, la progressione del ciclo cellulare e la riparazione del DNA ^(28,29). Altri modificatori della cromatina alterati nel MM sono *lysine-specific demethylase 6A* (KDM6A), KDM6B, *mixed-lineage leukemia* (MLL) e *homeobox A9* (HOXA9) ⁽¹²⁾.

Evoluzione clonale e sviluppo del mieloma

Nella visione classica dell'insorgenza e della progressione del MM, un evento iniziale è necessario per immortalizzare una PC normale. Tale cellula definita come MPC è poi destinata ad acquisire ulteriori lesioni genetiche nel corso del tempo, attraverso la LOH, l'amplificazione genica, mutazioni o modifiche epigenetiche (Figura 1). L'acquisizione di ulteriori anomalie altera il comportamento delle cellule di MM, portando quindi alle caratteristiche clinicamente riconosciute del MM.

In questi ultimi anni, è emersa l'eterogeneità genetica di questa malattia sia di tipo interclonale che intraclonale ^(14,30). Questa eterogeneità è, da una prospettiva di selezione darwiniana, la caratteristica essenziale dell'evoluzione clonale, della progressione della malattia ed infine della ricaduta. Sulla base di queste evidenze dopo l'inizio della malattia, gli eventi molecolari necessari per lo sviluppo del MM non sono raggiunti in modo lineare, ma piuttosto attraverso una ramificazione o percorsi non lineari, tipici del modello evolutivo proposto da Darwin ⁽³⁰⁾. Questo modello di sviluppo del MM è basato sull'idea che le mutazioni siano acquisite casualmente e vengano selezionate sulla base del vantaggio clonale che conferiscono ⁽³⁰⁾ (Figura 1). Inoltre, anche le MPC dovrebbero essere geneticamente ed epigeneticamente diverse, al fine di mantenere un vantaggio clonale e quindi realizzare la transizione tra le fasi della malattia. Utilizzando i dati attualmente disponibili per le MGUS, sembra che vi sia un'eterogeneità intraclonale nelle PC che hanno riarrangiamenti clonali fisiologici delle IgH. Ciò significa che un clone plasmacellulare con un riarrangiamento IgH definito, selezionato in risposta all'antigene, sviluppa una progenie con mutazioni a carico delle IgH all'interno dello stesso riarrangiamento clonale ⁽³⁰⁾. Questa osservazione è coe-

rente con il fatto che le MPC sono continuamente esposte alle reazioni all'interno del centro germinativo. Basandoci su questi dati, è ragionevole pensare che la MPC d'origine sia generata da una cellula B di memoria e che, dopo il passaggio nel centro germinativo, sia immortalizzata dall'acquisizione di uno dei due principali eventi che portano al MM: un aberrante evento CSR sull'allele IgH non funzionale, o tramite l'iperdiploidia ⁽⁴⁾. Sebbene gli eventi aberranti di CSR siano stati imputati nelle fasi iniziali di sviluppo del MM, essendo presenti nella maggior parte delle cellule clonali, sembra che in alcuni casi tali traslocazioni siano presenti solo in una sottopopolazione di cellule clonali ⁽³¹⁾. Le MPC, dopo essere state immortalizzate nel centro germinativo, migrano verso il midollo osseo, dove continuano ad evolversi. Durante questo processo, l'interazione con le cellule stromali midollari (BMSC) è cruciale per la loro sopravvivenza, come lo è per le PC normali. È importante sottolineare che l'alterazione delle interazioni tra stroma e MPC può alterare la lunghezza dei telomeri, quindi, potenzialmente favorire l'immortalizzazione delle ultime ⁽³²⁾. Mentre le PC maligne si accumulano nel midollo osseo, vengono stabiliti dei *feedback* positivi tra le PC, le BMSC, gli osteoclasti (OCL), gli osteoblasti (OB) e gli elementi vascolari ⁽⁵⁾. Questa alterazione del microambiente interessa anche la nicchia delle PC normali, portando ad una riduzione del loro numero e allo sviluppo dell'immunosoppressione ⁽⁵⁾ (Figura 1).

Ruolo della *myeloma cancer stem cell*

È noto come i tumori siano costituiti sia da cellule differenziate capaci di proliferare in maniera limitata, sia da una piccola frazione di cellule caratterizzate da un grande potenziale proliferativo in grado di mantenere il tumore, ovvero cellule con specifiche proprietà *stem-like*, definite CSC ⁽³³⁾. Le CSC hanno, infatti, la capacità di auto-rinnovarsi, la potenzialità di dare origine a più specie cellulari all'interno del tumore e l'abilità di sostenere la proliferazione delle cellule maligne. Queste cellule sono considerate le cellule inizianti il tumore, come le MPC, e le cellule probabilmente responsabili della recidiva e della progressione della malattia ⁽³³⁾. Nel MM diversi studi hanno dimostrato l'esistenza di una ristretta popolazione di cellule con caratteristiche clonogeniche, CD138 negative, in parte di origine B linfocitaria esprimenti il CD20 ed in parte negative per il CD20, in grado di differenziare in senso plasmacellulare in vitro e di generare plasmocitomi in vivo in modelli murini ⁽³⁴⁾. Queste proprietà, al contrario, non sono riscontrate nelle PC mature CD138 positive. All'interno di questa sottopopolazione clonogenica risulta aumentata l'attivazione del *pathway* di Hedgehog, noto, insieme a Notch e Wnt, per regolare il processo di auto-rinnovamento nelle cellule staminali normali. In particolare modo, sembra che i ligandi necessari per l'attivazione di questo *pathway* siano prodotti dalle BMSC, a riprova dell'importanza del microambiente nel mantenimento della staminalità della cellula di MM ⁽³⁵⁾. Sono stati inoltre identificati, sulla superficie, marker tipici delle cellule B di memoria normali, CD19,

CD20 e CD27, suggerendo quindi la derivazione delle cellule mielomatose da questo compartimento cellulare. Cellule B di memoria clonogeniche circolanti sono state identificate nel sangue periferico di pazienti affetti da MM ed hanno dimostrato capacità di *engraftment* in topi NOD/SCID ⁽³⁵⁾. Inoltre, tale popolazione circolante sembra persistere dopo trattamento con terapie anche ad alte dosi e la frequenza di tali cellule sembra aumentare nelle ricadute ⁽³⁵⁾. Studi in vitro hanno infatti dimostrato come tali cellule, contrariamente alle PC CD138 positive, siano resistenti ai principali farmaci quali desametasone, lenalidomide, bortezomib e ciclofosfamide ⁽³⁶⁾. Tali caratteristiche derivano da un'elevata espressione di trasportatori di membrana, soprattutto della superfamiglia ABC (*ATP-binding cassette*), e dallo stato di quiescenza in cui le cellule si trovano, meccanismi condivisi dalle cellule staminali normali ⁽³⁶⁾.

Sebbene diversi studi abbiano identificato queste popolazioni clonogeniche nei pazienti con MM, l'esatto immunofenotipo delle CSC nel MM non è stato identificato con esattezza. Alcuni autori hanno classificato come CSC mielomatose la sottopopolazione CD19⁻CD34[±]CD138⁻, ⁽³⁷⁾ mentre altri hanno individuato una sottopopolazione di PC mature ciclianti CD138⁺/B7-H1⁺ che potrebbero trans-differenziare in CSC ⁽³⁷⁾. È probabile che esistano differenti popolazioni staminali nel MM e che inoltre la staminalità possa essere indotta dal microambiente stesso. Recenti studi hanno individuato la nicchia osteoblastica ipossica midollare come sede delle CSC, in cui viene preservata la quiescenza e regolato l'auto-rinnovamento e il destino differenziativo, tramite l'interazione con BMSC e OB. Diversi Autori hanno dimostrato come cellule mielomatose iniettate nella cavità midollare di frammenti ossei impiantati sottocute in modelli murini, riescano a crescere solo nell'osso, ⁽³⁸⁾ suggerendo il ruolo fondamentale del tessuto osseo come nicchia per le CSC. Inoltre è stato dimostrato che in co-culture con OCL le PC mielomatose mature acquisiscono capacità di tipo staminale con bassa espressione di CD138 e di CD38 e sviluppano resistenza ai farmaci ⁽³⁹⁾. Ulteriori studi saranno tuttavia necessari per stabilire in modo preciso la nicchia delle staminali tumorali e i meccanismi della loro tumorigenicità e plasticità a seguito delle interazioni con il microambiente.

Alterazioni del microambiente

Nella patogenesi del MM è noto come la stretta dipendenza delle cellule di MM dal microambiente midollare svolga un ruolo critico ^(5,40). L'interazione fra cellule di MM e microambiente, che avviene prevalentemente attraverso l'espressione di molecole di adesione, attiva la produzione di numerose citochine e fattori di crescita con funzione autocrina e paracrina che supportano la crescita e la sopravvivenza cellulare. La nicchia midollare ha, infatti, un importante ruolo in differenziamento, migrazione, proliferazione, sopravvivenza e resistenza ai farmaci delle cellule di MM ⁽⁴⁰⁾. Le cellule di MM stabili-

scono complesse interazioni sia con gli altri componenti cellulari del microambiente midollare sia con la matrice extracellulare (ECM). I principali tipi cellulari che costituiscono il microambiente midollare sono: le BMSC, in grado di differenziare in cellule osteoprogenitrici; gli OB; gli osteociti; gli OCL; le cellule endoteliali; gli adipociti; le cellule dendritiche (DC); i macrofagi ed i linfociti. L'ECM è invece costituita da molecole quali la laminina, il collagene, i proteoglicani ed i glicosaminoglicani. L'interazione fra cellule di MM e microambiente a sua volta determina alterazioni significative del microambiente stesso che sono alla base dei segni quali l'anemia, l'immunosoppressione, lo *switch* angiogenico e le alterazioni del rimodellamento osseo che distinguono il MM sintomatico dalle forme indolenti ⁽⁴⁰⁾.

Data l'importanza, nella patogenesi del MM, del microambiente, diversi studi si sono focalizzati sulla presenza di possibili alterazioni, molecolari e funzionali, a carico delle BMSC e sulla loro natura primaria o secondaria alla presenza delle PC maligne nel microambiente. Attraverso studi di *array-comparative genomic hybridization* è stato dimostrato che le BMSC dei pazienti affetti da MM hanno differenti profili genici rispetto alle BMSC dei soggetti sani: le BMSC di MM (MM-BMSC) sono anomale, anche quando allontanate dal microambiente mielomatoso, e molti pazienti mantengono alterazioni dell'attività osteoblastica anche in assenza del clone mielomatoso ⁽⁴¹⁾. D'altro canto, altri studi non hanno dimostrato la presenza di anomalie molecolari o citogenetiche sia nelle BMSC che negli OB di pazienti affetti da MM riconducibili al clone neoplastico ⁽⁴²⁾. Inoltre, altri gruppi hanno dimostrato che la sola presenza delle cellule di MM è in grado di indurre alterazioni nel fenotipo delle BMSC: ad esempio, co-coltivando cellule di MM con BMSC di soggetti sani, quest'ultime acquisiscono caratteristiche simili a BMSC ottenute da pazienti affetti da MM ⁽⁴³⁾. Le MM-BMSC differiscono da quelle dei soggetti sani nel loro profilo citochinico: diversi studi hanno mostrato che producono maggiori livelli di interleuchina (IL)-6 e *vascular endothelial growth factor* (VEGF), i principali fattori di crescita delle PC indotti dalla presenza delle cellule di MM ^(44,45).

Molecole di adesione

All'interno del midollo osseo, le cellule di MM aderiscono ai componenti dell'ECM, fra cui il collagene di tipo I e la fibronectina, attraverso il sindecano 1 (CD138) e il *very late antigen 4* (VLA-4); quest'ultima molecola è in grado inoltre di legare *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) espresso dalle BMSC. Altre molecole coinvolte nell'adesione tra cellule di MM e BMSC sono: CD44, che lega l'osteopontina (OPN); CD56/NCAM-1, che ha un legame omotipico; e CD38, che lega CD31 ^(46,47). Un altro sistema di interazione coinvolge *stromal cell-derived factor* (SDF)-1 α o C-X-C chemokine ligand (CXCL)-12, espresso dalle BMSC, e il suo recettore C-X-C chemokine receptor (CXCR)-4, presente sulle cellule di MM,

che induce motilità e riarrangiamenti del citoscheletro nelle cellule di MM ⁽⁴⁰⁾. Inoltre, CXCL-12 up-regola in modo transiente VLA-4 che media l'adesione cellulare delle cellule di MM alle BMSC e la secrezione di citochine da parte di queste ultime ⁽⁴⁶⁾.

L'adesione delle cellule di MM alle BMSC, insieme alla produzione autocrina e paracrina di numerose citochine e chemochine, innesca quindi diversi *pathway* che determinano l'up-regolazione di proteine che attivano il ciclo cellulare con funzione anti-apoptotica, pro-proliferativa e pro-angiogenica e regolano l'*homing* delle cellule di MM ⁽⁴⁶⁾ (Figura 2).

Ruolo delle citochine

IL-6 è il principale fattore di crescita e sopravvivenza delle cellule di MM ⁽⁴⁸⁾. Viene prodotta da molti tipi cellulari, tra cui i monociti e le cellule endoteliali, ma le fonti principali di IL-6 nel microambiente midollare sono BMSC, cellule di MM e OB. L'interazione tra le BMSC e le cellule di MM up-regola la trascrizione e la sintesi di IL-6 nelle cellule stromali; a sua volta IL-6 stimola la proliferazione delle cellule di MM secondo un *loop* paracrino che viene stimolato dalla liberazione di altre molecole e chemochine quali CD40, *tumor necrosis factor* (TNF)- α , VEGF, IL-1 β , *transforming growth factor* (TGF)- β . IL-1 β sembra essere la citochina maggiormente responsabile della produzione paracrina di IL-6 da parte delle BMSC. La produzione aberrante di IL-1 β da parte delle cellule di MM induce infatti la produzione di IL-6 da parte delle BMSC ⁽⁴⁹⁾. La produzione di IL-6 indotta dalle varie citochine è mediata dall'attivazione del *pathway* di NF-kB ⁽⁴⁹⁾. Dopo il legame con il suo recettore, costituito da una subunità di legame (IL-6R α) e una di trasduzione (gp130), IL-6 innesca l'attivazione di *pathway* di segnalazione fra cui MEK/MAPK (*mitogen-extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinases*), JAK/STAT3/MCL1 (*Janus kinases/signal transducers and activators of transcription/myeloid leukemia cell differentiation protein*) e PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*)/AKT. Nelle cellule di MM, IL-6 stimola la proliferazione cellulare (via RAS/MAPK), promuove la sopravvivenza (sistema JAK/STAT) ed aumenta la resistenza all'apoptosi ⁽⁵⁰⁾. *Insulin-like growth factor* (IGF)-1 è un importante fattore di proliferazione, sopravvivenza e migrazione delle cellule di MM, anche con meccanismo IL-6-indipendente. Viene prodotto da OB, BMSC e cellule endoteliali ossee. È un chemio-attrattivo per le cellule di MM e ne favorisce l'*homing* nel midollo osseo. La fosforilazione del recettore di IGF-1, dopo il legame con la citochina, porta all'attivazione dei *pathway* di segnalazione di MAPK e PI3/AKT, stimolando la proliferazione cellulare ^(51,52). VEGF, oltre ad essere un fattore pro-angiogenico, ha un ruolo importante come fattore pro-proliferativo. Nel MM è prodotto sia dalle cellule neoplastiche che dalle BMSC, insieme a IL-6. L'azione di VEGF si attua secondo un *loop* paracrino. È stata dimostrata la presenza di recettori del VEGF nelle cellule mielomatose, sebbene a bassa densità, suggerendo un possibile meccanismo autocrino del

VEGF nel MM⁽⁵³⁾. La secrezione di VEGF indotta da IL-6, oltre a stimolare a sua volta la trascrizione di IL-6 da parte delle BMSC, promuove la migrazione delle cellule mielomatose. Il VEGF stimola principalmente il segnale di MEK/ERK nelle cellule di MM e le altre vie di segnalazione coinvolte nella migrazione cellulare e nella sopravvivenza⁽⁵⁴⁾. TNF α è un'importante citochina pro-infiammatoria prodotta sia dalle BMSC che dalle cellule di MM, che stimola la proliferazione e la sopravvivenza delle PC maligne. Tali effetti sono mediati sia direttamente, tramite l'attivazione di diversi *pathway* pro-proliferativi e anti-apoptotici come MAPK/ERK, NF-kB, PI3K/AKT nelle cellule di MM, sia, indirettamente, attraverso la stimolazione della secrezione di IL-6 da parte delle BMSC, in cui attiva la via di NF-kB. Inoltre, TNF α up-regola l'espressione di molecole di adesione sia sulle cellule di MM (CD49d, VLA-4; CD11a, LFA-1) che sulle BMSC (CD54, ICAM-1, CD106, VCAM-1): l'aumentata adesione tra queste cellule, stimola a sua volta la secrezione del principale fattore proliferativo IL-6, da parte delle BMSC, e la *cell adhesion-mediated drug resistance* (CAM-DR)⁽⁴⁰⁾. Il CD40 ligand è un membro della famiglia del TNF α coinvolto nella modulazione della proliferazione delle cellule di MM (via p53) e nella loro migrazione (via PI3K/AKT NF-kB). Il legame al CD40 stimola inoltre la secrezione di IL-6 e VEGF da parte delle BMSC, contribuendo anche indirettamente alla proliferazione delle PC maligne⁽⁴⁰⁾. *B-cell activating factor* (BAFF) e *a proliferation-inducing ligand* (APRIL) sono fattori di crescita appartenenti alla super famiglia del TNF α , prodotti principalmente da monociti e OCL⁽⁵⁵⁾. Entrambe le molecole si legano al recettore *B-cell maturation antigen* (BCMA) espresso sulle cellule di MM: il loro legame attiva multipli *pathway* proliferativi come NF-kB, MEK/MAPK, JAK/STAT3 e PI3K/AKT nelle cellule di MM⁽⁵⁵⁾. Altre citochine sono coinvolte nell'interazione tra cellula di MM e microambiente e supportano la crescita e la proliferazione delle cellule di MM nel microambiente, come IL-21, citochina principalmente prodotta dai linfociti T CD4⁺ attivati il cui legame con il suo recettore attiva nelle cellule di MM i *pathway* pro-proliferativi JAK1, STAT3, ERK1/2⁽⁵⁶⁾; le *cytokine IL-6 like*, quali IL-11, oncostatina M (OSM) e *leukaemia inhibitory factor* (LIF); *hepatocyte growth factor* (HGF); IL-10; IL-15; e il TGF β , come riassunto nella Tabella 1.

Esosomi

Un recente studio ha evidenziato che le MM-BMSC rilasciano esosomi, che sono trasferiti alle cellule di MM, influenzando la crescita tumorale in vivo, promuovendo l'entrata in circolo e inducendo la resistenza ai farmaci, mediante specifici miRNA⁽⁵⁷⁾. Gli esosomi sono nanovesicole (50-100 nm) di origine endocitica che vengono rilasciate nell'ambiente extracellulare da diversi tipi cellulari in condizioni sia fisiologiche che patologiche, tra cui presentazione dell'antigene, trasmissione di agenti infettivi e tumori. Il profilo dei miRNA contenuti negli esosomi varia tra MM-BMSC e BMSC di

soggetti sani: ad esempio, i livelli del soppressore tumorale miR-15a/16 risultano diminuiti nelle BMSC da MM; ciò promuove la proliferazione delle PC e le protegge dall'apoptosi indotta da farmaci quali gli inibitori del proteasoma^(58,59). Altri miRNA sono modulati a seguito dell'interazione tra BMSC e cellule di MM, contribuendo all'aumento dell'angiogenesi (miR-199a-5p)⁽⁵⁸⁾ e all'alterazione della formazione di osso (miR-135b, 24-3b, 15a-5p)^(59,60). Anche il contenuto proteico degli esosomi risulta alterato, con una maggiore percentuale di proteine oncogeniche, citochine, protein chinasi e molecole di adesione nelle MM-BMSC⁽⁵⁷⁾. Questi dati identificano quindi negli esosomi un nuovo meccanismo di comunicazione cellulare tra PC mielomatose e BMSC, accanto all'adesione ed ai fattori solubili.

Angiogenesi e *switch* angiogenico

L'angiogenesi tumorale è un processo *multistep* di formazione di nuovi vasi, contraddistinto da strutture vascolari aberranti, alterate interazioni tra cellule endoteliali e periciti, flusso sanguigno anomalo e aumentata permeabilità vascolare. Come noto, durante la progressione tumorale si assiste ad uno squilibrio tra molecole pro-angiogeniche e anti-angiogeniche a favore delle prime, con conseguente formazione di nuovi vasi. Come nei tumori solidi, anche nel MM è stato riscontrato un aumento dell'angiogenesi midollare correlata con il grado di infiltrazione midollare, l'attività proliferativa delle PC e lo stato di malattia⁽⁶¹⁾. La progressione del MM è infatti caratterizzata da una fase pre-angiogenica, corrispondente alle forme indolenti di gammopatia monoclonale, quali SMM e MGUS con lenta crescita tumorale, seguita da uno *switch* pro-angiogenico con progressiva crescita tumorale che corrisponde alla fase sintomatica del MM⁽⁶¹⁾. Numerosi studi hanno infatti evidenziato come i pazienti affetti da MM presentano un'aumentata densità microvascolare (MVD) rispetto ai pazienti con SMM e MGUS e ai soggetti sani⁽⁶¹⁾. Altri hanno mostrato anche una correlazione tra MVD, proliferazione cellulare e numero delle PC intramidollari^(61,62).

Insieme al processo di neoangiogenesi midollare, la vasculogenesi è coinvolta nell'incremento della vascolarità midollare nei pazienti affetti da MM⁽⁶³⁾. Diversamente dall'angiogenesi, la vasculogenesi è caratterizzata dalla formazione de novo di vasi sanguigni a partire da cellule progenitrici endoteliali (EPC) reclutate dal midollo osseo. Le EPC sono incorporate nei nuovi vasi midollari, proliferano e differenziano in cellule endoteliali⁽⁶⁴⁾. È stata dimostrata la presenza delle EPC nel sangue periferico insieme alle cellule endoteliali circolanti (CEC) nei pazienti affetti da tumore⁽⁶⁴⁾. Le EPC circolanti e le CEC sono state anche riscontrate nel circolo sanguigno di soggetti affetti da MM e i loro livelli correlano con la gravità della malattia⁽⁶⁵⁾. È stato dimostrato un maggiore contributo dei monociti nella formazione di nuovi vasi nel midollo osseo di pazienti affetti da MM sintomatico rispetto a soggetti con MGUS⁽⁶³⁾. I principali meccanismi e i fattori coinvolti nello *switch* pro-angiogenico indotto

dalle cellule di MM sono riassunti nella Figura 3.

Il VEGF rappresenta il principale fattore di crescita e di sopravvivenza delle cellule endoteliali ⁽⁶⁶⁾. Possiede diverse isoforme di recettori (VEGFR-1, VEGFR-2), espressi dalle cellule endoteliali, che mediano l'effetto del VEGF sulla sopravvivenza, la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali ⁽⁶⁶⁾. L'incremento dell'angiogenesi nel midollo osseo è sostenuto principalmente dal VEGF prodotto direttamente dalle cellule di MM ⁽⁶⁶⁾; questa citochina, a sua volta, stimola la secrezione dalle BMSC di IL-6 e VEGF stesso, che a loro volta inducono la produzione paracrina di VEGF dalle cellule tumorali ⁽⁶⁷⁾. È stato inoltre dimostrato un aumento dell'attività angiogenica delle cellule mesenchimali stromali nei pazienti affetti da MM, con un'over-espressione di VEGF comparata con i donatori sani ⁽⁶¹⁾. *Basic-fibroblast growth factor* (bFGF)-2 è un'altra molecola pro-angiogenica che possiede gli stessi effetti del VEGF sulle cellule

endoteliali ed è prodotta dalle cellule di MM ma soprattutto dalle BMSC e dalle cellule endoteliali ⁽⁶¹⁾. Le angiopoietine (ANG) sono una famiglia di fattori implicati nell'angiogenesi. ANG-1 agisce come fattore di sopravvivenza per le cellule endoteliali legandosi al suo recettore TIE-2 espresso sull'endotelio, regola la stabilizzazione delle nuove pareti vascolari, la formazione di tubuli ed è coinvolto nello *switch* angiogenico ⁽⁶¹⁾. ANG-1 è anche prodotta dalle mastcellule nel microambiente, che promuovono così la crescita delle PC e stimolano l'angiogenesi insieme al VEGF di origine tumorale. ANG-2 è un'antagonista naturale di ANG-1, blocca infatti l'azione di TIE-2 mediata da ANG-1 sulle cellule endoteliali provocando la destabilizzazione dei vasi ⁽⁶¹⁾ ovvero l'evento iniziale del processo neo-angiogenico. È stato dimostrato che le cellule di MM esprimono e secernono ANG-1 ma non ANG-2, ⁽⁶⁸⁾ mentre elevati livelli di ANG-2 nel midollo osseo favoriscono la progressione del processo

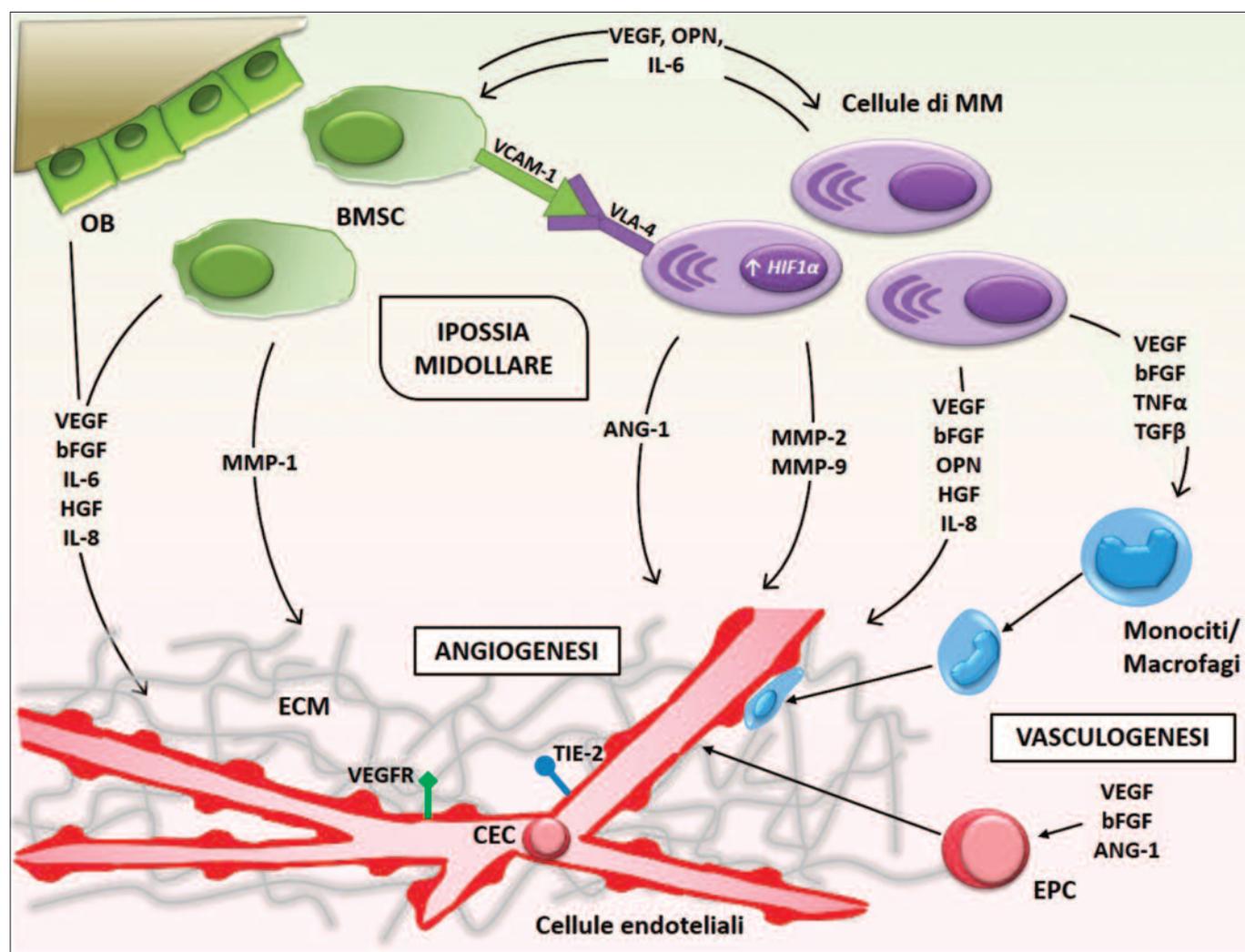


Figura 3 – Meccanismi patogenetici alla base dello switch angiogenico nel mieloma multiplo. Numerose citochine con attività pro-angiogenica prodotte dalle cellule di mieloma multiplo (MM), e/o dalle cellule stromali midollari (BMSC) ed osteoblasti (OB), inducono la proliferazione delle cellule endoteliali (angiogenesi) e la trans-differenziazione di precursori endoteliali (vasculogenesi). Abbreviazioni: cellule endoteliali circolanti (CEC); matrice extracellulare (ECM); cellule progenitrici endoteliali (EPC). Angiopoietina (ANG); basic fibroblast growth factor (bFGF); hepatocyte growth factor (HGF); hypoxia-inducible factor (HIF); interleuchina (IL); metalloproteasi (MMP); osteopontina (OPN); transforming growth factor (TGF); tumor necrosis factor (TNF); vascular cell adhesion molecule (VCAM); vascular endothelial growth factor (VEGF); VEGF receptor (VEGFR); very late antigen (VLA).

neo-angiogenetico e hanno un ruolo prognostico ⁽⁶⁹⁾. Le metalloproteasi (MMP) costituiscono una famiglia di enzimi proteolitici, endopeptidasi zinco-dipendenti, coinvolte nel turnover della matrice extracellulare e nel rimodellamento fisiologico dell'osso; giocano un ruolo fondamentale nel processo di invasione, metastasi e angiogenesi tumorale. Le PC mielomatose producono in particolare le gelatinasi MMP-2 e MMP-9 e inducono la produzione della collagenasi MMP-1 da parte delle BMSC ⁽⁷⁰⁾. OPN è un fattore pro-angiogenico, prodotto direttamente dalle cellule di MM, che agisce prevalentemente attraverso il recettore CD44 e promuove la sopravvivenza e la migrazione delle cellule endoteliali oltre che delle cellule di MM ⁽⁶¹⁾. Inoltre, l'OPN contribuisce indirettamente all'aumento dell'angiogenesi attraverso la modulazione della MMP-2, aumentandone l'espressione nelle cellule tumorali ⁽⁶¹⁾. Nel microambiente mielomatoso OPN è anche secreta dagli OCL, suggerendo il coinvolgimento di tali cellule nella promozione dell'angiogenesi MM-

indotta ⁽⁷¹⁾. IL-6, oltre ad essere un fattore di crescita e di sopravvivenza delle cellule mielomatose, è anche una chemochina coinvolta nell'angiogenesi MM-indotta. Essa, infatti, come già descritto, stimola la produzione di VEGF e OPN da parte delle cellule di MM ⁽⁵⁰⁾. IL-8 è una chemochina, nota anche come CXCL8, prodotta dalle cellule di MM e dalle BMSC ⁽⁶¹⁾. Esercita una potente attività angiogenica dose-dipendente, legandosi ai recettori CXCR1 e CXCR2 presenti sulle cellule endoteliali. Gli effetti angiogenici di IL-8 derivano anche dalla sua capacità di inibire l'apoptosi delle cellule endoteliali. Inoltre IL-8 aumenta nelle cellule endoteliali l'espressione dell'mRNA per le MMP-2 e MMP-9 ⁽⁶¹⁾. Alcuni studi hanno dimostrato una correlazione tra l'espressione di IL-8 nelle cellule di MM e l'espressione aberrante di CD28, e di conseguenza con la progressione della malattia e la localizzazione extra-midollare ⁽⁷²⁾. HGF, sindacano-1 ed eparanasi sono molecole che svolgono un ruolo nello *switch* pro-angiogenico nel MM ⁽⁶¹⁾. HGF è una citochina che lega

	Fonte	Ruolo	Pathway attivati
APRIL	monociti, macrofagi, cellule T, BMSC, OCL	Proliferazione, Inibizione apoptosi, adesione a BMSC	NF-kB, MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
BAFF	monociti, macrofagi, cellule T, BMSC, OCL	Proliferazione, Inibizione apoptosi, adesione a BMSC	NF-kB, MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
CXCL12	BMSC	Proliferazione, <i>homing</i>	MEK/MAPK, PI3K/AKT
HGF	BMSC, cellule di MM	Proliferazione, sopravvivenza	MEK/MAPK
IGF-1	BMSC, EC, OB, OCL	Proliferazione, sopravvivenza, migrazione	MEK/MAPK, PI3K/AKT
IL-1β	monociti, macrofagi, cellule di MM	Produzione di IL-6 da BMSC, regolazione espressione molecole di adesione	NF-kB
IL-3	cellule T, cellule di MM	Proliferazione	MEK/MAPK, JAK/STAT
IL-6	BMSC, EC, OB, OCL, cellule di MM	Proliferazione, sopravvivenza	MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
IL-10	monociti, cellule B e T, OCL	Proliferazione, aumento recettore di IL-11, LIF e OSM	JAK/STAT
IL-11	BMSC, OB	Proliferazione	MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
IL-15	cellule di MM, cellule B e T	Sopravvivenza	NF-kB, MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
IL-21	cellule T, NKT	Proliferazione, sopravvivenza	JAK/STAT
LIF	cellule di MM, BMSC	Proliferazione, sopravvivenza	MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
OSM	cellule di MM, BMSC	Proliferazione, sopravvivenza	MEK/MAPK, JAK/STAT, PI3K/AKT
TGFβ	macrofagi, EC, cellule di MM	Produzione di IL-6 da BMSC	JAK/STAT
TNFα	macrofagi, BMSC, cellule di MM	Produzione di IL-6 da BMSC, regolazione espressione molecole di adesione via NF-kB	NF-kB, MEK/MAPK, PI3K/AKT
VEGF	BMSC, EC, cellule di MM	Produzione di IL-6 da BMSC	MEK/MAPK

Abbreviazioni. BMSC: cellule stromali midollari; EC: cellule endoteliali; NKT: linfociti T *natural killer*; MM: mieloma multiplo; OB: osteoblasti; OCL: osteoclasti.

