

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia

**Dottorato di Ricerca in Terapie Avanzate Biomediche e
Chirurgiche**

XXXIV Ciclo

**Profilo clinico dei pazienti a lunga sopravvivenza con diagnosi di
Mieloma Multiplo**

Dottoranda:
Dott.ssa Marta Raimondo

Docente Tutor:
Ch.mo Prof. Fabrizio Pane

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

INDICE

ABSTRACT

1. INTRODUZIONE

1.1 DEFINIZIONE DI MALATTIA

1.2 EPIDEMIOLOGIA

1.3 PATOGENESI

1.4 LABORATORIO ED ESAMI STRUMENTALI

1.5 DIAGNOSI

1.6 STADIAZIONE E FATTORI PROGNOSTICI

1.7 CRITERI DI RISPOSTA

1.8 CLINICA

1.9 TERAPIA

2. DISEGNO DELLO STUDIO: OBIETTIVI PRIMARI E SECONDARI

3. MATERIALI E METODI

4. RISULTATI

4.1 RISULTATI PRELIMINARI DEI VARI CENTRI

4.2 RISULTATI DEL CENTRO PROMOTORE

5. DISCUSSIONE

6. CONCLUSIONI

7. REFERENZE

ABSTRACT

Il Mieloma Multiplo è una neoplasia plasmacellulare che rappresenta l'1,8% delle neoplasie ed è la seconda più comune neoplasia ematologica con un'incidenza in Europa del 4,5-6,0 casi su 100000 abitanti per anno. Nonostante il significativo miglioramento della sopravvivenza negli ultimi 20 anni, solo il 10-15 % dei pazienti ha un'aspettativa di vita sovrapponibile alla popolazione generale¹.

Sebbene la sopravvivenza media sia di circa 36 mesi, esiste un gruppo di pazienti che ha una sopravvivenza superiore a 10 anni. Sono i *long term survivors*. E' un gruppo numericamente molto limitato, per il quale vi è grande interesse nel ricercare caratteristiche biologiche, genetiche e di risposta alla terapia che possano spiegare questo andamento.

Nel gennaio 2020 abbiamo invitato 100 centri ematologici italiani afferenti al Working Group Myeloma EMN a raccogliere dati retrospettivi dei pazienti affetti da mieloma multiplo vissuti più di 10 anni dall'inizio della chemioterapia, escludendo le forme solitarie. Dopo approvazione del CE, 12 centri hanno inviato dati di 188 pazienti. Due comitati etici hanno negato l'approvazione non ritenendo validi i presupposti statistici. In questo lavoro sono stati mostrati i risultati preliminari evidenziando alcune caratteristiche cliniche dei pazienti affetti da Mieloma Multiplo lungosopravvivenenti.

Sono stati poi analizzati più nello specifico i 25 pazienti afferenti presso l'Ematologia della Scuola di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Napoli Federico II e di questi, mediante l'utilizzo di end-point tempo dipendenti, è stata valutata la differente progressione della malattia nei lungo sopravvivenenti.

1. INTRODUZIONE

1.1 DEFINIZIONE DI MIELOMA MULTIPLO

Il mieloma multiplo è una neoplasia ematologica derivante dalla trasformazione ed accumulo di plasmacellule neoplastiche nel midollo osseo, che causano le tipiche lesioni osteolitiche e l'insufficienza midollare. Nel mieloma multiplo si verifica un danno genetico che interessa il B linfocita nel centro germinativo, come dimostra la presenza di ipermutazioni somatiche a livello della regione variabile del recettore dell'antigene, e della ricombinazione della regione costante dello stesso recettore. Questa cellula B linfocitaria migrerebbe poi nel midollo osseo, dove, a seguito dell'interazione con il microambiente completerebbe il processo di differenziazione terminale a plasmacellula. Le plasmacellule maligne stimolano direttamente ed indirettamente gli osteoclasti, che causano riassorbimento osseo, ed inibiscono gli osteoblasti, deputati a formare nuovo tessuto osseo, causando le lesioni osteolitiche del mieloma multiplo con ipercalcemia secondaria. L'incremento della componente monoclonale e del calcio sierico possono alterare la funzionalità renale. Altri effetti sulla neoplasia maligna sono l'anemia e l'immunosoppressione. Il quadro clinico che ne deriva è quindi caratterizzato da dolore osseo, danno renale, astenia correlata all'anemia ed infezioni. Il mieloma multiplo è attualmente considerato una patologia inguaribile, con una sopravvivenza, prima dell'avvento dei nuovi farmaci, non superiore ai tre anni. Lo scenario terapeutico del mieloma è cambiato totalmente negli ultimi quindici anni con l'introduzione progressiva di nuovi farmaci che hanno migliorato significativamente i risultati ottenuti precedentemente solo con la chemioterapia, in termini di tempo alla progressione (TTP), di sopravvivenza libera da malattia (PFS) e di sopravvivenza globale (OS) nei pazienti candidabili al trapianto e non.

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Il mieloma multiplo rappresenta l'1,8% delle neoplasie ed è la seconda più comune neoplasia ematologica con un'incidenza in Europa del 4.5-6.0 casi su 100000 abitanti per anno.

Il mieloma multiplo è una neoplasia dei soggetti anziani caratteristicamente, con un'età mediana alla diagnosi di circa 70 anni; circa il 30% dei pazienti ha più di 75 anni alla diagnosi e meno del 10% un'età compresa tra 20 e 40 anni.

L'incidenza del mieloma multiplo è diversa nei vari gruppi etnici e più alta nella popolazione di colore, a suggerire una predisposizione genetica a sviluppare la malattia, confermata anche dalla sua maggiore incidenza in familiari di primo grado di pazienti affetti. Sono inoltre riconosciuti fattori esogeni che possono aumentare il rischio di sviluppare la malattia, tra cui fattori chimici, fisici e condizioni patologiche quali malattie autoimmuni ed obesità. Tuttavia nella gran parte dei pazienti di nuova diagnosi non sono riscontrati fattori di rischio genetico o ambientale e si ritiene che la patogenesi del mieloma multiplo riconosca principalmente fattori acquisiti intrinseci alla cellula ed al microambiente.

Nella maggior parte dei pazienti, l'insorgenza della malattia nella sua forma sintomatica è preceduta da una fase di gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) e da una fase di mieloma multiplo indolente o smoldering, asintomatiche e non clinicamente evidenziate.

1.3 PATOGENESI

E' ormai noto che il processo di trasformazione non deriva da un singolo evento, ma da molteplici alterazioni genomiche stocastiche, acquisite dalle cellule tumorali in modo seriale e parallelo. Questo percorso di trasformazione attraverso l'accumulo sequenziale di alterazioni trova un corrispettivo in clinica dove il MM evolve da forme asintomatiche verso una malattia sempre più aggressiva, talora con crescita extramidollare, durante il suo

decorso clinico. Le forme asintomatiche sono la gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) ed il MM smoldering (SMM), definite dalla presenza di un clone plasmacellulare in assenza di danno d'organo, e differenziate tra di loro attraverso parametri clinici volti a misurare la massa di malattia come descritto in seguito. La MGUS è una patologia di riscontro molto comune, stimata intorno al 2-3% della popolazione di età maggiore di 50 anni.

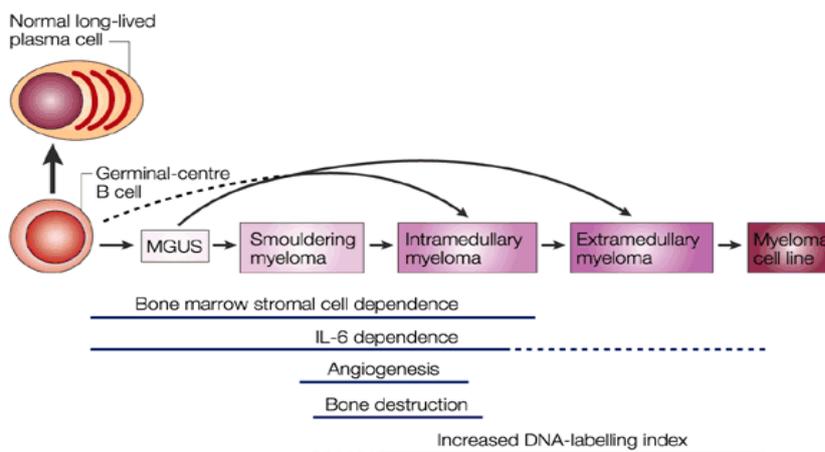


Figura 1 Il mieloma insorge da una cellula B germinale. Nel 30% dei casi insorge come progressione da una MGUS. Talvolta si verifica il passaggio in *smolderingmyeloma*. Nella fase iniziale è prevalentemente intramidollare, successivamente può estendersi.

Lo studio tramite FISH ed Array - Comparative GenomicHybridization (Array-CGH) di casi di MGUS ha permesso di evidenziare in questi la presenza di anomalie citogenetiche, ed in particolare:

- Traslocazioni dei locus della catena pesante delle immunoglobine (IGH) localizzato nel cromosoma 14q32 dove un processo aberrante di ricombinazione della regione costante può causare la giustapposizione tra un enhancer IGH (fortemente attivo nelle plasmacellule) ed un oncogene in grado di sostenere la trasformazione neoplastica. Esistono tre gruppi di traslocazione, in base agli oncogeni coinvolti:

1. il gruppo di MMSET, con overespressione di MMSET in 4p16 nel 15% dei casi, e del vicino FGFR3 nell'80% di questi;
 2. il gruppo delle cicline (Ciclina D1 in 11q13, 15%; Ciclina D2 in 12p13, <1%; Ciclina D3 in 6p21, 2%);
 3. il gruppo di MAF (MAF in 16q23, 5%; MAFB in 20q12, 2%, MAFA in 8q24.3, <1%).
- Trisomie di due o più cromosomi 3,5,7,9,11,15,19,21, che portano ad un quadro di iperdiploidia. In questo caso, il meccanismo trasformante non è noto, ma si pensa sia legato all'iperespressione di uno o più oncogeni nei cromosomi trisomici.

Mentre la patogenesi dei casi di iperdiploidia è tuttora ignota, sembra che le traslocazioni IGH derivino da riarrangiamenti aberranti promossi da rotture del doppio filamento di DNA causati dall'enzima AID durante il processo di ricombinazione della regione costante, o meno frequentemente di ipermutazione della regione variabile, del recettore per l'antigene. In questo senso, il rischio di sviluppare una neoplasia plasmacellulare sarebbe intimamente connesso ai meccanismi fisiologici di generazione di diversità della risposta anticorporea nel genere umano e questo ne spiegherebbe l'alta prevalenza nella popolazione adulta/anziana. Le anomalie citogenetiche descritte sopra sono presenti sia nella MGUS sia nel MM e sono dunque riconosciute come eventi primari, ovvero inizianti la trasformazione neoplastica del clone plasmacellulare. Tuttavia, essi non sono eventi sufficienti per sviluppare una malattia sintomatica in quanto la grande maggioranza dei casi di MGUS non ha tendenza evolutiva ed anzi rimane stabile per decenni nella maggior parte dei pazienti.

PROGRESSIONE DI MALATTIA

Il tasso di trasformazione da MGUS a MM è costante nel tempo e indipendente dalla durata della diagnosi di MGUS, il che suggerisce che la progressione di malattia è determinata da un evento acquisito in modo stocastico piuttosto che da un accumulo

progressivo di eventi diversi con effetto additivo. Ciononostante, il meccanismo di progressione non è stato dimostrato ad oggi e sebbene sia inverosimile ipotizzare una modalità di progressione comune a tutti i casi, si ritiene che tra i possibili eventi rientrino l'acquisizione di eventi genetici secondari, la disregolazione del ciclo cellulare con conseguente aumento della capacità proliferativa delle cellule, la resistenza all'apoptosi e cambiamenti del microambiente midollare.

ANOMALIE GENETICHE SECONDARIE

Sebbene traslocazioni di IGH si riscontrino sia nelle MGUS che nel MM, la loro prevalenza aumenta con l'evolversi della malattia verso forme più aggressive. Inoltre, c'è differenza tra le traslocazioni primarie riscontrate nella MGUS, che sono in genere eventi clonali, bilanciati, che coinvolgono le regioni di ricombinazione della regione costante, e le traslocazioni secondarie nel MM, che sono subclonali, coinvolgono altre regioni dell'IGH e spesso rientrano in traslocazioni complesse con più di due cromosomi. Tra le traslocazioni secondarie rientrano quelle che coinvolgono l'oncogene MYC, aumentandone significativamente l'espressione nei casi di MM rispetto alla MGUS. Altri eventi genetici secondari riguardano delezioni in regioni di geni oncosoppressori e tra queste la 17p13, dove si trova l'inibitore delle cicline CDKN2C. E' perciò evidente che traslocazioni primarie e alterazioni secondarie hanno come effetto finale quello di aumentare le capacità proliferative della cellula, inattivando i meccanismi di controllo del ciclo cellulare. A questo proposito, è interessante notare come l'iperespressione di una ciclina D sembri essere un terminale comune di molte alterazioni, a partire da quelle dove il gene è direttamente coinvolto da una traslocazione, per continuare con le traslocazioni del gruppo MAF che hanno come effetto finale l'iperespressione di ciclina D2, ed infine tramite la perdita di inibitori delle cicline D chinasi come CDKN2A e CDKN2C.