Tabella 1 – Principali citochine coinvolte nella proliferazione e nella sopravvivenza delle cellule di MM ^(5,40,70).

l'eparina, espressa principalmente dalle cellule mesenchimali. È stato dimostrato che è in grado di stimolare la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule endoteliali e agisce come molecola pro-angiogenica⁽⁷³⁾. HGF è sintetizzata dalle cellule di MM e aumenta la secrezione di MMP-9 da parte delle stesse. L'attività ed il *signaling* di HGF nelle cellule di MM sono incrementati dal CD138, un proteoglicano di membrana altamente espresso dalle cellule di MM⁽⁷³⁾. Questa molecola può essere clivata e rilasciata nel microambiente, favorendo la crescita delle cellule di MM e l'angiogenesi⁽⁷³⁾. L'eparinasi, invece, è una endo-glicosidasi, coinvolta nel clivaggio del sindecano-1 e aumenta le proprietà pro-angiogeniche delle cellule di MM; inoltre, essa up-regola la produzione del VEGF da parte delle stesse⁽⁶¹⁾ (Figura 3).

Ruolo dell'ipossia midollare

L'ipossia è una condizione nota per essere strettamente associata all'angiogenesi, ad un fenotipo maligno e per il ruolo critico svolto nella regolazione dello *switch* angiogenico tumorale⁽⁷⁵⁾. L'adattamento tumorale all'ipossia è principalmente dovuto al fattore di trascrizione *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1 α ⁽⁷⁵⁾. In condizioni di normossia, HIF-1 α è sottoposto a degradazione proteosomiale in seguito ad un'idrossilazione ossigeno-dipendente. Al contrario, in condizioni d'ipossia, l'idrossilazione viene soppressa e HIF-1 α può accumularsi e traslocare nel nucleo dove promuove la trascrizione di diversi geni⁽⁷⁵⁾. Il midollo osseo, come noto, è un ambiente fisiologicamente ipossico⁽⁷⁶⁾, e recentemente è stato dimostrato che anche nei pazienti con MM i livelli di pressione parziale e saturazione di O₂ sono corrispondenti ad un ambiente fortemente ipossico⁽⁷⁷⁾. Da un punto di vista patogenetico, quindi, le cellule di MM crescono nel microambiente midollare e sono cronicamente esposte a bassi livelli di ossigeno, ed è stato infatti riportato che le cellule di MM over-esprimono HIF-1 α ⁽⁷⁶⁾. È interessante notare che la presenza della proteina HIF-1 α è stata comunque osservata anche in circa il 28% delle cellule CD138 positive, purificate da pazienti affetti da MM, in condizioni di normossia⁽⁷⁷⁾, suggerendo che esiste una stabilizzazione di HIF-1 α , indipendente dall'ipossia, verosimilmente associata all'over-espressione dell'oncogene c-Myc⁽⁷⁸⁾.

L'over-espressione di HIF-1 α , sia ossigeno-dipendente che costitutiva, è associata nelle cellule di MM ad un profilo trascrizionale di tipo pro-angiogenico e alla produzione di molecole pro-angiogeniche da parte delle cellule di MM. Queste ultime infatti, in condizioni di ipossia, over-esprimono le citochine VEGF-A e IL-8⁽⁷⁷⁾. Inoltre, è stato riportato che HIF-1 α regola la produzione di VEGF, IL-8 e OPN da parte delle cellule di MM sia a livello di mRNA che a livello proteico⁽⁷⁷⁾ (Figura 3). Infine il silenziamento di HIF-1 α sopprime significativamente le proprietà pro-angiogeniche delle cellule di MM sia in vitro e che in vivo in modelli pre-clinici di MM, suggerendo che HIF-1 α ha un ruolo critico nello sviluppo e nella progressione del MM⁽⁷⁹⁾.

Alterazioni immunologiche

Nell'ambito del microambiente midollare l'interazione fra le cellule di MM e le cellule del sistema immunitario svolge un ruolo essenziale nella comprensione della patogenesi e progressione della malattia^(1,5). La capacità del sistema immunitario di riconoscere e montare una risposta immunitaria verso antigeni espressi su cellule clonogeniche, nelle MGUS, può infatti influenzare la progressione verso il MM sintomatico. In particolare, è stato dimostrato come la presenza di linfociti T anti *sex determining region Y box* (SOX2), un gene embrionale critico per il *self-renewal* delle cellule staminali, può inibire la crescita clonogenica nelle MGUS e predire un *outcome* clinico favorevole nei pazienti con gammopatia monoclonale di tipo indolente⁽⁸⁰⁾. La mancanza di linfociti anti SOX2 nei pazienti con MM suggerisce inoltre la presenza di un diverso profilo immunologico tra MM e MGUS, e supporta ulteriormente il ruolo dell'immunità anti SOX2 nella patogenesi della malattia⁽⁸⁰⁾. Altri autori hanno dimostrato alterazioni nel *pathway* di *natural-killer group 2 member D* (NKG2D), un recettore attivante espresso sulle cellule NK, sui linfociti e sui linfociti CD8⁺, associato alla progressione da MGUS a MM. In particolare, è stato dimostrato come l'espressione del suo ligando *MHC class I chain-related protein A* (MICA) è aumentata nei pazienti con MGUS rispetto ai pazienti con MM, con conseguente alterazione della risposta citotossica linfocitaria⁽⁸¹⁾. Numerose alterazioni del sistema immunitario sono state dimostrate nei pazienti con MM che, come noto, hanno un'elevata suscettibilità alle infezioni⁽⁸²⁾, dovuta sia a un deficit dell'immunità umorale, quale l'immuno-paresi dovuta alla retro-inibizione delle Ig non coinvolte, sia ad alterazioni a carico di cellule immunitarie effettrici, fra cui principalmente cellule dendritiche (DC) e linfociti T⁽⁸²⁾. È stato dimostrato che la quota di DC circolanti in pazienti con MM è numericamente normale, ma disfunzionale a causa di un deficit di espressione di molecole co-stimolatorie (CD80, CD86) necessarie all'attivazione anti-tumorale delle cellule T. In questo mancato sviluppo di DC funzionali gioca un ruolo fondamentale il pool di citochine prodotte attivamente nel microambiente midollare dalle cellule mielomatose (IL-6, IL-10, TGF β , VEGF) che inibiscono anche l'attività di presentazione dell'antigene^(83,84). Ulteriori studi hanno dimostrato come, a sua volta, la diretta interazione tra DC e PC mielomatose, esprimenti CD28, favorisca la sopravvivenza e proliferazione di queste ultime grazie alla produzione di IL-6 e dell'enzima indoleamina 2,3 diossigenasi (IDO) da parte delle DC⁽⁸⁵⁾. IDO causa la deplezione dal microambiente di triptofano, amminoacido essenziale per i linfociti T che divengono quindi anergici, e promuove il differenziamento dei linfociti T verso un fenotipo regolatorio CD25^{high}/FOXP3⁺/CD4⁺, contribuendo quindi a creare il microambiente immunosoppressivo tipico del MM. Inoltre è stato dimostrato che DC immature, che-moattratte verso il midollo osseo dalle PC maligne, siano in grado di transdifferenziare in cellule che riassorbono osso come risultato della derivazione ontogenetica, comune agli OCL, da precursori mo-

nocitari⁽⁸⁶⁾. Ciò contribuisce anche all'aumento delle lesioni litiche, tipiche della patologia, ed è apparentemente legato alla presenza del *tumor necrosis factor receptor superfamily* (TNFRSF)-11 nel microambiente midollare e al contatto cellula-cellula con le PC mielomatose TNFRSF11 positive⁽⁸⁷⁾.

Diversi studi hanno inoltre evidenziato, sia nel midollo osseo che nel sangue periferico di pazienti affetti da MM, significative alterazioni nel numero e nella funzionalità delle cellule T. In particolar modo si assiste ad una diminuzione del rapporto CD4⁺/CD8⁺, evidente soprattutto nei pazienti con malattia in fase avanzata⁽⁸²⁾ e ad uno sbilanciamento nelle sottopopolazioni CD4⁺ T helper (Th)1/Th2 dovuto ad una ridotta produzione di citochine pro-Th1, come IL-2 e Interferone (IFN)- γ e ad una spiccata over-espressione di citochine pro-Th2 come IL-4 e IL-10⁽⁸⁷⁾. Tale sbilanciamento propende quindi verso la tolleranza immunologica, ulteriormente accentuata dall'aumentata frequenza della sottopopolazione T regolatoria (Treg) naïve CD25^{high}/FOXP3⁺/CD4⁺ riscontrata nel sangue periferico dei pazienti con MM⁽⁸⁶⁾. Tuttavia, persistono delle discordanze in letteratura circa la funzionalità e la frequenza dei Treg nel MM, probabilmente legate alla fonte, al metodo di quantificazione e all'immunofenotipo utilizzato⁽⁸⁸⁾.

Tra i meccanismi di soppressione immunologica mediata dal MM, un ruolo importante è rivestito dall'asse *programmed cell death protein* (PD)-1/PD-*ligand* (PD-L) 1. PD-1 è un membro della famiglia dei recettori CD28, espresso sulle cellule T attivate e coinvolto nella regolazione della loro omeostasi; il legame di PD-L1 ne limita infatti la proliferazione, l'attivazione e la produzione di citochine. PD-L1 è over-espresso sulle cellule di MM ed è stato dimostrato che il trattamento con anticorpi anti-PD-L1 favorisce la formazione di linfociti T citotossici, dopo stimolazione con IFN γ o ligandi dei TLR, bloccando l'effetto inibitorio delle cellule di MM⁽⁸⁹⁾. Recentemente, è stato dimostrato che l'interazione delle cellule di MM con le BMSC induce l'espressione di PD-L1 sulle PC mielomatose, promuovendone la proliferazione e la resistenza ai chemioterapici. Inoltre le cellule T e le cellule NK di pazienti affetti da MM over-esprimono il recettore PD-1 rispetto ai controlli sani, suggerendo quindi l'importanza di tale meccanismo nell'immunosoppressione tipica del MM. Un altro fattore coinvolto nella regolazione dell'omeostasi dei linfociti T è *cytotoxic T lymphocyte-associated antigen* (CTLA)-4, membro della famiglia del CD28. Il suo legame con CD80/86 espresso sulle DC stimola infatti il rilascio di IDO da parte delle DC e l'arresto del ciclo cellulare nelle cellule T. Il blocco di CTLA-4 e PD-1/PD-L1 tramite anticorpi monoclonali sembra aumentare la proliferazione delle cellule T effettrici CD4⁺/CD8⁺, il rilascio di citochine antigene-specifiche e l'inibizione delle funzioni soppressive dei Treg⁽⁸⁹⁾.

Altri fattori solubili coinvolti nelle alterazioni immunologiche a carico delle cellule T sono IL-6 e TGF β ⁽⁹⁰⁾. Gli elevati livelli di IL-6 prodotta da BMSC e cellule di MM promuovono infatti il differenziamento

dei linfociti CD4⁺ verso un fenotipo Th2, tramite produzione di IL-4 e IL-5, e inibiscono la polarizzazione verso il fenotipo Th1. Le cellule di MM producono inoltre elevati livelli di TGF β che sopprime l'attivazione delle cellule T attraverso l'inibizione del *pathway* di IL-2 autocrina e stimola la proliferazione dei linfociti Treg^(90,91).

Fra le alterazioni immunologiche riscontrate nei pazienti con MM, recenti studi hanno dimostrato un'elevata frequenza di linfociti Th17 nel midollo osseo e nel sangue periferico, favorita dal microambiente spiccatamente pro-infiammatorio⁽⁹²⁾. Tale sottopopolazione linfocitaria è responsabile della produzione di alti livelli di IL-17, una citochina che, oltre a favorire la sopravvivenza delle PC mielomatose sopprimendo l'azione dei linfociti T citotossici, risulta essere un mediatore chiave della malattia ossea nel MM⁽⁹³⁾. Un ruolo fondamentale nell'espansione dei Th17, e in particolar modo della sottopopolazione Th17-1, è giocato dal contatto diretto con le DC presenti nell'infiltrato tumorale, grazie anche all'esaltata presenza di citochine pro-infiammatorie come IL-6, TNF α e IL-1⁽⁹⁴⁾. I Th17-1 contribuiscono a loro volta alla formazione, tramite fusione delle DC, di cellule giganti che riassorbono osso. Aumentati livelli di IL-17a sono stati riscontrati nel siero midollare di pazienti con MM rispetto a quelli con MGUS⁽⁹⁵⁾. Recenti studi hanno infine dimostrato la presenza di elevati livelli di *myeloid derived suppressor cells* (MDSC) nel sangue periferico e nel midollo di pazienti con MM rispetto ai donatori sani^(96,97).

Le MDSC sono una popolazione eterogenea di progenitori mieloidi e cellule mieloidi immature capaci di sopprimere la risposta immunitaria innata e adattativa, attraverso la produzione di arginasi, *reacting oxygen species* (ROS), cicloossigenasi (COX2), *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) e citochine immunosoppressive (IL-10, IL-6). È stata individuata una popolazione con fenotipo CD11b⁺CD14⁻HLA-DR⁻/low CD33⁺CD15⁺ in grado sia di promuovere la crescita tumorale nel microambiente midollare che di inibire la proliferazione di cellule T CD4⁺/CD8⁺, NKT e DC⁽⁹⁶⁾.

Recentemente è stato inoltre ipotizzato un possibile coinvolgimento delle MDSC nella progressione della malattia, a seguito del rilascio di fattori pro-angiogenici come la MMP-9⁽⁹⁸⁾ e del loro possibile ruolo di progenitori per gli OCL⁽⁹⁹⁾.

Patogenesi delle alterazioni del rimodellamento osseo

Le lesioni ossee nei pazienti con MM sono dovute a un'alterazione del normale rimodellamento osseo che, nelle zone d'infiltrazione plasmacellulare, risulta sbilanciato e disaccoppiato. Dal punto di vista fisiopatologico, due sono i fenomeni che caratterizzano l'alterazione del rimodellamento osseo tipica del MM: l'esaltata formazione osteoclastica e la ridotta formazione osteoblastica⁽¹⁰⁰⁾. Se da un lato le cellule di MM stimolano l'osteoclastogenesi, dall'altro gli OCL promuovono la crescita e la sopravvivenza delle PC mielomatose. L'aumentata osteoclastogenesi indotta dalle cellule di MM crea infatti un circolo vizioso

tramite il rilascio di numerosi fattori di crescita quali IL-6, *chemokine* (C-C motif) *ligand* (CCL) 3, OPN, BAFF e APRIL⁽¹⁰⁰⁾. Al contrario gli OB hanno un effetto opposto sulle cellule di MM, per cui l'inibizione osteoblastica MM-indotta favorisce la crescita tumorale⁽¹⁰⁰⁾.

I meccanismi coinvolti nell'osteoclastogenesi e nella soppressione osteoblastica indotta dalle cellule di MM sono riassunti nella Figura 4.

Osteoclastogenesi

Il fattore stimolante le colonie monocitarie (M-CSF) e il *receptor activator of nuclear factor- κ B ligand* (RANKL) sono i più importanti fattori di crescita e differenziazione per gli OCL, entrambi prodotti dalle BMSC e dai progenitori osteoblastici presenti nel microambiente osseo⁽¹⁰¹⁾. M-CSF attiva la via MAPK e regola principalmente la proliferazione e la sopravvivenza dei precursori osteoclastici; RANKL agisce legandosi al suo specifico recettore RANK sui progenitori osteoclastici e sugli OCL maturi promuovendone la differenziazione, la sopravvivenza, e l'attività. L'azione di RANKL è normalmente antagonizzata dal suo recettore *decoy* solubile, l'osteoprotegerina (OPG) secreta dagli OB⁽¹⁰¹⁾. Il rapporto fra livelli di espressione di RANKL/OPG nel microambiente osteomidollare rappresenta pertanto il principale fattore che regola la formazione osteoclastica e conseguentemente il rimodellamento osseo. Altre citochine svolgono un ruolo nel processo di osteoclastogenesi, come IL-6, IL-1 e TNF α , che possono stimolare la formazione degli OCL con meccanismo sia RANKL dipendente che indipendente, come nel caso del TNF α ⁽¹⁰¹⁾. La generazione degli OCL multinucleati richiede poi chemiotassi e segnali di fusione cellulare: i precursori mononucleati degli OCL secernono chemochine come CCL3, CCL5, *monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1 e altri fattori chemiotattici che stimolano la migrazione cellulare attraverso i recettori per le chemochine *C-C chemokine receptor* (CCR)1, CCR2 e CCR5 espressi sulla membrana dei pre-OCL.

Oltre alle BMSC e ai progenitori osteoblastici, anche i linfociti T modulano l'osteoclastogenesi attraverso la produzione di RANKL e di altri fattori pro-osteoclastogenici come IL-6, IL-1, IL-3, IL-7 e citochine inibitorie come IL-4, IL-10 ed in particolare IFN γ ⁽¹⁰¹⁾.

Nei pazienti con MM, il livello di RANKL nel microambiente osseo è aumentato, mentre l'espressione di OPG è ridotta rispetto ai soggetti con MGUS o sani⁽¹⁰²⁾. In sistemi di co-cultura in vitro, le cellule di MM up-regolano l'espressione di RANKL e down-regolano la secrezione di OPG sia nelle BMSC che nei progenitori osteoblastici⁽¹⁰²⁾, come nei linfociti T midollari⁽¹⁰³⁾, dove si osserva un'alterazione del fisiologico *cross-talk* fra RANKL e IFN γ , con up-regolazione del primo e inibizione del secondo⁽¹⁰¹⁾. La produzione diretta di RANKL da parte delle cellule di MM è invece minima⁽¹⁰²⁾. L'up-regolazione di RANKL dipende dall'adesione fra cellule di MM e BMSC/OB attraverso il sistema integricino VLA-4/VCAM-1, mentre l'inibizione della secrezione di OPG dipende anche da un meccanismo di rilascio di fattori solubili⁽¹⁰²⁾. La riduzione dei livelli di OPG è inoltre dovuta al ridotto numero di OB presenti nel microambiente e alla degrada-

zione diretta da parte delle cellule di MM attraverso il sindecano-1 di superficie⁽¹⁰⁴⁾. Studi in vivo hanno confermato un over-espressione di RANKL in BMSC/OB e nei linfociti T midollari nei pazienti con MM e lesioni litiche rispetto a pazienti senza lesioni ossee⁽¹⁰²⁾. Infine è stato dimostrato come i livelli di RANKL nel sangue periferico e midollare siano elevati nei pazienti con MM, rispetto ai controlli, e il rapporto RANKL/OPG correla con la presenza di malattia ossea avanzata^(105,106). Le cellule di MM possono inoltre attivare l'osteoclastogenesi direttamente, tramite la produzione di CCL3, una chemochina che interagisce con i recettori CCR1 e CCR5 presenti sugli OCL⁽¹⁰⁷⁾. L'over-espressione di CCL3 correla con la presenza di lesioni litiche nei pazienti con MM⁽¹⁰⁸⁾, così come elevati livelli sierici di CCL3 sono stati riscontrati nei pazienti con MM con malattia ossea, rispetto a quelli senza lesioni radiologicamente visibili⁽¹⁰⁷⁾. Altri fattori solubili coinvolti nell'osteoclastogenesi e nell'alterazione del rimodellamento osseo MM-indotte sono IL-3, secreta dalle PC maligne e dalle cellule T, che induce la differenziazione degli OCL in combinazione con RANKL⁽¹⁰⁹⁾, e IL-7, prodotta dalle cellule di MM, che stimola la produzione di RANKL dai linfociti T⁽¹⁰³⁾. Inoltre è stato studiato anche il ruolo di IL-17 e di IL-23. IL-17 è una citochina in grado di attivare gli OCL inducendo la produzione di RANKL⁽⁹³⁾, prodotta dai linfociti Th17 il cui reclutamento nel microambiente dei pazienti con MM è favorito dall'up-regolazione di CCL20^(110,111). Nonostante in condizioni fisiologiche IL-23 limita il riassorbimento osseo, in condizioni fisiopatologiche ha un effetto stimolante sulla formazione di OCL, principalmente attraverso l'induzione di RANKL da parte dei linfociti T e la differenziazione del sottogruppo dei Th17 con la produzione di IL-17⁽¹¹²⁾. È possibile che gli alti livelli di questa citochina contribuiscano all'aumentata osteoclastogenesi attraverso l'espansione di Th17 nei pazienti con MM⁽¹¹²⁾. L'attivina A è un membro della famiglia del TGF β ed è stata recentemente identificata come fattore coinvolto nel disaccoppiamento osteoclastico-osteoblastico nel MM⁽¹¹³⁾. L'attivina A, infatti, promuove il differenziamento degli OCL e inibisce quello degli OB⁽¹¹³⁾. Le BMSC midollari e gli OCL sono le maggiori sorgenti di attivina A e, a loro volta, le cellule di MM ne up-regolano l'espressione da parte delle BMSC. Inoltre, nei pazienti con MM, alti livelli di attivina A sono associati ad un avanzato danno osseo⁽¹¹⁴⁾.

Soppressione osteoblastica

La ridotta neoformazione ossea nel MM è principalmente dovuta a un blocco del processo differenziativo osteogenico delle BMSC indotto dalla presenza nel microambiente osseo delle cellule di MM, attraverso numerosi meccanismi molecolari^(5,100). La formazione osteoblastica dalle BMSC in condizioni fisiologiche è regolata da sistemi ormonali come paratormone, estrogeni e glucocorticoidi e da fattori di crescita locali, fra cui la famiglia della proteina morfogenetica ossea (BMP), il

TGFβ e il bFGF-2⁽¹¹⁵⁾. Queste molecole attivano specifici segnali intracellulari che modificano l'espressione e l'attività di diversi fattori di trascrizione promuovendo la differenziazione osteoblastica⁽¹¹⁵⁾. Runx2, chiamato anche Cbfa1 o AML3, è il principale fattore di trascrizione che regola il *commitment* osteoblastico e la differenziazione osteogenica delle BMSC⁽¹¹⁶⁾. La differenziazione degli OB umani è associata principalmente a un'umentata attività di Runx2⁽¹¹⁷⁾ che induce, durante i differenti stadi di maturazione degli OB, l'espressione dei marcatori osteoblastici quali il collagene I, la fosfatasi alcalina (ALP) e l'osteocalcina⁽¹¹⁷⁾. Sia l'espressione che l'attività di Runx2 sono strettamente regolate da altri fattori di trascrizione come anche da interazioni proteina-DNA o proteina-proteina^(116,117). Diversi studi hanno inoltre dimostrato che il *Wnt signaling* gioca un ruolo critico nella regolazione della formazione osteoblastica^(118,119). La via di segnalazione canonica

del *Wnt signaling* è attivata da Wnt 1/3a che attraverso i recettori *lipoprotein receptor-related protein* (LRP) stimola la fosforilazione del complesso *lycogen synthase kinase* (GSK3)/Axina, portando alla stabilizzazione e traslocazione nucleare della β-catenina defosforilata, che in seguito attiva il sistema di trascrizione Lef1/TCF^(118,119). Diverse molecole regolano negativamente la via di segnalazione canonica del Wnt inducendo la fosforilazione e la conseguente degradazione della β-catenina. Le proteine Dickkopfs (DKK), che comprendono DKK-1, *secreted frizzles related proteins* (sFRP), come sFRP1-2-3-4, e il *Wnt inhibitory factor* (Wif-1), sono i principali inibitori solubili della via canonica di Wnt, che bloccano il differenziamento degli OB in uno stadio precoce e inducono la morte delle cellule immature^(118,119). I modelli in vivo supportano il ruolo della via di segnalazione canonica di Wnt nella regolazione della massa ossea^(118,119), sebbene recenti ri-

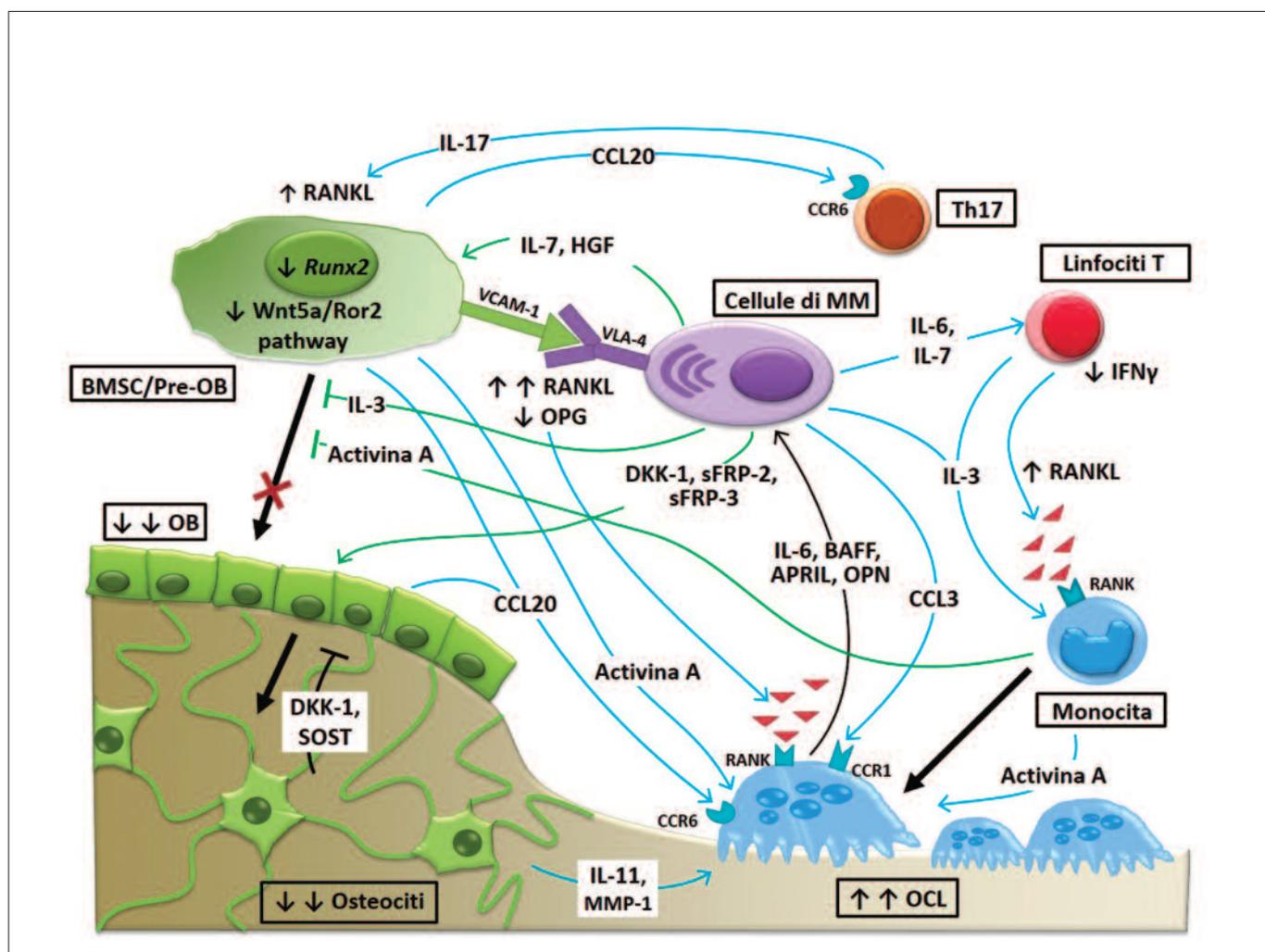


Figura 4 – Patogenesi delle alterazioni del rimodellamento osseo nel mieloma. Meccanismi coinvolti nell'esaltata formazione ed attività osteoclastica e nell'inibizione della neoformazione ossea, indotte dalle cellule di mieloma multiplo (MM) nel midollo osseo. L'interazione tra le cellule di MM e le cellule del microambiente, attraverso il contatto cellulare ed il rilascio di fattori solubili, determina l'attivazione dell'osteoclastogenesi e l'inibizione del differenziamento osteogenico.

Abbreviazioni: cellule stromali midollari (BMSC); osteoblasti (OB); osteoclasti (OCL); progenitori osteoblastici (Pre-OB). A proliferation-inducing ligand (APRIL); B-cell activating factor (BAFF); chemokine (C-C motif) ligand (CCL); C-C chemokine receptor (CCR); dickkopf-related protein (DKK); hepatocyte growth factor (HGF); interferone (IFN); interleuchina (IL); lipoprotein receptor-related protein (LRP); metalloproteasi (MMP); osteoprotegerina (OPG); osteopontina (OPN); receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL); receptor tyrosine kinase-like orphan (Ror); runt-related transcription factor (Runx); secreted frizzled-related protein (sFRP); sclerostina (SOST); vascular cell adhesion molecule (VCAM); very late antigen (VLA).

sultati in vitro ottenuti su cellule mesenchimali umane indicano che l'attivazione della via canonica del Wnt tramite il Wnt3a sopprime la differenziazione osteogenica, mentre l'attivazione della via non-canonica di Wnt mediante Wnt5a ne stimola il differenziamento osteogenico^(120,121). L'effetto pro-osteogenico del Wnt5a sarebbe mediato dall'attivazione e omodimerizzazione del recettore Ror2 nelle stesse cellule osteoprogenitrici⁽¹²²⁾. Il meccanismo di soppressione del differenziamento osteoblastico da parte delle cellule di MM vede coinvolte le sopra citate vie molecolari. In sistemi di co-cultura in vitro, le cellule di MM sopprimono l'osteoblastogenesi inibendo l'attività di Runx2 nelle cellule staminali mesenchimali e osteoprogenitrici⁽¹²³⁾; tale effetto è mediato principalmente dal contatto cellulare tra cellule di MM e cellule osteoprogenitrici attraverso il sistema integrinico VLA-4/VCAM-1 o altre interazioni come NCAM-NCAM (CD56)⁽¹²⁴⁾. La riduzione del numero di OB nei pazienti con lesioni osteolitiche è inoltre associata a una diminuzione significativa della percentuale di OB positivi a Runx2⁽¹²³⁾. La soppressione dell'attività di Runx2 da parte delle cellule di MM è mediata anche da fattori solubili quali IL-7, nota per avere un effetto inibitorio sull'attività del promotore di Runx2 e sull'espressione di marcatori osteoblastici negli OB⁽¹¹⁰⁾. Recentemente è stato dimostrato come la ridotta attività ed espressione di Runx2 nelle BMSC e OB nei pazienti con MM dipenda dall'up-regolazione indotta da IL-7 e TNF α di un fattore trascrizionale con attività repressoria, chiamato Gfi1⁽¹²⁵⁾. Il possibile coinvolgimento di IL-7 nella soppressione osteoblastica è infine supportato dal riscontro di elevati livelli midollari di IL-7 nei pazienti con MM rispetto a soggetti sani di controllo⁽¹⁰⁰⁾ e dalla capacità di anticorpi bloccanti anti-IL-7 di revertire gli effetti inibitori delle cellule di MM sul differenziamento osteogenico⁽¹²³⁾. Altro fattore solubile coinvolto nella soppressione osteoblastica indotta dalle cellule di MM è HGF, prodotto direttamente dalle cellule di MM, che inibisce l'osteoblastogenesi indotta da BMP-2 e l'espressione di ALP e dei fattori di trascrizione Runx2 e Osterix (Osx) nelle BMSC⁽¹²⁶⁾. IL-3 è stata riportata come possibile inibitore osteoblastico nel MM⁽¹⁰⁰⁾. La presenza di tale citochina, a concentrazioni paragonabili a quelle riscontrabili nel plasma midollare dei pazienti con MM, inibisce indirettamente la formazione degli OB, senza influenzare la crescita cellulare; tale meccanismo sembra essere mediato dai monociti/macrofagi. I livelli midollari di IL-3 risultano aumentati in circa il 70% dei pazienti di MM rispetto ai controlli sani o a pazienti con MGUS⁽¹⁰⁹⁾. Il ruolo degli inibitori della via di Wnt nella soppressione dell'osteoblastogenesi nel MM è dimostrato dalla correlazione fra la presenza di lesioni focali ossee nei pazienti con MM e l'over-espressione di DKK-1 da parte delle cellule CD138 positive⁽¹²⁷⁾. Elevati livelli di DKK-1 nel midollo osseo e nel sangue periferico, sono stati anche correlati con la presenza di lesioni ossee⁽¹²⁸⁾. È interessante però notare che i pazienti con malattia avanzata, così come le linee cellulari di MM, non esprimono DKK-1⁽¹²⁷⁾, suggerendo che DKK-1 possa essere correlato con lo sviluppo di lesioni osteolitiche nelle fasi iniziali della malattia. Le cellule di MM producono anche

altri inibitori della via canonica di Wnt, tra cui sFRP-3, detto anche FRZB, e sFRP-2⁽¹²⁸⁾. FRZB è un gene over-espresso dalle cellule CD138⁺ nei pazienti con MM rispetto ai pazienti con MGUS e i livelli plasmatici midollari della proteina sono più elevati in quei pazienti che presentano lesioni ossee rispetto a quelli senza coinvolgimento scheletrico⁽¹²⁸⁾. È stato inoltre riportato che l'attivazione della via canonica di Wnt nel microambiente è in grado di bloccare lo sviluppo di lesioni ossee e la crescita di cellule di MM⁽¹²⁹⁾. È interessante però notare come l'effetto degli anticorpi anti DKK-1 sia indipendente dalla produzione o meno di DKK-1 da parte delle cellule di MM suggerendo come l'effetto positivo sul rimodellamento osseo del blocco di DKK-1 sia dovuto a un effetto sulla produzione di DKK-1 da parte del microambiente stesso, piuttosto che a un effetto sulla produzione di DKK-1 da parte delle cellule di MM⁽¹³⁰⁾. Dato che è stato dimostrato che il differenziamento osteogenico delle BMSC è indotto dalla via non canonica di Wnt, piuttosto che dalla via canonica, recenti studi hanno mostrato come le cellule di MM riescano a bloccare la via non canonica di segnalazione di Wnt, inibendo l'espressione del recettore di Wnt5a, Ror2, nei progenitori osteoblastici umani⁽¹³¹⁾. Queste osservazioni in vitro sembrano suggerire come sia la via non canonica, piuttosto che quella canonica a essere inibita nel microambiente midollare da parte delle cellule di MM, e che questa sia coinvolta nell'inibizione del differenziamento osteogenico nel MM⁽¹³¹⁾. Diversi studi suggeriscono anche un possibile effetto diretto sulle cellule osteoblastiche mature da parte delle cellule di MM, che inibiscono la loro proliferazione e up-regolano l'apoptosi⁽¹³²⁾. Inoltre gli OB ottenuti da pazienti affetti da MM con lesioni ossee estese sembrano essere maggiormente suscettibili all'apoptosi rispetto a quelli ottenuti da pazienti senza lesioni ossee⁽¹³²⁾. Oltre ad indurre apoptosi osteoblastica le cellule di MM sensibilizzano, infatti, le cellule osteoblastiche stesse alla morte cellulare mediata da TRAIL⁽¹³³⁾. Oltre all'effetto diretto sugli OB, recenti studi hanno dimostrato un effetto delle cellule di MM sulla sopravvivenza delle cellule osteocitarie⁽¹³⁴⁾. Gli osteociti, elementi terminali della linea osteoblastica controllano, come noto, l'omeostasi minerale e dell'osso secernendo DKK-1, RANKL e sclerostina (SOST), una molecola che lega i corecettori LRP4, LRP5 e LRP6, inducendo soppressione della proliferazione e della funzionalità osteoblastica⁽¹³⁵⁾. Queste cellule sono in grado, inoltre, di regolare il rimodellamento osseo tramite meccanismi di morte cellulare e apoptosi, che innescano la formazione di OCL ed il riassorbimento osseo⁽¹³⁶⁾. Nei pazienti affetti da MM è stato riscontrato un incremento della mortalità osteocitaria con un maggior numero di lacune ossee vuote rispetto ai soggetti sani e in relazione alla presenza di lesioni ossee⁽¹³⁴⁾. Studi in vitro confermano che le cellule di MM inducono un incremento della mortalità osteocitaria e in sistemi di co-cultura con cellule pre-osteocitarie, up-regolano chemochine pro-osteoclastogeniche come CCL3, IL-11 e MMP-1⁽¹³⁴⁾. In conclusione, la delucidazione della patogenesi della malattia ossea (Figura 4) ha portato all'identificazione di nuovi target terapeutici.

Bibliografia

1. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2011;364(11):1046-60.
2. Kuehl WM, Bergsagel PL. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its pre-malignant precursor. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3456-63.
3. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, Hodnefeld JM, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2007;356(25):2582-90.
4. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(5):335-48.
5. Podar K, Richardson PG, Hideshima T, Chauhan D, Anderson KC. The malignant clone and the bone-marrow environment. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2007;20(4):597-612.
6. González D, van der Burg M, García-Sanz R, Fenton JA, Langerak AW, González M, et al. Immunoglobulin gene rearrangements and the pathogenesis of multiple myeloma. *Blood*. 2007;110(9):3112-21.
7. Bergsagel PL, Kuehl WM. Critical roles for immunoglobulin translocations and cyclin D dysregulation in multiple myeloma. *Immunol Rev*. 2003;194:96-104.
8. Hakim O, Resch W, Yamane A, Klein I, Kieffer-Kwon KR, Jankovic M, et al. DNA damage defines sites of recurrent chromosomal translocations in B lymphocytes. *Nature*. 2012;484(7392):69-74.
9. Iwakoshi NN, Lee AH, Vallabhajosyula P, Otipoby KL, Rajewsky K, Glimcher LH. Plasma cell differentiation and the unfolded protein response intersect at the transcription factor XBP-1. *Nat Immunol*. 2003;4(4):321-9.
10. Shaffer AL, Shapiro-Shelef M, Iwakoshi NN, Lee AH, Qian SB, Zhao H, et al. XBP1, downstream of Blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation. *Immunity*. 2004;21(1):81-93.
11. Radbruch A, Muehlinghaus G, Luger EO, Inamine A, Smith KG, Dörner T, et al. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):741-50.
12. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, Cibulskis K, Sougnez C, Schinzel AC, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature*. 2011;471(7339):467-72.
13. Carrasco DR, Tonon G, Huang Y, Zhang Y, Sinha R, Feng B, et al. High-resolution genomic profiles define distinct clinico-pathogenetic subgroups of multiple myeloma patients. *Cancer Cell*. 2006;9(4):313-25.
14. Walker BA, Leone PE, Jenner MW, Li C, Gonzalez D, Johnson DC, et al. Integration of global SNP-based mapping and expression arrays reveals key regions, mechanisms, and genes important in the pathogenesis of multiple myeloma. *Blood*. 2006;108(5):1733-43.
15. Walker BA, Wardell CP, Chiecchio L, Smith EM, Boyd KD, Neri A, et al. Aberrant global methylation patterns affect the molecular pathogenesis and prognosis of multiple myeloma. *Blood*. 2011;117(2):553-62.
16. Broderick P, Chubb D, Johnson DC, Weinhold N, Försti A, Lloyd A, et al. Common variation at 3p22.1 and 7p15.3 influences multiple myeloma risk. *Nat Genet*. 2011;44(1):58-61.
17. Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, Sawyer J, Barlogie B, Shaughnessy J Jr. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood*. 2005;106(1):296-303.
18. Hurt EM, Wiestner A, Rosenwald A, Shaffer AL, Campo E, Grogan T, et al. Overexpression of c-maf is a frequent oncogenic event in multiple myeloma that promotes proliferation and pathological interactions with bone marrow stroma. *Cancer Cell*. 2004;5(2):191-9.
19. 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(10):3082-6.
20. Walker BA, Leone PE, Chiecchio L, Dickens NJ, Jenner MW, Boyd KD, et al. A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value. *Blood*. 2010;116(15):e56-65.
21. Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y, Bellamy W, Gabrea A, Zhan F, et al. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell*. 2007;12(2):115-30.
22. 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*. 2011;17(24):7776-84.
23. Jenner MW, Leone PE, Walker BA, Ross FM, Johnson DC, Gonzalez D, et al. Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood*. 2007;110(9):3291-300.
24. Leone PE, Walker BA, Jenner MW, Chiecchio L, Dagrada G, Protheroe RK, et al. Deletions of CDKN2C in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res*. 2008;14(19):6033-41.
25. Gonzalez-Paz N, Chng WJ, McClure RF, Blood E, Oken MM, Van Ness B, et al. Tumor suppressor p16 methylation in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Blood*. 2007;109(3):1228-32.
26. Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, Van Loo P, Alexandrov LB, Martincorena I, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun*. 2014;5:2997.
27. Pichiorri F, Suh SS, Ladetto M, Kuehl M, Palumbo T, Drandi D, et al. MicroRNAs regulate critical genes associated with multiple myeloma pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(35):12885-90.
28. Martinez-Garcia E, Popovic R, Min DJ, Sweet SM, Thomas PM, Zamdborg L, et al. The MMSET histone methyltransferase switches global histone methylation and alters gene expression in t(4;14) multiple myeloma cells. *Blood*. 2011;117(1):211-20.
29. Pei H, Zhang L, Luo K, Qin Y, Chesi M, Fei F, et al. MMSET regulates histone H4K20 methylation and 53BP1 accumulation at DNA damage sites. *Nature*. 2011;470(7332):124-8.
30. Anderson K, Lutz C, van Delft FW, Bateman CM, Guo Y, Colman SM, et al. Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia. *Nature*. 2011;469(7330):356-61.
31. López-Corral L, Gutiérrez NC, Vidriales MB, Mateos MV, Rasillo A, García-Sanz R, et al. The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin Cancer Res*. 2011;17(7):1692-700.
32. Brennan SK, Wang Q, Tressler R, Harley C, Go N, Bassett E, et al. Telomerase inhibition targets clonogenic multiple myeloma cells through telomere length-dependent and independent mechanisms. *PLoS One*. 2010;5(9):e12487.
33. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-11.
34. Matsui W, Huff CA, Wang Q, Malehorn MT, Barber J, Tanhehco Y, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood*. 2004;103(6):2332-6.
35. Matsui W, Wang Q, Barber J, Brennan S, Smith BD, Borrello I, et al. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance. *Cancer Res*. 2008;68(1):190-7.
36. Ghosh N, Matsui W. Cancer stem cells in multiple myeloma. *Cancer Lett*. 2009;277(1):1-7.
37. Kuranda K, Berthon C, Dupont C, Wolowiec D, Leleu X, Polakowska R, et al. A subpopulation of malignant CD34+CD138+B7-H1+ plasma cells is present in multiple myeloma patients. *Exp Hematol*. 2010;38(2):124-31.
38. Yata K, Yaccoby S. The SCID-rab model: A novel in vivo system for primary human myeloma demonstrating growth of CD138- expressing malignant cells. *Leukemia*. 2004;18(11):1891-7.
39. Yaccoby S. The phenotypic plasticity of myeloma plasma cells as expressed by differentiation into an immature, resilient, and apoptosis-resistant phenotype. *Clin Cancer Res*. 2005;11(21):7599-606.
40. Podar K, Chauhan D, Anderson KC. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy. *Leukemia*. 2009;23(1):10-24.
41. Garayoa M, Garcia JL, Santamaria C, Garcia-Gomez A, Blanco JF, Pandiella A, et al. Mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients display distinct genomic profile as compared with those from normal donors. *Leukemia*. 2009;23(8):1515-27.

42. Giuliani N, Lisignoli G, Novara F, Storti P, Zaffaroni N, Villa R, et al. Bone osteoblastic and mesenchymal stromal cells lack primarily tumoral features in multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2010;24(7):1368-70.
43. Yaccoby S, Wezeman MJ, Zangari M, Walker R, Cottler-Fox M, Gaddy D, et al. Inhibitory effects of osteoblasts and increased bone formation on myeloma in novel culture systems and a myelomatous mouse model. *Haematologica*. 2006;91(2):192-9.
44. Corre J, Mahtouk K, Attal M, Gadelorge M, Huynh A, Fleury-Cappelless S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma. *Leukemia*. 2007;21(5):1079-88.
45. Arnulf B, Lecourt S, Soulier J, Ternaux B, Lacassagne MN, Crinquette A, et al. Phenotypic and functional characterization of bone marrow mesenchymal stem cells derived from patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2007;21(1):158-63.
46. Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC. Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications. *Blood*. 2004;104(3):607-18.
47. Chillemi A, Zaccarello G, Quarona V, Lazzaretti M, Martella E, Giuliani N, et al. CD38 and bone marrow microenvironment. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2014;19:152-62.
48. Kawano M, Hirano T, Matsuda T, Taga T, Horii Y, Iwato K, et al. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature*. 1988;332(6159):83-5.
49. Costes V, Portier M, Lu ZY, Rossi JF, Bataille R, Klein B. Interleukin-1 in multiple myeloma: producer cells and their role in the control of IL-6 production. *Br J Haematol*. 1998;103(4):1152-60.
50. Klein B, Zhang XG, Lu ZY, Bataille R. Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood*. 1995;85(4):863-72.
51. Menu E, Kooijman R, Van Valckenborgh E, Asosingh K, Bakkus M, Van Camp B, et al. Specific roles for the PI3K and the MEK-ERK pathway in IGF-1-stimulated chemotaxis, VEGF secretion and proliferation of multiple myeloma cells: study in the 5T33MM model. *Br J Cancer*. 2004;90(5):1076-83.
52. Ge NL, Rudikoff S. Insulin-like growth factor I is a dual effector of multiple myeloma cell growth. *Blood*. 2000;96(8):2856-61.
53. Gupta D, Treon SP, Shima Y, Hideshima T, Podar K, Tai YT, et al. Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia*. 2001;15(12):1950-61.
54. Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T, et al. Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood*. 2001;98(2):428-35.
55. Moreaux J, Legouffe E, Jourdan E, Quittet P, Reme T, Lugagne C, et al. BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin-6 deprivation and dexamethasone. *Blood*. 2004;103(8):3148-57.
56. Ma J, Ma D, Ji C. The role of IL-21 in hematological malignancies. *Cytokine*. 2011;56(2):133-9.
57. Roccaro AM, Sacco A, Maiso P, Azab AK, Tai YT, Reagan M, et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression. *J Clin Invest*. 2013;123(4):1542-55.
58. Raimondi L, Amodio N, Di Martino MT, Altomare E, Leotta M, Caracciolo D, et al. Targeting of multiple myeloma-related angiogenesis by miR-199a-5p mimics: in vitro and in vivo anti-tumor activity. *Oncotarget*. 2014;5(10):3039-54.
59. Abdi J, Qiu L, Chang H. Micro-RNAs, New performers in multiple myeloma bone marrow microenvironment. *Biomark Res*. 2014;2:10.
60. Xu S, Cecilia Santini G, De Veirman K, Vande Broek I, Leleu X, et al. Upregulation of miR-135b is involved in the impaired osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from multiple myeloma patients. *PLoS One*. 2013;8(11):e79752.
61. Giuliani N, Storti P, Bolzoni M, Palma BD, Bonomini S. Angiogenesis and multiple myeloma. *Cancer Microenviron*. 2011;4(3):325-37.
62. Munshi NC, Wilson C. Increased bone marrow microvessel density in newly diagnosed multiple myeloma carries a poor prognosis. *Semin Oncol*. 2001;28(6):565-9.
63. Ribatti D, Vacca A. The role of monocytes-macrophages in vasculogenesis in multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23(9):1535-36.
64. Patenaude A, Parker J, Karsan A. Involvement of endothelial progenitor cells in tumor vascularization. *Microvasc Res*. 2010;79(3):217-23.
65. Zhang H, Vakil V, Braunstein M, Smith EL, Maroney J, Chen L, et al. Circulating endothelial progenitor cells in multiple myeloma: implications and significance. *Blood*. 2005;105(8):3286-94.
66. Ria R, Roccaro AM, Merchionne F, Vacca A, Dammacco F, Ribatti D, et al. Vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma. *Leukemia*. 2003;17(10):1961-6.
67. Dankbar B, Padro T, Leo R, Feldmann B, Kropff M, Mesters RM, et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood*. 2000;95(8):2630-6.
68. Giuliani N, Colla S, Lazzaretti M, Sala R, Roti G, Mancini C, et al. Proangiogenic properties of human myeloma cells: production of angiopoietin-1 and its potential relationship to myeloma-induced angiogenesis. *Blood*. 2003;102(2):638-45.
69. Terpos E, Anargyrou K, Katodritou E, Kastiris E, Papatheodorou A, Christoulas D, et al. Circulating angiopoietin-1 to angiopoietin-2 ratio is an independent prognostic factor for survival in newly diagnosed patients with multiple myeloma who received therapy with novel antimyeloma agents. *Int J Cancer*. 2012;130(3):735-42.
70. Barillé S, Akhouchi C, Collette M, Mellerin MP, Rapp MJ, Housseau JL, et al. Metalloproteinases in multiple myeloma: production of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), activation of proMMP-2, and induction of MMP-1 by myeloma cells. *Blood*. 1997;90(4):1649-55.
71. Abe M, Hiura K, Wilde J, Shioyasono A, Moriyama K, Hashimoto T, et al. Osteoclasts enhance myeloma cell growth and survival via cell-cell contact: a vicious cycle between bone destruction and myeloma expansion. *Blood*. 2004;104(8):2484-91.
72. Shapiro VS, Mollenauer MN, Weiss A. Endogenous CD28 expressed on myeloma cells up-regulates interleukin-8 production: implications for multiple myeloma progression. *Blood*. 2001;98(1):187-93.
73. Seidel C, Børset M, Hjertner O, Cao D, Abildgaard N, Hjorth-Hansen H, et al. High levels of soluble syndecan-1 in myeloma-derived bone marrow: modulation of hepatocyte growth factor activity. *Blood*. 2000;96(9):3139-46.
74. Mahtouk K, Hose D, Raynaud P, Hundemer M, Jourdan M, Jourdan E, et al. Heparanase influences expression and shedding of syndecan-1, and its expression by the bone marrow environment is a bad prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2007;109(11):4914-23.
75. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2007;26(2):281-90.
76. Harrison JS, Rameshwar P, Chang V, Bandari P. Oxygen saturation in the bone marrow of healthy volunteers. *Blood*. 2002;99(1):394.
77. Colla S, Storti P, Donofrio G, Todoerti K, Bolzoni M, Lazzaretti M, et al. Low bone marrow oxygen tension and hypoxia-inducible factor-1 overexpression characterize patients with multiple myeloma: role on the transcriptional and proangiogenic profiles of CD138(+) cells. *Leukemia*. 2010;24(11):1967-70.
78. Zhang J, Sattler M, Tonon G, Grabher C, Lababidi S, Zimmerhackl A, et al. Targeting angiogenesis via a c-Myc/hypoxia-inducible factor-1alpha-dependent pathway in multiple myeloma. *Cancer Res*. 2009 Jun 15;69(12):5082-90.
79. Storti P, Bolzoni M, Donofrio G, Airolidi I, Guasco D, Toscani D, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 suppression in myeloma cells blocks tumoral growth in vivo inhibiting angiogenesis and bone destruction. *Leukemia*. 2013;27(8):1697-706.
80. Spisek R, Kukreja A, Chen LC, Matthews P, Mazumder A, Vesole D, et al. Frequent and specific immunity to the embryonal stem cell-associated antigen SOX2 in patients with monoclonal gammopathy. *J Exp Med*. 2007;204(4):831-40.
81. Jinushi M, Vanneman M, Munshi NC, Tai YT, Prabhala RH, Ritz J, et al. MHC class I chain-related protein A antibodies and shedding are associated with the progression of multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(4):1285-90.
82. Tete SM, Bijl M, Sahota SS, Bos NA. Immune defects in the risk of infection and response to vaccination in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. *Front Immunol*. 2014;5:257.
83. Ratta M, Fagnoni F, Curti A, Vescovini R, Sansoni P, Oliviero B, et al. Dendritic cells are functionally defective in multiple myeloma: the role of interleukin-6. *Blood*. 2002;100(1):230-7.

84. Brown RD, Pope B, Murray A, Esdale W, Sze DM, Gibson J, et al. Dendritic cells from patients with myeloma are numerically normal but functionally defective as they fail to up-regulate CD80 (B7-1) expression after huCD40LT stimulation because of inhibition by transforming growth factor-beta1 and interleukin-10. *Blood*. 2001;98(10):2992-8.
85. Bahlis NJ, King AM, Kolonias D, Carlson LM, Liu HY, Hussein MA, et al. CD28-mediated regulation of multiple myeloma cell proliferation and survival. *Blood*. 2007;109(11):5002-10.
86. Beyer M, Kochanek M, Giese T, Endl E, Weihrauch M, Knolle P, et al. In vivo peripheral expansion of naïve CD4+CD25highFoxP3+ regulatory T cells in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2006;107(10):3940-9.
87. Frassanito MA, Cusmai A, Dammacco F. Deregulated cytokine network and defective Th1 immune response in multiple myeloma. *Clin Exp Immunol*. 2001;125(2):190-7.
88. Prabhala RH, Neri P, Bae JE, Tassone P, Shammas MA, Allam CK, et al. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood*. 2006;107(1):301-4.
89. Atanackovic D, Luetkens T, Kröger N. Coinhibitory molecule PD-1 as a potential target for the immunotherapy of multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28(5):993-1000.
90. Pratt G, Goodyear O, Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007;138(5):563-79.
91. Giannopoulos K, Kaminska W, Hus I, Dmoszynska A. The frequency of T regulatory cells modulates the survival of multiple myeloma patients: detailed characterization of immune status in multiple myeloma. *Br J Cancer*. 2012;106(3):546-52.
92. Prabhala RH, Pelluru D, Fulciniti M, Prabhala HK, Nanjappa P, Song W, et al. Elevated IL-17 produced by TH17 cells promotes myeloma cell growth and inhibits immune function in multiple myeloma. *Blood*. 2010;115(26):5385-92.
93. Noonan K, Marchionni L, Anderson J, Pardoll D, Roodman GD, Borrello I. A novel role of IL-17-producing lymphocytes in mediating lytic bone disease in multiple myeloma. *Blood*. 2010;116(18):3554-63.
94. Dhodapkar KM, Barbuto S, Matthews P, Kukreja A, Mazumder A, Vesole D, et al. Dendritic cells mediate the induction of polyfunctional human IL17-producing cells (Th17-1 cells) enriched in the bone marrow of patients with myeloma. *Blood*. 2008;112(7):2878-85.
95. Tucci M, Stucci S, Savonarola A, Ciavarella S, Cafforio P, Dammacco F, et al. Immature dendritic cells in multiple myeloma are prone to osteoclast-like differentiation through interleukin-17A stimulation. *Br J Haematol*. 2013;161(6):821-31.
96. Görgün GT, Whitehill G, Anderson JL, Hideshima T, Maguire C, Laubach J, et al. Tumor-promoting immune-suppressive myeloid-derived suppressor cells in the multiple myeloma microenvironment in humans. *Blood*. 2013;121(15):2975-87.
97. Ramachandran IR, Martner A, Pisklakova A, Condamine T, Chase T, Vogt T, et al. Myeloid-derived suppressor cells regulate growth of multiple myeloma by inhibiting T cells in bone marrow. *J Immunol*. 2013;190(7):3815-23.
98. Yang L, DeBusk LM, Fukuda K, Fingleton B, Green-Jarvis B, Shyr Y, et al. Expansion of myeloid immune suppressor Gr+CD11b+ cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis. *Cancer Cell*. 2004;6(4):409-21.
99. Sawant A, Ponnazhagan S. Myeloid-derived suppressor cells as osteoclast progenitors: a novel target for controlling osteolytic bone metastasis. *Cancer Res*. 2013;73(15):4606-10.
100. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia*. 2009;23(3):435-41.
101. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*. 2001;42(12):5050-5.
102. Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, Barillé S. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood*. 2001;98(13):3527-33.
103. Giuliani N, Colla S, Sala R, Moroni M, Lazzaretti M, La Monica S, et al. Human myeloma cells stimulate the receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) in T lymphocytes: a potential role in multiple myeloma bone disease. *Blood*. 2002;100(13):4615-21.
104. Standal T, Seidel C, Hjertner Ø, Plesner T, Sanderson RD, Waage A, et al. Osteoprotegerin is bound, internalized, and degraded by multiple myeloma cells. *Blood*. 2002;100(8):3002-7.
105. Seidel C, Hjertner Ø, Abildgaard N, Heickendorff L, Hjorth M, Westin J, et al. Nordic Myeloma Study Group. Serum osteoprotegerin levels are reduced in patients with multiple myeloma with lytic bone disease. *Blood*. 2001;98(7):2269-71.
106. Terpos E, Szydlo R, Apperley JF, Hatjiharissi E, Politou M, Meletis J, et al. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood*. 2003;102(3):1064-9.
107. Choi SJ, Cruz JC, Craig F, Chung H, Devlin RD, Roodman GD, et al. Macrophage inflammatory protein 1-alpha is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood*. 2000;96(2):671-5.
108. Magrangeas F, Nasser V, Avet-Loiseau H, Loric B, Decaux O, Granjeaud S, et al. Gene expression profiling of multiple myeloma reveals molecular portraits in relation to the pathogenesis of the disease. *Blood*. 2003;101(12):4998-5006.
109. Lee JW, Chung HY, Ehrlich LA, Jelinek DF, Callander NS, Roodman GD, et al. IL-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood*. 2004;103(6):2308-15.
110. Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, Maeda S, Teradaira S, Sugimoto N, et al. Preferential recruitment of CCR6-expressing Th17 cells to inflamed joints via CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J Exp Med*. 2007;204(12):2803-12.
111. Giuliani N, Lisignoli G, Colla S, Lazzaretti M, Storti P, Mancini C, et al. CC-chemokine ligand 20/macrophage inflammatory protein-3 and CC-chemokine receptor 6 are overexpressed in myeloma microenvironment related to osteolytic bone lesions. *Cancer Res*. 2008;68(16):6840-50.
112. Giuliani N, Airoldi I. Novel insights into the role of interleukin-27 and interleukin-23 in human malignant and normal plasma cells. *Clin Cancer Res*. 2011;17(22):6963-70.
113. Fuller K, Bayley KE, Chambers TJ. Activin A is an essential cofactor for osteoclast induction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;268(1):2-7.
114. Vallet S, Mukherjee S, Vaghela N, Hideshima T, Fulciniti M, Pozzi S, et al. Activin A promotes multiple myeloma-induced osteolysis and is a promising target for myeloma bone disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(11):5124-9.
115. Kobayashi T, Kronenberg H. Minireview: transcriptional regulation in development of bone. *Endocrinology*. 2005;146(3):1012-7.
116. Franceschi RT, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: responsiveness to multiple signal transduction pathways. *J Cell Biochem*. 2003;88(3):446-54.
117. Shui C, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Changes in Runx2/Cbfa1 expression and activity during osteoblastic differentiation of human bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res*. 2003;18(2):213-21.
118. Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene*. 2004;341:19-39.
119. Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest*. 2006;116(5):1202-9.
120. Baksh D, Boland GM, Tuan RS. Cross-talk between Wnt signaling pathways in human mesenchymal stem cells leads to functional antagonism during osteogenic differentiation. *J Cell Biochem*. 2007;101(5):1109-24.
121. Baksh D, Tuan RS. Canonical and non-canonical Wnts differentially affect the development potential of primary isolate of human bone marrow mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*. 2007;212(3):817-26.
122. Liu Y, Rubin B, Bodine PV, Billiard J. Wnt5a induces homodimerization and activation of Ror2 receptor tyrosine kinase. *J Cell Biochem*. 2008;105(2):497-502.
123. Giuliani N, Colla S, Morandi F, Lazzaretti M, Sala R, Bonomini S, et al. Myeloma cells block RUNX2/CBFA1 activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation. *Blood*. 2005;106(7):2472-83.
124. Ely SA, Knowles DM. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *Am J Pathol*. 2002;160(4):1293-9.
125. D'Souza S, del Prete D, Jin S, Sun Q, Huston AJ, Kostov FE, et al. Gfi1 expressed in bone marrow stromal cells is a novel osteoblast suppressor in patients with multiple myeloma bone disease. *Blood*. 2011;118(26):6871-80.
126. Standal T, Abildgaard N, Fagerli UM, Stordal B, Hjertner O, Borset M, et al. HGF inhibits BMP-induced osteoblastogenesis: possible implications for the bone disease of multiple myeloma. *Blood*. 2007;109(7):3024-30.
127. Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;349(26):2483-94.