Inoltre, le mutazioni di geni che regolano la via di trasduzione del segnale di MAPK sono considerati eventi tardivi. Tra queste, mutazioni attivanti di KRAS, NRAS; BRAF, e mutazioni inattivanti di NF1 e RASA2 sono descritte in circa i due terzi dei casi di MM alla diagnosi.

Infine, inattivazione di geni che regolano la via di trasduzione del segnale di NF- κ B sono presenti in circa il 17% dei casi alla diagnosi, e tra queste mutazioni inattivanti o delezioni di TRAF3, CYLD, BIRC2 e BIRC3.

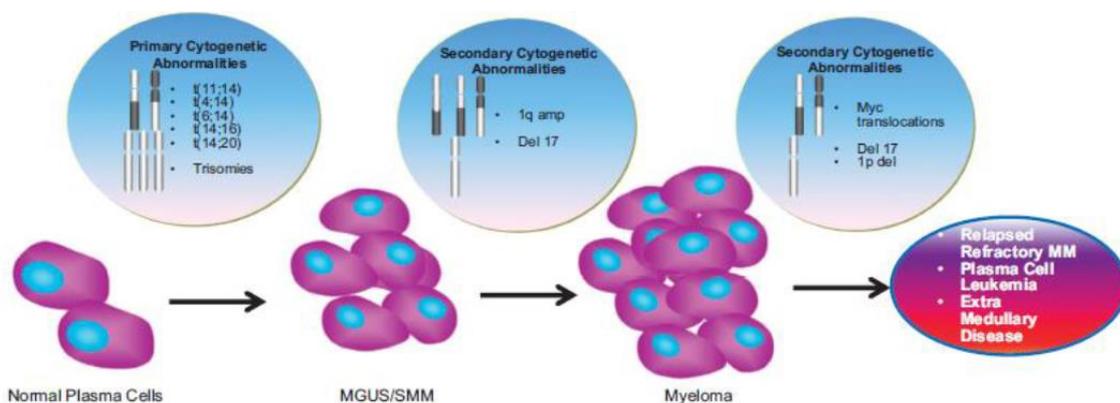


Figura 2 Anomalie citogenetiche primarie e secondarie che conducono al Mieloma. Adattata da *Blood* ²¹.

DISREGOLAZIONE DELL'APOPTOSI

Le plasmacellule neoplastiche esibiscono resistenza a segnali apoptotici attraverso vari meccanismi, ad esempio iperespressione di Toll-Like Receptors collegata al legame con ligandi non meglio identificati, iperespressione del recettore della IL-6 prodotta nel microambiente, iperespressione della molecola anti-apoptica BCL-2. Inoltre anche i microRNA giocano un ruolo nella regolazione dei processi biologici e la loro iperespressione legati alla via di trasduzione della IL-6 o contro il gene pro-apoptico BIM, è stata osservata in plasmacellule neoplastiche rispetto a plasmacellule sane e nel mieloma multiplo rispetto a MGUS.

ETEROGENEITA' CLONALE DEL MIELOMA MULTIPLO

Diversi studi indicano che il Mieloma Multiplo è una malattia eterogenea fin dalla diagnosi. Una volta stabilito il clone neoplastico tramite il meccanismo di iniziazione, le varie cellule che lo compongono possono acquisire eventi aggiuntivi in maniera stocastica ed indipendente. La competizione per le risorse metaboliche e la terapia applicata, creano in questo una pressione evolutiva tra gruppi di cellule contenenti alterazioni diverse (subcloni), dalla quale può emergere di volta in volta un clone dominante diverso. Questo concetto implica che la terapia applicata può alterare la spontanea tendenza evolutiva della malattia, modificando la chemiosensibilità ad ogni recidiva.

RUOLO DEL MICROAMBIENTE

Le alterazioni genomiche sono necessarie ma non sufficienti per lo sviluppo del mieloma multiplo da una fase di MGUS. Occorre che ci sia un microambiente adeguato, costituito da componenti cellulari e non. Ad esempio, l'aumento della neoangiogenesi nei pazienti con mieloma multiplo rispetto a pazienti con MGUS con aberrante espressione di HIF-1a, HIF-2, VEGF e HGF, ma anche la diversità delle cellule endoteliali dei pazienti affetti da mieloma multiplo rispetto alle cellule endoteliali normali. Numerose citochine sono aumentate nel midollo dei pazienti affetti da mieloma multiplo e mediano un circuito di feedback positivo tra cellule tumorali e stroma, favorente la progressione neoplastica. La più rappresentativa è la IL-6, prodotta in prevalenza dalle cellule stromali, che rappresenta un vero e proprio fattore di crescita per le plasmacellule attraverso la via di MAPK, JAK/STAT e PI3K/AKT. Altre citochine coinvolte nella proliferazione plasmacellulare sono IGF-1, TNFalfa, IL-1beta, IL-17.

Sono coinvolte anche le cellule del sistema immunitario: l'aumentata espressione del recettore inibitorio PD-1 sui linfociti T, associata all'aumentata espressione del ligando PD-L1 nelle plasmacellule mielomatose, rende ragione della anergia dell'asse T linfocitario e della conseguente tolleranza immunologica nei confronti delle plasmacellule neoplastiche.

Inoltre, il midollo dei pazienti affetti da mieloma multiplo è ricco di linfociti Th17, in grado di indurre immunosoppressione soprattutto attraverso la produzione di IL-17 e IL-10. Anche le cellule mieloidi rivestono un ruolo importante nel microambiente del mieloma multiplo. Oltre ai tumor associated macrophages (TAM), che hanno un'ampia capacità di produzione di citochine (IL-6, TNF, VEGF, IL-10), di recente è stata descritta una eterogenea popolazione di cellule mieloidi soppressorie (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) che vanno dalle cellule più immature fino ai neutrofili e che hanno una forte capacità immunosoppressiva soprattutto attraverso la produzione di arginasi che depleta l'ambiente di arginina, amminoacido indispensabile per l'attività dei T linfociti. Per altro queste cellule hanno anche la capacità di differenziarsi in TAM ed in osteoclasti. Questi ultimi sono in netta prevalenza sugli osteoblasti nel microambiente patologico promosso dalle plasmacellule mielomatose ed in tal modo si giustifica la comparsa di lesioni osteolitiche nel mieloma multiplo, promosse da un eccessivo riassorbimento non controbilanciato da nuova apposizione di tessuto osseo. Questo sbilanciamento è promosso da citochine pro-osteoclastogeniche quali RANKL, MIP-1alfa, IL-3, IL-6 e IL-7 e da una riduzione di citochine inibenti gli osteoclasti, quali la osteoprotegerina. Di contro la osteoblastogenesi nel mieloma multiplo è ridotta a seguito produzione di fattori che favoriscono la proliferazione osteoblastica come RUNX2 e la aumentata produzione di fattori inibenti quali DKK1, HGF e TGF-beta. Infine le cellule staminali mesenchimali (MCS), hanno un ruolo nella progressione della patologia mielomatosa. A differenza dei soggetti normali, nel mieloma multiplo sotto lo stimolo delle plasmacellule clonali le MCS sono in grado di secernere una grande quantità di citochine che favoriscono la proliferazione delle plasmacellule stesse (IL-6, TNFalfa, VEGF, IL-1beta), hanno un profilo genomico alterato e trascritto alterato e favoriscono la trasformazione delle cellule mieloidi in cellule ad attività immunosoppressiva.

1.4 LABORATORIO ED ESAMI STRUMENTALI

Le più recenti raccomandazioni, pubblicate dall'ESMO nel 2021, per i tests richiesti per la diagnosi, la determinazione della prognosi e il follow-up del MM sono descritte in tabella 1.

Tab.1. Recommendations on Examinations at Diagnosis, Response Assessment, During Follow-up and at Relapse of MM.

	Tool	Diagnosis	At Response	At Follow-up	At Relapse
	Blood count and bloodsmear	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Serumelectrophoresis and IF	Obligatory	Obligatory (IF for CR confirmation)	Obligatory (IF for CR patients)	Obligatory
	Serum-free light chain	Obligatory	Obligatory to confirmsCR	Obligatory	Obligatory
Blood	Serumimmunoglobulin levels	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Renal and liverfunctiontests	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Calcium	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Lactatedehydrogenase	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory
	Albumin, β 2m	Obligatory	Notrequired	Optional	Obligatory
	Flow cytometry	Optional	Notrequired	Notrequired	Optional
Urine	Urine sample from 24 h urine collection to check for proteinuria and light-chain proteinuria	Obligatory	Obligatory	Obligatory	Obligatory

	Tool	Diagnosis	At Response	At Follow-up	At Relapse
	Urine electrophoresis and IF electrophoresis	Obligatory	Obligatory (IF for CR confirmation)	Obligatory (IF for CR patients)	Obligatory
	BM cytology and biopsy to confirm plasmacytosis and monoclonality	Obligatory	Obligatory to confirm CR or for nonsecretory MM	Not required	Optional (obligatory for nonsecretory disease)
	NGF or NGS to detect clonal plasma cells	Obligatory	Obligatory to confirm MRD negativity in CR or sCR patients	Every 12 mo in CR and/or MRD-negative patients ^a	Optional
BM	Cytogenetics: karyotype and FISH for detection of del17p, t(4;14), t(14;16), ampl 1q/gain 1q, t(11;14)	Obligatory	Not required	Not required	Obligatory for del17p, ampl 1q/gain 1q and t(11;14)
	Advanced techniques: GEP, NGS	For clinical trials use only	For clinical trials use only	For clinical trials use only	For clinical trials use only
	WBLD-CT	Obligatory	Not required	When symptomatic (or CT of the symptomatic area)	Obligatory
Imaging	PET-CT	Optional (it may be carried out instead of WBLD-CT if	Obligatory to confirm imaging MRD	Every 12 mo in BM MRD-negative patients ^b	Optional

Tool	Diagnosis	At Response	At Follow-up	At Relapse
	available)			
	Obligatory in WBLD-CT-			
Whole-body MRI	negative cases and if PET-CT is not carried out	Not required	When symptomatic	Optional

Adapted with permission from Caers et al.

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

1.5 DIAGNOSI

In accordo ai criteri IMGW pubblicati nel 2016 e confermati dalle linee guida ESMO del 2017 e 2021, si definisce:

- MGUS (gammopatia monoclonale di incerto significato): componente monoclonale <3 g/dl e plasmacellule midollari $<10\%$ in assenza di alcuna manifestazione clinica di mieloma;
- SMM (smoldering mieloma): componente monoclonale >3 g/dl o Bence-Jones > 500 mg/24h e/o una quota di plasmacellule midollari del 10-60% con negatività di indagini strumentali (radiografia in toto ed in caso di negatività RMI o PET-TC) in assenza di sintomi legati al mieloma o all'amiloidosi;
- MM (mieloma multiplo): plasmocitosi midollare $>10\%$ o plasmocitoma extramidollare ed uno o più dei "myeloma defining event" (MDE):

- calcemia >0.25 mmoli/l (>1 mg/dl) del limite superiore di normalità oppure > 11 mg/dl;
- insufficienza renale: clearance della creatinina <40 mL per minuto o creatinina sierica >2 mg/dl;
- anemia: emoglobina ridotta di >2 g/dl oltre il limite inferiore di normalità oppure < 10 g/dl;
- lesioni ossee: una o più lesioni osteolitiche alla radiografia dello scheletro, TC o PET-TC;
- infiltrato plasmacellule midollari $>60\%$;
- free light chain ratio sieriche >100 (coinvolgimento catene kappa) o $< 0,01$ (coinvolgimento catene lambda)
- >1 lesione ossea focale alla risonanza magnetica nucleare >5 mm.

1.6 STADIAZIONE E FATTORI PROGNOSTICI

La prognosi della malattia è legata a fattori correlati al paziente, quali l'età e le comorbidità che incidono sulla candidabilità del paziente al trapianto ed al trattamento chemioterapico ad alte dosi, ed a fattori correlati invece alla malattia, quali l'entità della massa tumorale (beta-2 microglobulina) e la presenza di alterazioni cromosomiche, testimoni dell'aggressività del clone neoplastico.

I sistemi classificativi usati inizialmente nel mieloma multiplo prendevano in considerazione parametri clinici da usare come surrogato della massa di malattia e del danno d'organo. E' questo il caso del sistema classificativo di Durie e Salomon (DS) (**tabella 2**), che divideva i pazienti in tre classi in base al livello di anemia, calcemia, proteina monoclonale nel siero e nelle urine, lesioni ossee ed insufficienza renale, con soglie più basse per i mielomi IgA, a prognosi peggiore.