128. Giuliani N, Morandi F, Tagliaferri S, Lazzaretti M, Donofrio G, Bonomini S, et al. Production of Wnt inhibitors by myeloma cells: potential effects on canonical Wnt pathway in the bone microenvironment. *Cancer Res.* 2007;67(16):7665-74.
129. Edwards CM, Edwards JR, Lwin ST, Esparza J, Oyajobi BO, McCluskey B, et al. Increasing Wnt signaling in the bone marrow microenvironment inhibits the development of myeloma bone disease and reduces tumor burden in bone in vivo. *Blood.* 2008;111(5):2833-42.
130. Yacoby S, Ling W, Zhan F, Walker R, Barlogie B, Shaughnessy JD Jr. Antibody-based inhibition of DKK1 suppresses tumor-induced bone resorption and multiple myeloma growth in vivo. *Blood.* 2007;109(5):2106-11.
131. Bolzoni M, Donofrio G, Storti P, Guasco D, Toscani D, Lazzaretti M, et al. Myeloma cells inhibit non-canonical wnt co-receptor *ror2* expression in human bone marrow osteoprogenitor cells: effect of *wnt5a/ror2* pathway activation on the osteogenic differentiation impairment induced by myeloma cells. *Leukemia.* 2013;27(2):451-63.
132. Silvestris F, Cafforio P, Tucci M, Grinello D, Dammacco F. Upregulation of osteoblast apoptosis by malignant plasma cells: a role in myeloma bone disease. *Br J Haematol.* 2003;122(1):39-52.
133. Tinhofe I, Biedermann R, Krismer M, Crazzolaro R, Greil R. A role of TRAIL in killing osteoblasts by myeloma cells. *FASEB J.* 2006;20(6):759-61.
134. Giuliani N, Ferretti M, Bolzoni M, Storti P, Lazzaretti M, Dalla Palma B, et al. Increased osteocyte death in multiple myeloma patients: role in myeloma-induced osteoclast formation. *Leukemia.* 2012;26(6):1391-401.
135. van Bezooijen RL, ten Dijke P, Papapoulos SE, Löwik CW. SOST/sclerostin, an osteocyte-derived negative regulator of bone formation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16(3):319-27.
136. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res.* 2011;26(2):229-38.

Parole Chiave

Mieloma multiplo, patogenesi, genetica, angiogenesi, osteolisi

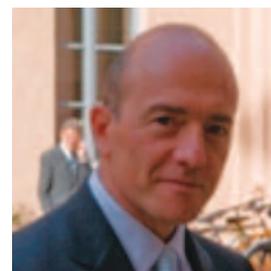
Indirizzi per la corrispondenza

Nicola Giuliani, MD, PhD
 Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
 Università Degli Studi di Parma e U.O. di Ematologia e CTMO
 Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma
 Via Gramsci 14, 43126 Parma
 Tel. (+39) 0521033299
 Fax (+39) 0521033264
 E-mail: nicola.giuliani@unipr.it

Ringraziamenti

Si ringrazia Dirce Gennari per il supporto tecnico nella stesura del manoscritto.
 Si ringrazia AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) per il supporto (N.G.; M.B.)

Fattori prognostici



Alessandro Corso

Division of Hematology, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo,
University of Pavia, Italy

Introduzione

Il mieloma multiplo (MM) è una malattia ematologica caratterizzata da una proliferazione anormale di plasmacellule midollari e da una sovrapproduzione di immunoglobuline. Negli ultimi anni, grazie alle nuove terapie adottate sia in induzione che in recidiva, si sono ottenuti dei risultati molto promettenti sia in termini di sopravvivenza libera da progressione di malattia (PFS) che di sopravvivenza globale (OS). Malgrado questi risultati, però, la prognosi non è la stessa per tutti i pazienti. Questa variabilità è legata principalmente all'eterogeneità clinica e biologica del MM che è responsabile dell'evoluzione della malattia verso una forma terminale di resistenza-refrattarietà ai farmaci disponibili. Per stratificare i pazienti e adattare il trattamento in base alle loro caratteristiche, sarebbe molto vantaggioso avere a disposizione dei parametri clinici o di laboratorio con un ruolo prognostico definito.

Molti sono gli studi condotti sui fattori prognostici che possiamo classificare come segue:

- fattori prognostici correlati all'ospite
- fattori prognostici correlati alla massa tumorale
- fattori prognostici correlati alla presentazione della malattia e alle sue complicazioni
- fattori prognostici correlati alla biologia del mieloma
- risposta alla terapia

Fattori prognostici correlati all'ospite

Il *performance status* e l'età hanno un ruolo prognostico importante nel MM. Bladè et al. ha dimostrato che i pazienti con un'età >70 anni hanno una mediana di sopravvivenza globale inferiore ai 2 anni rispetto a quella dei pazienti più giovani che è superiore ai 3 anni ⁽¹⁾. Ludwig et al. in uno studio controllato internazionale riporta una prognosi migliore per i pazienti con un'età inferiore ai 50 anni ⁽²⁾. Il gruppo di Torino, in una metanalisi che includeva 1.435 pazienti arruolati in quattro trial europei ha dimostrato che l'età avanzata (≥ 75 anni), l'insufficienza renale, l'insorgenza di complicanze cardiache severe, le infezioni, le complicanze gastrointestinali e l'inter-

ruzione del trattamento sono predittivi di una sopravvivenza più breve ⁽³⁾. In uno studio condotto su pazienti ottuagenari, Dimopoulos et al. ha dimostrato che questi pazienti presentano una malattia di solito in fase molto più avanzata dei pazienti più giovani (anemia, alto ISS, insufficienza renale, performance status scadente), con un'incidenza di mortalità precoce del 14%, principalmente dovuta alle infezioni e alle complicanze associate all'insufficienza renale. Nello stesso lavoro, però, se veniva esclusa la mortalità precoce, la terapia era in grado di migliorare significativamente la sopravvivenza. Questo indica che la prognosi dei pazienti molto anziani può cambiare in modo radicale se si interviene rapidamente con una terapia adeguata che includa i nuovi farmaci ⁽⁴⁾.

Fattori correlati alla massa tumorale

Nel corso degli anni, sono stati proposti molti sistemi di stadiazione. Fin dal 1975 la stadiazione di Durie & Salmon è stata adottata come standard per l'inquadramento dei pazienti affetti da mieloma all'esordio ⁽⁵⁾. Malgrado il suo uso diffuso e prolungato nel tempo non c'è accordo sul reale ruolo prognostico. Basandosi sull'importanza della S β 2M e dell'albumina sierica (SA), l'*International Myeloma Working Group* (IMWG) ha sviluppato l'*International Staging System* (ISS) ⁽⁶⁾. Questo sistema, ottenuto grazie a uno studio cooperativo su 11.171 pazienti diagnosticati in 17 istituzioni di tutto il mondo, si basa su due semplici test di laboratorio e permette di stratificare i pazienti identificando tre gruppi che mostrano mediane di sopravvivenza significativamente diverse (62, 44 e 29 mesi). Questa classificazione è riproducibile su pazienti di qualunque età e provenienza geografica, in pazienti trattati con terapia convenzionale o ad alte dosi. Malgrado questi vantaggi oggettivi, l'ISS presenta delle importanti limitazioni. In particolare, il gruppo di rischio III è molto eterogeneo in quanto sono inclusi pazienti che mostrano valori alterati di S β 2M anche per problemi renali indipendenti dalla malattia di base. L'ISS, quindi, non può essere usato per stratificare il rischio a fini di definizione della terapia e non riesce a rispecchiare esattamente la massa tumorale ⁽⁷⁾. Hari et al., inoltre, ha dimostrato che, nel setting di pa-

zienti sottoposti al trapianto, l'ISS non aggiunge nulla in termini di predittività rispetto alla stadiazione di Durie & Salmon⁽⁸⁾. Per cercare di superare questi limiti sono stati fatti alcuni tentativi di combinare le informazioni derivate dal sistema ISS con altri parametri. In un lavoro recente dell'IMWG si è riusciti a identificare tre gruppi di pazienti con una sopravvivenza significativamente diversa combinando l'ISS con alcune alterazioni cromosomiche in FISH [del(13), t(4;14), del(17p), t(11;14) and t(14;16)]. I pazienti ad alto rischio che presentavano un ISS II o III e la presenza della t(4;14) e/o della delezione del 17p13 avevano una mediana di sopravvivenza di circa 2 anni mentre gli altri (ISS I o II e assenza di alterazioni in FISH) mostravano una sopravvivenza a 5 e 10 anni del 70% e 51% rispettivamente⁽⁹⁾. Uno sforzo ulteriore è stato fatto nello studio di Moreau et al.⁽¹⁰⁾ al fine di identificare i pazienti ad alto rischio di morte legata a una progressione precoce. Lo score di rischio è basato su tre variabili con peso prognostico indipendente [LDH, ISS3 e la presenza di t(4;14) e/o del(17p)] che hanno permesso di classificare 4 classi di rischio (da 0 a 3). Pazienti con uno score di 3, definite dalla presenza di t(4;14) e/o del(17p) in combinazione con ISS III e/o valori di LDH superiori al normale hanno una prognosi infausta anche se trattati con schemi di terapia che includono il bortezomib⁽¹⁰⁾.

Fattori correlati alla presentazione della malattia e alle complicanze

L'insufficienza renale è una complicanza comune nel MM: la sua incidenza non è molto cambiata nell'ultima decade nonostante l'incremento nel numero di pazienti con età avanzata, che come sappiamo è associato a un aumentato grado di insufficienza renale. Pertanto, dopo aver aggiustato per l'età, l'incidenza della malattia renale all'esordio sembra diminuita⁽¹¹⁾. L'insufficienza renale è associata a una sopravvivenza più breve, un'aumentata incidenza di effetti collaterali da farmaci e a una maggiore incidenza di mortalità precoce (entro i primi sei mesi dalla diagnosi)⁽¹²⁾, che aumenta in relazione alla gravità dell'insufficienza renale. Infatti, si va dal 12% nei pazienti con insufficienza renale severa, al 7% se moderata, al 3% se lieve o con funzionalità normale ($p < 0.001$)⁽¹¹⁾. Nello studio, Dimopoulos et al., confrontando l'outcome di pazienti trattati in periodi differenti ha dimostrato che, malgrado si osservi un miglioramento, la sopravvivenza globale dei pazienti con insufficienza renale moderata o grave rimane più breve⁽¹¹⁾. La possibilità di recuperare l'insufficienza renale in pazienti affetti da MM varia dal 20%, che si otteneva con la terapia convenzionale in passato⁽¹³⁾, al 70% osservato in studi più recenti con l'adozione dei nuovi farmaci^(14,15). Bladè et al ha identificato tre parametri associati alla possibilità di recupero della funzionalità renale: creatinina inferiore a 4 mg/dl, proteinuria delle 24 ore inferiore a 1 g e una calcemia sierica $> 11,5$ mg/dl⁽¹³⁾. È importante considerare che la sopravvivenza dei pazienti che recuperano la funzione renale è simile a quella di coloro che mostrano una funzionalità nella

norma fin dall'esordio^(13,14). In uno studio retrospettivo, Dimopoulos et al⁽¹⁵⁾ ha osservato un miglioramento della funzionalità renale nel 77% dei pazienti trattati con bortezomib, nel 55% con talidomide e nel 43% con lenalidomide. La combinazione del bortezomib con il desametasone ad alte dosi si associava a un tempo più breve alla risposta renale. In più, se all'induzione con uno schema contenente bortezomib si fa seguire una terapia ad alte dosi con trapianto autologo di cellule staminali periferiche si annulla il peso prognostico negativo dell'insufficienza renale⁽¹⁶⁾. È quindi chiaro che, anche in questo caso, una terapia precoce e adeguata produce un miglioramento significativo della prognosi.

La presenza di malattia extramidollare alla diagnosi è da sempre associata nei pazienti con MM a una prognosi infausta^(17,18,19,20). L'incidenza di malattia extramidollare all'esordio varia dal 7 al 18%^(18,20,21); un 6-20% si osserva poi nel corso della malattia^(18,20,21). È stato anche ipotizzato che la ricaduta extramidollare sia più frequente nei pazienti sottoposti a trapianto allogenico^(22,23) o trattati con i nuovi farmaci^(24,25,26), sebbene questa ultima ipotesi non sia stata confermata in altri studi⁽²⁰⁾. Inoltre, il rischio di sviluppare una progressione extramidollare aumenta nei pazienti che presentavano già all'esordio una localizzazione extramidollare con un rischio 13 volte più alto rispetto a coloro che avevano una presentazione di malattia diversa⁽²⁰⁾. Questo supporta l'idea che alcune caratteristiche intrinseche del clone neoplastico o del microambiente midollare piuttosto che le terapie effettuate possano essere responsabili delle progressioni extramidollari. La presenza di una malattia extramidollare in qualunque momento della storia di un paziente rappresenta un fattore prognostico negativo in termini di sopravvivenza libera da progressione di malattia e globale⁽²⁰⁾. L'adozione di programmi di terapia ad alte dosi può annullare l'impatto negativo di una malattia extramidollare all'esordio^(20,21). Per quanto riguarda i farmaci nuovi, il bortezomib e la lenalidomide ma non la talidomide sembrano avere un'efficacia nelle progressioni extramidollari^(27,28). Al contrario, la presenza di una leucemizzazione alla diagnosi ha una prognosi infausta con una PFS di 0,8 mesi e una OS di 1,8 anni che non è cambiata in modo sostanziale con l'introduzione dei più moderni approcci terapeutici^(29,30).

Fattori correlati alla biologia del tumore

Il *plasma cell labeling index* (PCLI) è un test che misura l'attività proliferativa delle plasmacellule neoplastiche del mieloma⁽³¹⁾. Il principio che sottende questo test è che le cellule che si trovano in fase S incorporano la bromodeossiuridina, che poi è coniugata con un anticorpo monoclonale specifico (BU-1). Sebbene parecchi studi abbiano dimostrato il ruolo prognostico negativo del *labeling index* nei pazienti con MM^(32,33), il suo uso è molto limitato per il fatto che pochi laboratori eseguono questo test e che non è facilmente riproducibile. Il ruolo della citomorfologia delle plasmacellule è stato af-

frontato in vari studi e la presentazione con caratteristiche plasmablastiche è stata riportata come un fattore prognostico negativo, anche se su questo aspetto non ci sono interpretazioni univoche⁽³⁴⁾. Anche elevati livelli di LDH pre-terapia sono stati associati a una sopravvivenza inferiore in pazienti sottoposti a terapia convenzionale o a nuovi agenti biologici^(35,36).

Le anomalie cromosomiche nel MM sono molto complesse e, se si ricorre alle tecniche più recenti, è possibile riscontrarne nella maggior parte dei pazienti⁽³⁷⁾. La presenza di anomalie citogenetiche da sempre è associata a un mieloma con un più alto indice proliferativo e con un outcome peggiore. La presenza, ad esempio, di alterazioni come la del(13), la t(4;14), e la del(17p) sono associate a una minore durata della risposta alla terapia e a ridotte sopravvivenze libere da malattia e globale⁽³⁸⁾. C'è da dire però che i dati relativi all'interpretazione del peso prognostico di queste variabili non è sempre univoco. La del(13), ad esempio, se isolata in FISH non ha un peso prognostico negativo che invece esprime quando viene riscontrata in associazione con la t(4;14) la del(17p). Anche il ruolo della t(4;14) può cambiare in particolari situazioni cliniche. I pazienti, infatti, che hanno valori di emoglobina superiori a 10 g/l e di beta-2 microglobulina inferiori a 4 mg/l mostrano un outcome migliore⁽³⁹⁾. Anche i dati sulla t(14;16) e sulle alterazioni del cromosoma 1q21 (1q21b) sono contrastanti. Alcuni studi, infatti, riportano dati che dimostrano un loro ruolo prognostico negativo indipendente^(40,41,42) mentre altri no^(43,44). La presenza della del(17p), invece, rappresenta sempre un fattore prognostico negativo riducendo il tempo alla progressione e la sopravvivenza e aumentando la resistenza ai farmaci⁽⁴⁵⁾.

Tutto questo quadro, inoltre, negli ultimi anni sta cambiando ulteriormente dopo l'introduzione nella pratica clinica dei nuovi farmaci. Studi recenti, ad esempio, hanno dimostrato che gli schemi di terapia di induzione che includano il bortezomib, in particolare se associato al desametasone ad alte dosi, annullano il ruolo prognostico negativo della maggior parte delle anomalie cromosomiche sopra descritte, in particolare della del(13) e della t(4;14), come pure dell'ISS sia nei pazienti candidati al trapianto che non^(46,47,48,49).

Anche se in misura minore, ci sono delle evidenze anche per la lenalidomide. Alcuni studi, infatti, dimostrano che pazienti ad alto rischio con anomalie cromosomiche o ISS avanzato se trattati con lenalidomide in combinazione con melfalan e prednisone o con desametasone mostrano sopravvivenze sovrapponibili a quelle dei pazienti a basso rischio, sia in induzione⁽⁵⁰⁾ che in recidiva^(45,51). Questi risultati suggeriscono che, allo stato attuale dello studio, le anomalie cromosomiche se usate da sole hanno un peso prognostico limitato. *Gene expression profiling* (GEP) fornisce informazioni sul livello di espressione di grandi numeri di geni associati con caratteristiche salienti della malattia come la capacità proliferativa, l'apoptosi, la resistenza ai farmaci. Sebbene in letteratura esistano già evidenze di

correlazioni fra alcuni profili genomici e alcuni sottogruppi clinici di mielomi o alcune caratteristiche di presentazione^(52,53), la loro utilità prognostica è ancora in via di definizione. Questo insieme alla scarsa riproducibilità dei risultati e all'evidente difficoltà nell'interpretazione dei risultati da parte dei clinici fa sì che, al momento, queste tecniche abbiano più un interesse in ambito di ricerca e che non siano, allo stato attuale, utili nella pratica clinica^(54,55).

La situazione è pressoché sovrapponibile per quanto riguarda i polimorfismi nucleotidici (SNP) studiati nel mieloma relativamente alle regioni cromosomiche 2p, 3p, 6p, 7p, 17p, and 11q^(56,57) e lo studio delle mutazioni geniche studiate con il sequenziamento genomico^(58,59) per i quali un ruolo prognostico è ancora tutto da definire.

Risposta alla terapia

Ci sono parecchie evidenze in letteratura che supportano l'ipotesi che l'ottenimento di una remissione completa (RC) sia un importante surrogato per il miglioramento della sopravvivenza^(60,61,62,63). Alcuni studi suggeriscono anche che non è tanto l'ottenimento della risposta completa quanto la sua durata nel tempo a garantire un miglioramento dell'outcome^(64,65,66). Il principio comunque è che tanto più profonda è la risposta ottenuta, tanto più lunghe sono la PFS e l'OS. Alcuni studi, infatti, hanno dimostrato che i pazienti che ottengono una risposta completa stringente (*stringent complete response*, sCR), con la normalizzazione del rapporto delle catene leggere libere sieriche e la scomparsa all'immunofenotipo delle cellule clonali^(67,68), o ancora meglio una risposta molecolare, con l'assenza di cloni neoplastici identificabili alla PCR^(69,70), hanno una sopravvivenza significativamente migliore di quelli con una risposta completa.

Infine, in uno studio recente, la combinazione dell'ISS all'esordio con la risposta alla terapia valutata dopo il trapianto permetteva la distinzione dei pazienti in tre gruppi a differente rischio di progressione⁽⁷¹⁾.

Conclusioni

Il MM è una malattia neoplastica molto complessa da un punto di vista biologico e questo è confermato dalla moltitudine di anomalie cromosomiche identificate con studi molecolari che sottendono all'enorme eterogeneità clinica di questa malattia. Questa difficoltà di definizione, la notevole e variegata espressività clinica della malattia e l'inguaribilità della stessa hanno rappresentato i motivi di una notevole attenzione e di molti studi volti a identificare parametri clinici o di laboratorio che potessero permettere di adattare le terapie a diversi gruppi di pazienti. L'impossibilità di identificare *pathway* molecolari con i quali poter interferire con farmaci target ci costringe ancora oggi, malgrado l'introduzione di nuovi farmaci biologici, a intervenire sulla malattia in modo aspecifico senza riuscire a ottenere, a parte pochi casi aneddotici, la guarigione.

Allo stato attuale delle cose, quindi, l'utilità di avere disponibili dei

fattori di prognosi sarebbe di poter prospettare ai pazienti un possibile scenario della malattia dal momento che, certamente, non siamo nella condizione di modulare la scelta terapeutica sulla base della presentazione di alcuni parametri di malattia. Siamo quindi in una fase in cui dobbiamo offrire a tutti indistintamente programmi terapeutici che possano garantire il massimo dell'efficacia con una tossicità accettabile. In sintesi:

- la maggior parte dei fattori prognostici adottati nella pratica clinica (età, ISS, LDH, del(13), la t(4;14)) sono annullati dalle nuove terapie;
- la del(17p) rappresenta un fattore prognostico negativo indipendente dall'adozione dei nuovi farmaci. La presenza della del(17p) se presente in più del 60% delle plasmacellule rappresenta uno di quei casi, insieme alla leucemia plasmacellulare, in cui considerare un trapianto allogenico in prima linea nei pazienti più giovani;

- l'età non rappresenta un fattore prognostico negativo nella misura in cui si interviene con terapie efficaci e adattate in modo da ridurre la tossicità;
- l'insufficienza renale ha un impatto negativo sulla sopravvivenza indipendentemente dalla gravità. L'unica possibilità di annullare il suo peso prognostico negativo è di ottenere la reversibilità del danno con una terapia che agisca rapidamente ed efficacemente sul danno renale. In questo caso la sopravvivenza è sovrapponibile a quella dei pazienti con funzionalità renale normale;
- la presenza di malattia extramidollare, in qualunque fase si presenti, rappresenta un fattore prognostico negativo. I nuovi farmaci in combinazione con l'autotrapianto migliorano la sopravvivenza;
- allo stato attuale, non ci sono sufficienti evidenze per adottare differenti strategie terapeutiche sulla base di classificazioni di rischio.

Bibliografia

1. Bladé J, Munoz M, Fontanillas M, San Miguel J, Alcalá A, Maldonado J, et al. Treatment of multiple myeloma in elderly people: long-term results in 178 patients. *Age Ageing*. 1996;25(5):357-361.
2. Ludwig H, Durie BG, Bolejack V, Turesson I, Kyle RA, Blade J, et al. Myeloma in patients under age 50 presents with more favourable features and shows better survival. An analysis of 10459 patients from the International Myeloma Working Group. *Blood*. 2008;111(8):4039-4047.
3. Bringhen S, Mateos MV, Zweegman S, Larocca A, Falcone AP, Oriol A, et al. Age and organ damage correlate with poor survival in myeloma patients: meta-analysis of 1435 individual patient data from 4 randomized trials. *Haematologica*. 2013;98(6):980-987.
4. Dimopoulos MA, Kastritis E, Delimpasi S, Katodritou E, Hatzimichael E, Kyrtsonis MC, et al. Multiple myeloma in octogenarians: Clinical features and outcome in the novel agent era. *Eur J Haematol*. 2012;89(1):10-15.
5. Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975;36(3):842-854.
6. Greipp PR, San Miguel J, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3412-3420.
7. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23(1):3-9.
8. Hari PN, Zhang MJ, Roy V, Pèrez WS, Bashey A, To LB, et al. Is the International Staging System superior to the Durie-Salmon staging system? A comparison in multiple myeloma patients undergoing autologous transplant. *Leukemia*. 2009;23(8):1528-34.
9. Avet-Loiseau H, Durie BG, 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(3):711-717.
10. 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*. 2014;32(20):2173-80.
11. Dimopoulos MA, Delimpasi S, Katodritou E, Vassou A, Kyrtsonis MC, et al. Significant improvement in the survival of patients with multiple myeloma presenting with severe renal impairment after the introduction of novel agents. *Ann Oncol*. 2014;25(1):195-200.
12. Augustson BM, Begum G, Dunn JA, Barth NJ, Davies F, Morgan G, et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002. *J Clin Oncol*. 2005;23(36):9219-9226.
13. Blade J, Fernandez-Llama P, Bosch F, Montoliu J, Lens XM, Montoto S, et al. Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in a series of 94 patients from a single institution. *Arch Intern Med*. 1998;158(17):1889-1893.
14. Kastritis E, Anagnostopoulos A, Roussou M, Gika D, Matsouka C, Barmparousi D, et al. Reversibility of renal failure in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with high dose dexamethasone-containing regimens and the impact of novel agents. *Haematologica*. 2007;92(4):546-549.
15. Dimopoulos MA, Roussou M, Gkotzamanidou M, Nikitas N, Psimenou E, Mparparoussi D, et al. The role of novel agents on the reversibility of renal impairment in newly diagnosed symptomatic patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2013;27(2):423-9.
16. Scheid C, Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, el Jarari L, Bertsch U, et al. Bortezomib before and after autologous stem cell transplantation overcomes the negative prognostic impact of renal impairment in newly diagnosed multiple myeloma: a subgroup analysis from the HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Haematologica*. 2014;99(1):148-54.
17. Papanikolaou X, Repousis P, Tzenou T, Maltezas D, Kotsopoulou M, Megalaki K, et al. Incidence, clinical features, laboratory findings and outcome of patients with multiple myeloma presenting with extramedullary relapse. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(7):1459-64.
18. Bladé J, Fernández de Larrea C, Rosiñol L, Cibeira MT, Jiménez R, Powles R. Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: incidence, mechanisms of extramedullary spread, and treatment approach. *J Clin Oncol*. 2011;29(28):3805-12.
19. Usmani SZ, Heuck C, Mitchell A, Szymonifka J, Nair B, Hoering A, et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica*. 2012;97(11):1761-7.
20. Varettoni M, Corso A, Pica G, Mangiacavalli S, Pascutto C, Lazzarino M. Incidence, presenting features and outcome of extramedullary disease in multiple myeloma: a longitudinal study on 1003 consecutive patients. *Ann Oncol*. 2010;21(2):325-30.
21. Wu P, Davies FE, Boyd K, Thomas K, Dines S, Saso RM, et al. The impact of extramedullary disease at presentation in the outcome of myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(2):230-235.
22. Perez-Simon JA, Sureda A, Fernandez-Aviles F, Sampol A, Cabrera JR, Caballero D, et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation is associated with a high incidence of extramedullary relapses in multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2006;20(3):542-5.