Tabella 2. Classificazione di Durie e Salmon

STADIO	Impatto sul paziente
Stadio I (massa cellulare ridotta)	Tutti i seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Emoglobina > 10 g/dl • Calcemia normale o \leq 12 mg/dl • All'esame radiografico delle ossa, struttura ossea normale o plasmocitoma solitario • \leq 1 lesione ossea • Limitati tassi di produzione della proteina M o IgG < 5 g/dl o IgA < 3 g/dl o proteina M urinaria < 4 g/24 h • Concentrazione delle cellule mielomatose < $0,6 \times 10^{12}$ cellule/m²
Stadio II (massa cellulare intermedia)	<ul style="list-style-type: none"> • Non rientra né nello stadio I né nello stadio III • Concentrazione delle cellule mielomatose compresa tra $0,6$ e $1,2 \times 10^{12}$ cellule/m²
Stadio III (massa cellulare elevata)	Uno o più dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Emoglobina < 8,5 g/dl • Calcemia > 12 mg/dl • Lesioni ossee di tipo osteolitico in fase avanzata (> 3 lesioni ossee) • Elevati tassi di produzione della proteina M o IgG > 7 g/dl o IgA > 5 g/dl o proteina M urinaria > 12 g/24 h • Concentrazione delle cellule mielomatose > $1,2 \times 10^{12}$ cellule/m²

Sottoclassificazione (A o B) A: funzione renale relativamente normale (creatininemia < 2 mg/dl). B: funzione renale alterata (creatininemia \geq 2 mg/dl)

Successivamente, questo sistema è stato abbandonato in favore dell'International Staging System (ISS), che ha capacità predittiva superiore al DS e riconosce tre gruppi prognostici divisi in base ai livelli di albumina e beta2-microglobulina.

La beta2 microglobulina correla con la massa di malattia, con i livelli di funzionalità renale e con la funzionalità del sistema immunitario in generale. I livelli sistemici di IL-6 prodotta nel microambiente midollare sotto l'influsso delle cellule mielomatose influenzano negativamente la produzione di albumina a livello epatico, che si riduce quando la malattia è florida.

L'ISS è stato poi successivamente migliorato nel Revised-ISS (R-ISS) aggiungendo un numero maggiore di variabili, incluse alcune legate direttamente alla biologia della neoplasia quali LDH ed analisi delle lesioni genetiche.

Tabella 3. NCCN guidelines version 2019 Multiple Myeloma

Stage	International Staging System (ISS)	Revised-ISS (R-ISS)
I	Serum beta-2 microglobulin <3.5 mg/L, Serum albumin ≥3.5 g/dL	ISS stage I and standard-risk chromosomal abnormalities by iFISH ² and Serum LDH ≤ the upper limit of normal
II	Not ISS stage I or III	Not R-ISS stage I or III
III	Serum beta-2 microglobulin ≥5.5 mg/L	ISS stage III and either high-risk chromosomal abnormalities by iFISH ² or Serum LDH > the upper limit of normal

Recentemente, per quanto concerne la valutazione complessiva del paziente con mieloma alla diagnosi, sono emerse numerose evidenze circa la necessità di integrare l'età con elementi di valutazione della fitness del paziente, passando quindi dal concetto di età cronologica a quello di età biologica. Uno studio IMWG condotto su 869 pazienti, arruolati

alla diagnosi di mieloma in tre protocolli sperimentali con nuovi farmaci, ha condotto alla creazione di uno score geriatrico mediante la combinazione di parametri come l'età e parametri derivanti dall'applicazione di strumenti per la valutazione della comorbidità (Charlson Comorbidity Index) e della fitness del paziente (ADL- Activities of Daily Living e IADL- Instrumental Activities of Daily Living). Tale score, noto come IMWG frailty score, si è dimostrato capace di stratificare i pazienti dello studio in tre gruppi: pazienti fit, unfit e frail, ciascuno con differenti rischi di progressione, morte e incidenza di tossicità correlata al trattamento. Uno dei parametri di valutazione di efficacia delle terapie per il mieloma multiplo è rappresentato dalla capacità della terapia di "citoridurre" la massa neoplastica. Tale parametro si basa sulla rilevazione della quantità della proteina monoclonale circolante nel siero e nelle urine, espressione indiretta della quota di plasmacellule neoplastiche. L'identificazione e la quantificazione della componente monoclonale vengono eseguite mediante rispettivamente l'immunofissazione e l'elettroforesi proteica. Per la valutazione della risposta dei pazienti affetti da mieloma oligosecerno, è stata introdotta invece la misurazione delle catene libere circolanti (kappa o lambda, FLC sieriche). In aggiunta alla ricerca della componente monoclonale nel siero e nelle urine, l'indagine del midollo emopoietico permette la rilevazione e la quantificazione delle plasmacellule monoclonali presenti nell'ambiente midollare. I criteri di valutazione della risposta stabiliti nel 2006 dall'IMWG che riconoscevano 6 categorie: malattia stabile (SD), risposta minima (MR), risposta parziale (PR), risposta parziale molto buona (VGPR), risposta completa (CR) e progressione di malattia (PD) sono stati aggiornati due volte nel 2011 e nel 2016.

1.7 CRITERI DI RISPOSTA

I nuovi criteri di risposta elaborati dall'International Myeloma Working Group nel 2016 comprendono la risposta completa stringente (sCR), la risposta completa (CR), la very good

partial response (VGPR), la risposta parziale (PR), la risposta minima (MR) in mieloma ricaduto/refrattario, la risposta stabile (SD) e la progressione di malattia (PD).

Accanto ai criteri di risposta standard, l'IMWG ha definito i criteri di risposta completa con valutazione della malattia minima residua, da applicare ai prossimi studi clinici.

Tabella 4. NCCN guidelines version 2019 Multiple Myeloma

RESPONSE CRITERIA FOR MULTIPLE MYELOMA (Revised based on the new criteria by International Myeloma Working Group [IMWG])	
IMWG criteria for response assessment including criteria for minimal residual disease (MRD)	
Response Category	Response Criteria
IMWG MRD criteria (requires a complete response as defined below)	
Sustained MRD-negative	MRD negativity in the marrow (next-generation flow [NGF], next-generation sequencing [NGS], or both) and by imaging as defined below, confirmed minimum of 1 year apart. Subsequent evaluations can be used to further specify the duration of negativity (eg, MRD-negative at 5 years) [†]
Flow MRD-negative	Absence of phenotypically aberrant clonal plasma cells by NGF [‡] on bone marrow aspirates using the EuroFlow standard operation procedure for MRD detection in multiple myeloma (or validated equivalent method) with a minimum sensitivity of 1 in 10 ⁵ nucleated cells or higher
Sequencing MRD-negative	Absence of clonal plasma cells by NGS on bone marrow aspirate in which presence of a clone is defined as less than two identical sequencing reads obtained after DNA sequencing of bone marrow aspirates using a validated equivalent method with a minimum sensitivity of 1 in 10 ⁵ nucleated cells [§] or higher
Imaging plus MRD-negative	MRD negativity as defined by NGF or NGS plus disappearance of every area of increased tracer uptake found at baseline or a preceding PET/CT or decrease to less mediastinal blood pool standardized uptake value (SUV) or decrease to less than that of surrounding normal tissue [¶]
Standard IMWG response criteria	
Stringent complete response	Complete response as defined below plus normal FLC ratio ^{**} and absence of clonal cells in bone marrow biopsy by immunohistochemistry (κ/λ ratio $\leq 4:1$ or $\geq 1:2$ for κ and λ patients, respectively, after counting ≥ 100 plasma cells) ^{††}
Complete response	Negative immunofixation on the serum and urine and disappearance of any soft tissue plasmacytomas and $<5\%$ plasma cells in bone marrow aspirates
Very good partial response	Serum and urine M-protein detectable by immunofixation but not on electrophoresis or $\geq 90\%$ reduction in serum M-protein plus urine M-protein level <100 mg per 24 h
Partial response	$\geq 50\%$ reduction of serum M-protein plus reduction in 24-h urinary M-protein by $\geq 90\%$ or to <200 mg per 24 h; If the serum and urine M-protein are unmeasurable, a $\geq 50\%$ decrease in the difference between involved and uninvolved FLC levels is required in place of the M-protein criteria; If serum and urine M-protein are unmeasurable, and serum-free light assay is also unmeasurable, $\geq 50\%$ reduction in plasma cells is required in place of M-protein, provided baseline bone marrow plasma-cell percentage was $\geq 30\%$. In addition to these criteria, if present at baseline, a $\geq 50\%$ reduction in the size (sum of the products of the maximal perpendicular diameters [SPD] of measured lesions) ^{§§} of soft tissue plasmacytomas is also required
Minimal response	$\geq 25\%$ but $\leq 49\%$ reduction of serum M-protein and reduction in 24-h urine M-protein by 50% – 89% . In addition to the above listed criteria, if present at baseline, a $\geq 50\%$ reduction in SPD ^{§§} of soft tissue plasmacytomas is also required

RESPONSE CRITERIA FOR MULTIPLE MYELOMA
(Revised based on the new criteria by International Myeloma Working Group [IMWG])

Response Category	Response Criteria
Stable disease	Not recommended for use as an indicator of response; stability of disease is best described by providing the time-to-progression estimates. Not meeting criteria for complete response, very good partial response, partial response, minimal response, or progressive disease
Progressive disease ^{III,III}	Any one or more of the following criteria: Increase of 25% from lowest confirmed response value in one or more of the following criteria: Serum M-protein (absolute increase must be ≥ 0.5 g/dL); Serum M-protein increase ≥ 1 g/dL, if the lowest M component was ≥ 5 g/dL; Urine M-protein (absolute increase must be ≥ 200 mg/24 h); In patients without measurable serum and urine M-protein levels, the difference between involved and uninvolved FLC levels (absolute increase must be >10 mg/dL); In patients without measurable serum and urine M-protein levels and without measurable involved FLC levels, bone marrow plasma-cell percentage irrespective of baseline status (absolute increase must be $\geq 10\%$); Appearance of a new lesion(s), $\geq 50\%$ increase from nadir in SPD ^{SS} of >1 lesion, or $\geq 50\%$ increase in the longest diameter of a previous lesion >1 cm in short axis; $\geq 50\%$ increase in circulating plasma cells (minimum of 200 cells per μ L) if this is the only measure of disease
Clinical relapse	Clinical relapse requires one or more of the following criteria: Direct indicators of increasing disease and/or end organ dysfunction (calcium elevation, renal failure, anemia, lytic bone lesions [CRAB features]) related to the underlying clonal plasma-cell proliferative disorder. It is not used in calculation of time to progression or progression-free survival but is listed as something that can be reported optionally or for use in clinical practice; Development of new soft tissue plasmacytomas or bone lesions (osteoporotic fractures do not constitute progression); Definite increase in the size of existing plasmacytomas or bone lesions. A definite increase is defined as a 50% (and ≥ 1 cm) increase as measured serially by the SPD ^{SS} of the measurable lesion; Hypercalcemia (>11 mg/dL); Decrease in hemoglobin of ≥ 2 g/dL not related to therapy or other non-myeloma-related conditions; Rise in serum creatinine by 2 mg/dL or more from the start of the therapy and attributable to myeloma; Hyperviscosity related to serum paraprotein
Relapse from complete response (to be used only if the endpoint is disease-free survival)	Any one or more of the following criteria: Reappearance of serum or urine M-protein by immunofixation or electrophoresis; Development of $\geq 5\%$ plasma cells in the bone marrow; Appearance of any other sign of progression (ie, new plasmacytoma, lytic bone lesion, or hypercalcemia) (see above)
Relapse from MRD negative (to be used only if the endpoint is disease-free survival)	Any one or more of the following criteria: Loss of MRD negative state (evidence of clonal plasma cells on NGF or NGS, or positive imaging study for recurrence of myeloma); Reappearance of serum or urine M-protein by immunofixation or electrophoresis; Development of $\geq 5\%$ clonal plasma cells in the bone marrow; Appearance of any other sign of progression (ie, new plasmacytoma, lytic bone lesion, or hypercalcemia)

Reprinted from The Lancet Oncology, 17: Kumar S, Paiva B, Anderson K, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma, e328–46, Copyright (2016), with permission from Elsevier.

Uno dei più significativi miglioramenti nei criteri di risposta è l'introduzione della malattia minima residua (MRD) sia nel sangue midollare (BM), utilizzando o le tecniche di *next generation sequencing* o le tecniche di *next generation cytometry (NGF)*, o fuori dal midollo osseo utilizzando la PET/TC (imaging MRD). MRD negatività midollare nei pazienti che hanno raggiunto una risposta completa (CR) correla con una prolungata PFS e OS sia nei Mielomi di nuova diagnosi che in quelli recidivati/refrattari. Tuttavia l'utilizzo dell'MRD per guidare le decisioni terapeutiche è utilizzata al momento solo in trials clinici.

1.8 CLINICA

La clinica del mieloma è cambiata nel tempo: la malattia veniva diagnosticata in stadio avanzato, mentre ora un quarto delle diagnosi viene effettuata casualmente durante esami di routine.

I più comuni segni della malattia sono:

- **dolore osseo**: sintomo comune, presente in oltre il 50% dei pazienti, dovuto alle lesioni osteolitiche. Le plasmacellule a livello osseo secernono citochine con attività stimolante gli osteoclasti (osteoclast activating factors) e a loro volta gli osteoclasti secernono fattori che stimolano la proliferazione delle plasmacellule (IL-6). Le lesioni si presentano a margini netti, il fenomeno di riparazione è scarso o assente, per cui rimangono generalmente invariate anche in pazienti che a seguito della terapia raggiungono la remissione completa. Le lesioni osteolitiche sono più frequentemente localizzate nei segmenti ossei in cui è presente midollo emopoietico (vertebre, ossa piatte, cranio). Tipicamente il dolore è localizzato a livello della colonna vertebrale e delle coste; può essere anche molto intenso e indicare la presenza di una frattura patologica.
- **Ipercalcemia**: direttamente correlata al rimaneggiamento osseo. Può essere sintomatica (anoressia, poliuria e polidipsia, fino a quadri di nausea, vomito e disidratazione e da ultimo

segni di encefalopatia ipercalcemica nei casi severi) e in alcuni casi può essere peggiorata da una concomitante insufficienza renale.

- **Astenia:** la proliferazione delle plasmacellule a livello midollare ne compromette la normale attività emopoietica, portando alla riduzione della produzione di globuli rossi e ad una progressiva anemizzazione, la cui manifestazione clinica è l'astenia.

- **Infezioni ricorrenti:** l'espansione del clone neoplastico si accompagna alla riduzione delle immunoglobuline normali ed i pazienti presentano quindi una significativa immunosoppressione. Si osservano infezioni polmonari e delle vie urinarie di natura batterica e riattivazioni di virus, quali l'Herpes Zoster, il virus di Hepstein-Barr e il Citomegalovirus.

- **Insufficienza renale:** la patogenesi è multifattoriale, con un ruolo primario svolto dall'eccesso di catene leggere monoclonali nel plasma, filtrate a livello glomerulare e quindi riassorbite e catabolizzate a livello tubulare. Nel corso di questi processi le catene leggere possono precipitare a livello intratubulare, depositarsi a livello della membrana basale dei tubuli o dei glomeruli o determinare un danno diretto o mediato da enzimi lisosomiali alle cellule tubulari. Il quadro morfo-funzionale più frequente è rappresentato dal rene da mieloma, la cui manifestazione clinica più comune è un'insufficienza renale cronica (un quadro di insufficienza renale acuta è più raro e in genere si verifica qualora concomitino altri fattori precipitanti quali iperuricemia, disidratazione); meno frequenti la malattia da catene leggere e l'amiloidosi AL.

- **Manifestazioni neurologiche:** il danneggiamento osseo e il possibile successivo crollo vertebrale o, meno frequentemente, la presenza di masse plasmacellulari (plasmocitomi) di origine vertebrali o costali, possono determinare compressione midollare o radicolare con conseguenti segni e sintomi neurologici. Neuropatie sensitivo-motorie possono essere conseguenti alla produzione di anticorpi contro le diverse strutture nervose, i più frequenti

sono gli anticorpi anti-glicoproteina mielina-associata MAG, o al deposito di sostanza amiloide lungo le strutture nervose.

- **Sindrome da iperviscosità:** più frequente nei casi di mieloma multiplo di tipo IgA per la tendenza alla polimerizzazione delle immunoglobuline. Le manifestazioni cliniche sono rappresentate da disturbi visivi con caratteristiche alterazioni del fundus, da disturbi neurologici, insufficienza vascolare periferica, insufficienza cardiaca e diatesi emorragica.

1.9 TERAPIA

SMOULDERING MIELOMA (SMM)

I pazienti con rischio standard o intermedio non hanno bisogno di terapia immediata; per quanto riguarda quelli con rischio alto (identificati dalla regola del 20-20-20) si è osservato in studi di fase III che possono giovare, in termini di PFS, dell'utilizzo della lenalidomide. Tuttavia i pazienti con SMM ad alto rischio dovrebbero essere incoraggiati a partecipare a trials di fase III, non essendo al momento approvato alcun trattamento.

PAZIENTI DI NUOVA DIAGNOSI ELEGGIBILI A TERAPIA AD ALTE DOSI E TRAPIANTO AUTOLOGO

Per i pazienti con nuova diagnosi, di età inferiore a 70 anni e senza comorbidità, la terapia di induzione seguita da alti dosi (HDT) con trapianto autologo di cellule staminali (ASCT) e mantenimento con lenalidomide è il trattamento raccomandato.

Un regime a tre farmaci, includendo almeno il bortezomib e il desametasone, si è dimostrato essere lo standard of care. Bortezomib, thalidomide e desametasone (VTD) in induzione mostra un migliore tasso di risposte rispetto al VTD a fronte però di una maggiore neuropatia. VCD (bortezomib, ciclofosfamide e desametasone) e PAD (bortezomib, doxorubina e desametasone) sono ugualmente efficaci in termini di risposta ma il VCD ha un minor tasso di tossicità.

In uno studio a singolo braccio, si è visto che il VRD (bortezomib, lenalidomide, desametasone) determina un maggior numero di VGPR, CR ed MRD negatività, così come una migliore PFS. Comunque in letteratura non c'è uno studio di confronto tra VTD e VRD come terapia di induzione prima del trapianto.

L'introduzione degli anticorpi monoclonali (mAbs) e soprattutto del Daratumumab, nella terapia di prima linea ha cambiato lo scenario nel trattamento del MM. Nello studio di fase III CASSIOPEA, 4 cicli di VTD in induzione sono stati comparati con 4 cicli di Dara-VTD; i pazienti a seguire hanno ricevuto trapianto autologo e mantenimento. La PFS a 18 mesi ha mostrato una superiorità del Dara-VTD rispetto alla tripletta (93% vs 85%). In uno studio di fase II GRIFFIN, 207 pazienti sono stati trattati con VRD+/- Dara per 4 cicli, seguiti da 2 cicli di consolidamento e mantenimento con Dara-lenalidomide. La PFS a 24 mesi era del 95% per DARA-Vrd e 89% per VRD.

La sostituzione del Bortezomib con i nuovi inibitori del proteasoma (carfilzomib) determina un incremento di MRD negatività rispetto allo schema VRD, soprattutto nei pazienti con elevato R-ISS. Tuttavia non vi sono degli studi di confronto diretto tra i due regimi.

Sulla base dei dati di cui sopra, VRd è probabile che offra il miglior profilo rischio-beneficio ad oggi tra le combinazioni triplete (II, B). La combinazione di 4 farmaci DaraVTD è più efficace di VTD (I, A) ma mancano confronti con DaraVRd o VRd (questi regimi non sono stati approvati dall'Unione Europea Agenzia per i medicinali [EMA]).

L'approvazione EMA di DaraVTD lo rende un nuovo standard di cura per l'induzione prima dell'ASCT. Nuovi studi in corso confrontano DaraVRd contro VRd, DaraVCD contro VTD, o combinazioni con nuovi mAbs come IsaVRd, IsaKRd o EloVRd rivelerà il miglior regime di induzione in futuro.

Le alte dosi di Melphalan (200 mg/m²) rimangono lo standard dello schema di condizionamento prima del trapianto autologo. Ne' l'aggiunta di busulfano ne' quella di bortezomib hanno mostrato benefici nell'OS.

Vari studi sono stati condotti sulla terapia di consolidamento, sia utilizzando come terapia ulteriori cicli di VRD sia programmando un secondo trapianto autologo e successivo consolidamento con VRD. Tuttavia, ad oggi, non ci sono dati sufficienti che supportano una terapia di consolidamento.

Il trattamento di mantenimento con lenalidomide dopo ASCT offre un beneficio intermini di PFS ed OS rispetto al placebo, così come riportato in due grossi trials randomizzati.

Una meta-analisi che include più di 1200 pazienti, con un follow-up mediano di 79,5 mesi, ha dimostrato che il mantenimento di lenalidomide offre di più rispetto a 2 anni di beneficio PFS (52,8 vs 23,5 mesi) e 2,5 anni di beneficio della OS rispetto al placebo. In questo studio, c'era nessun beneficio nei pazienti con malattia ISS-III o citogenetica ad alto rischio. L'EMA ha approvato la lenalidomide per la terapia di mantenimento post-ASCT per tutti i pazienti con MM fino alla progressione. Il mantenimento con Bortezomib ha mostrato benefici per la PFS rispetto alla talidomide in uno studio randomizzato, ma il trattamento di induzione non era lo stesso tra i 2 gruppi (PAd versus vincristina, doxorubicina e desametasone [VAD], rispettivamente). Un recente studio di fase III in doppio cieco, controllato con placebo (TOURMALINE-MM3), ha confrontato l'inibitore del proteasoma orale, ixazomib, con il placebo in 656 pazienti che hanno ricevuto terapia di induzione seguita da alte dosi e trapianto autologo. C'è stata una riduzione del 28% del rischio di progressione o morte con ixazomib (mPFS: 26,5 vs 21,3 mo, rispettivamente; P = 0,0023). Nella popolazione ad alto rischio, ixazomib a anche offerto un vantaggio PFS simile rispetto al placebo. Tuttavia al momento ne' Bortezomib ne' Ixazomib sono approvati per la terapia di mantenimento dopo ASCT.

PAZIENTE ANZIANO O CON NUOVA DIAGNOSI DI MM MA NON ELEGGIBILE A TERAPIA AD ALTE DOSI E TRAPIANTO AUTOLOGO

Prima del 2019, VMP e Rd erano gli standard di cura per i pazienti con NDMM che non erano eleggibili per un ASCT in Europa. Uno studio di fase III che confrontava VRd con Rd in 525 pazienti con NDMM (il 43% aveva meno di 65 anni), ha mostrato la superiorità di VRd per quanto riguarda la PFS (mPFS: 41 contro 29 mesi; $P = 0,003$) e OS (mediana OS [mOS] non raggiunto rispetto a 69 mo; $P = 0,0114$).

Basato su questi risultati, l'EMA ha approvato VRd nell'aprile 2019 per l'utilizzo in pazienti NDMM che non sono eleggibili per ASCT. La sostituzione di bortezomib con Kyprolis nella combinazione Rd sembra non offrire risultati migliori. Lo studio ENDURANCE, che ha confrontato KRd vs VRd nei pazienti con NDMM non sottoposti a ASCT, non è riuscito a mostrare la superiorità di KRd per quanto riguarda la PFS nella popolazione in studio ($n = 1087$), che includeva un basso numero di pazienti con citogenetica ad alto rischio.

L'aggiunta di Dara a VMP e Rd ha creato 2 nuovi standard di cura. DaraVMP e DaraRd sono stati approvati da l'EMA nell'ottobre 2019, sulla base dei risultati di 2 grandi fasi III studi. Nello studio ALCYONE, 706 pazienti con NDMM non candidabili a ASCT sono stati randomizzati a ricevere 9 cicli di VMP da soli o con Dara (DaraVMP); poi Dara è stato somministrato fino alla progressione della malattia. A un follow-up mediano di 40 mesi, l'mPFS è stato di 36,4 contro 19,3 mesi per il DaraVMP e VMP, rispettivamente. Nello studio MAIA, 737 pazienti con NDMM non candidabili a ASCT sono stati randomizzati a ricevere DaraRd o Rd fino alla progressione della malattia. A un follow-up mediano di 28 mesi, la PFS stimata a 30 mesi è stata del 70,6% nel gruppo DaraRd e il 55,6% nel gruppo Rd. Altri regimi approvati in questo contesto includono bendamustina più prednisone e melfalan, prednisone e lenalidomide (MPR), ma non sono usati abitualmente e non possono essere considerati come standard di cura. Anche se il mantenimento non è lo standard per i pazienti che non sono candidabili a ASCT (vengono utilizzati quasi tutti i regimi approvati c

fino a progressione o a tossicità inaccettabile), il mantenimento con ixazomib è stato testato in uno studio di fase III che comprendeva 706 pazienti che hanno ricevuto 6-12 mesi di induzione standard prima di essere randomizzato a ricevere ixazomib o placebo.

Di seguito sono riassunte le varie opzioni terapeutiche per la terapia front-line del Mieloma Multiplo (figura 3):

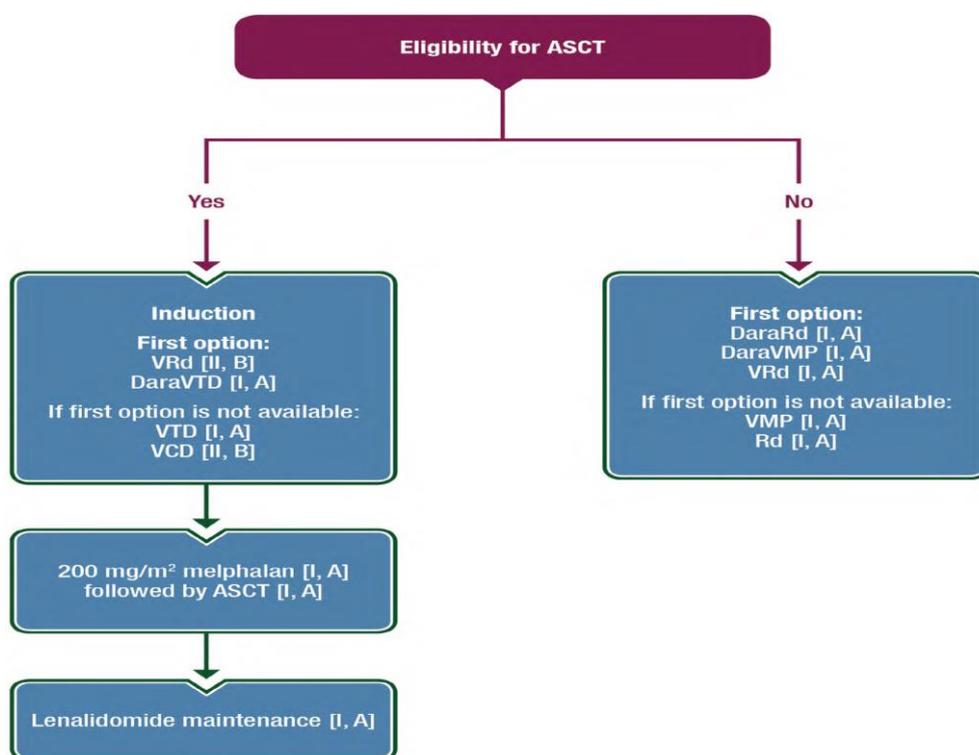


Figure 3. Raccomandazioni per la terapia di prima linea del MM.