23. Minnema MC, van de Donk NW, Zweegman S, Hegenbart U, Schonland S, Raymakers R, et al. Extramedullary relapses after allogeneic non-meloablative stem cell transplantation in multiple myeloma patients do not negatively affect treatment outcome. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(9):779-784.
24. Raanani P, Shpilberg O, Ben-Bassat I. Extramedullary disease and targeted therapies for hematological malignancies—is the association real?. *Ann Oncol.* 2007;18(1):7-12.
25. Ali R, Ozkalemkas F, Ozkan A, Ozkocaman V, Ozcelik T, Ozan U, et al. Bortezomib and extramedullary disease in multiple myeloma: the shine and dark side of the moon. *Leuk Res.* 2007;31(8):1153-5.
26. Katodritou E, Gastari V, Verrou E, Hadjiaggelidou C, Varthaliti M, Georgiadou S, et al. Extramedullary (EMP) relapse in unusual locations in multiple myeloma: Is there an association with precedent thalidomide administration and a correlation of special biological features with treatment and outcome? *Leuk Res.* 2009;33(8):1137-1140.
27. Rosinol L, Cibeira MT, Uriburu C, Yantorno S, Salamero O, Bladè J, et al. Bortezomib: An effective agent in extramedullary disease in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 2006;76(5):405-408.
28. Richardson PG, Blood E, Mitsiades CS, Jagannath S, Zaldenrust SR, Alsina M, et al. A randomized phase 2 study of lenalidomide therapy for patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood.* 2006;108(10):3458-64.
29. Nowakowski GS, Witzig TE, Dingli D, Tracz MJ, Gertz MA, Lacy MQ, et al. Circulating plasma cells detected by flow cytometry as a predictor of survival in 302 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood.* 2005;106(7):2276-9.
30. Usmani SZ, Nair B, Qu P, Hansen E, Zhang Q, Petty N, et al. Primary plasma cell leukemia: clinical and laboratory presentation, gene-expression profiling and clinical outcome with Total Therapy protocols. *Leukemia.* 2012;26(11):2398-405.
31. Greipp PR, Lust JA, O'Fallon WM, Katzmann JA, Witzig TE, Kyle RA. Plasma cell labeling index and beta 2-microglobulin predict survival independent of thymidine kinase and C-reactive protein in multiple myeloma. *Blood.* 1993;81(12):3382-7.
32. Boccadoro M, Marmont F, Tribalto M et al. Early responder myeloma: kinetic studies identify a patient subgroup characterized by very poor prognosis. *Journal of Clinical Oncology* 1989;7(1):119-125.
33. Greipp PR, Katzmann JA, O'Fallon WM, Kyle RA. Value of beta 2-microglobulin level and plasma cell labeling indices as prognostic factors in patients with newly diagnosed myeloma. *Blood.* 1988;72(1):219-23.
34. Greipp PR, Leong T, Bennett JM, Gaillard JP, Klein B, Stewart JA, et al. Plasmablastic morphology—an independent prognostic factor with clinical and laboratory correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) myeloma trial E9486 report by the ECOG Myeloma Laboratory Group. *Blood.* 1998;91(7):2501-7.
35. Terpos E, Katodritou E, Roussou M, Pouli A, Michalis E, Delimpasi S, et al. High serum lactate dehydrogenase adds prognostic value to the international myeloma staging system even in the era of novel agents. *Eur J Haematol.* 2010;85(2):114-9.
36. Chim CS, Sim J, Tam S, Tse E, Lie AK, Kwong YL. LDH is an adverse prognostic factor independent of ISS in transplant-eligible myeloma patients receiving bortezomib-based induction regimens. *Eur J Haematol.* 2015;94(4):330-5.
37. Walker BA, Leone PE, Jenner MW, Li C, Gonzalez D, Johnson DC, et al. Integration of global SNP-based mapping and expression arrays reveals key regions, mechanisms, and genes important in the pathogenesis of multiple myeloma. *Blood.* 2006;108(5):1733-43.
38. 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 Inter-groupe Francophone du Myelome. *Blood.* 2007;109(8):3489-95.
39. Moreau P, Attal M, Garban F, Hulin C, Facon T, Marit G, 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;21(9):2020-4.
40. 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(11):4569-75.
41. Boyd KD, Ross FM, Chiechio L, Dagrada GP, Konn ZJ, 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(2):349-55.
42. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, Zhan F, Santra M, Sawyer JR, et al. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood.* 2006;108(5):1724-32.
43. Avet-Loiseau H, Malard F, Campion L, Magrangeas F, Sebban C, Liouze B, et al. Translocation t(14;16) and multiple myeloma: is it really an independent prognostic factor? *Blood.* 2011;117(6):2009-11.
44. Fonseca R, Van Wier SA, Chang WJ, Ketterling R, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia.* 2006;20(11):2034-40.
45. Reece D, Song KW, Fu T, Roland B, Chang H, Horsman DE, et al. Influence of cytogenetics in patients with relapsed or refractory multiple myeloma treated with lenalidomide plus dexamethasone: adverse effect of deletion 17p13. *Blood.* 2009;114(3):522-5.
46. Tuchman SA, Lonial S. High-risk multiple myeloma: Does it still exist?. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2011;11(S1):S70-6.
47. Palumbo A, Bringhen S, Rossi D, Cavalli M, Larocca A, Ria R, et al. Bortezomib-melphalan-prednisone-thalidomide followed by maintenance with bortezomib-thalidomide compared with bortezomib-melphalan-prednisone for initial treatment of multiple myeloma: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol.* 2010;28(34):5101-9.
48. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2008;359(9):906-17.
49. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, Petrucci MT, Pantani L, Galli M, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomized phase 3 study. *Lancet.* 2010;376(9758):2075-85.
50. Palumbo A, Hajek R, Delforge M, Kropff M, Petrucci MT, Catalano J, et al. MM-015 Investigators. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2012; 10;366(19):1759-69.
51. Kapoor P, Kumar S, Fonseca R, Lacy MQ, Witzig TE, Hayman SR, et al. Impact of risk stratification on outcome among patients with multiple myeloma receiving initial therapy with lenalidomide and dexamethasone. *Blood.* 2009;114(3):518-21.
52. Zhan F, Huang Y, Colla S, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S, et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood.* 2006;108(6):2020-2028.
53. Carrasco R, Tonon G, Huang Y, Zhang Y, Sinha R, Feng B, et al. High-resolution genomic profiles defines distinct clinicopathogenetic subgroups of multiple myeloma. *Cancer Cell.* 2006;9(4):313-25.
54. 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(2):269-77.
55. Meissner T, Seckinger A, Reme T, Hielscher T, Mohler T, Neben K, et al. Gene expression profiling in multiple myeloma—reporting of entities, risk, and targets in clinical routine. *Clin Cancer Res.* 2011;17(23):7240-7.
56. Broderick P, Chubb D, Johnson DC, Weinhold N, Forsti A, Lloyd A, et al. Common variation at 3p22.1 and 7p15.3 influences multiple myeloma risk. *Nat Genet.* 2012;44(1):58-61.
57. Martino A, Campa D, Jamroziak K, Reis RM, Sainz J, Buda G, et al. Impact of polymorphic variation at 7p15.3, 3p22.1 and 2p23.3 loci on risk of multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2012;158(6):805-9.
58. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, Cibulskis K, Sougnez C, Schinzel AC, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature.* 2011;471(7339):467-72.
59. Walker BA, Wardell CP, Johnson DC, Kaiser MF, Begum DB, Dahir NB, et al. Characterization of IGH locus breakpoints in multiple myeloma indicates a subset of translocations appear to occur in pregerminal center B cells. *Blood.* 2013;121(17):3413-9.
60. Lahuerta JJ, Martinez-Lopez J, Serna JD, Bladè J, Grande C, Alegre A, et al. Remission status by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients. *Br J Haematol.* 2000;109(2):438-46.

-
61. Alexanian R, Weber D, Giralt S, Dimopoulos M, Delasalle K, Smith T, et al. Impact of complete remission with intensive therapy in patients with responsive multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27(10):1037-43.
 62. Blade J, Esteve J, Rives S, Martinez C, Rovira M, Urbano-Ispizua A, et al. High-dose therapy autotransplantation/intensification vs. continued standard chemotherapy in multiple myeloma in first remission. Results from a nonrandomized study from a single institution. *Bone Marrow Transplant.* 2001;26(8):845-849.
 63. Van de Velde HJH, Liu X, Chen G, Cakana A, Deraedt W, Bayssas M. Complete response correlated with long term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *Haematologica.* 2007;92(10):1399-1406.
 64. Hoering A, Crowley J, Shaughnessy JD Jr, Hollmig K, Alsayed Y, Szymonifka J, et al. Complete remission in multiple myeloma examined as time-dependent variable in terms of both onset and duration in total therapy protocols. *Blood.* 2009;114(7):1299-305.
 65. Barlogie B, Anaissie E, Haessler J, van Rhee F, Pineda-Roman M, Hollmig K, et al. Complete remission sustained 3 years from treatment initiation is a powerful surrogate for extended survival in multiple myeloma. *Cancer.* 2008;113(2):355-9.
 66. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 20(9):1467-73.
 67. Paiva B, Vidriales MB, Cervero J, Mateo G, Perez JJ, Montalban MA, et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood.* 2008;112(10):4017-23.
 68. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buadi F, Dingli D, et al. Importance of Achieving Stringent Complete Response After Autologous Stem-Cell Transplantation in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol.* 2013;31(36):4529-35.
 69. Ladetto M, Pagliano G, Ferrero S, Cavallo F, Drandi D, Santo L, et al. Major tumor shrinking and persistent molecular remissions after consolidation with bortezomib, thalidomide, and dexamethasone in patients with autografted myeloma. *J Clin Oncol.* 2010;28(12):2077-84.
 70. Kroger N, Badbaran A, Zabelina T, Ayuk F, Wolschke C, Alchalby H, et al. Impact of high-risk cytogenetics and achievement of molecular remission on long-term freedom from disease after autologous-allogeneic tandem transplantation in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19(3):398-404.
 71. Corso A, Galli M, Mangiacavalli S, Rossini F, Nozza A, Pascutto C, et al. Response-adjusted ISS (RaISS) is a simple and reliable prognostic scoring system for predicting progression-free survival in transplanted patients with multiple myeloma. *Am J Hematol.* 2012;87(2):150-4.

Parole Chiave

Mieloma, fattori prognostici, PFS, OS

Indirizzi per la corrispondenza

Alessandro Corso

Division of Hematology
Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo
Via Golgi 19
27100 Pavia, Italy
Tel. (+39) 0382503595
Fax (+39) 0382502250
E-mail: a.corso@smatteo.pv.it

Terapia continuativa



Chiara Cerrato, Alessandra Larocca, Mario Boccadoro, Antonio Palumbo

Divisione di Ematologia, Università di Torino, Azienda Ospedaliera Città della Salute e della Scienza di Torino, Italia

Introduzione

Il mieloma multiplo (MM) è una discrasia plasmacellulare caratterizzata dalla proliferazione incontrollata di plasmacellule monoclonali, responsabile di una significativa immunosoppressione e di numerosi danni d'organo. Negli ultimi anni sono stati fatti significativi progressi nel trattamento del MM, sia nel paziente giovane (età inferiore o uguale ai 65 anni) che nel paziente anziano.

Nel paziente giovane, la terapia standard comprende un'induzione di 3-4 cicli, seguita da chemioterapia per la mobilizzazione e la raccolta delle cellule staminali periferiche e successivo trapianto autologo delle cellule staminali (ASCT), condizionato con melfalan alla dose di 200 mg/m². Questo schema di trattamento ha infatti dimostrato di essere superiore alla chemioterapia convenzionale sia in termini di sopravvivenza libera da progressione, sia in termini di sopravvivenza globale ⁽¹⁻³⁾.

Negli ultimi anni, i nuovi farmaci immunomodulanti (lenalidomide e talidomide) e l'inibitore del proteasoma (bortezomib) sono stati introdotti nei regimi di induzione, consolidamento e mantenimento per il trattamento sia dei pazienti eleggibili alla terapia ad alte dosi e ASCT, sia nei pazienti anziani, in combinazione con i chemioterapici convenzionali. Infatti, nel paziente anziano, non candidabile all'ASCT, la terapia standard include un'induzione di 9 cicli con melfalan-prednisone-talidomide o melfalan-prednisone-bortezomib.

Infine, si è assistito anche ad un miglioramento della terapie di supporto e della gestione degli eventi avversi ⁽⁴⁾. Tali progressi si sono tradotti in un significativo miglioramento sia delle risposte che della sopravvivenza globale dei pazienti. Tuttavia, remissioni di lunga durata sono rare e il MM rimane una patologia incurabile, per cui anche i pazienti che hanno ottenuto una buona risposta con la terapia di prima linea, nella maggior parte dei casi vanno incontro a recidiva. Questo è ancor più evidente per i pazienti anziani, non candidabili all'ASCT. Il mieloma è infatti caratterizzato da periodi di remissione e recidiva della patologia, fino a quando la malattia in stadio avanzato diventa refrattaria alla terapia ⁽⁵⁾.

La maggior parte dei pazienti va incontro a recidiva per l'esistenza di cellule mielomatose clonali residue che persistono anche nei pazienti che clinicamente hanno raggiunto una remissione completa. Pertanto, la ricerca clinica si sta focalizzando sull'identificazione di un approccio terapeutico che sia in grado di sopprimere cellule mielomatose residue e quindi dilazionare la progressione della patologia.

Terapia continuativa

I regimi terapeutici contenenti nuovi farmaci come talidomide, lenalidomide e bortezomib si sono dimostrati efficaci in pazienti affetti da MM alla diagnosi e alla recidiva. Tuttavia, la durata ottimale del trattamento non è stata ancora definita.

In questo contesto, si sta valutando il ruolo di una terapia continuativa (o di mantenimento) con nuovi farmaci come strategia per un controllo a lungo termine della malattia, in grado di mantenere le risposte ottenute, ottimizzare la remissione, ridurre le probabilità di recidiva e, in ultimo, prolungare la sopravvivenza.

Il mantenimento della risposta ottenuta è particolarmente importante nei pazienti anziani, che rappresentano i due terzi della popolazione affetta da MM ⁽⁶⁾, in cui risulta più difficoltoso scegliere la terapia ottimale da utilizzare alla recidiva, sia a causa dell'età che delle comorbidità di cui spesso soffrono.

Il ruolo della terapia di mantenimento nel trattamento del MM è stato investigato per più di 30 anni, ma evidenze di un chiaro beneficio sono emerse solo recentemente. Tentativi preliminari di mantenimento con chemioterapia convenzionale hanno fallito nel dimostrare un miglioramento in termini di sopravvivenza, rispetto ai pazienti che non avevano ricevuto alcuna terapia di mantenimento ⁽⁷⁾. Risultati contraddittori sono invece emersi sul ruolo di una terapia steroidea continuativa ^(8,9). Infine, l'utilizzo prolungato dell'interferone non si è tradotto in un miglioramento dell'outcome dei pazienti affetti da MM, oltre ad associarsi ad una scarsa tolleranza e un'importante tossicità ⁽¹⁰⁾. L'avvento dei nuovi farmaci, talidomide, lenalidomide e bortezomib, e la disponibilità di formulazioni orali, ha

recentemente dato l'opportunità di ridimensionare il concetto di terapia "di mantenimento" o continuativa. Numerosi studi randomizzati hanno evidenziato un vantaggio in termini di risposta, sopravvivenza libera da progressione (*progression-free survival*, PFS), e perfino sopravvivenza globale (*overall survival*, OS).

Talidomide

La somministrazione orale e la bassa percentuale di tossicità ematologica rendono la talidomide un farmaco adatto ad un utilizzo continuativo. L'effetto della talidomide in mantenimento è stato investigato in trial clinici principalmente nei pazienti giovani candidabili al trapianto. Talidomide di mantenimento è stata confrontata con solo pamidronato o con la sola osservazione, dopo la terapia ad alte dosi seguita da ASCT. In questo studio i pazienti trattati con talidomide ottenevano una maggiore percentuale di risposte complete rispetto agli altri due bracci di trattamento (67% *vs* 57% *vs* 55%), un vantaggio di PFS a 3 anni (52% *vs* 37% *vs* 36%) e di OS a 4 anni (87% *vs* 74% *vs* 77%)⁽¹¹⁾.

Recentemente, Morgan et al. hanno riportato i risultati di uno studio che includeva pazienti giovani e anziani trattati con terapia intensiva e non intensiva. In questo studio, la talidomide di mantenimento si associava ad un vantaggio di PFS (22 mesi *vs* 15 mesi), mentre la sopravvivenza mediana era simile nei due gruppi⁽¹²⁾. Inoltre, i pazienti con anomalie cromosomiche a significato prognostico sfavorevole, in particolare +1q, t(4;14), t(14;20), t(14;16) e del(17p) trattati con talidomide, mostravano una sopravvivenza inferiore. Nello studio condotto da Barlogie et al. dopo un follow up mediano di 42 mesi, è stata osservata una percentuale maggiore di risposte complete nel braccio randomizzato a mantenimento con talidomide rispetto alla sola osservazione (62% *vs* 43%), senza però un vantaggio in termini di OS⁽¹³⁾.

Un quarto studio confrontava due gruppi di pazienti, entrambi sottoposti ad ASCT; il primo riceveva una terapia di mantenimento con prednisolone, mentre il secondo veniva sottoposto ad un consolidamento con prednisolone a tempo indefinito accompagnato da dodici mesi di talidomide. Nel secondo gruppo è stato osservato un vantaggio di PFS a 3 anni (42% *vs* 23%) e OS (86% *vs* 75%)⁽¹⁴⁾. Infine, un ulteriore studio confrontava due diversi regimi di mantenimento, uno con l'interferone- α , il secondo con talidomide, entrambi successivi all'ASCT. La terapia con talidomide ha portato ad una maggiore percentuale di risposte globali (88% *vs* 79%) e a un significativo vantaggio della PFS (34 mesi *vs* 25 mesi). La differenza osservata in termini di OS, invece, non era statisticamente significativa⁽¹⁵⁾.

Il ruolo del mantenimento con la talidomide è stato indagato anche nei pazienti anziani. In particolare, quattro studi hanno definito l'effetto della talidomide come terapia di mantenimento dopo lo schema melfalan-prednisone-talidomide⁽¹⁶⁻¹⁹⁾; due studi hanno evidenziato un vantaggio in termini di PFS nei pazienti cui

è stata somministrata la talidomide, in confronto con coloro a cui non è stata somministrata alcuna terapia^(17,19). Invece, un vantaggio in termini di OS in favore della talidomide in mantenimento è stata rilevata in solo uno studio⁽¹⁷⁾.

In particolare, il gruppo italiano ha condotto uno studio per mettere a confronto la combinazione melfalan-prednisone-talidomide (MPT) con la medesima combinazione senza talidomide (MP): ad un follow up mediano di 38,1 mesi, è stato osservato un vantaggio significativo per quanto riguarda la PFS mediana (21,8 mesi *vs* 14,5 mesi), ma non per l'OS. Il vantaggio osservato nel braccio MPT era indipendente dall'età, dal livello di β 2 microglobulina e dallo stadio ISS⁽¹⁶⁾. Un vantaggio significativo ($p=0,05$) per quanto riguarda l'OS è invece stato dimostrato nello studio di Wijermans et al. (40 mesi *vs* 31 mesi) condotto anch'esso con il fine di confrontare lo schema MPT con la combinazione MP⁽¹⁷⁾.

I risultati attualmente disponibili in merito al ruolo della terapia di mantenimento con la talidomide depongono, nella quasi totalità dei casi, a favore di un vantaggio in termini di PFS, mentre un incremento della sopravvivenza globale è stato osservato solo in alcuni studi. Il grosso limite legato all'utilizzo continuativo della talidomide è associato alla neurotossicità: una metanalisi condotta valutando i dati dei sei trial clinici ha evidenziato che la percentuale di neurotossicità raggiunge il 46% nei trial che prevedono l'utilizzo della combinazione MPT⁽²⁰⁾.

Lenalidomide

La lenalidomide è un farmaco immunomodulante ampiamente utilizzato per il trattamento dei pazienti affetti da MM. La minore neurotossicità associata all'utilizzo di questo farmaco, rende la lenalidomide più adatta ad una somministrazione continuativa^(21,22). Il ruolo della lenalidomide in mantenimento è stato per la prima volta testato in uno studio di fase 2, in cui 102 pazienti arruolati sono stati sottoposti ad una terapia di induzione che prevedeva bortezomib-doxorubicina-desametasone (PAD), seguita da doppio ASCT condizionato con melfalan a 100 mg/m² e successivo consolidamento con 4 cicli di lenalidomide associata a prednisone. Infine, i pazienti ricevevano lenalidomide a basse dosi fino alla recidiva. Questo studio ha indicato che bortezomib in induzione e lenalidomide come consolidamento-mantenimento erano in grado di migliorare la risposta dopo trapianto⁽²³⁾. Anche se la lenalidomide ha un effetto sinergico associata al desametasone, nei regimi di mantenimento la lenalidomide viene solitamente somministrata come agente singolo; questo perché è stato osservato che l'effetto immunostimolante viene antagonizzato dal desametasone in maniera dose-dipendente. Tre studi di fase 3 sono stati successivamente eseguiti per meglio definire l'effetto della lenalidomide nei regimi di mantenimento, sia nei pazienti candidabili al trapianto, sia nei pazienti anziani⁽²⁴⁻²⁶⁾. Mc Carthy et al.⁽²⁴⁾ ed Attal et al.⁽²⁵⁾ hanno valutato l'effetto della lenalidomide come te-

rapia di mantenimento dopo la terapia ad alte dosi e l'ASCT.

Lo studio di Mc Carthy et al.⁽²⁴⁾ dimostrava un vantaggio di PFS e OS nel braccio di pazienti randomizzati al mantenimento con lenalidomide, rispetto a quello a cui veniva somministrato il placebo (PFS mediana: 46 vs 27 mesi; OS a 3 anni: 88 vs 80%). Tale beneficio che deriva dall'utilizzo continuativo della lenalidomide veniva confermato indipendentemente dai livelli di $\beta 2$ microglobulina e indipendentemente dal farmaco utilizzato dai pazienti in regime di induzione. La differenza sia di PFS che di OS era statisticamente significativa.

Il secondo studio è stato condotto in maniera analoga: la PFS mediana era significativamente maggiore nel braccio randomizzato a terapia continuativa con lenalidomide rispetto al braccio del placebo (40 mesi vs 23 mesi). In questo caso però, non è stata osservata una differenza significativa di OS a 4 anni. In entrambi gli studi gli eventi avversi maggiormente osservati erano di tipo ematologico.

I nuovi farmaci hanno recentemente messo in discussione il ruolo del trapianto nella terapia dei pazienti giovani affetti da MM⁽²⁷⁾. Un recente studio di fase 3 randomizzato, ha confrontato l'efficacia e la sicurezza dello standard attuale di trattamento (doppia ASCT condizionata con mel 200 mg/m²) con la combinazione melfalan-prednisone-lenalidomide (MPR). Inoltre, è stato indagato l'outcome dei pazienti sottoposti ad un regime di mantenimento con lenalidomide, confrontandolo con quello dei pazienti randomizzati al solo follow up.

I pazienti randomizzati al mantenimento ricevevano lenalidomide (10 mg nei giorni 1-21 di ogni ciclo da 28 giorni) fino a progressione di malattia o fino a tossicità. Il secondo braccio non prevedeva alcuna terapia di mantenimento, ma solo follow up.

La PFS si è dimostrata significativamente maggiore nel gruppo di pazienti trattati con lenalidomide di mantenimento rispetto all'altro gruppo ($p < 0,001$), mentre il vantaggio in termini di OS a 3 anni non era statisticamente significativo ($p = 0,14$). Durante la terapia di mantenimento con lenalidomide, le principali tossicità segnalate erano neutropenia, infezioni e tossicità dermatologica⁽²⁸⁾. L'avvento dei nuovi farmaci ha determinato anche un miglioramento dell'outcome dei pazienti anziani affetti da MM, permettendo di testare nuove combinazioni terapeutiche in cui i nuovi farmaci vengono associati a melfalan-prednisone (MP)^(27,29,30). Nello studio randomizzato di Palumbo et al.⁽³⁰⁾ sono stati confrontati la combinazione melfalan-prednisone-lenalidomide seguita dal mantenimento con lenalidomide (MPR-R), melfalan-prednisone-lenalidomide (MPR) senza terapia di mantenimento e infine melfalan-prednisone (MP) senza alcun mantenimento. La terapia continuativa con lenalidomide nel gruppo MPR-R ha determinato un significativo prolungamento della PFS mediana dall'inizio della terapia di mantenimento rispetto al placebo (26 mesi vs 7 mesi).

La terapia di mantenimento è stata ben tollerata, e gli eventi avversi di grado 3-4 di nuova insorgenza erano molto limitati⁽²⁶⁾.

Un altro recente studio ha contribuito a meglio definire il ruolo del mantenimento con lenalidomide nei pazienti anziani⁽³¹⁾. Lo studio metteva a confronto la combinazione lenalidomide-desametasona (Rd) vs la medesima associazione per un numero fisso di 18 cicli, vs lo schema melfalan-prednisone-talidomide per 12 cicli. La PFS e la durata della risposta sono risultati maggiori nel braccio randomizzato alla terapia continuativa con Rd.

Un'analisi *interim* ha inoltre evidenziato un vantaggio anche in termini di OS. La terapia continuativa con lenalidomide si associava ad un incremento delle infezioni (29 vs 22 vs 17%), degli eventi avversi di tipo cardiaco (12 vs 7 vs 9%) e delle trombosi (8 vs 6 vs 5%). La maggior parte delle tossicità è stata però osservata nei primi 18 cicli di terapia, fatta eccezione per la percentuale di infezioni che si è mantenuta stabile nel corso dei cicli successivi.

Un aspetto importante che ha avuto una grande rilevanza clinica è legato al rischio di secondi tumori dopo una terapia continuativa con lenalidomide. A questo proposito è stata eseguita un'analisi pooled con lo scopo di analizzare l'incidenza di secondi tumori in pazienti esposti alla terapia continuativa con lenalidomide rispetto alla popolazione di pazienti non esposta.

È stato osservato un incremento a 5 anni dell'incidenza cumulativa di secondi tumori nei pazienti sottoposti a terapia con lenalidomide rispetto ai pazienti che non eseguivano tale terapia (6,9 vs 4,8%). Tuttavia, tale differenza sembra soprattutto correlata alle combinazioni che prevedevano l'utilizzo della lenalidomide con il melfalan somministrato oralmente. In particolare, il vantaggio associato al trattamento continuativo con lenalidomide sembra attualmente essere superiore al rischio legato allo sviluppo di secondi tumori⁽³²⁾.

Bortezomib

L'esperienza della terapia continuativa con gli inibitori del proteasoma è limitata, sia nei pazienti giovani eleggibili al trapianto, sia nei pazienti anziani. Inizialmente, l'efficacia del bortezomib è stata indagata in due studi come regime di consolidamento dopo l'ASCT. La *Total Therapy 3* (TT3) ha incorporato il bortezomib in un regime che prevedeva il ASCT in 303 pazienti con MM alla diagnosi⁽³³⁾. Sia la terapia di induzione che la terapia di consolidamento dopo ASCT consistevano in due cicli di VTD-PACE (bortezomib, talidomide, desametasona, cisplatino, doxorubicina, ciclofosfamida, etoposide). Un secondo studio, condotto da Cavo et al, ha confrontato la combinazione talidomide-desametasona (TD) con la medesima associazione con l'aggiunta del bortezomib (VTD) sia come regime di induzione che come regime di consolidamento dopo il doppio ASCT, in una popolazione di pazienti giovani alla diagnosi⁽³⁴⁾. Per quanto riguarda invece i regimi di mantenimento, nello studio HOVON-65/GMMGHD4, i pazienti venivano randomizzati a

ricevere una terapia di induzione con vincristina, adriamicina, desametasone (VAD) o con bortezomib, adriamicina, desametasone (PAD), seguita dalla ASCT di cellule staminali ⁽³⁵⁾. La terapia di mantenimento consisteva in talidomide (per il gruppo VAD) o bortezomib (per il gruppo PAD) per 2 anni. È stato dimostrato un incremento della qualità della risposta (percentuale di risposte complete e di risposte quasi complete incrementata dal 31% al 49%), del PFS (36 mesi *vs* 27 mesi) e dell'OS, nei pazienti trattati con PAD seguito da bortezomib per due anni. Inoltre, il mantenimento con il bortezomib sembra essere meglio tollerato di quello con la talidomide, con una percentuale minore di sospensioni precoci del trattamento.

Il beneficio derivato da un regime di mantenimento con bortezomib è stato osservato in particolare nella popolazione di pazienti definita ad alto rischio per la presenza di aberrazioni cromosomiche a significato sfavorevole. Per quanto riguarda la popolazione anziana, gli studi che possiamo citare sono due. Il gruppo italiano ha confrontato un regime di induzione che prevedeva la combinazione bortezomib-melfalan-prednisone-talidomide (VMPT), seguita da bortezomib-talidomide (VT) *vs* la combinazione bortezomib-melfalan-prednisone (VMP) in induzione, senza alcuna terapia di mantenimento ⁽³⁶⁾. Dal confronto, è emerso un vantaggio in favore del gruppo VMPT-VT in termini di PFS mediano (35,3 *vs* 24,8 mesi) e di sopravvivenza a 5 anni (61 *vs* 51%). La percentuale di tossicità osservata era accettabile, con un 8% di neuropatia sensitiva riportata nel gruppo che riceveva VMPT-VT *vs* un 5% nel gruppo trattato con VMP.

Un secondo studio ha confrontato invece due diversi regimi di induzione, entrambi contenenti il bortezomib: il primo prevedeva l'utilizzo del bortezomib associato a melfalan e prednisone (VMP), il secondo utilizzava l'inibitore del proteasoma con la talidomide e il prednisone (VTP) ⁽³⁷⁾.

Successivamente, i pazienti venivano trattati con un regime di mantenimento che prevedeva in entrambi i casi la somministrazione del bortezomib, associato a talidomide in un braccio (VT), al prednisone nell'altro (VP). In questo studio non è stato dimostrato un vantaggio significativo in termini di PFS né di OS in uno di due gruppi ⁽³⁷⁾. I dati disponibili relativi alla somministrazione del bortezomib in regime di mantenimento sono relativi ad una popolazione di pazienti già esposti al bortezomib durante la fase di induzione.

Ulteriori studi che indaghino l'utilizzo del bortezomib come mantenimento nei pazienti non precedentemente esposti a questo farmaco potrebbero aiutare a distinguere il vantaggio ottenuto grazie all'induzione e grazie al mantenimento.

La tabella riportata di seguito riassume i risultati ottenuti con i nuovi farmaci utilizzati nei regimi di mantenimento (Tabella 1).