ASCT = autologous stem cell transplantation; DaraRd = daratumumab/lenalidomide/dexamethasone; DaraVMP=daratumumab/bortezomib/melphalan/prednisone; DaraVTD = daratumumab/bortezomib/thalidomide/dexamethasone; MM = multiple myeloma; Rd = lenalidomide/dexamethasone; VCD =bortezomib/cyclophosphamide/dexamethasone; VMP = bortezomib/melphalan/prednisone; VRd = bortezomib/lenalidomide/dexamethasone; VTD = bortezomib/thalidomide/dexamethasone.

TRATTAMENTO DEI PAZIENTI RECIDIVATI/REFRATTARI

PAZIENTI CHE HANNO RICEVUTO 1 PRECEDENTE LINEA DI TERAPIA

Il salvataggio ASCT può essere un'opzione per i pazienti che hanno ricevuto l'induzione di prima linea con tripletta a base di bortezomib seguita da un ASCT. Due studi prospettici con ASCT di salvataggio sono stati pubblicati finora. Il primo includeva una re-induzione a base di bortezomib e una randomizzazione tra ASCT di salvataggio e ciclofosfamida, il secondo includeva pazienti tra la prima e la terza linea di terapia che erano stati randomizzati a ricevere da un lato 3 cicli di RD in reinduzione seguiti da ASCT e lenalidomide di mantenimento, dall'altro RD fino a progressione. Anche se non c'è evidenza del ruolo dell'ASCT di salvataggio nei pazienti che hanno ricevuto mantenimento con lenalidomide, un secondo ASCT è un approccio logico per i pazienti che ricadono dopo la prima terapia che include un ASCT seguito da lenalidomide e che hanno avuto una durata iniziale di remissione di ≥ 36 mesi. Nei pazienti in cui non viene considerato un ASCT di salvataggio, la terapia di seconda linea dovrebbe includere un regime basato su Rd, cioè, KRd, DaraRd, ixazomib/lenalidomide/desametasone (IRd) o EloRd per i pazienti che hanno ricevuto una terapia a base di bortezomib senza lenalidomide o Dara (cioè, VCD, VTD, VMP); tutte queste combinazioni sono risultate superiori a Rd, in termini di PFS, in studi cardine di fase III. DaraRd garantisce la PFS più lunga per i pazienti con RRMM che hanno ricevuto 1-3 linee precedenti di terapia e hanno una citogenetica a rischio standard. KRd ed EloRd hanno anche mostrato un vantaggio rispetto a Rd. Pazienti anziani che hanno ricevuto Rd senza Dara o pazienti che hanno ricevuto lenalidomide in mantenimento dopo ASCT e stanno progredendo (pazienti refrattari a lenalidomide), potrebbe ricevere K più desametasone (Kd) o Dara e bortezomib più desametasone (DaraVd).

Studi di tre fasi III suggeriscono che la combinazione di pomalidomide con bortezomib e desametasone (PomVd) e le combinazioni di Dara o Isa con K e desametasone (DaraKd o

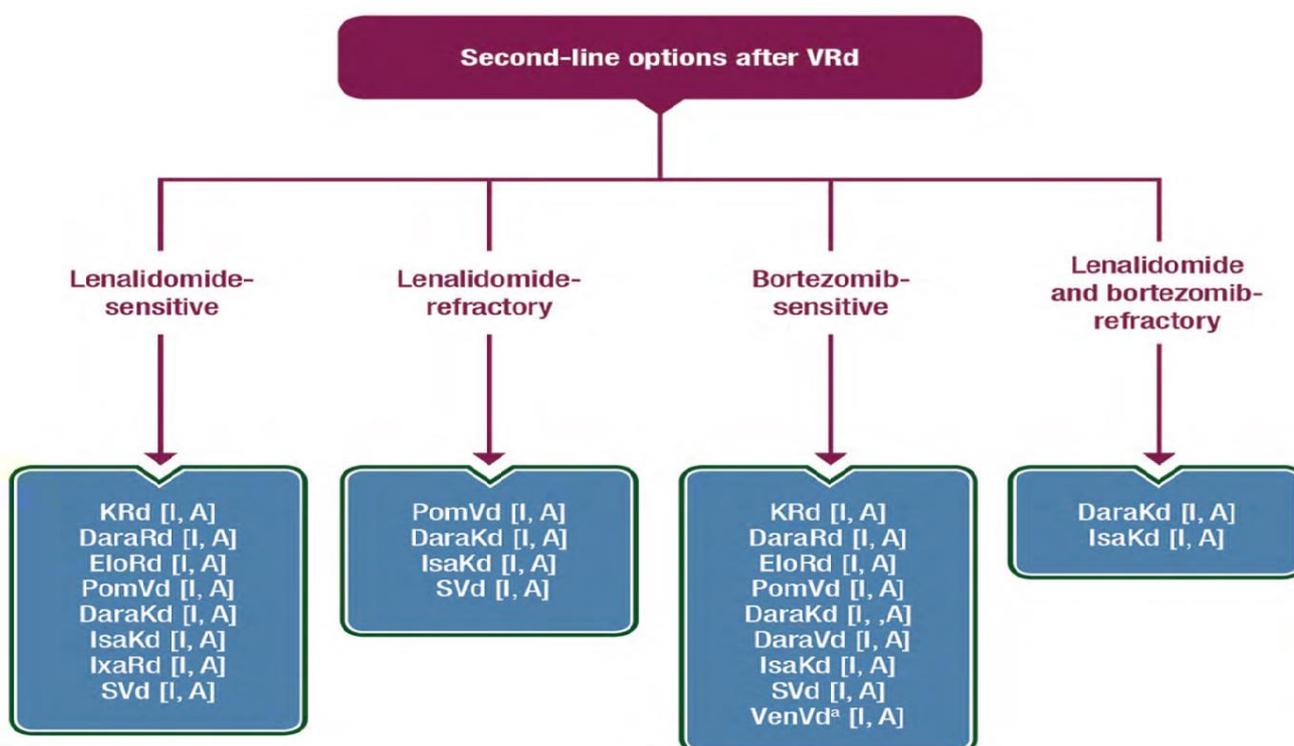
IsaKd) sono nuove opzioni per questo setting. Nel primo studio, PomVd (n = 278) è stato confrontato con Vd (n = 270) nei pazienti con RRMM che avevano ricevuto 1-3 precedenti linee di terapia che includevano lenalidomide. Più del 70% dei pazienti era refrattario a lenalidomide. Dopo un follow-up mediano di 16 mesi, PomVd ha mostrato un miglioramento della mPFS nella popolazione dello studio (11,2 vs 7,1 mesi; HR = 0,61; P < 0,0001) e in pazienti refrattari a lenalidomide (9,5 contro 5,6 mesi; P = 0,0008) e in pazienti refrattari a lenalidomide che ha ricevuto solo 1 precedente linea di trattamento (17,8 contro 9,5 mesi; P = 0,03). PomVd è stato approvato dal EMA a maggio 2019. Nel secondo studio (CANDOR), DaraKd è stato confrontato con Kd in pazienti con RRMM che avevano ricevuto 1 precedente linea di terapia. Questo studio ha dimostrato che l'mPFS non è stato raggiunto per il gruppo DaraKd ed è stato di 15,8 mesi per il gruppo Kd (HR = 0,63; P = 0,0014). DaraKd ha determinato una PFS migliore sia tra gli esposti a lenalidomide (HR = 0,52) che tra i pazienti refrattari a lenalidomide (HR = 0,45). Infine, in un terzo studio, 302 pazienti con RRMM che avevano ricevuto da 1 a 3 linee precedenti sono stati randomizzati a ricevere IsaKd (n = 179) o Kd (n = 123). A un follow-up mediano di 20,7 mesi, mPFS non è stata raggiunta per IsaKd mentre era di 19,1 mesi per Kd (HR = 0,53; P = 0,0007). Pertanto, PomVd, DaraKd e IsaKd sono terapie raccomandate per i pazienti precedentemente esposti o refrattari a lenalidomide, mentre DaraKd o IsaKd possono anche essere somministrati in pazienti refrattari a bortezomib.

Venetoclax è un inibitore selettivo di Bcl-2 che promuove l'apoptosi delle cellule mielomatose. Lo studio di fase III BELLINI ha valutato la combinazione di venetoclax con Vd (VenVd) rispetto a Vd tra pazienti con RRMM, che avevano ricevuto 1-3 precedenti linee di terapia ed erano sensibili ai PI. Un significativo beneficio della PFS è stato riportato con VenVd tra i pazienti con t(11;14) (HR = 0,11; P = 0,004) e quelli con elevata espressione genica BCL2 (HR = 0,24; P < 0,0001) ma nessuna differenza di sopravvivenza è stata mostrata in questa popolazione. Al contrario, Vd era superiore a VenVd in termini di OS tra i pazienti senza t(11;14) e bassa espressione genica BCL2 (HR = 3,04; P = 0,022). Pertanto,

VenVd è un'opzione solo per i pazienti con t(11:14) che hanno fallito lenalidomide e sono sensibili a PI. Venetoclax al momento non è approvato per il MM.

Selinexor è un inibitore orale selettivo dell'exportina 1 proteina, che porta alla riattivazione di proteine oncosoppressori. Selinexor in associazione con Vd (SVd) è stato confrontato con Vd in uno studio di fase III con 402 pazienti con RRMM che hanno ricevuto 1-3 precedenti linee di terapia. La mPFS nel gruppo SVd era significativamente maggiore rispetto a Vd (13,9 vs 9,4 mesi, HR = 0,70, P = 0,0066), suggerendo che SVd potrebbe essere un'altra opzione in questo setting di pazienti. SVd è in attesa di approvazione EMA.

Di seguito sono sintetizzate tutte le opzioni terapeutiche per la terapia di seconda linea (figura 4).



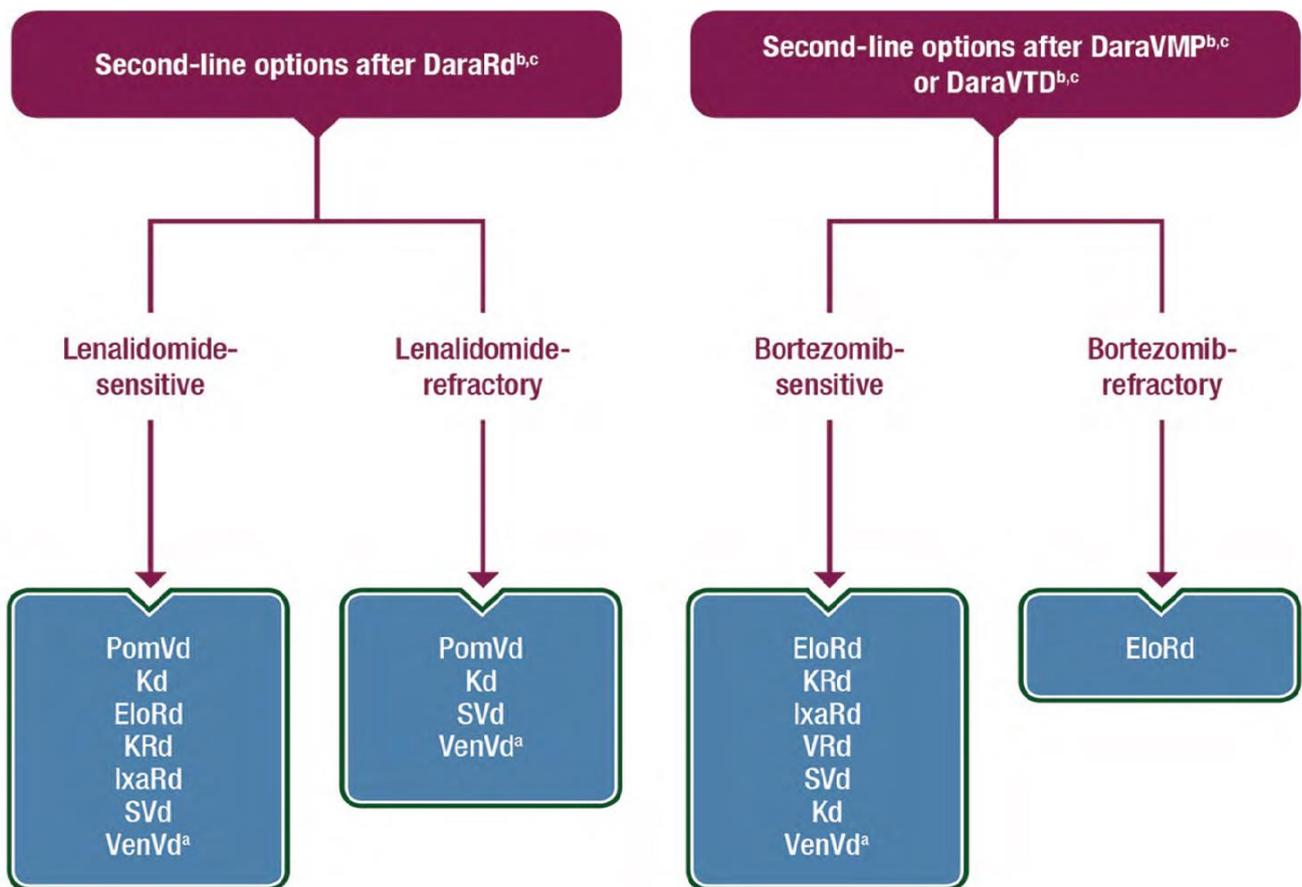


Figura 4. Opzioni terapeutiche di seconda linea per pazienti che ricevevano VRd o terapie Dara-based come front-line. I 3 diversi diagrammi di flusso mostrati in questa figura raffigurano 3 diversi scenari, a seconda del trattamento di prima linea somministrato