Effetti della terapia continuativa sulla sopravvivenza

Un tema importante legato al concetto di terapia continuativa è quello che riguarda la possibilità di indurre una chemioresistenza alla recidiva, e quindi un effetto negativo sulla sopravvivenza globale, con la somministrazione prolungata di un farmaco. A questo proposito, uno studio ha recentemente confrontato l'effetto della terapia continuativa con una terapia di durata fissa in pazienti con MM alla diagnosi ⁽³⁸⁾. Questo studio ha valutato non solo la PFS e l'OS nei due gruppi, ma anche la PFS 2, cioè il tempo intercorso dall'inizio della terapia al momento della seconda progressione. È stato dimostrato un vantaggio sia per la PFS, che per la PFS 2 e l'OS in favore della terapia continuativa. Inoltre, il vantaggio osservato in termini di PFS 2 suggerisce che il vantaggio osservato con la terapia continuativa durante la prima remissione, non abbia un impatto negativo sulla seconda remissione, non determinando una chemioresistenza. Dai dati disponibili sembra che i pazienti eleggibili al trapianto possano trarre beneficio da una terapia continuativa. I farmaci immunomodulanti sono più fruibili, grazie alla possibilità di una somministrazione orale. In particolare, il farmaco più adatto sembra essere la lenalidomide. Per quanto riguarda la popolazione anziana o non candidabile al trapianto, è necessario studiare nuove associazioni in grado di ottimizzare l'efficacia, riducendo le tossicità.

Conclusioni

La terapia con lenalidomide, talidomide e bortezomib ha radicalmente migliorato l'outcome dei pazienti affetti da MM, permettendo di ottenere risposte migliori e di incrementare il tempo libero da progressione e la sopravvivenza globale. Alcuni dati sembrano suggerire che una terapia continuativa con questi farmaci sia ben tollerata e porti a risposte migliori oltre che ad una maggiore durata della stessa, determinando un ulteriore allungamento della sopravvivenza. La terapia continuativa, soprattutto con la lenalidomide e il bortezomib, sembra essere ben tollerata; la tossicità osservata più spesso è quella di tipo ematologico, che può essere controllata grazie ai fattori di crescita e alle riduzioni delle dosi dei farmaci. È comunque necessario tenere presente la possibilità di determinare una neuropatia periferica quando utilizziamo la talidomide e il bortezomib ed è altrettanto importante conoscere il rischio di secondo tumore per i pazienti sottoposti a terapia con lenalidomide. Infine, sono necessari ulteriori studi e follow-up più lunghi per confermare l'efficacia dei nuovi farmaci utilizzati nei regimi di mantenimento; sono soprattutto necessari dati in grado di suggerire il migliore utilizzo dei nuovi farmaci, sia in termini di dosaggio che di durata del trattamento, per ottimizzare l'efficacia e ridurre la tossicità, sia nei pazienti giovani che nella popolazione anziana.

	N	TERAPIA DI MANTENIMENTO	PFS/EFS/OS
TALIDOMIDE			
Attal et al. ⁽¹¹⁾	597		EFS A 3 ANNI
		Nessun mantenimento	36%
		Pamidronato	37%
		Pamidronato + talidomide	52%
Morgan et al. ⁽¹²⁾	820		PFS MEDIANA
		Nessun mantenimento	15 mesi
		Talidomide	22 mesi
Barlogie et al. ⁽¹³⁾	668		EFS A 5 ANNI
		Nessun mantenimento	44%
		Talidomide	56%
Spencer et al. ⁽¹⁴⁾	243		PFS A 3 ANNI
		Prednisolone	23%
		Prednisolone + talidomide	42%
Lokhorst et al. ⁽¹⁵⁾	556		PFS MEDIANA
		Interferone- α	25 mesi
		Talidomide	34 mesi
Palumbo et al. ⁽¹⁶⁾	382		PFS MEDIANA
		Melfalan-prednisone	14,5 mesi
		Melfalan-prednisone-talidomide	21,8 mesi
Wijermans et al. ⁽¹⁷⁾	333		EFS MEDIANO
		Melfalan-prednisone	9 mesi
		Melfalan-prednisone-talidomide	13 mesi
LENALIDOMIDE			
McCarthy et al. ⁽²⁴⁾	460		PFS MEDIANA / OS A 3 ANNI
		Placebo	27 mesi/80%
		Lenalidomide	46 mesi/88%
Attal et al. ⁽²⁵⁾	614		PFS MEDIANA
		Placebo	23 mesi
		Lenalidomide	41 mesi
Palumbo et al. ⁽²⁸⁾	251		PFS MEDIANA
		Nessun mantenimento	21,6 mesi
		Lenalidomide	41,9 mesi
Palumbo et al. ⁽²⁶⁾	459		PFS MEDIANA
		Melfalan-prednisone	13 mesi
		Melfalan-prednisone-lenalidomide	14 mesi
		Melfalan-prednisone-lenalidomide + mantenimento con lenalidomide	31 mesi
BORTEZOMIB			
Sonneveld et al. ⁽³⁵⁾	827		PFS MEDIANA
		VAD- Talidomide	28 mesi
		PAD- Bortezomib	35 mesi
Palumbo et al. ⁽³⁶⁾	511		PFS MEDIANA / OS A 5 ANNI
		Bortezomib-melfalan-prednisone (VMP)	24,8 mesi/51%
		VMPT-bortezomib+talidomide	35,3 mesi/61%
Abbreviazioni. N: numerosità, PFS: sopravvivenza libera da progressione, OS: sopravvivenza globale, EFS: sopravvivenza libera da eventi, VAD: vincristina-doxorubicina-desametasone; PAD: bortezomib-doxorubicina-desametasone, VMPT: bortezomib-melfalan-prednisone-talidomide;			

Tabella 1 – Principali risultati ottenuti con i nuovi farmaci nei regimi di mantenimento.

Bibliografia

1. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* 1996; 335(2): 91-7.
2. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003; 348(19): 1875-83.
3. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 364(11): 1046-60.
4. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* 2008; 111(5): 2516-20.
5. Longo D, Anderson K. Plasma cell disorders. In: Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J, editors. *Harrison's principles of internal medicine*, 16th ed. New York: MacGraw-Hill Companies Inc., 2005:656-62.
6. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Neyman N, Altekruse SF, et al. editors. *SEER cancer statistics review, 1975-2010*. Bethesda, MD: National Cancer Institute, based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER website. 2013. Available from: <http://seer.cancer.gov/csr/1975-2010>.
7. Belch A, Shelley W, Bergsagel D, Wilson K, Klimo P, White D, et al. A randomized trial of maintenance versus no maintenance melphalan and prednisone in responding multiple myeloma patients. *Br J Cancer* 1988; 57(1): 94-9.
8. Berenson JR, Crowley JJ, Grogan TM, Zangmeister J, Briggs AD, Mills GM, et al. Maintenance therapy with alternate-day prednisone improves survival in multiple myeloma patients. *Blood* 2002; 99(9): 3163-8.
9. Shustik C, Belch A, Robinson S, Rubin SH, Dolan SP, Kovacs MJ, et al. A randomised comparison of melphalan with prednisone or dexamethasone as induction therapy and dexamethasone or observation as maintenance therapy in multiple myeloma: NCIC CTG MY.7. *Br J Haematol* 2007; 136(2): 203-11.
10. Fritz E, Ludwig H et al. Interferon-alpha treatment in multiple myeloma: metaanalysis of 30 randomised trials among 3948 patients. *Ann Oncol* 2000; 11(11): 1427-36.
11. Attal M, Harousseau JL, Leyvraz S, Doyen C, Hulin C, Benboubker L, et al. Inter-Groupe Francophone du Myelome (IFM). Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma. *Blood* 2006; 108(10): 3289-94.
12. Morgan GJ, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, Szubert AJ, Cook G, et al. Long-term follow-up of MRC Myeloma IX trial: Survival outcomes with bisphosphonate and thalidomide treatment. *Clin Cancer Res*. 2013; 19(21): 6030-8.
13. Barlogie B, Tricot G, Anaissie E, Shaughnessy J, Rasmussen E, van Rhee F et al. Thalidomide and hematopoietic-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2006; 354(10): 1021-30.
14. Spencer A, Prince HM, Roberts AW, Prosser IW, Bradstock KE, Coyle L, et al. Consolidation therapy with low-dose thalidomide and prednisolone prolongs the survival of multiple myeloma patients undergoing a single autologous stem-cell transplantation procedure. *J Clin Oncol* 2009; 27(11): 1788-93.
15. Lokhorst HM, Van Der Holt B, Zweegman S, Vellenga E, Croockewit S, van Oers MH, et al. Dutch-Belgian Hemato-Oncology Group (HOVON). A randomized phase 3 study on the effect of thalidomide combined with adriamycin, dexamethasone, and high-dose melphalan, followed by thalidomide maintenance in patients with multiple myeloma. *Blood* 2010; 115(6): 1113-20.
16. Palumbo A, Bringhen S, Liberati AM, Caravita T, Falcone A, Callea V, et al. Oral melphalan, prednisone, and thalidomide in elderly patients with multiple myeloma: updated results of a randomized controlled trial. *Blood* 2008; 112(8): 3107-14.
17. Wijermans P, Schaafsma M, Termorshuizen F, Ammerlaan R, Wittebol S, Sinnige H, et al. Phase III study of the value of thalidomide added to melphalan plus prednisone in elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma: the HOVON 49 Study. *J Clin Oncol* 2010; 28(19): 3160-6.
18. Waage A, Gimsing P, Fayers P, Abildgaard N, Ahlberg L, Björkstrand B, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide or placebo in elderly patients with multiple myeloma. *Blood* 2010; 116(9): 1405-12.
19. Beksac M, Haznedar F, Firatli-Tuglular T, Ozdogu H, Aydogdu I, Konuk N et al. Addition of thalidomide to oral melphalan/prednisone in patients with multiple myeloma not eligible for transplantation: results of a randomized trial from the Turkish Myeloma Study Group. *Eur J Haematol* 2011; 86(1): 16-2218.
20. Palumbo A, Waage A, Hulin C, Beksac M, Zweegman S, Gay F, et al. Safety of thalidomide in newly diagnosed elderly myeloma patients: a meta-analysis of data from individual patients in six randomized trials. *Haematologica* 2013; 98(1): 87-94.
21. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, Geyer SM, Kabat B et al. Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005; 106(13): 4050-3.
22. Dimopoulos M, Spencer A, Attal M, Prince HM, Harousseau JL, Dmoszynska A, et al. Multiple myeloma (010) study investigators. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 2007; 357(21): 2123-32.
23. Palumbo A, Gay F, Falco P, Crippa C, Montefusco V, Patriarca F et al. Bortezomib as induction before autologous transplantation, followed by lenalidomide as consolidation-maintenance in untreated multiple myeloma patients. *J Clin Oncol* 2010; 28(5): 800-7.
24. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, Hurd DD, Hassoun H, Richardson PG, et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1770-81.
25. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, Caillot D, Moreau P, Facon T et al. IFM investigators. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1782-91.
26. Palumbo A, Hajek R, Delforge M, Kropff M, Petrucci MT, Catalano J, et al. MM-015 investigators. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366(19): 1759-69.
27. Facon T, Mary JY, Hulin C, Benboubker L, Attal M, Pegourie B, et al. Intergroupe Francophone du Myelome. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. *Lancet* 2007; 370(9594): 1209-18.
28. Palumbo A, Cavallo F, Gay F, Di Raimondo F, Ben Yehuda D, Petrucci MT, et al. Autologous transplantation and maintenance therapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2014 Sep 4; 371(10): 895-905.
29. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. VISTA trial investigators. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008; 359(9): 906-17.
30. Palumbo A, Falco P, Corradini P, Falcone A, Di Raimondo F, Giuliani N et al. GIMEMA-Italian Multiple Myeloma Network. Melphalan, prednisone, and lenalidomide treatment for newly diagnosed myeloma: a report from the GIMEMA-Italian Multiple Myeloma Network. *J Clin Oncol* 2007; 25(28): 4459-65.
31. Benboubker L, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, Catalano J, Belch AR, Cavo M, et al. Lenalidomide and dexamethasone in transplant-ineligible patients with myeloma. *N Engl J Med* 2014; 371(10): 906-17.
32. Palumbo A, Bringhen S, Kumar SK, Lupparelli G, Usmani S, Waage A, et al. Second primary malignancies with lenalidomide therapy for newly diagnosed myeloma: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2014; 15(3): 333-42.
33. Barlogie B, Anaissie E, van Rhee F, Haessler J, Hollmig K, Pineda-Roman M, et al. Incorporating bortezomib into upfront treatment for multiple myeloma: early results of total therapy 3. *Br J Haematol* 2007; 138(2): 176-85.
34. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, Petrucci MT, Pantani L, Galli M et al. GIMEMA Italian Myeloma Network. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *Lancet* 2010; 376(9758): 2075-85.
35. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, El Jarari L, Bertsch U, Salwender H, et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30(24): 2946-55.
36. Palumbo A, Bringhen S, Larocca A, Rossi D, Di Raimondo F, Magarotto V et al. Bortezomib-melphalan-prednisone-thalidomide followed by maintenance with bortezomib-thalidomide compared with bortezomib-melphalan-prednisone for initial

- treatment of multiple myeloma: updated follow-up and improved survival. *J Clin Oncol* 2014;32(7):634-40.
37. Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, Gutiérrez N, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan, and prednisone versus bortezomib, thalidomide, and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated multiple myeloma: a randomised trial. *Lancet Oncol* 2011;11(10):934-41.
38. Palumbo A. Continuous treatment (CT) versus fixed duration of therapy (FDT) in newly diagnosed myeloma patients: PFS1, PFS2, OS endpoints. 2014 ASCO Annual Meeting; Abstract 8515.

Parole Chiave

Mieloma multiplo, mantenimento, nuovi farmaci

Indirizzi per la corrispondenza

Chiara Cerrato
Division of Hematology
Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo
Via Golgi 19
27100 Pavia, Italy
Tel. (+39) 0382503595
Fax (+39) 0382502250
E-mail: a.corso@smatteo.pv.it

Trapianto autologo di cellule staminali

Beatrice Anna Zannetti, Elena Zamagni, Paola Tacchetti, Lucia Pantani, Annamaria Brioli, Katia Mancuso, Serena Rocchi, Michele Cavo

Istituto di Ematologia ed Oncologia Medica "Seràgnoli", Università degli Studi di Bologna, Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola-Malpighi, Bologna



Introduzione

Il mieloma multiplo (MM) è una patologia neoplastica della B linfocitopoiesi caratterizzata dalla proliferazione clonale nel midollo osseo di plasmacellule che sintetizzano immunoglobuline complete o incomplete, rilevabili nel sangue e/o nelle urine, e definite con il termine di componente monoclonale. I principali quadri clinici di presentazione del MM comprendono la patologia scheletrica, l'insufficienza renale e l'aumentata morbilità infettiva. Il MM è una patologia tipica dell'adulto-anziano. Circa due terzi dei pazienti di nuova diagnosi hanno, infatti, un'età superiore a 65 anni e questo limite di età, seppure arbitrariamente, viene utilizzato, quanto meno in Europa, per identificare i pazienti che sono, o non sono, candidati a ricevere un programma di terapia ad alte dosi (HDT) con successivo trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche (ASCT). Nell'arco degli ultimi 20 anni la sopravvivenza dei pazienti affetti da MM è aumentata significativamente, grazie alla sempre più estensiva applicazione di ASCT nei pazienti ad esso candidati e, più recentemente, all'introduzione nell'armamentario terapeutico di nuovi farmaci, altamente efficaci, ad azione mirata sul clone plasmacellulare e sul microambiente midollare che ne supporta la crescita e la progressione. Tra questi, bortezomib, primo inibitore del proteasoma (PI), talidomide e lenalidomide sono stati efficacemente incorporati nell'algoritmo terapeutico del paziente di nuova diagnosi in combinazione con ASCT. L'impiego di melphalan a dosi (sub)mieloablative (HDM) con successivo ASCT ha rappresentato il primo significativo avanzamento nella terapia del MM dopo oltre 25 anni di frustranti insuccessi che hanno fatto seguito all'introduzione di melphalan-prednisone (MP). A questo progresso hanno contribuito la dimostrata capacità di HDM di superare, almeno in parte, la resistenza agli agenti alchilanti somministrati a dosaggio convenzionale, di incrementare la percentuale di remissione completa (CR) oltre il 5% usualmente registrato con MP e, conseguentemente, di migliorare l'*outcome* dei pazienti così trattati. Due studi clinici randomizzati disegnati per comparare prospettica-

mente la chemioterapia convenzionale *vs* HDT e ASCT hanno evidenziato un significativo incremento della percentuale di CR, fino a valori pari a circa il 30%, ed un prolungamento di circa 12 e 15 mesi della sopravvivenza libera da eventi/progressione (EFS/PFS) e della sopravvivenza globale (OS), rispettivamente, nei pazienti randomizzati ad ASCT rispetto al gruppo di controllo ^(1,2). A seguito di questi studi, nonostante il prolungamento della OS dopo ASCT non sia stato univocamente confermato in alcuni successivi *trials*, HDT ed ASCT è diventato lo standard terapeutico per i pazienti di nuova diagnosi ed età inferiore a 65 anni. Parallelamente, sono stati anche valutati diversi regimi di HDT comprensivi o meno della irradiazione corporea totale (TBI). In particolare, in uno studio randomizzato è stata dimostrata la minore tossicità ematologica ed extra-ematologica di melphalan alla dose di 200 mg/m² (HDM-200) nei confronti della combinazione melphalan 140 mg/m² e TBI ⁽³⁾. Sulla base dei risultati di questo studio, HDM-200 è da molti anni la terapia convenzionalmente utilizzata prima di ASCT. Il doppio (o *tandem*) ASCT a supporto di due linee sequenziali di HDT è stato introdotto nell'armamentario terapeutico del MM con l'obiettivo di aumentare l'intensità di dose citotossica somministrata e, conseguentemente, di migliorare i risultati ottenuti con un singolo ASCT. Due studi prospettici randomizzati di fase 3 volti a comparare un singolo *vs* doppio ASCT hanno dimostrato la superiorità di quest'ultima procedura in termini di significativo prolungamento della PFS, anche se l'incremento della percentuale di CR ed il prolungamento della OS non hanno trovato univoca evidenza ^(4,5). In base alla dimostrazione che il maggiore beneficio terapeutico derivante dal doppio ASCT veniva osservato nei pazienti che avevano fallito l'ottenimento della *very good partial response* (VGPR) o *near CR* (nCR) dopo il primo ASCT, l'applicazione del *tandem* ASCT come strategia di consolidamento del primo ASCT è divenuta una pratica consolidata, contribuendo ad incrementare ulteriormente il numero di ASCT registrato durante l'ultimo decennio.

Terapia di induzione

La terapia di induzione eseguita in preparazione al successivo ASCT ha come obiettivi l'ottenimento della massima riduzione della taglia neoplastica e dell'infiltrazione plasmacellulare midollare prima della successiva raccolta delle cellule staminali, oltre che il miglioramento o la risoluzione del danno d'organo (es. insufficienza renale) e/o della sintomatologia dolorosa ossea, laddove presenti. Prima dell'avvento dei nuovi farmaci, per oltre 10-15 anni la terapia *standard* di induzione è consistita nella combinazione di vincristina con doxorubicina e desametasone (VAD) o nella somministrazione di desametasone ad alte dosi come agente singolo (Dex).

Nel nuovo millennio, talidomide, bortezomib e lenalidomide sono stati variamente ed efficacemente combinati tra loro e/o con desametasone o agenti chemioterapici convenzionali (quali, ad esempio, ciclofosfamide e doxorubicina) per formare nuove associazioni a 2, 3, e persino 4 farmaci, che sono state estensivamente investigate in numerosi studi di fase 2 e 3 (Tabella 1 e 2)⁽⁶⁾. Il primo di questi è stato riportato dal nostro gruppo nel 2005 ed ha fornito la dimostrazione del superiore *rate* di risposta ottenuto con talidomide-desametasone (TD) *vs* VAD. Questo studio ha sancito il sostanziale abbandono di VAD quale classica terapia di induzione prima di ASCT e l'accettazione di un nuovo paradigma terapeutico basato sull'incorporazione di uno o più nuovi farmaci all'interno di innovativi regimi terapeutici di induzione⁽⁷⁾.

Uno studio di fase 3 ha confrontato la combinazione talidomide-doxorubicina-desametasone (TAD) nei confronti di VAD, dimostrandone la superiorità in termini di risposta (\geq VGPR: 37% *vs*

18% post induzione e 54% *vs* 44% post ASCT, rispettivamente) e *outcome* (PFS mediana: 34 *vs* 25 mesi)⁽⁸⁾. La combinazione ciclofosfamide-talidomide-desametasone (CTD) è stata prospetticamente testata nell'ambito del protocollo randomizzato di fase 3 *MRC Myeloma IX*, CTD *vs* CVAD quale terapia di induzione prima di un singolo ASCT. Il *rate* di CR è risultato significativamente superiore nei pazienti randomizzati a CTD, 13% *vs* 8,1% post induzione e 50% *vs* 37,2% post ASCT, rispettivamente. La PFS mediana è risultata sostanzialmente sovrapponibile nei due gruppi di randomizzazione (34 *vs* 33 mesi)⁽⁹⁾.

A seguito dell'introduzione di talidomide nella pratica clinica, il secondo nuovo farmaco per il quale è stata fornita dimostrazione di efficacia nel trattamento del paziente con MM ricaduto/refrattario è stato bortezomib. Uno studio di fase 3 condotto dal gruppo cooperatore Francese IFM ha prospetticamente confrontato bortezomib-desametasone (VD) *vs* VAD come terapia di induzione prima di un singolo o doppio ASCT. La percentuale di risposte uguali o superiori alla VGPR è risultata significativamente superiore nel braccio VD, sia prima di ASCT (38% *vs* 15%, rispettivamente) che dopo ASCT (68% *vs* 47%, rispettivamente). La PFS mediana è risultata pari a 36 mesi nei pazienti trattati con VD *vs* 29,7 mesi nei pazienti trattati con VAD, con un *rate* di sopravvivenza globale a 3 anni di 81,4% e 77,4%, rispettivamente⁽¹⁰⁾.

L'aggiunta alla combinazione VD di un terzo farmaco chemioterapico, quale doxorubicina (PAD), è stata comparata a VAD in preparazione ad un singolo o doppio ASCT nello studio randomizzato di fase 3 HOVON-65/GMMG-HD4. I risultati di questo studio hanno dimostrato che il *rate* di CR/nCR era significativamente più

Regime di induzione	N. di cicli	Risposta post induzione		Risposta post ASCT		Sopravvivenza	
		CR (%)	\geq VGPR (%)	CR (%)	\geq VGPR (%)	PFS (mesi)	OS (mesi)
TAD ⁽⁶⁾	3	3	37	14	54	34	73
VAD	3	2	18 $p < 0,001$	12	44 $p = 0,03$	25 $p < 0,001$	60 $p = 0,77$
CTD ⁽⁹⁾	6	13	43,3	50	73,8	34	Non riportata
CVAD	6	8	27,5	37,2 $p = 0,0005$	62,3	33	Non riportata
VD ⁽¹⁰⁾	4	5,8	37,7	16,1	54,3	36	3-anni 81%
VAD	4	1,4	15,1	8,7 $p = 0,01$	37,7 $p < 0,001$	29,6 $p = 0,06$	3-anni 77% $p = 0,5$
PAD ⁽¹¹⁾	3	11*	42	31*	61	35	5-anni 61%
VAD	3	5* $p < 0,001$	14 $p < 0,001$	15* $p < 0,001$	36 $p < 0,001$	28 $p = 0,002$	5-anni 55%

Abbreviazioni: NR = *not reached*

Tabella 1 – Regimi di induzione comprensivi di nuovi farmaci. (* CR/nCR).

elevato nel braccio di randomizzazione PAD rispetto al gruppo di controllo (11% vs 5%, pre ASCT e 30% vs 15%, post ASCT, rispettivamente). I pazienti randomizzati a PAD hanno inoltre beneficiato di un prolungamento statisticamente significativo della PFS (PFS mediana: 35 vs 28 mesi, $p = 0,002$, rispettivamente), mentre la OS è risultata sovrapponibile nei due gruppi di randomizzazione (OS a 5 anni: 61% vs 55%, rispettivamente) ⁽¹¹⁾.

Dati preclinici relativi al sinergismo d'azione tra bortezomib e IMiDs hanno fornito il razionale per la combinazione bortezomib-talidomide-desametasone (VTD). Uno studio italiano di fase 3 ha confrontato VTD vs TD come terapia di induzione prima, e di consolidamento dopo, un doppio ASCT dimostrando la superiorità di VTD in termini di *rate* di risposta (CR/nCR: 31% vs 11%, dopo induzione; 55% vs 41%, dopo doppio ASCT; 62% vs 45% dopo consolidamento, rispettivamente) e di PFS (68% vs 56%, a 3 anni, rispettivamente) ⁽¹²⁾. Altri studi clinici di fase 3 hanno confermato la superiorità del regime a 3 farmaci VTD rispetto a regimi a 2 farmaci quali TD o VD. Lo studio spagnolo di fase 3 PETHEMA/GEM VTD vs TD ha sancito la superiorità della combinazione VTD in termini di ottenimento di risposte di elevata qualità (CR: 35% vs 14%, rispettivamente) e di prolungamento della PFS mediana (56,2 vs 28,2 mesi, rispettivamente) ⁽¹³⁾. Allo stesso modo anche la combinazione vTD ($v =$ bortezomib 1 mg/m²) si è dimostrata più efficace rispetto a VD, determinando un *rate* di risposte uguali o superiori alla VGPR pari a 49% vs 36% pre ASCT e a 74% vs 58% post ASCT, rispettivamente ⁽¹⁴⁾. Questi risultati hanno portato alla approvazione da parte di EMA, nell'agosto 2013, del regime VTD quale terapia di induzione a ASCT.

Anche lenalidomide, farmaco immunomodulatore di seconda generazione, è stato utilizzato nell'ambito di ricerca clinica nella malattia di nuova diagnosi. La combinazione lenalidomide-desametasone ad alte dosi (RD) è stata confrontata con lenalidomide-desametasone a basse dosi (Rd) in una popolazione di pazienti eleggibili e non a ASCT. RD ha determinato un elevato *rate* di risposta (*overall response rate*, ORR: 81% vs 70%; \geq VGPR: 50% vs 40%, rispettivamente), a fronte tuttavia di una maggiore tossicità e mortalità (OS a 1 anno: 87% vs 96%; OS a 2 anni: 75% vs 87%, rispettivamente), osservata prevalentemente nella popolazione anziana ⁽¹⁵⁾. Uno studio francese di fase 2 ha utilizzato la combinazione bortezomib-lenalidomide-desametasone (VRD) come terapia di induzione pre e di consolidamento post singolo ASCT. Il *rate* di risposta, ed in particolare di risposte di elevata qualità, fino all'ottenimento della MRD (MRD, malattia minima residua) negatività, è andato progressivamente aumentando attraverso le varie fasi terapeutiche (\geq VGPR: 58% post induzione, 70% post ASCT, 87% post consolidamento). Il 77% dei pazienti sono liberi da progressione a 3 anni ed il 100% sono vivi a 3 anni ⁽¹⁶⁾.

Nuove molecole sono attualmente in sperimentazione nel trattamento del MM di nuova diagnosi. Carfilzomib, inibitore del proteasoma di seconda generazione che agisce in maniera selettiva e irreversibile sulla subunità 20S, si caratterizza per una maggiore efficacia e per una minore tossicità neurologica rispetto a bortezomib. Carfilzomib-talidomide-desametasone e carfilzomib-lenalidomide-desametasone hanno prodotto dati interessanti e promettenti. In un recente studio multicentrico di fase 2 la combinazione carfilzomib-talidomide-desametasone è stata somministrata come terapia di in-

Regime di induzione	N. di cicli	Risposta post induzione		Risposta post ASCT		Sopravvivenza	
		CR (%)	\geq VGPR (%)	CR (%)	\geq VGPR (%)	PFS (mesi)	OS (mesi)
VTD ⁽¹²⁾	3	19	62	42	82	3-anni 68%	3-anni 86%
TD	3	5 $p < 0,0001$	28 $p < 0,0001$	30 $p = 0,01$	64 $p < 0,0001$	3-anni 56% $p = 0,005$	3-anni 84% $p = 0,3$
VTD ⁽¹³⁾	6	35	60	46	Non riportata	56,2	3-anni 74%
TD	6	14 $p = 0,0001$	29	24 $p = 0,004$	Non riportata	28,2 $p = 0,01$	3-anni 65%
vTD ⁽¹⁴⁾	4	13	49	29	74	Non riportata	
VD	4	12	36	31	58 $p = 0,02$	Non riportata	

Tabella 2 – Regimi di induzione comprensivi di nuovi farmaci.

duzione pre- e di consolidamento post-ASCT; il *rate* di CR è risultato pari a 25% post induzione e 63% post consolidamento. Con un follow-up mediano di 23 mesi, il 72% dei pazienti è libero da progressione⁽¹⁷⁾. Dagli studi clinici precedentemente descritti deriva che la terapia di induzione dovrebbe essere costituita preferenzialmente da un regime a 3 farmaci comprensivo di bortezomib (quale VTD, PAD, VCD, VRD) per un totale di 4-6 cicli somministrati prima della raccolta delle cellule staminali ematopoietiche e del successivo ASCT (*up-front*)^(18,19). L'utilizzo di un regime di induzione bortezomib-based è ulteriormente supportato dai risultati di un'ampia meta-analisi condotta su 1572 pazienti, essendo questo superiore, in termini di risposta (CR/nCR post ASCT: 38% vs 24%, rispettivamente), PFS (mediana: 35,9 vs 28,6 mesi) e OS (OS a 3 anni: 79,7% vs 74,7%, rispettivamente), rispetto ai regimi convenzionali non-bortezomib-based, quali VAD e TD⁽²⁰⁾.