Dara = daratumumab; Elo = elotuzumab; Isa = isatuximab; Ixa = ixazomib; K= carfilzomib;

Kd = carfilzomib/dexamethasone; MM = multiple myeloma; PomVd =

pomalidomide/bortezomib/dexamethasone; Rd = lenalidomide/dexamethasone; S =

selinexor; Vd = bortezomib/dexamethasone; VMP = bortezomib/melphalan/prednisone; VRd

=bortezomib/lenalidomide/dexamethasone; Ven = venetoclax; VTD bortezomib/thalidomide/dexamethasone

PAZIENTI CHE HANNO RICEVUTO DUE O PIU'LINEE TERAPEUTICHE PREGRESSE

Il trattamento dei pazienti con Mieloma Multiplo R/R che hanno ricevuto 2 o più linee terapeutiche pregresse sta diventando sempre più impegnativo. Uno studio recente ha rivelato che i pazienti refrattari a 2 PI, 2 IMiD e un mAb anti-CD38 ha un mOS di soli 5,6 mesi. Per i pazienti che sono stati esposti o sono refrattari sia a bortezomib che lenalidomide e che non abbiano ricevuto un mAb, le opzioni possibili potrebbero essere DaraKd o IsaKd. Sulla base dei risultati di due studi, le combinazioni di Elo o Isa con pomalidomide e desametasone (EloPd e IsaPd, rispettivamente) sono opzioni adatte per i pazienti che non hanno ricevuto ≥ 2 linee di terapie precedenti, tra cui lenalidomide e un PI. Il primo è stato uno studio di fase II, in cui i pazienti sono stati assegnati in modo casuale a ricevere EloPd (n = 60) o Pd (n = 57). Dopo un periodo di follow-up di 9 mesi, l'mPFS è stata di 10,3 mesi nel gruppo EloPd e 4,7 nel gruppo Pd (HR = 0,54; P = 0,008). Il secondo era uno studio di fase III, nel quale i pazienti sono stati randomizzati a ricevere IsaPd (n = 154) o Pd (n = 153). Ad un follow-up mediano di 11,6 mesi, mPFS è stata di 11,5 mesi nel gruppo IsaPd rispetto a 6,5 mesi nel gruppo Pd (HR = 0,596; P = 0,001). EloPd e IsaPd sono stati recentemente approvati dall'EMA in questo contesto. La combinazione di Dara con pomalidomide e desametasone (DaraPd) è stato approvato dalla FDA per i pazienti che hanno fallito ≥ 2 linee di terapie precedenti, tra cui lenalidomide e un PI. Questo si basava su una fase II non randomizzato in cui DaraPd è stato somministrato in 103 pazienti con RRMM. DaraPd non è ancora stato approvato dall'EMA, essendo ancora in sospeso i risultati dello studio di fase III APOLLO (DaraPd versus Pd). I pazienti con t(11;14), refrattari a lenalidomide e sensibili ai PI possono essere trattati con VenVd, quando questo regime sarà approvato. Per i pazienti refrattari alle tre classi di farmaci, selinexor-desametasone (Sd) o belantamab mafodotin in monoterapia può essere un'opzione valida. In uno studio di fase II con 122 pazienti con RRMM (mediana di linee precedenti: 7), selinexor orale è stato somministrato con desametasone due volte alla settimana. Sono state riportate una mPFS di 3,7 mesi e una mOS di 8,6 mesi. Affaticamento, nausea e diminuzione dell'appetito sono

stati gli eventi avversi comuni ed erano in genere di grado 1 o 2; eventi di grado 3 sono stati osservati fino al 25% dei pazienti e non sono stati segnalati eventi di grado 4.

Belantamab mafodotin è un anticorpo-farmaco coniugato contro l' antigene di maturazione delle cellule B (BCMA). In uno studio di fase II, 196 pazienti con MM refrattario alle tre classi di farmaci, hanno ricevuto 2 diversi dosi di belantamab mafodotin (2,5 e 3,4 mg/kg). L'mPFS è stato rispettivamente di 2,9 e 4,9 mesi per le 2 dosi. Gli eventi avversi di grado 3-4 più comuni includevano cheratopatia (27% e 21% dei pazienti per le 2 dosi, rispettivamente), trombocitopenia e anemia. Melflufen, sfruttando un diverso meccanismo d'azione, può anche essere utilizzato nei pazienti Dara e pomalidomide-refrattari, ma i risultati dello studio di fase III non sono stati ancora pubblicati. Tratasidi un farmaco coniugato ad un peptide (PDC) di prima classe che prende di mira le aminopeptidasi e rilascia rapidamente agenti alchilanti nelle cellule tumorali. Una volta all'interno delle cellule mielomatose, il melflufen viene idrolizzato dalle peptidasi per rilasciare molecole alchilanti, che rimangono intrappolate. L'immunoterapia con anticorpi BiTEs o con CAR-T sono al momento in fase di sperimentazione clinica per i pazienti con RRMM. I risultati del primo studio pubblicato con l'utilizzo dei CAR-T nel mieloma, hanno mostrato che l'infusione di bb2121 in 33 consecutivi pazienti con malattia plurirefrattaria determinava un tasso di risposta dell'85%, inclusi 15 pazienti (45%) con CR; tutti erano MRD-negativi. L'mPFS è stata di 11,8 mesi. Un totale di 25 pazienti (76%) era andato incontro alla sindrome da rilascio di citochine, mentre la tossicità neurologica si è verificata in 14 pazienti (42%).

Di seguito sono sintetizzate le raccomandazioni per i pazienti refrattari a tre o più linee terapeutiche:

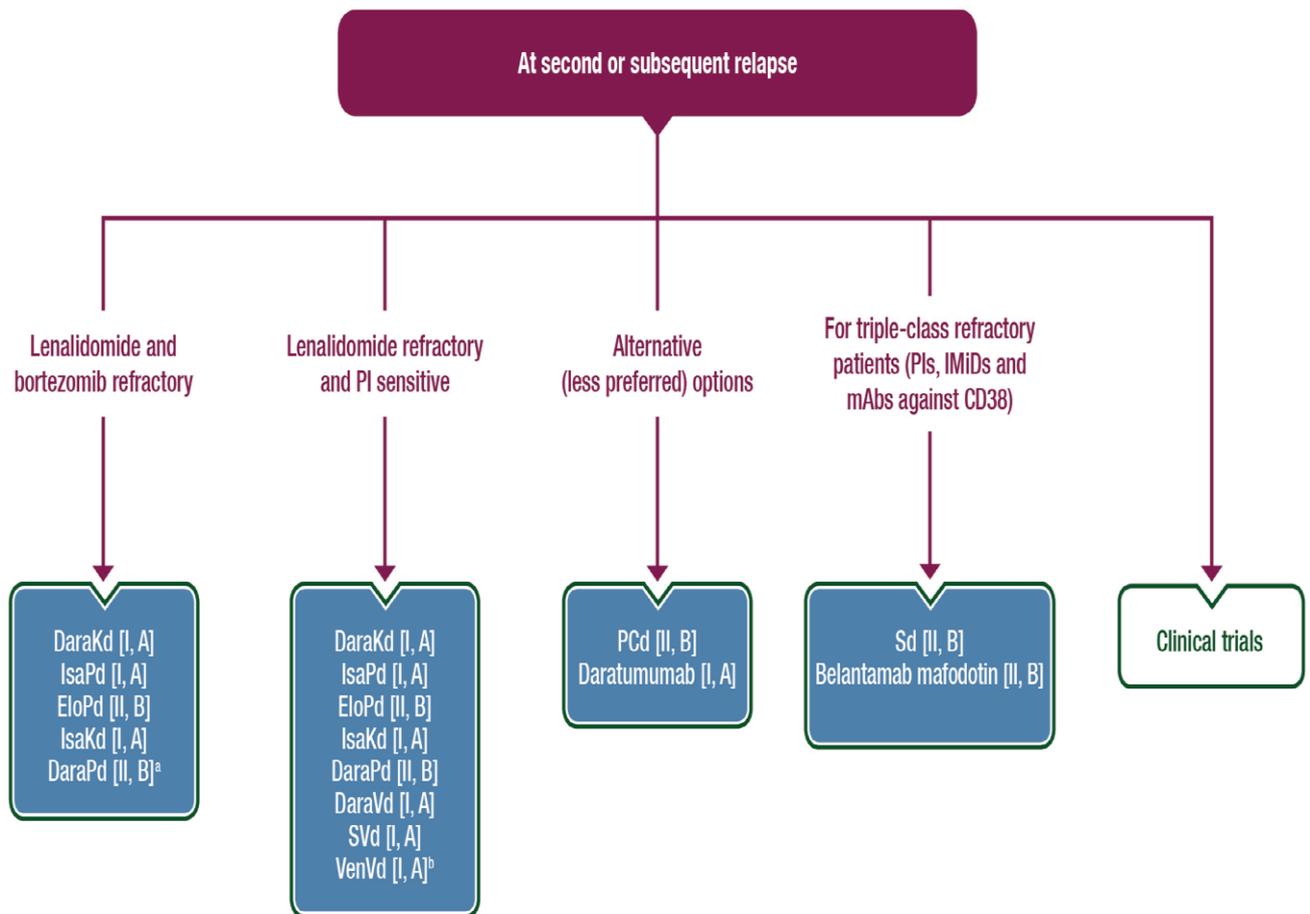


Figura 5. Raccomandazioni per i pazienti con MM che hanno ricevuto tre o più linee terapeutiche. Per DaraPd ci sono solo dati di studi di fase IB. VenVD per pazienti con t(11,14).

Dara = daratumumab; Elo = elotuzumab; IMiD = immunomodulatory drug; Isa = isatuximab; Kd = carfilzomib/dexamethasone; mAb = monoclonal antibody; MM = multiple myeloma; PCd = pomalidomide/cyclophosphamide/ dexamethasone; Pd = pomalidomide/dexamethasone; PI = proteasome inhibitor; S = selinexor; Sd = selinexor/dexamethasone; Vd = bortezomib/dexamethasone; Ven = venetoclax

2. DISEGNO DELLO STUDIO

Il Mieloma Multiplo è una patologia eterogenea sia nella presentazione clinica che nella prognosi, caratterizzata da un andamento a gradini (fig.6) con una possibile fase di plateau e successive fasi di remissioni e ricadute che impongono l'utilizzo di diverse linee di terapia. Attualmente è ancora considerato una patologia inguaribile, con una sopravvivenza, prima dell'avvento dei nuovi farmaci, non superiore ai tre anni.

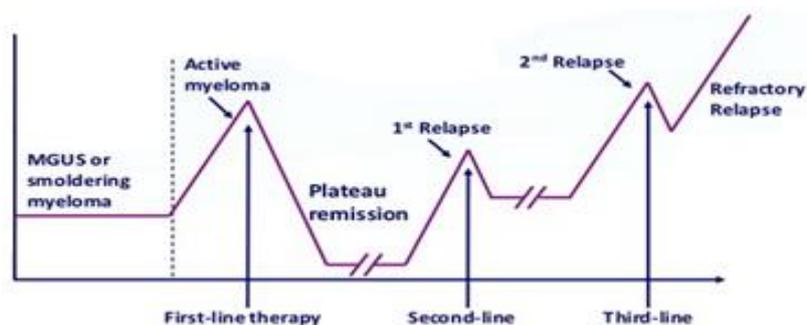


Fig.6 Andamento a gradini del MM

In letteratura pochi sono i dati riguardanti la fascia di pazienti con una sopravvivenza più lunga della media, ma il loro studio potrebbe dare interessanti indicazioni soprattutto sull'impatto dei fattori prognostici e delle terapie. Pertanto da qui è nata l'ideazione di questo progetto, di cui l'AOU è stata il centro promotore, dal titolo "Studio osservazionale retrospettivo multicentrico italiano di real life per valutare il profilo clinico dei pazienti affetti da Mieloma Multiplo in osservazione da più di dieci anni dall'inizio della chemioterapia".