Terapia di consolidamento

Prima dell'avvento dei nuovi farmaci, la terapia di consolidamento era classicamente rappresentata da ASCT il cui principale obiettivo era di incrementare la frequenza di risposte di elevata qualità dopo un'insoddisfacente terapia di induzione, in grado di offrire ai pazienti così trattati una probabilità di CR inferiore al 10%. Nonostante il *rate* di risposte di elevata qualità prima di ASCT sia incrementato significativamente, sino ad oltre il 30%, grazie all'incorporazione dei nuovi farmaci nella terapia di induzione prima di ASCT e sia stato ulteriormente aumentato dalla somministrazione di HDM, sino al 50% ed oltre, nel corso degli ultimi anni numerosi studi di fase 2 e 3 sono stati disegnati con l'obiettivo di investigare il ruolo dei nuovi farmaci come terapia di consolidamento dopo ASCT. In tutti questi studi, la terapia di consolidamento era sostanzialmente di breve durata, finalizzata ad incrementare la frequenza e la profondità della risposta precedentemente ottenuta. Tra i nuovi farmaci, bortezomib è stato quello più estensivamente esplorato in questo specifico contesto, sia come agente singolo che in combinazione. In uno studio di fase 3 per pazienti precedentemente sottoposti ad un singolo ASCT dopo terapia di induzione con VAD era prevista una randomizzazione a ricevere una terapia di consolidamento con bortezomib agente singolo, per un totale di 16 settimane, o la semplice osservazione libera da terapia. Lo studio ha dimostrato un significativo incremento della percentuale di \geq VGPR (71% vs 57%, rispettivamente) ed un prolungamento della PFS (27 vs 20 mesi, rispettivamente) per i pazienti randomizzati a terapia di consolidamento⁽²¹⁾. Nello studio GIMEMA-MMY-3006 i pazienti randomizzati a ricevere una terapia di induzione con VTD o TD erano assegnati al medesimo regime come terapia di consolidamento somministrata per 2 cicli, ciascuno della durata di 5 settimane, dopo un doppio ASCT. Il *rate* di CR e di CR/nCR (*end point* secondario dello studio) dopo consolidamento con VTD è risultato essere si-

gnificativamente superiore rispetto a quello osservato dopo TD (CR: 61% vs 47%, CR/nCR: 73% vs 61%, rispettivamente). Globalmente, la probabilità di migliorare la qualità della risposta da < CR prima della terapia di consolidamento a CR dopo la terapia di consolidamento è risultata pari al 30,5% con VTD ed al 17% con TD. La più elevata probabilità di CR e CR/nCR dopo VTD si è tradotta in una PFS significativamente più lunga dall'inizio della terapia di consolidamento (60% vs 48% a 3 anni), confermando il contributo offerto da questa fase terapeutica al migliore *outcome* dei pazienti randomizzati al braccio di terapia VTD inizialmente osservato nell'analisi eseguita per intenzione di trattamento dall'inizio dell'intero programma terapeutico⁽²²⁾.

Altri studi di fase 2^(23,24,25) hanno confermato la capacità di una terapia di consolidamento con VTD per 2-4 cicli, ciascuno della durata di 3-5 settimane, di accrescere la percentuale di CR, ed in alcuni di prolungare la PFS. In uno di questi studi, la CR molecolare ottenuta dopo VAD e doppio ASCT è incrementata dal 3% al 16% dopo l'infusione di bortezomib come agente singolo, per un totale di 4 cicli⁽²³⁾. Infine, in uno studio ancora più recente è stato investigato il ruolo della combinazione di VD con lenalidomide (VRD) come terapia di consolidamento (2 cicli) dopo ASCT preceduto da VRD. La frequenza di \geq VGPR dopo ASCT è stata del 70% ed è incrementata all'87% dopo consolidamento con VRD. Globalmente, nel 68% dei pazienti la valutazione citofluorimetrica della MRD è risultata negativa, e l'*outcome* di questi pazienti è risultato significativamente migliore di quello dei pazienti con MRD positività⁽¹⁶⁾.

Lenalidomide è stata testata come terapia di consolidamento nello studio francese IFM 2005-02; 2 cicli di lenalidomide agente singolo venivano somministrati post ASCT, con successiva randomizzazione a terapia di mantenimento con lenalidomide vs non mantenimento. Il consolidamento ha consentito di incrementare la risposta, con un incremento della CR dal 14% al 20% e della \geq VGPR dal 58% al 69%⁽²⁶⁾.

Nonostante i dati presentati, sintetizzati nella Tabella 3 e nella Figura 1, la terapia di consolidamento non può ancora essere considerata uno standard di trattamento, che dovrà essere validato dai risultati di studi clinici prospettici randomizzati di fase 3 specificatamente disegnati per definirne il ruolo, quale, ad esempio, lo studio EMN-02.

Terapia di mantenimento

La terapia di mantenimento è finalizzata a prolungare la durata di remissione (CR o < CR), dilazionando quanto più possibile il rischio di ricaduta o progressione della malattia, e ad assicurare ai pazienti una prolungata OS ed una buona qualità di vita (QoL), inficiata il minimo possibile dalla tossicità dei farmaci utilizzati a questo scopo. Per questo motivo, dopo l'impiego dei corticosteroidi e dell'interferone (IFN) negli anni '90, i più recenti studi di terapia di manteni-

Studio	N. PTS	Induzione	ASCT	Consolidamento	Risposta	Outcome
Mellqvist et al. ⁽²¹⁾	370	Non riportata	1/2	V vs no cons	VGPR 71% vs 57% (p<0,01)	PFS 27 vs 20 mesi (p=0,05) Nessuna differenza in OS
Ladetto et al. ⁽²³⁾	39	VAD	2	VTD	CR 15% vs 49% mCR 3% vs 18% (pre e post cons)	Non definito
Cavo et al. ⁽²²⁾	480	VTD vs TD	2	VTD vs TD	CR 60,6% vs 46,6% (p=0,01) CR/nCR 73,1% vs 60,9% (p=0,02)	3 anni PFS: 60% vs 48% (p=0,04) Nessuna differenza in OS
Fouquet et al. ⁽²⁵⁾	54	VTd	1	VTd	CR 11% vs 35% VGPR 46% vs 66% (pre e post cons)	3 anni TTP: CR 88% vs non CR 31% Nessuna differenza in OS
Attal et al. ⁽²⁶⁾	614	Non indicata	1/2	L	CR 14% vs 20% (p<0,001) ≥ VGPR 58% vs 69% (p<0,001) (pre e post cons)	Non definito
Roussel et al. ⁽¹⁶⁾	31	VRD	1	VRD	sCR 27% vs 40% ≥ VGPR 70% vs 87% MRD neg 54% vs 58% (pre e post cons)	Non definito

Abbreviazioni: sCR= stringent CR; NR= not reached

Tabella 3 – Terapia di consolidamento post ASCT.

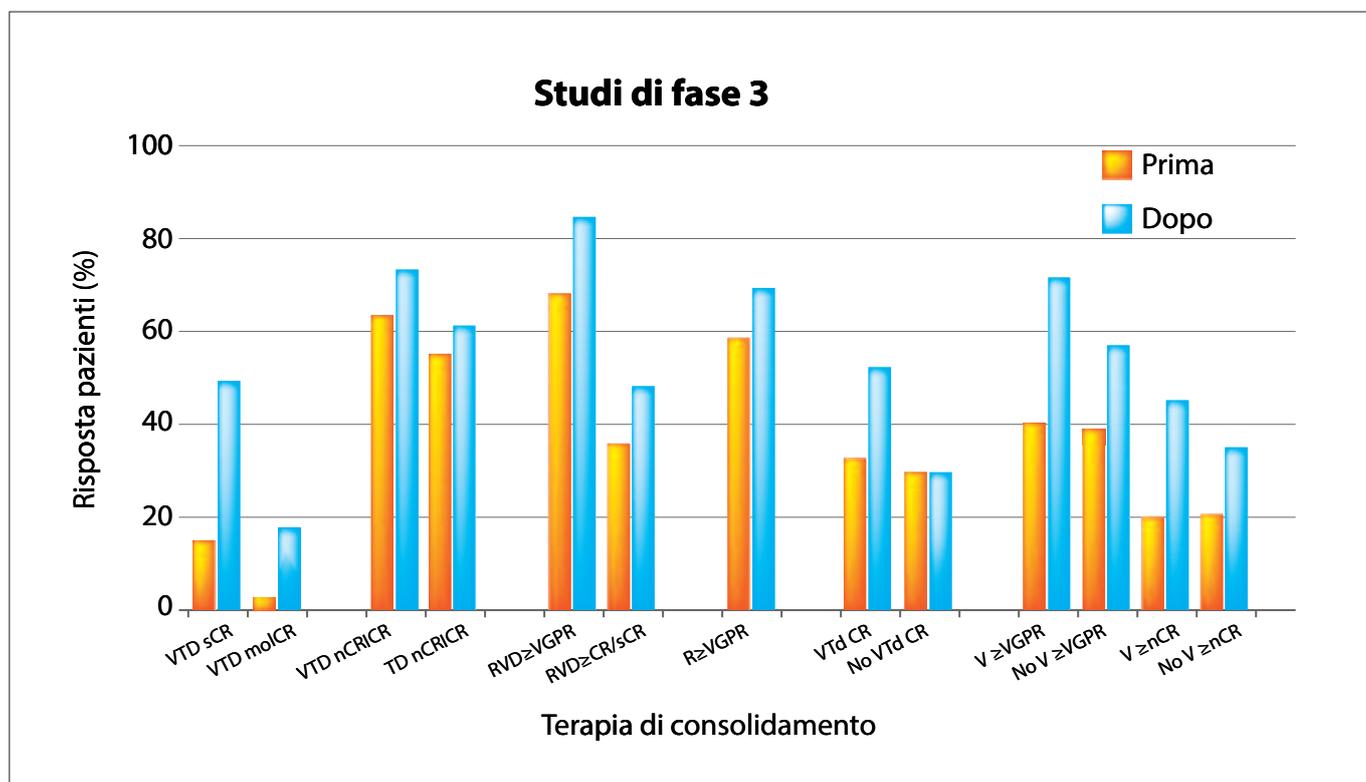


Figura 1 – Risposte pre e post terapia di consolidamento. Adattato da McCarthy et al. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2013.

mento si sono basati sull'utilizzo di un singolo nuovo farmaco somministrato a o dosaggio inferiore o con una schedule diversa rispetto a quelli comunemente impiegati nella fase di induzione.

Sei studi clinici randomizzati di fase 3 hanno testato talidomide come terapia di mantenimento post ASCT (Tabella 4). Una meta-analisi di 5 di questi studi ha dimostrato il significativo vantaggio offerto da talidomide in termini di prolungamento di PFS e OS⁽²⁷⁾. Il principale fattore limitante l'impiego di talidomide in tutti gli studi pubblicati è consistito nella tossicità neurologica, con percentuali di discontinuazione precoce del farmaco variabili tra il 30% e circa l'80%, ed un documentato peggioramento della QoL^(28, 29). In aggiunta, nei pazienti ad alto rischio citogenetico, in particolare con del(17p), è stato documentato un effetto negativo di talidomide sulla durata di OS.

Lenalidomide, un IMiD di seconda generazione, è caratterizzata da una maggiore efficacia ed un migliore profilo di tossicità rispetto a talidomide, in particolare per quanto concerne la neuropatia.

Tre studi prospettici randomizzati di fase 3 hanno investigato il ruolo di lenalidomide come terapia di mantenimento dopo ASCT (Tabella 5). Nello studio americano CALGB-100104, 460 pazienti affetti da MM di nuova diagnosi che avevano ricevuto in prevalenza nuovi farmaci come terapia di induzione prima di un singolo ASCT, sono stati randomizzati a ricevere lenalidomide 10 mg/die, a partire dal giorno +100 post-ASCT e sino a progressione di malattia, o placebo. Sia il tempo mediano alla progressione (TTP: 46 vs 27 mesi) che la probabilità di OS a 3 anni (88% vs 80%) sono risultati significativamente più lunghi nei pazienti che ricevevano lenalidomide, ed il vantaggio in termini di OS era mantenuto no-

nostante il *crossover* a lenalidomide di parte dei pazienti inizialmente randomizzati a placebo dopo l'apertura dello studio⁽³³⁾. Il beneficio derivante dalla prolungata esposizione a lenalidomide era osservato indipendentemente dai valori *baseline* di β 2-microglobulina e della precedente esposizione dei pazienti a talidomide o lenalidomide come parte della terapia di induzione.

Nello studio francese IFM 2005-02, sono stati arruolati 614 pazienti trattati con terapia di induzione con VAD o VD seguita da singolo o doppio ASCT; dopo 2 cicli di consolidamento con lenalidomide 25 mg/die, i pazienti venivano randomizzati a terapia di mantenimento con lenalidomide, 10-15 mg/die, o placebo. Per questi ultimi pazienti non era previsto eventuale *crossover* a ricevere lenalidomide. I risultati hanno evidenziato una sostanziale sovrapposizione con lo studio CALGB per quanto concerne la superiore PFS nel braccio di randomizzazione a lenalidomide (PFS mediana: 41 vs 24 mesi, rispettivamente) ed il mantenimento del beneficio indipendentemente dalla terapia di induzione, dai valori di β 2-microglobulina e dalla qualità della risposta pre-randomizzazione⁽²⁶⁾. Per contro, nello studio francese non è stata osservata alcuna differenza in termini di OS (OS a 5 anni: 79% vs 73%, rispettivamente). In entrambi gli studi, è stata riportata un'umentata incidenza di seconde neoplasie nel gruppo di terapia con lenalidomide vs controllo (studio CALGB: 3,5% vs 0,4% neoplasie ematologiche e 4,3% vs 2,1% tumori solidi; studio IFM: 4,2% vs 3,3% neoplasie ematologiche e 1,3% vs 2,1% tumori solidi), con un aumentato rischio osservato soprattutto nei pazienti trattati con lenalidomide e melphalan *per os*⁽³⁴⁾. In un terzo studio, 251 pazienti sono stati randomizzati a ricevere o meno

Studio	N. PTS	Dose (mg)	Mantenimento vs non mantenimento		Beneficio EFS/OS
			EFS o PFS	OS	
Attal et al. ⁽³⁰⁾	597	400	3 anni EFS 52% vs 37% (p<0,009)	4 anni OS 87% vs 75% (p<0,04)	+/+
Barlogie et al. ⁽³¹⁾	668	400	5 anni EFS 64% vs 43% (p<0,001)	8 anni OS 57% vs 44% (p=0,09)	+/trend+
Lokhorst et al. ⁽⁸⁾	556	50	43 vs 22 mesi (p<0,001)	73 vs 60 mesi (p=0,77)	+/trend-
Morgan et al. ⁽²⁸⁾	820	50	30 vs 23 mesi (p=0,003)	3 anni OS 75% vs 80% (p=0,26)	Non definito
Spencer et al. ⁽³²⁾	243	200	3 anni PFS 42% vs 23% (p<0,001)	3 anni OS 86% vs 75% (p=0,004)	+/+
Stewart et al. ⁽²⁹⁾	332	200	4 anni PFS 32% vs 14% (p<0,0001)	4 anni OS 68% vs 60% (p=0,18)	Non definito

Tabella 4 – Terapia di mantenimento con talidomide.

una terapia di mantenimento con lenalidomide, 10 mg/die, sino a ricaduta/progressione. Un significativo prolungamento della PFS è stato osservato con lenalidomide (PFS mediana: 42 *vs* 22 mesi, rispettivamente), mentre nessuna differenza è stata riscontrata relativamente a OS ⁽³⁵⁾.

Lenalidomide appare il farmaco ideale per la terapia di mantenimento, in considerazione della formulazione orale, del profilo di tossicità, prevalentemente ematologica, e dell'efficacia dimostrata negli studi presentati.

Bortezomib è stato utilizzato come terapia di mantenimento post ASCT nello studio HOVON-65/GMMG-HD4, che confrontava la sequenza terapeutica PAD-ASCT-bortezomib di mantenimento *vs* VAD-ASCT-talidomide di mantenimento. Con un *follow-up* mediano di 40 mesi, PFS (48% *vs* 42%) e OS (78% *vs*

71%) sono risultati significativamente superiori nel braccio di randomizzazione PAD-ASCT-bortezomib ⁽¹¹⁾. La prolungata esposizione a bortezomib si è rivelata particolarmente efficace nei pazienti con malattia ad alto rischio per presenza di del(17p) ⁽³⁶⁾. In un altro studio randomizzato, la combinazione bortezomib-talidomide (VT) *vs* talidomide *vs* IFN è stata investigata dopo un singolo ASCT. I pazienti del gruppo VT hanno mostrato una prolungata PFS dall'inizio della terapia di mantenimento, e questo beneficio è stato osservato soprattutto nei pazienti a rischio citogenetico standard ⁽³⁷⁾. Tali studi sono riassunti nella Tabella 6. Attualmente, alla luce dei dati presentati e della mancanza di un chiaro prolungamento della OS in molti di essi, non è possibile raccomandare l'esecuzione routinaria, al di fuori di studi clinici, della terapia di mantenimento.

Studio	N. PTS	Dose (mg)	Mantenimento <i>vs</i> non mantenimento		Beneficio EFS/OS
			EFS o PFS	OS	
McCarthy et al. ⁽³³⁾	460	10	PFS 46 <i>vs</i> 27 mesi (p<0,001) 3 anni PFS 66% <i>vs</i> 39% EFS 43 <i>vs</i> 27 mesi (p<0,001)	OS a 34 mesi 85% <i>vs</i> 77% (p=0,028) 3 anni OS 88% <i>vs</i> 80%	+/+
Attal et al. ⁽²⁶⁾	614	10	PFS 41 <i>vs</i> 23 mesi (p<0,001) 4 anni PFS 43% <i>vs</i> 22% (p<0,001) EFS 40 <i>vs</i> 23 mesi (p<0,001)	OS a 45 mesi 74% <i>vs</i> 76% 4 anni OS 73% <i>vs</i> 75%	Non definito
Palumbo et al. ⁽³⁵⁾	251	10	PFS 41,9 <i>vs</i> 21,6 mesi (p<0,001)	3 anni OS 88% <i>vs</i> 79,2% (p=0,14)	Non definito

Tabella 5 – Terapia di mantenimento con lenalidomide

Studio	N. PTS	Dose	Mantenimento <i>vs</i> non mantenimento		Beneficio PFS/OS
			PFS	OS	
Sonneveld et al. ⁽¹¹⁾	827	Per 2 anni: V 1,3 mg/sm IV ogni 2 sett <i>vs</i> T 50 mg/die	PFS (mediana) 35 <i>vs</i> 28 mesi (p=0,002)	FUP mediano 41 mesi; HR 0,77; 5 anni OS 61% <i>vs</i> 55% (p=0,07)	+/+
Rosiñol et al. ⁽³⁷⁾	386	Per 3 anni: V 1,3 mg/sm IV g 1-4-8-11 ogni 3 mesi + T 100 mg/die <i>vs</i> solo T 100 mg/die <i>vs</i> IFN- α 3 MU SC 3 volte/sett	2 anni PFS 78% <i>vs</i> 63% <i>vs</i> 49% (p=0,01)	Differenza non significativa	Non definito

Abbreviazioni: FUP= follow-up

Tabella 6 – Terapia di mantenimento con bortezomib.

Conclusioni

L'algoritmo terapeutico del paziente con MM candidato a ASCT si è consistentemente modificato negli ultimi anni e comprende attualmente fasi sequenziali di terapia, quali induzione, HDT, consolidamento e mantenimento, tra di loro complementari, finalizzate ad incrementare e prolungare la profondità della risposta. L'inserimento dei nuovi farmaci in tutte queste fasi ha consentito di prolungare significativamente PFS e OS dei pazienti così trattati, con

valori mediani che in alcuni studi sono pari a circa 5 e 10 anni, rispettivamente. Non sussiste evidenza a supporto dell'impiego di ASCT dilazionato al momento della ricaduta ⁽³²⁾.

Le speranze per il prossimo futuro sono rivolte alle nuove molecole, quali gli inibitori del proteasoma di seconda generazione carfilzomib e ixazomib, gli anticorpi monoclonali elotuzumab e daratumumab, in considerazione della maggiore efficacia e tolleranza, con minore profilo di tossicità *off target*.

Bibliografia

1. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JE, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med.* 1996;335(2):91-7.
2. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2003;348(19):1875-83.
3. Moreau P, Facon T, Attal M, Hulin C, Michallet M, Maloisel F, et al. Comparison of 200 mg/m² melphalan and 8 Gy total body irradiation plus 140 mg/m² melphalan as conditioning regimens for peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: final analysis of the Intergroupe Francophone du Myélome 9502 randomized trial. *Blood.* 2002;99(3):731-5.
4. Attal M, Harousseau JL, Facon T, Guilhot F, Doyen C, Fuzibet JG, et al. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2003;349(26):2495-502.
5. Cavo M, Tosi P, Zamagni E, Cellini C, Tacchetti P, Patriarca F, et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *J Clin Oncol.* 2007;25(17):2434-41.
6. Cavo M, Rajkumar SV, Palumbo A, Moreau P, Orłowski R, Bladé J, et al. International Myeloma Working Group consensus approach to the treatment of multiple myeloma patients who are candidates for autologous stem cell transplantation. *Blood.* 2011;117(23):6063-73.
7. Lane SW, Gill D, Mollee PN, Rajkumar SV. Role of VAD in the initial treatment of multiple myeloma. *Blood.* 2005;106(10):3674; author reply 3674-5.
8. Lokhorst HM, van der Holt B, Zweegman S, Vellenga E, Croockewit S, van Oers MH, et al. A randomized phase 3 study on the effect of thalidomide combined with adriamycin, dexamethasone, and high-dose melphalan, followed by thalidomide maintenance in patients with multiple myeloma. *Blood.* 2010;115(6):1113-20.
9. Morgan GJ, Davies FE, Gregory WM, Szubert AJ, Bell SE, Drayson MT, et al. Effects of induction and maintenance plus long-term bisphosphonates on bone disease in patients with multiple myeloma: the Medical Research Council Myeloma IX Trial. *Blood.* 2012;119(23):5374-83.
10. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H, Marit G, Caillot D, Mohty M, et al. Bortezomib plus dexamethasone is superior to vincristine plus doxorubicin plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: results of the IFM 2005-01 phase III trial. *J Clin Oncol.* 2010;28(30):4621-9.
11. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, El Jarari L, Bertsch U, Salwender H, et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(24):2946-55.
12. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, Petrucci MT, Pantani L, Galli M, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *Lancet.* 2010 Dec 18;376(9758):2075-85.
13. Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, Hernández D, López-Jiménez J, de la Rubia J, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PE-THEMA/GEM study. *Blood.* 2012;120(8):1589-96.
14. Moreau P, Avet-Loiseau H, Facon T, Attal M, Tiab M, Hulin C, et al. Bortezomib plus dexamethasone versus reduced-dose bortezomib, thalidomide plus dexamethasone as induction treatment before autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood.* 2011;118(22):5752-8; quiz 5982.
15. Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, Williams ME, et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):29-37.
16. Roussel M, Lauwers-Cances V, Robillard N, Hulin C, Leleu X, Benboubker L, et al. Front-line transplantation program with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination as induction and consolidation followed by lenalidomide maintenance in patients with multiple myeloma: a phase II study by the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol.* 2014;32(25):2712-7.
17. Sonneveld P, Asselbergs E, Zweegman S, van der Holt B, Kersten MJ, Vellenga E, et al. Phase 2 study of carfilzomib, thalidomide, and dexamethasone as induction/consolidation therapy for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood.* 2015;125(3):449-56.
18. Engelhardt M, Terpos E, Kleber M, Gay F, Wäsch R, Morgan G, et al. European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Haematologica.* 2014;99(2):232-42.
19. Ludwig H, Sonneveld P, Davies F, Bladé J, Boccadoro M, Cavo M, et al. European perspective on multiple myeloma treatment strategies in 2014. *Oncologist.* 2014;19(8):829-44.
20. Sonneveld P, Goldschmidt H, Rosiñol L, Bladé J, Lahuerta JJ, Cavo M, et al. Bortezomib-based versus nonbortezomib-based induction treatment before autologous stem-cell transplantation in patients with previously untreated multiple myeloma: a meta-analysis of phase III randomized, controlled trials. *J Clin Oncol.* 2013;31(26):3279-87.
21. Mellqvist UH, Gimsing P, Hjertner O, Lenhoff S, Laane E, Remes K, et al. Bortezomib consolidation after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a Nordic Myeloma Study Group randomized phase 3 trial. *Blood.* 2013;121(23):4647-54.
22. Cavo M, Pantani L, Petrucci MT, Patriarca F, Zamagni E, Donnarumma D, et al. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone is superior to thalidomide-dexamethasone as consolidation therapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood.* 2012;120(1):9-19.
23. Ladetto M, Pagliano G, Ferrero S, Cavallo F, Drandi D, Santo L, et al. Major tumor shrinking and persistent molecular remissions after consolidation with bortezomib, thalidomide, and dexamethasone in patients with autografted myeloma. *J Clin Oncol.* 2010;28(12):2077-84.
24. Leleu X, Fouquet G, Hebraud B, Roussel M, Caillot D, Chrétien ML, et al. Consolidation with VTd significantly improves the complete remission rate and time to progression following VTd induction and single autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Leukemia.* 2013;27(11):2242-4.
25. Fouquet G, Hebraud B, Garcia S, Stoppa AM, Roussel M, Caillot D, et al. Partial

- response at completion of bortezomib-thalidomide-dexamethasone (vtd) induction regimen upfront in multiple myeloma does not preclude response to VTD in consolidation. *J Cancer*. 2014;5(3):248-52.
26. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, Caillot D, Moreau P, Facon T, et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366(19):1782-91.
 27. Hahn-Ast, C, von Lilienfeld-Toal, M, van Heteren, P, Mückter, S, Brossart, P, Glasmacher, A. Improved progression-free and overall survival with thalidomide maintenance therapy after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a meta-analysis of five randomized trials. *Haematologica (EHA Annual Meeting Abstracts)*. 2011;96(2):884.
 28. Morgan GJ, Gregory WM, Davies FE, Bell SE, Szubert AJ, Brown JM, et al. The role of maintenance thalidomide therapy in multiple myeloma: MRC Myeloma IX results and meta-analysis. *Blood*. 2012;119(1):7-15.
 29. Stewart AK, Trudel S, Bahlis NJ, White D, Sabry W, Belch A, et al. A randomized phase 3 trial of thalidomide and prednisone as maintenance therapy after ASCT in patients with MM with a quality-of-life assessment: the National Cancer Institute of Canada Clinicals Trials Group Myeloma 10 Trial. *Blood*. 2013;121(9):1517-23.
 30. Attal M, Harousseau JL, Leyvraz S, Doyen C, Hulin C, Benboubker L, et al. Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2006; 108(10):3289-3294.
 31. Barlogie B, Pineda-Roman M, van Rhee F, Haessler J, Anaissie E, Hollmig K, et al. Thalidomide arm of Total Therapy 2 improves complete remission duration and survival in myeloma patients with metaphase cytogenetic abnormalities. *Blood*. 2008;112(8):3115-3121.
 32. Spencer A, Prince HM, Roberts AW, Prosser IW, Bradstock KF, Coyle L, et al. Consolidation therapy with low-dose thalidomide and prednisolone prolongs the survival of multiple myeloma patients undergoing a single autologous stem-cell transplantation procedure. *J Clin Oncol*. 2009;27(11):1788-1793.
 33. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, Hurd DD, Hassoun H, Richardson PG, et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366(19):1770-81.
 34. Palumbo A, Bringhen S, Kumar SK, Lupporelli G, Usmani S, Waage A, et al. Second primary malignancies with lenalidomide therapy for newly diagnosed myeloma: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2014;15(3):333-42.
 35. Palumbo A, Cavallo F, Gay F, Di Raimondo F, Ben Yehuda D, Petrucci MT, et al. Autologous transplantation and maintenance therapy in multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2014;371(10):895-905.
 36. Neben K, Lokhorst HM, Jauch A, Bertsch U, Hielscher T, van der Holt B, et al. Administration of bortezomib before and after autologous stem cell transplantation improves outcome in multiple myeloma patients with deletion 17p. *Blood*. 2012;119(4):940-8.
 37. Rosiñol L. Maintenance Therapy After Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma with Bortezomib/Thalidomide Vs. Thalidomide Vs. alfa2b-Interferon: Final Results of a Phase III Pethema/GEM Randomized Trial. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2012;120:334.

Parole Chiave

Mieloma multiplo, trapianto autologo, nuovi farmaci

Indirizzi per la corrispondenza

Michele Cavo

Istituto di Ematologia ed Oncologia Medica “Seràgnoli”

Università degli Studi di Bologna

Tel. 051 6364038

Fax 051 6364037

E-mail: michele.cavo@unibo.it

Gestione delle complicanze



Maria Teresa Petrucci, Paola Finsinger, Marta Chisini

Divisione Universitaria di Ematologia, Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia
Sapienza Università di Roma

Introduzione

La prognosi dei pazienti affetti da mieloma multiplo (MM) è migliorata negli ultimi dieci anni grazie alle sempre più numerose molecole utilizzate per il trattamento di questa patologia⁽¹⁾. Questi farmaci però non sono scevri da complicanze che se non affrontate in modo corretto possono essere causa di interruzioni inappropriate delle terapie o nei casi più gravi causare anche la morte dei pazienti. Queste molecole hanno un profilo di tossicità diverso tra di loro e rispetto ai farmaci convenzionali. La scelta della migliore terapia per il singolo paziente si dovrà basare quindi oltre che sui risultati scientifici di studi randomizzati e sulle caratteristiche biologiche, età e comorbidità del paziente, anche sul profilo di tossicità dei regimi terapeutici. A questo proposito sarà pertanto necessario tenere ben presente come l'approccio al singolo paziente è completamente cambiato negli anni. Fino a qualche anno fa, l'aver a disposizione soltanto gli alchilanti o la polichemioterapia, faceva sì che l'unica distinzione che veniva fatta era tra i pazienti candidati al trapianto per età e assenza di comorbidità e pazienti non candidati al trapianto. Con l'avvento delle nuove molecole sempre più è necessario distinguere nell'ambito dei pazienti non candidati al trapianto quelli che possono e devono essere trattati con terapie a dosaggi pieni e quelli più fragili nei quali sarà necessario utilizzare le stesse molecole ma a dosaggi ridotti per evitare appunto complicanze⁽²⁾. Nonostante gli accorgimenti che si possono avere, iniziando un trattamento specifico, è necessario comunque tener ben presente la possibile insorgenza di tossicità ematologica come anemia, neutropenia o piastrinopenia, e/o tossicità non ematologiche come neuropatie, trombosi, alterazioni metaboliche, insufficienza renale, infezioni e disturbi gastroenterici che, se accuratamente trattate, non saranno causa di inappropriata interruzione della terapia per il MM migliorandone la loro efficacia.