Sono stati prodotti e poi presentati al comitato etico della nostra azienda i seguenti documenti; ottenendo parere favorevole per gli aspetti di eticità:

-Lettera di presentazione dello studio del 12/02/2020;

- Elenco della documentazione presentata del 12/02/2020;

-Sinossi v. 1 del 19/09/19;

-Protocollo v. 1 del 19/09/19

-Modulistica a cura del PI del 12/02/2020;

-Informativa e modulo di consenso informato alla partecipazione allo studio v.1 del 19/09/19;

- Informativa e modulo di consenso informato al trattamento dei dati personali v.1 del 19/09/19;

-Dichiarazione sostitutiva di consenso informato per studi osservazionali retrospettivi v. 1 del 19/09/19;

-Lista centri a cui è stata chiesta la partecipazione;

-Scheda raccolta dati;

- Lettera per il medico curante v. 1 del 19/09/19;

-Dichiarazione pubblica sul conflitto di interessi del 12/02/2020;

-Dichiarazione sulla natura no-profit dello studio del 12/02/2020;

-Dichiarazione di non compenso dello sperimentatore del 12/02/2020;

-CV del PI.

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di identificare le caratteristiche cliniche, biochimiche, della risposta e della sua durata alle varie linee terapeutiche di pazienti affetti da Mieloma Multiplo vissuti più di dieci anni.

Nel dettaglio, gli obiettivi primari prefissati sono stati:

- Determinare le caratteristiche cliniche dei lungo sopravvissuti;
- Valutare se la lungo sopravvivenza è correlata al tipo di risposta e al numero delle linee terapeutiche

Gli obiettivi secondari sono riportati di seguente:

- Determinare la PFS1 (tempo che intercorre dal primo trattamento alla prima progressione clinica) e la PFS2 (tempo che intercorre dal primo trattamento alla seconda progressione dopo una pregressa risposta alla terapia);
- Impatto delle caratteristiche citogenetiche a diagnosi (se presenti)
- Impatto delle immunoglobuline non clonali dopo dieci anni
- Descrizione degli schemi di terapia usati nelle varie linee

2.1 MATERIALI E METODI

Nel gennaio 2020 abbiamo invitato 100 centri ematologici italiani afferenti al Working Group Myeloma EMN a raccogliere dati retrospettivi dei pazienti affetti da mieloma multiplo vissuti più di 10 anni dall'inizio della chemioterapia, escludendo le forme solitarie. Dopo approvazione del CE, 12 centri hanno inviato dati di 188 pazienti. Due comitati etici hanno negato l'approvazione non ritenendo validi i presupposti statistici. Tuttavia nel dettaglio sono stati analizzati in maniera retrospettiva i dati di 25 pazienti con diagnosi di Mieloma Multiplo afferenti all'AOU Federico II che rispecchiavano i criteri di inclusione ed esclusione, riportati di seguito:

1. Diagnosi di MM sintomatico secondo l'*International Myeloma Working Group*;
2. Età \geq 18 anni al momento della diagnosi
3. Sopravvivenza di almeno dieci anni dall'inizio della prima linea terapeutica

4. Nessuna terapia precedente alla diagnosi
5. Pazienti vivi o deceduti
6. Qualsiasi performance status
7. L'unico criterio di esclusione è stata la diagnosi di plasmocitoma solitario, in quanto di per se' ha una prognosi migliore; il plasmocitoma sviluppatosi all'interno di un quadro di MM, è stato considerato come conseguenza e quindi inserito nello studio.

Ogni paziente, previo consenso al trattamento dei propri dati, è stato registrato inserendo in un database Excel i seguenti dati:

- 1- Età del paziente alla diagnosi;
- 2- Pregressa MGUS;
- 3- Presenza di retro-inibizione;
- 4- Stadio DSS, ISS;
- 5- Linee chemioterapiche effettuate;
- 6- Numero e tipo di trapianto di cellule staminali;
- 7- Alterazioni citogenetiche;
- 8- Esito della terapia.

La progressione della malattia e il tipo di risposta alla terapia è stato valutato utilizzando i criteri stabiliti dall' International Myeloma Working Group (IMWG) nel 2016.

Sono stati utilizzati i TDEs (Time-dependent endpoints). Come surrogati dell'OS sono stati presi in considerazione altri fattori come il TTP (time to progression), il PFS (progression free survival), il PPP (post progression survival) e l'EFS (event free survival) (Fig.7).

Uno dei TDEs utilizzato è stato il PFS, ovvero il tempo libero da progressione di malattia dall'inizio della prima linea terapeutica fino alla prima recidiva di malattia.



Figura 7. L'immagine mostra i diversi TDE che vengono utilizzati come alternativa all'OS. PFS in verde, PFS2 in blu, PPS in giallo, OS amaranto.

Abbiamo preso in considerazione due tipi di PFS: PFS1 definita precedentemente e PFS2 ovvero il tempo che intercorre tra la prima linea terapeutica e la comparsa della seconda recidiva di malattia. La PFS2 si avvicina molto di più alla OS rispetto alla PFS.

I principali vantaggi nel considerare la PFS sono stati:

1. valutare l'outcome di studio in tempi molto più brevi dal momento che la progressione può verificarsi molto prima della morte;
2. considerare un numero più piccolo di pazienti;
3. evitare il potenziale impatto delle terapie post-progressione sulla OS (Fig.8).

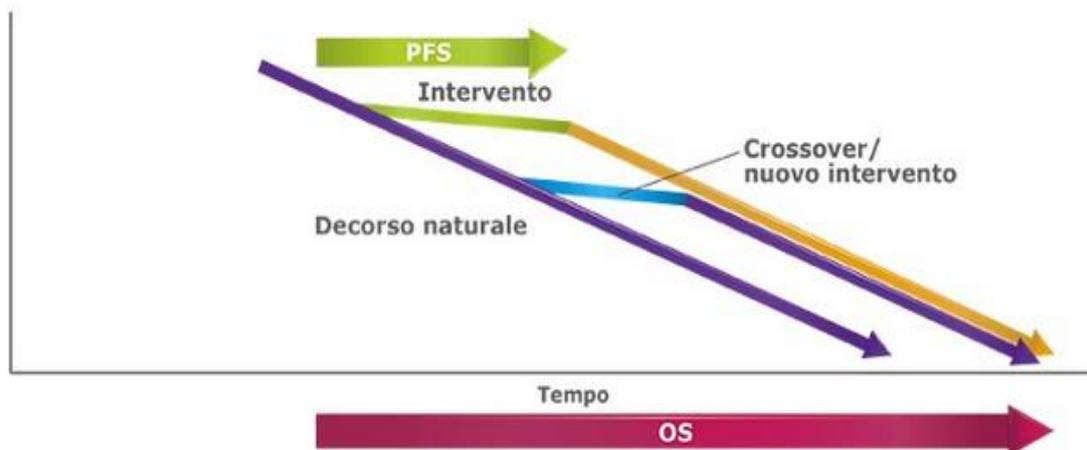


Figura 8. L'introduzione di un diverso intervento terapeutico (crossover) migliora la PFS pur non modificando l'OS.

Le curve sono ottenute usando il metodo di Kaplan-Meier e sono state confrontate mediante il log-rank test per trend ed il Mantel-Cox. Le analisi sono state effettuate utilizzando il programma Graph-Pad Prism 7.04.

4. RISULTATI

4.1 RISULTATI PRELIMINARI DEI VARI CENTRI COINVOLTI

I risultati preliminari dei 188 pazienti considerati nello studio sono stati i seguenti:

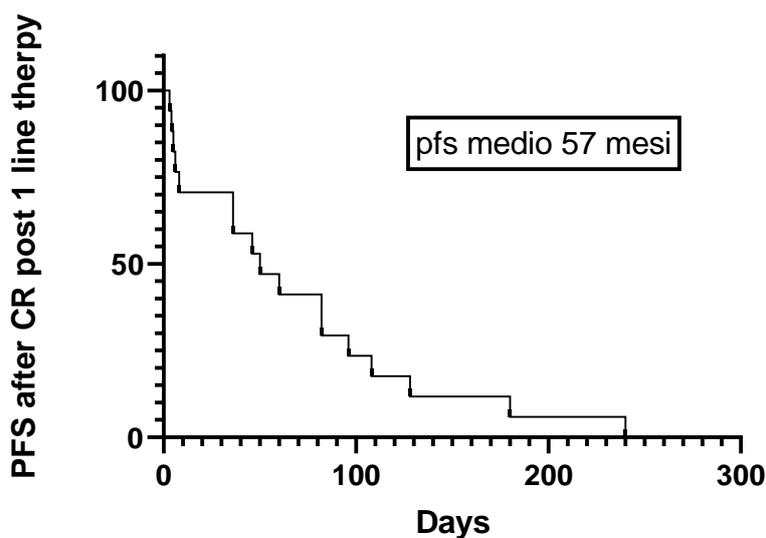
- L'età media è bassa (50% hanno fino a 60 anni; r.: 33-82) con lieve eccedenza di uomini (53%).
- Durata MGUS superiore a 24 mesi nel 26% dei casi (31/116).
- Tipo di Ig: Gk 60%, G1 18%, Ak 9%, IgA1 5%, BJ 8%.
- Creatinina superiore a 2 mg/dl nel 40% dei casi.
- Stadio DS 1: 30%; IPSS 1: 60%.

Dopo la prima linea, i pazienti in RC erano 49%. (tutti curati con procedure trapiantologiche), 25% in VGPR, 17 % in RP, 9% in PD.

Il 25% dei pazienti sono tuttora in RCC (pazienti in RC post I linea o comunque nelle linee successive e vivi al momento dello studio).

Dei pazienti in RC post 1 linea il 21% (18/85) sono ricaduti dopo un tempo medio di 57 mesi [ic 4-240] (Grafico 1). Di questi il 22% ha raggiunto una seconda RC.

Grafico 1. PFS dei pazienti in RC dopo prima linea di terapia



Dei 13 pazienti non responsivi alla prima linea, 5 non hanno mai raggiunto una RC e 4 sono ancora in vita. Circa il 75% dei pazienti ha ricevuto due linee di terapia, 45% tre linee, 35% quattro, 20% cinque, 10% sei.

RISULTATI DEL CENTRO PROMOTORE

Su un piccolo gruppo di pazienti, ossia sulla casistica dell'AOU FEDERICO II, è stato possibile effettuare anche delle analisi supplementari nonostante i risultati siano meno attendibili dato il numero esiguo del campione.

L'età mediana a diagnosi è stata di 62,5 anni (range 38-70), con una rappresentazione femminile del 72 %. Le altre caratteristiche sono riportate in tabella 5.

Tabella 5. Caratteristiche cliniche dei pazienti a diagnosi

Caratteristiche cliniche dei pz a diagnosi	n=25
Età, anni	
Mediana (range)	62,5 (38-70)
Sopravvivenza, anni	
Mediana (range)	13 (10-20)
Sesso	
Maschi	18 (72%)
Femmine	7(28%)
Catena pesante	
IgG	20(80%)
IgA	2(8%)
IgD	1(4%)
IgM	0
Non secernenti	1(4%)
Micromolecolare	1(4%)
Catena leggera	
Kappa	17 (68%)
Lambda	7 (28 %)
DSS	
IA	1(4 %)
IIA	5 (20 %)
IIIA	18 (72%)
IB	0
IIB	0
IIIB	1(4 %)

Creatininemia	
< 2 mg/dL	24 (96%)
> 2 mg/dL	1(4%)
Emoglobina	
>10 g/dl	6(24%)
<10 g/ dl	19(76%)
Beta-2-microglobulina	
<3.5 mg/L	1 (4%)
3.5-5.5 mg/L	19 (76%)
>5.5 mg/L	5(20%)

L'Auto-TMO è stato effettuato nell' 84 % dei pazienti. E' importante far notare che circa il 76 % dei pazienti era stato trattato con terapia di induzione dell'era pre-inibitori del proteasoma, con la talidomide che è stata il cardine della terapia di induzione (*Protocollo Bologna 2002*).

Tra i 21 pazienti sottoposti ad AUTO-TMO, 4 (19%) avevano ricevuto un trapianto autologo in tandem. La terapia di mantenimento dopo la procedura trapiantologica è stata effettuata nell'85% dei pazienti; l'interferone alfa è stato somministrato come terapia di mantenimento nel 52% dei pazienti. I pazienti recidivati sono stati 18 (72%) e nell' 84 % era stata somministrata lenalidomide associata a desametasone.

Dei 25 pazienti la citogenetica non è nota tranne in sette casi di cui: 5 cariotipo normale ovvero negativo per del13q14(Δ 13), del17p13.1(Δ p53) e riarrangiamento 14q32 (IgH); 1 con trisomia del cr 17 e l'altro con una delezione del cr 13.