Complicanze Ematologiche

Anemia

In diverse casistiche l'utilizzo delle nuove molecole associate a desametasone (D) o melfalan (M) e prednisone (P) è causa di una anemia

di grado 3-4 nel 3-19% dei pazienti⁽³⁻⁵⁾. L'uso dell'eritropoietina è indicato nei pazienti con Hb < 9 g/dl, eritropoietina che deve essere sospesa o ridotta ad una dose di mantenimento quando l'emoglobina raggiunge i 12 g/dl, per evitare i possibili eventi avversi (trombosi) che si possono verificare per valori di Hb > 13 g/dl. Tali eventi sono riportati nel 15-20% dei casi in cui l'eritropoietina viene associata a farmaci quali lenalidomide o alte dosi di cortisone⁽⁶⁾.

Neutropenia

La neutropenia è una complicanza che frequentemente viene indotta utilizzando farmaci quali gli alchilanti, soprattutto nei primi cicli di terapia, e che giustifica la valutazione del possibile impiego di una profilassi basata su terapia antibiotica somministrata per via orale, indicazione mandatoria fino a qualche anno fa⁽⁷⁾. Tra le nuove molecole il farmaco che maggiormente è gravato da questa complicanza è la lenalidomide (R), probabilmente per il suo effetto mielotossico maggiore rispetto alla talidomide (T) e al bortezomib (V) (Tabella 1). L'incidenza di neutropenia di grado 3-4 nei pazienti in recidiva trattati con lenalidomide e desametasone (RD) varia dal 30 al 46%⁽⁵⁾ e aumenta in modo significativo nei pazienti precedentemente trattati

Lenalidomide	Talidomide	Bortezomib
Tossicità midollare	Tossicità midollare	No tossicità midollare
Trombocitopenia: Grado 3/4 14,7%	Trombocitopenia: Non comune	Trombocitopenia: Tutti i gradi 35% Grado 3/4 29% Recupero della piastrinopenia nei 10 giorni di riposo
Neutropenia: Grado 3/4 41% Necessità del fattore di crescita nel 33,9% dei casi	Neutropenia: Grado 1/2 15-25%	Neutropenia: Tutti i gradi 19% Grado 3/4 14% Riduzione transitoria con rapido recupero
Anemia: Grado 3/4 13%	Anemia: Rara	Anemia: Grado 3/4 10%

Tabella 1 – Tossicità midollare della lenalidomide, talidomide e bortezomib.

con autotrapianto di cellule staminali ⁽⁸⁾ o in pazienti con insufficienza renale ⁽⁹⁾. Lo stesso schema terapeutico quando utilizzato nei pazienti di nuova diagnosi può indurre una neutropenia nel 21% dei casi ⁽¹⁰⁾, percentuale che raggiunge anche il 52% quando la lenalidomide è associata con il melfalan e il prednisone ⁽¹¹⁾. La talidomide può indurre una modica neutropenia nel 3-15% dei casi ⁽¹²⁾, percentuale che aumenta (16-48%) quando si utilizza in associazione con il MP ⁽¹³⁾. Al contrario, più bassa è l'incidenza di neutropenia nei pazienti trattati con il solo bortezomib ⁽¹⁴⁾, neutropenia che però può aumentare in modo rilevante (30-40% dei casi) quando il bortezomib è associato con la doxorubicina, come avviene nei pazienti in recidiva ⁽¹⁵⁾, o con il melfalan e prednisone nei pazienti di nuova diagnosi ⁽⁴⁾. I pazienti neutropenici hanno un rischio elevato di avere infezioni, che nei pazienti con MM sono una delle principali cause di morbilità. Per tale motivo, l'uso dei fattori che stimolano i granulociti (G-CSF) viene raccomandato per prevenire l'insorgenza di importanti neutropenie. In caso di neutropenie di grado 4 (neutrofili < 500/μl) durante i trattamenti si consiglia di sospendere la terapia specifica ed eseguire terapia antibiotica con ciprofloxacina e G-CSF fino a quando i neutrofili non avranno raggiunto il valore di 1000/μl. La persistenza della neutropenia nonostante l'interruzione della terapia e la somministrazione del G-CSF richiede una valutazione sull'opportunità di ridurre il dosaggio dei farmaci nei cicli successivi (Tabella 2). L'uso del G-CSF-peghilato deve essere preso in considerazione quando si utilizzano schemi polichemioterapici.

Piastrinopenia

La piastrinopenia è abbastanza comune nei pazienti trattati con alchilanti, lenalidomide o bortezomib. Quest'ultimo causa soprattutto un alterato rilascio dei trombociti da parte dei megacariociti più che una tossicità midollare, cosa che giustifica il rapido recupero del numero delle piastrine con la sospensione del trattamento. La lenalidomide può indurre una piastrinopenia di grado 3-4 nel 10-12% dei pazienti trattati in recidiva con lo schema RD ^(5,16) e nel 23% di quelli di nuova diagnosi trattati con melfalan, prednisone e lenalidomide (MPR) ⁽¹¹⁾. Il bortezomib induce piastrinopenia nei pazienti trattati in recidiva rispettivamente nel 15-30% e nel 22% quando utilizzato da solo ⁽¹⁴⁾ o in associazione alla doxorubicina liposomiale peghilata ⁽¹⁵⁾ e nel 21-38% dei pazienti che ricevono bortezomib, melfalan e prednisone (VMP) ⁽⁴⁾ come prima linea di terapia. La talidomide, raramente induce piastrinopenia quando utilizzata da sola. L'incidenza del 3-14% riportata utilizzando lo schema melfalan, prednisone e talidomide (MPT) è generalmente associato al concomitante utilizzo degli agenti alchilanti. In caso di grave piastrinopenia in corso di trattamento sarà necessario interrompere la terapia, intervenire anche con farmaci antifibrinolitici e trasfusioni di concentrati piastrinici, in caso di sanguinamenti, e ridurre i dosaggi delle terapie in rapporto alla tempistica della ripresa midollare (Tabella 3).

Complicanze non ematologiche

Neuropatia

La neurotossicità iatrogena è dovuta soprattutto all'utilizzo del bortezomib e della talidomide; più raramente alla lenalidomide. Una neuropatia di grado 3-4 può essere indotta dal bortezomib e dalla talidomide sia nei pazienti di nuova diagnosi che in recidiva nel 3-12% dei casi ^(3,4,12-15). Una diagnosi precoce permette di intervenire sul dosaggio e sulla schedula di somministrazione dei farmaci evitando quei danni che dipendono dalla loro dose e accumulo ^(12,17). Il precoce riconoscimento della neuropatia è molto importante perché la pronta riduzione del dosaggio del farmaco è il modo più efficace del trattamento di questa complicanza. In uno studio GIMEMA, in cui lo schema terapeutico VMPT è stato comparato al VMP, l'incidenza della neuropatia periferica si riduceva quando il bortezomib dallo schema standard di somministrazione bisettimanale veniva dato settimanalmente, rispettivamente dal 24 al 6% e dal 14 al 2% per i pazienti nel gruppo VMPT e VMP ⁽¹⁸⁾. Una iniziale e incompleta alterazione richiederà una riduzione di dose del farmaco, che al contrario dovrà essere sospeso in caso di dolore neuropatico e di difficoltà a svolgere le normali attività di vita. Per il bortezomib, in caso di neurotossicità di grado 1 con dolore o di grado 2, viene raccomandato una riduzione del dosaggio del farmaco a 1,0 mg/m²; per il grado 2 con dolore o grado 3 la sospensione del trattamento fino alla risoluzione dei sintomi ad almeno grado 1 e la ripresa del farmaco ad un dosaggio ridotto, mentre per il grado 4 il trattamento deve essere sospeso definitivamente ⁽¹⁹⁾.

Neutrofili	
< 500/μl	Interrompere il trattamento (somministrare fattore di crescita + controllo emocromo ogni settimana) Profilassi con ciprofloxacina 500 mg x 2/die Riprendere il trattamento quando neutrofili > 1000/μl
< 1000/μl	Ritardare il ciclo di terapia; se ritardo > 2 settimane o + di 1 citopenia = ridurre il dosaggio dei farmaci

Tabella 2 – Raccomandazioni per la gestione della neutropenia.

Piastrine	
<20.000/μl	Interrompere il trattamento (terapia cortisonica + acido tranexanico + controllo emocromo ogni settimana) Riprendere il trattamento quando piastrine > 50.000/μl
<50.000/μl	Ritardare il ciclo di terapia se ritardo > 2 settimane e + di 1 citopenia = ridurre il dosaggio dei farmaci Trasfusioni di concentrati piastrinici in caso di sintomatologia emorragica

Tabella 3 – Raccomandazioni per la gestione della piastrinopenia.

Per la talidomide in caso di neuropatia di grado 1, l'indicazione è di mantenere lo stesso dosaggio, che sarà ridotto del 50% in caso di grado 2 e per il grado 3 interruzione della terapia con possibilità di riprenderla a dosaggio ridotto se la sintomatologia migliora fino al grado 1 (Tabella 4). A questo proposito si raccomanda un attento monitoraggio clinico in modo da anticipare la comparsa del dolore. Un'attenzione particolare va posta alla comparsa del bruciore notturno alla pianta dei piedi, prelude molto spesso del dolore neuropatico. L'utilizzo giornaliero di vitamine, di pregabalin e gabapentin viene raccomandato come sintomatico, ma la cosa più importante è modificare la posologia e/o le schedule di terapia.

Trombosi venosa

Nel caso del MM gli eventi tromboembolici hanno cause multifattoriali quali caratteristica trombogenica della patologia in sé, probabilmente dovuta alle caratteristiche fisico-chimiche della componente monoclonale (CM), uso di alcune terapie quali talidomide⁽²⁰⁾, lenalidomide⁽²¹⁾, eritropoietina soprattutto in associazione a lenalidomide⁽⁶⁾ o alte dosi di desametasone⁽²²⁾.

Comunemente la più alta incidenza di trombosi si ha nei pazienti con MM alla diagnosi e durante i primi 4-6 mesi di trattamento⁽²³⁾. Uno screening di coagulazione al momento dell'inizio del trattamento non è raccomandato per pazienti asintomatici per problematiche emorragiche o trombotiche. Talidomide e lenalidomide da soli non aumentano l'incidenza della trombosi venosa (VTE) che al contrario aumenta con l'aggiunta del desametasone o della chemioterapia, come dimostrato in uno studio randomizzato che ha testato l'efficacia dello schema talidomide e desametasone (TD) verso le

alte dosi di desametasone in cui gli eventi trombotici dei pazienti con MM, che non ricevevano alcuna profilassi, erano rispettivamente del 18 e 3%⁽³⁾. Anche per lo schema MTP viene riportata una più alta incidenza di VTE. In uno studio GIMEMA l'introduzione della profilassi con eparina a basso peso molecolare ha ridotto gli eventi trombotici dal 20 al 3%⁽¹³⁾. Quale sia la migliore terapia di profilassi, quando si utilizzano farmaci il cui uso può essere complicato da eventi trombotici, è argomento ancora molto dibattuto. Un unico studio randomizzato tra acido acetilsalicilico (100 mg/die), basse dosi di warfarin (1,25 mg/die) ed eparina a basso peso molecolare (LMWH; 40 mg/die SC), eseguito su pazienti in trattamento con regimi terapeutici che comprendano la talidomide, ha dimostrato un'equivalenza tra i tre farmaci nei pazienti con rischio *standard* di sviluppare eventi trombotici, mentre l'eparina è risultata essere più efficace nel prevenire gli eventi trombotici nei pazienti ad alto rischio⁽²⁴⁾. Eventi trombotici sono stati segnalati nel 26% di pazienti di nuova diagnosi trattati con RD, incidenza che si riduce significativamente al 6% quando vengono utilizzate le basse dosi di desametasone (Rd)⁽²²⁾. Nessuna correlazione è stata riportata tra VTE e bortezomib⁽²⁵⁾. Di conseguenza, nell'ambito delle nuove molecole utilizzate, sarà importante prendere in considerazione una profilassi antitrombotica per i soli pazienti in terapia con immunomodulatori, terapia che dovrà tener presente i fattori di rischio dei singoli pazienti. I fattori di rischio da considerare saranno quelli individuali (età, obesità, anamnesi positiva per eventi trombotici, cateteri venosi centrali, cardiopatia, insufficienza renale cronica, diabete, infezioni, interventi chirurgici), quelli correlati alla malattia (esordio di malattia, iperviscosità) e quelli correlati alla terapia (alte dosi di desametasone, doxorubicina, o schemi di polichemioterapia). L'aspirina verrà utilizzata per pazienti che non hanno fattori di rischio o con un fattore di rischio individuale o dovuto alla malattia mentre l'eparina a basso peso molecolare o le dosi terapeutiche di warfarin in caso di pazienti con almeno due fattori di rischio individuali o legati alla malattia, o in trattamento con alte dosi di desametasone o polichemioterapia. La terapia specifica dovrà essere sospesa per essere ripresa dopo un miglioramento o completa risoluzione dell'evento se il paziente, nonostante la profilassi, manifesta una VTE⁽²³⁾.

Insufficienza renale

La disidratazione, le infezioni, l'uso di farmaci nefrotossici quali antibiotici o gli antinfiammatori non steroidei (FANS), l'ipercalcemia e la stessa chemioterapia possono essere causa di alterata funzione renale. L'approccio al paziente con MM a rischio di sviluppare una insufficienza renale sarà di evitare le cause scatenanti questa complicanza per cui oltre a consigliare di bere almeno 2 litri di acqua al giorno, sarà necessario evitare l'uso dei FANS e di altre sostanze nefrotossiche. La scelta del trattamento specifico si farà tenendo presente anche il metabolismo dei farmaci utilizzati: la talidomide e il bortezomib non richiedono alcuna riduzione del dosaggio in caso di insufficienza re-

Neuropatia da bortezomib		Neuropatia da talidomide	
GRADO	Raccomandazioni	GRADO	Raccomandazioni
I	<u>Schedula bisettimanale:</u> ridurre il dosaggio del bortezomib di un livello* o eseguire una dose a settimana <u>Schedula settimanale:</u> ridurre il dosaggio del bortezomib di un livello	I	Ridurre la dose di talidomide del 50%
I con dolore o II	Come sopra, ma se il paziente è già in terapia settimanale interrompere momentaneamente o ridurre la dose di un livello	II	Sospendere il trattamento fino a risoluzione dei sintomi riduzione a grado I e riprendere con un dosaggio del 50%
II con dolore o III o IV	Sospendere definitivamente	III o IV	Sospendere definitivamente

* Riduzione bortezomib: dose standard: 1.3 mg/m²; dose ridotta di 1 livello: 1 mg/m², dose ridotta di 2 livelli: 0,7 mg/m²

Tabella 4 – Raccomandazioni per la gestione della neuropatia.

nale, mentre utilizzando la lenalidomide è necessario eseguire un aggiustamento del dosaggio e un attento controllo della funzionalità renale e degli altri parametri soprattutto nei primi cicli di terapia. La riduzione del dosaggio viene eseguita considerando il valore della clearance della creatinina: in caso di valori tra 30 e 60 ml/min, la dose raccomandata è 10 mg al giorno, mentre per valori inferiori a 30 ml/min la dose è di 15 mg a giorni alterni se il paziente non è dializzato, e 5 mg 3 volte a settimana dopo la dialisi (Tabella 5).

Infezioni

Le infezioni nei pazienti con MM sono una delle cause di morbidità, nel 15% dei casi sono il primo segno di malattia e sono maggiormente a rischio i pazienti durante i primi mesi di trattamento, quelli con insufficienza renale e quelli con malattia attiva rispetto alla malattia stabile. Il rischio è aumentato soprattutto nei pazienti neutropenici da chemioterapia e in quelli trattati con alte dosi di desametasone. Nei pazienti in recidiva trattati con RD viene riportata una incidenza di infezioni di grado 3-4 nel 10-22% dei casi^(5,16), incidenza che è simile per pazienti di nuova diagnosi trattati con lo stesso schema, ma che si riduce dal 16 al 9% quando la lenalidomide è associata alle basse dosi di desametasone (Rd)⁽²²⁾, mentre è del 10% quando la lenalidomide viene somministrata insieme al melfalan e prednisone nella stessa categoria di pazienti⁽¹¹⁾. L'utilizzo del bortezomib, da solo o in associazione con desametasone o chemioterapia nei pazienti in recidiva o di nuova diagnosi induce insorgenza di infezioni di grado 3-4 variabile tra il 2 e 13% in diverse casistiche^(4,14,15,18,26). La terapia con bortezomib è però correlata ad un più alto rischio di infezione da herpes zoster⁽¹⁷⁾, come confermato dallo studio registrativo VISTA in cui i pazienti trattati nel braccio VMP hanno sviluppato con maggior frequenza questa infezione

Funzionalità renale (CLcr)	Dose di lenalidomide
Lieve insufficienza renale (CLcr ≥ 50 ml/min)	25 mg/die (dose completa)
Moderata insufficienza renale (30 < CLcr < 50 ml/min)	10 mg/die*
Grave insufficienza renale (CLcr < 30 ml/min, senza necessità di dialisi)	15 mg a giorni alterni
Malattia renale allo stadio finale (ESRD) (CLcr < 30 ml/min, con necessità di dialisi)	5 mg 3 volte a settimana dopo la dialisi
* La dose può essere aumentata a 15 mg/die dopo 2 cicli qualora il paziente non risponda, ma tollerare la dose	

Tabella 5 – Riduzione del dosaggio di lenalidomide in accordo con il valore della clearance della creatinina.

rispetto ai pazienti trattati con il solo MP (14% vs. 4%)⁽⁴⁾. Utilizzando la talidomide è possibile avere infezioni di grado 3-4 nel 7% dei pazienti trattati con TD⁽³⁾ e nel 10-14% di quelli trattati con MPT^(13,27). Importante soprattutto nei pazienti a rischio provvedere ad una profilassi che dipenderà dalla situazione clinica e dal regime terapeutico utilizzato. Una profilassi con trimetoprim-sulfametossazolo viene raccomandato per i primi due mesi di trattamento chemioterapico e durante l'assunzione delle alte dosi di desametasone, mentre quella antivirale è indicata per tutti i pazienti in terapia con bortezomib. L'assunzione continua di antibiotici può essere considerata per i primi mesi di trattamento, ma viene consigliata soprattutto per i pazienti più anziani ad alto rischio infettivo per comorbidità come malattie polmonari ostruttive, diabete, insufficienza renale. Pazienti neutropenici che presentano febbre devono essere attentamente valutati con emocolture, appropriate indagini radiologiche e trattati con terapia antibiotica a largo spettro e per via endovenosa in caso di infezioni sistemiche severe.

La sindrome della lisi tumorale

È una problematica che raramente riguarda i pazienti affetti da MM trattati con chemioterapia convenzionale comprendente anche gli alchilanti, ma che deve essere tenuta presente con l'uso delle nuove molecole in considerazione di quanto riportato in pazienti trattati con bortezomib^(28,29). Questa differenza potrebbe essere spiegata, in parte, dal fatto che la chemioterapia agisce soltanto sulle cellule proliferanti, che nel MM sono in percentuale molto bassa, mentre il bortezomib su tutte le cellule neoplastiche comprese quelle del microambiente midollare in cui è stato attivato l'NF-κB⁽³⁰⁾. Quindi in caso di pazienti, soprattutto con masse tumorali importanti, sottoposti a terapie che prevedono l'uso dei nuovi farmaci viene consigliato di idratare il paziente, alcalinizzare le loro urine ed inserire farmaci ipouricemizzanti.

Complicanze gastrointestinali

Nausea, diarrea, stitichezza e vomito sono effetti collaterali abbastanza comuni di numerosi farmaci. Le complicanze gastrointestinali sono comunque moderate quando si utilizza la talidomide, la lenalidomide o il bortezomib. Comunemente la talidomide è causa di stitichezza, mentre la lenalidomide e il bortezomib possono indurre sia la stipsi che la diarrea. Nei pazienti in recidiva, l'insorgenza di diarrea di grado 3-4 è stata riportata nel 6-14% e nel 7-10% dei pazienti rispettivamente trattati con il bortezomib da solo o in associazione con desametasone o chemioterapia, e con lo schema RD^(15,14,5,16). Nei pazienti di nuova diagnosi, lo stesso grado di tossicità gastrointestinale è stato del 4-11% con lo schema MPT (prevalentemente stipsi)^(13,27), del 5-17% con il VMP (prevalentemente diarrea)^(4,18,26) e del 2% con lo schema MPR⁽¹¹⁾. Pazienti con diarrea o stitichezza devono mantenere una abbondante diuresi, per cui si raccomanderà di introdurre per via orale un minimo di 2 litri

di liquidi al giorno; in caso di stitichezza si consiglia di utilizzare emollienti per le feci e lassativi osmotici. In presenza di diarrea, dopo aver escluso infezioni, si suggerisce di utilizzare farmaci antidiarroici e per tossicità di grado 3-4 di ridurre il dosaggio dei farmaci del 50%.

Complicanze dermatologiche

Sono eventi rari caratterizzati da *rush* e secchezza della cute e non seri, fatta eccezione della rara necrolisi epidermica tossica e della sindrome di Steven-Johnson⁽¹²⁾. Sono correlati maggiormente all'assunzione di talidomide e lenalidomide, molecole che hanno indotto complicanze dermatologiche di grado 3-4 nell'1-8% dei pazienti^(3,28,5,16). L'utilizzo del bortezomib è raramente correlato a queste complicanze, la sindrome mani-piedi è stata segnalata nell'1-5% dei pazienti trattati con bortezomib e doxorubicina liposomiale a cui verrebbe attribuita questa sintomatologia^(14,15). In caso di tossicità moderata, l'interruzione dell'assunzione del farmaco risolve la problematica, ma se necessario è possibile utilizzare farmaci antistaminici e cortisonici⁽³¹⁾. In caso di tossicità di grado 3-4 si consiglia di ridurre il dosaggio dei farmaci del 50%.

Conclusioni

La prognosi dei pazienti affetti da MM è decisamente migliorata nel corso degli anni, grazie alla possibilità di utilizzare molecole sempre più attive per questa malattia e ai progressi che si sono avuti anche in termine di terapia di supporto. La possibilità di utilizzare al meglio le diverse terapie, anche in pazienti più fragili, contribuisce all'aumento della percentuale di risposte che si riescono ad

ottenere, all'allungamento della durata di queste risposte e quindi al prolungamento anche della durata di sopravvivenza. Miglioramenti questi che incidono positivamente sulla qualità di vita dei pazienti, problematica che sempre più deve essere presa in considerazione e tenuta ben presente quando è necessario decidere il trattamento da effettuare. La conoscenza quindi delle possibili complicanze è fondamentale nella pratica clinica perché, come già ripetutamente detto, permette di prevenirle o quanto meno di affrontarle per evitare ulteriori complicazioni che possono risultare anche fatali.

È indispensabile scegliere per ciascun paziente il miglior regime terapeutico bilanciando la sua efficacia con la sua tossicità. Pazienti con un alto rischio di sviluppare una VTE potranno essere trattati con più tranquillità con regimi terapeutici che comprendano il bortezomib per non aumentare il rischio trombotico; nei pazienti con insufficienza renale sia la talidomide che il bortezomib potranno essere utilizzati a pieno dosaggio mentre la lenalidomide potrà essere somministrata, ma a dosi ridotte sulla base del valore della clearance della creatinina; lenalidomide sarà preferita in pazienti che abbiano già una neuropatia. Pazienti con importanti comorbidità e di età > 75 anni potranno essere trattati con gli stessi farmaci in dosi ridotte già dai primi cicli senza rimandare al momento dell'insorgenza di complicanze. Un attento uso e appropriate riduzioni di dosi in caso di eventi avversi miglioreranno l'efficacia dei trattamenti con i nuovi farmaci evitando inappropriate interruzioni di molecole considerate al momento le migliori.

Bibliografia

1. Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, Pandey S, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients *Leukemia* 2014;28(5):1122-8.
2. Palumbo A1, Mina R. Management of older adults with multiple myeloma. *Blood Rev.* 2013;27(3):133-42.
3. Rajkumar SV, Rosiñol L, Hussein M, Catalano J, Jedrzejczak W, Lucy L, et al. Multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2008;26(13):2171-7.
4. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008;359(9):906-17.
5. Dimopoulos M, Spencer A, Attal M, Prince HM, Harousseau JL, Dmoszynska A, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 2007;357(21):2123-32.
6. Rajkumar SV, Blood E. Lenalidomide and venous thrombosis in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2006;354(19):2079-80.
7. Oken MM, Pomeroy C, Weisdorf D, Bennett JM. Prophylactic antibiotics for the prevention of early infection in multiple myeloma. *Am J Med* 1996;100(6):624-8.
8. Chanan-Khan AA. Lenalidomide (L) in combination with dexamethasone (D) significantly improves time to progression (TTP) in non-stem cell transplant patients (pts) with relapsed or refractory (rel/ref) multiple myeloma (MM): analysis from MM-009 and MM-010 randomized phase III clinical trials. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2006;108(11):3554.
9. Weber D. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone provides improved overall survival compared to high-dose dexamethasone alone for relapsed or refractory multiple myeloma (MM): results of 2 phase III studies (MM-009, MM-010) and subgroup analysis of patients with impaired renal function. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2006;108(11):3547.
10. Lacy MQ, Gertz MA, Dispenzieri A, Hayman SR, Geyer S, Kabat B, et al. Long-term results of response to therapy, time to progression, and survival with lenalidomide plus dexamethasone in newly diagnosed myeloma. *Mayo Clin Proc* 2007;82(10):1179-84.
11. Palumbo A, Falco P, Corradini P, Falcone A, Di Raimondo F, Giuliani N, et al. Melphalan, prednisone, and lenalidomide treatment for newly diagnosed myeloma: a report from the GIMEMA Italian multiple myeloma network. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4459-65.
12. Palumbo A, Facon T, Sonneveld P, Bladè J, Offidani M, Gay F et al. Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later. *Blood* 2008;111(8):3968-77.
13. Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, Merla E, Capparella V, Callea V, et al. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomized controlled trial. *Lancet* 2006;367(9513):825-31.
14. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005;352(24):2487-98.

15. Orlowski RZ, Nagler A, Sonneveld P, Bladé J, Hajek R, Spencer A, et al. Randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin plus bortezomib compared with bortezomib alone in relapsed or refractory multiple myeloma: combination therapy improves time to progression. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3892–901.
16. Weber DM, Chen C, Niesvizky R, Wang M, Belch A, Stadtmauer EA, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N Engl J Med* 2007;357(21):2133–42.
17. Richardson PI. The treatment of relapsed and refractory multiple myeloma. *Hematology ASH Educ Program* 2007;317–323.
18. Palumbo A, Bringhen S, Rossi D, Cavalli M, Larocca A, Ria R, et al. Bortezomib-melphalan-prednisone-thalidomide followed by maintenance with bortezomib-thalidomide compared with bortezomib-melphalan-prednisone for initial treatment of multiple myeloma: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2010;28 (34):5101–93.
19. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Stadtmauer EA, Facon T, Harousseau JL et al. Reversibility of symptomatic peripheral neuropathy with bortezomib in the phase III APEX trial in relapsed multiple myeloma: impact of a dose-modification guideline. *Br J Haematol* 2009;144(6):895–903.
20. Zangari M, Siegel E, Barlogie B, Anaissie E, Saghaifan F, Fassas A, et al. Thrombogenic activity of doxorubicin in myeloma patients receiving thalidomide: implications for therapy. *Blood* 2002;100(4):1168–71.
21. Hussein MA. Thromboembolism risk reduction in multiple myeloma patients treated with immunomodulatory drug combinations. *Thromb Haemost* 2006;95(6):924–30.
22. Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, Williams ME, et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010;11(1):29–37.
23. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Richardson PG, San Miguel J, Barlogie B, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008;22(2):414–23.
24. Palumbo A, Cavo M, Bringhen S, Zamagni E, Romano A, Patriarca F, et al. Aspirin, warfarin, or enoxaparin thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma treated with thalidomide: a phase III, open-label, randomized trial. *J Clin Oncol* 2011;29(8):986–93.
25. Lonial S, Richardson PG, San Miguel J, Sonneveld P, Schuster MW, Bladé J, et al. Characterisation of haematological profiles and low risk of thromboembolic events with bortezomib in patients with relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol* 2008;143(2):222–9.
26. Mateos MV, Oriol A, Martínez-López J, Gutiérrez N, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan, and prednisone versus bortezomib, thalidomide, and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated multiple myeloma: a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(10):934–41.
27. Facon T, Mary JY, Hulin C, Benboubker L, Attal M, Pegourie B, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99–06): a randomised trial. *Lancet* 2007;370(9594):1209–18.
28. Terpos E, Politou M, Rahemtulla A. Tumor lysis syndrome in multiple myeloma after bortezomib (VELCADE) administration. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130(10):623–625.
29. Kenealy MK, Prince HM, Honemann D. Tumor lysis syndrome early after treatment with bortezomib for multiple myeloma. *Pharmacotherapy* 2006;26(8):1205–1206.
30. Bharti AC, Shishodia S, Reuben JM, Weber D, Alexanian R, Raj-Vadhan S, et al. Nuclear factor-kappaB and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood* 2004;103(8):3175–3184.
31. Palumbo A, Dimopoulos M, San Miguel J, Harousseau JL, Attal M, et al. Lenalidomide in combination with dexamethasone for the treatment of relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood Rev* 2009;23(2):87–93.

Parole Chiave

Eventi avversi, complicanze, neuropatia, trombosi, infezioni

Indirizzi per la corrispondenza

Maria Teresa Petrucci

Ematologia, Sapienza Università di Roma

Via Benevento, 6

00161 Roma

Tel. (+39) 06 49974430

Fax (+39) 06 441639810

E-mail: petrucci@bce.uniroma1.it

ESSERCI.

Momenti. Persone. Passioni. Celgene lavora ogni giorno per dare a ogni paziente il tempo di viverli. Nonostante la malattia.

celgene.com

Improving the lives of patients worldwide.



La rivista è consultabile anche sui siti web:

Società Italiana di Ematologia (SIE)

[**www.siematologia.it**](http://www.siematologia.it)

Società Italiana di Ematologia Sperimentale (SIES)

[**www.siesonline.it**](http://www.siesonline.it)

Fondazione Beat Leukemia Dr Alessandro Cevenini

[**www.beat-leukemia.com**](http://www.beat-leukemia.com)

Nel prossimo numero: Anno 2 - Numero 2 - 2015

Farmaci bersaglio

Dalla biologia alle terapie mirate

Leucemia mieloide cronica

Leucemia linfatica cronica

Neoplasie mieloproliferative Ph-

Linfomi maligni

Con il supporto non condizionato di