Sette su venticinque, dopo la prima linea hanno mantenuto una CCR, continuous complete remission fino ad oggi e quindi non hanno necessitato di altre linee di terapia. (Tab. 6)

Variabile	numero(percentuale o range) mediana (range) n=7
Età a diagnosi ,anni	64(56-75)
Sesso F/M	1/6(14,3/85,7)
Catena pesante	
IgG	5
IgA	0
IgD	1
IgM	0
non secernenti	1
DSS	
IA	0
IIA	1(14,3)
IIIA	4(51,14)
IB	0
IIB	0
IIIB	1(14,3) (*1 non secernente)
Terapia di prima linea	
ASCT	7/7
Induzione	
Convenzionale	0
Nuovi farmaci	7 (TD)
Mantenimento	
No terapia	1(14,3)
Interferone α	6(85,7)
Talidomide	0
Revlimid	0
Altro	0

Tabella 6. Caratteristiche dei pazienti in RCC al 2021

I pazienti che hanno effettuato un secondo trapianto di salvataggio sono stati 5. Le caratteristiche di tali pazienti sono riportate in Tab. 7.

Variabile	numero (percentuale o range) mediana (range) n=5
Età, (anni)	50(43-55)
DDS	
IA	1(20)
IIA	0
IIIA	4(80)
Risposta al secondo ASCT (mantenuta per 6 mesi)	
RC	3(60%)
PD	0
SD	0
VGPR	2(40%)
citogenetica	assenza di alterazioni note

Tabella 7. Caratteristiche dei pazienti che hanno effettuato due trapianti.

La PFS mediana dei pazienti a lunga sopravvivenza è stata di 108 mesi mostrata nel grafico 2 (tempo intercorso dall'inizio della terapia alla comparsa della prima recidiva di malattia tale da richiedere il passaggio ad un'altra linea terapeutica).

Abbiamo poi calcolato la *PFS2*, ossia il tempo che intercorre dall'inizio della prima linea alla seconda recidiva. È risultata essere di 216 mesi (grf.3).

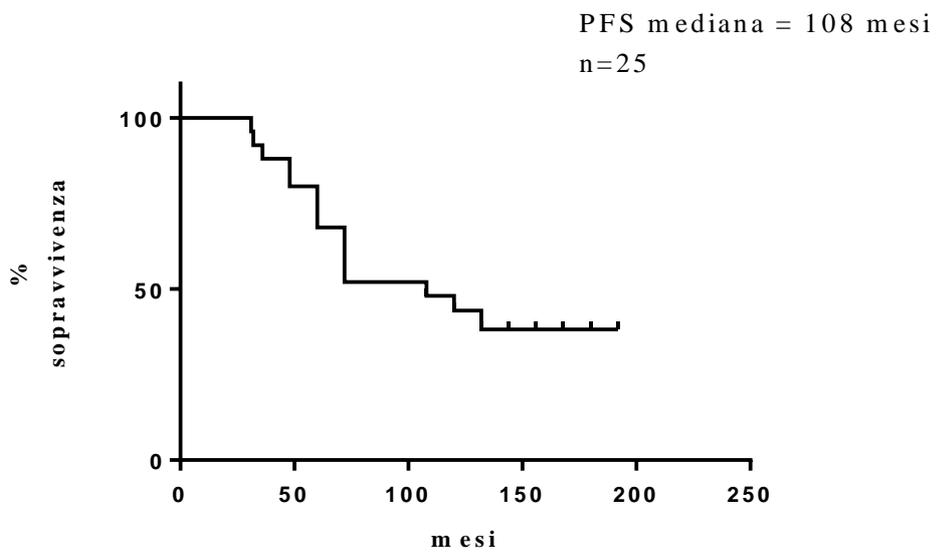


Grafico 2. Curva di Kaplan-Meier che mostra la *Progression Free Survival* dopo prima linea di terapia alla prima recidiva di malattia.

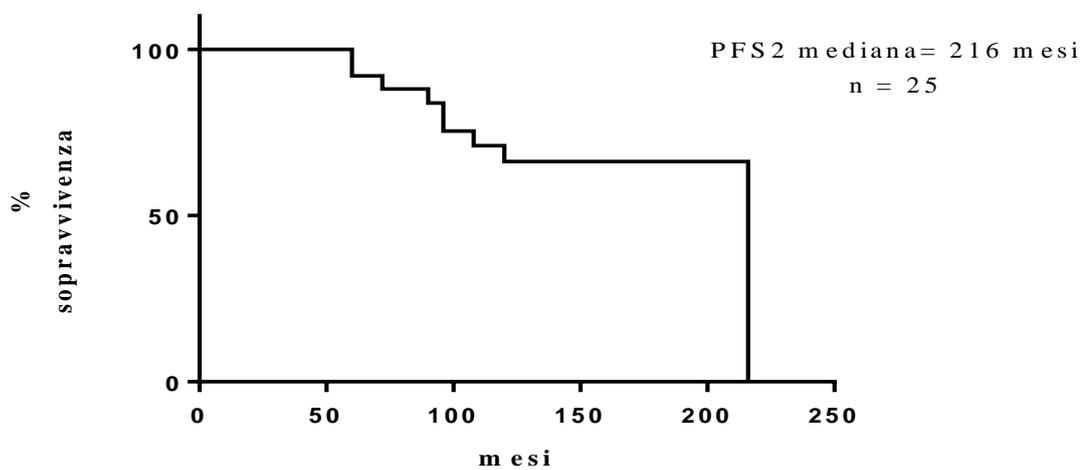


Grafico 3. Curva di Kaplan-Meier che mostra la *Progression free survival* alla seconda recidiva di malattia

Nel gruppo di pazienti sottoposti a Trapianto Autologo, abbiamo osservato che la PFS è stata di 108 mesi per un singolo TMO (HR 0.812, IC 95% 0.22-3.02) e 132 per il tandem TMO (HR 1.22, IC 95% 0.33-4.5). In ogni caso la differenza tra i due gruppi non appare statisticamente significativa (grf 4)

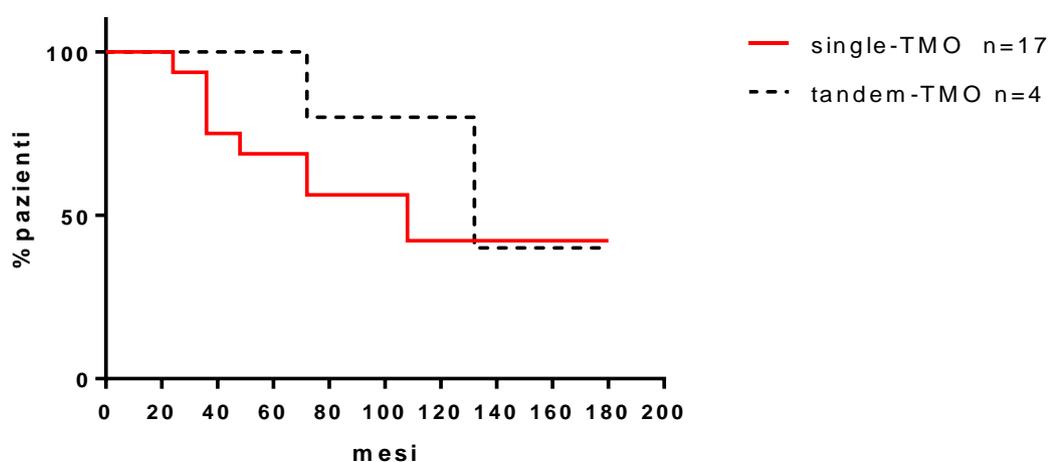


Grafico 4. Progression free survival Single-TMO vs Tandem-TMO

Per quanto riguarda la terapia di mantenimento, dei 21 pazienti che hanno effettuato come prima linea il trapianto autologo, in 11 pazienti è stato somministrato Interferone- α , in 5 Talidomide, in 2 Lenalidomide. In 3 casi non è stata effettuata terapia di mantenimento. È stata confrontata la progressione libera da malattia nei pazienti trattati con Interferone- α rispetto ad altra terapia.

L' Interferone- α utilizzato è l'*INTRON-A*. Il dosaggio utilizzato è di $3 \cdot 10^6 \text{U/m}^2$ a giorni alterni. Il grafico 5 riporta la sopravvivenza globale dall'inizio della terapia di mantenimento.

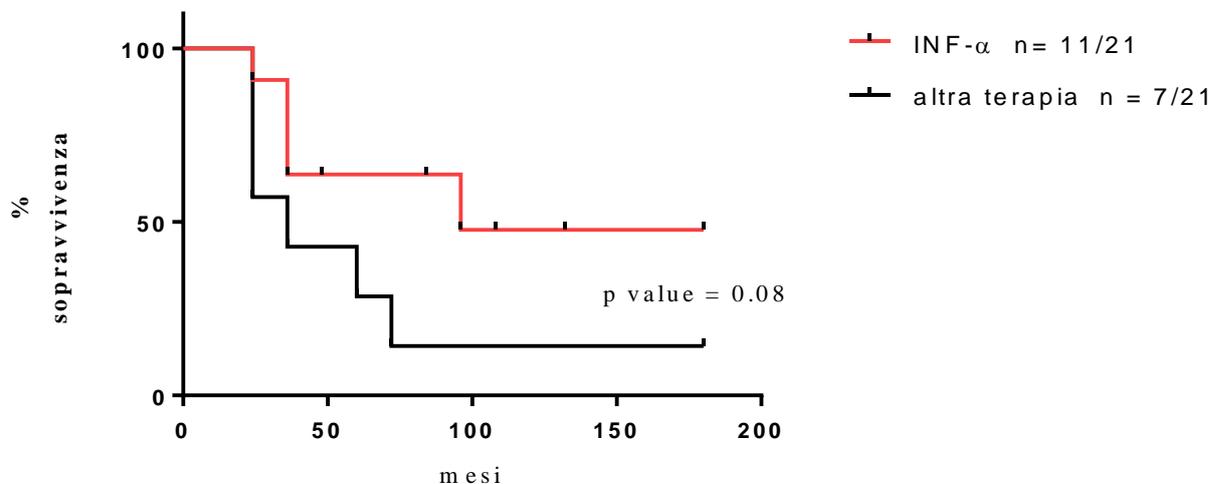


Grafico 5 Progressione libera da malattia nei pazienti che hanno effettuato l'ASCT in mantenimento con IFN- α versus altra terapia.

Si può mettere in evidenza che la PFS mediana nel caso dell'Interferone è 96 mesi [HR 2.66 IC95% (0.81-8)]; nel caso delle altre terapie, la PFS è di 36 mesi [HR 0.3 IC95% (0.11-1.2)]. Se si considera la PFS a 40 mesi, con entrambe le terapie, circa il 70 % dei pazienti non è andato in progressione. Dopo i 40 mesi la differenza diventa marcata. Sette pazienti in mantenimento con Interferone sono in RCC da 5 anni.

Per quanto riguarda i 18 pazienti recidivati, 5 hanno effettuato il trapianto come seconda linea (3allo-trapianti e 2 auto-trapianti). Valutando la progressione libera da malattia dopo il secondo trapianto, il valore mediano è di 36 mesi (18-120) (grf 5).

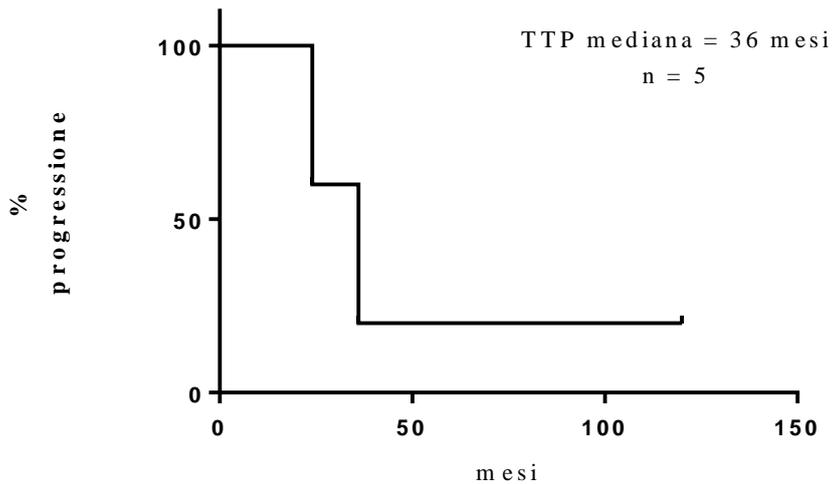


Grafico 6. Tempo che intercorre dal secondo trapianto di salvataggio alla progressione.

Nel quadro di una malattia stabile e lenta, un altro fattore da considerare è il tempo che intercorre tra la terapia di salvataggio e la progressione. Sono stati confrontati due gruppi di pazienti che dopo aver effettuato una prima linea (esito > VGPR) hanno sviluppato recidiva:

1- terapia di salvataggio farmacologica (n=13) indicato con CHT;

2- terapia di salvataggio con TMO (n=5) indicato con TMO

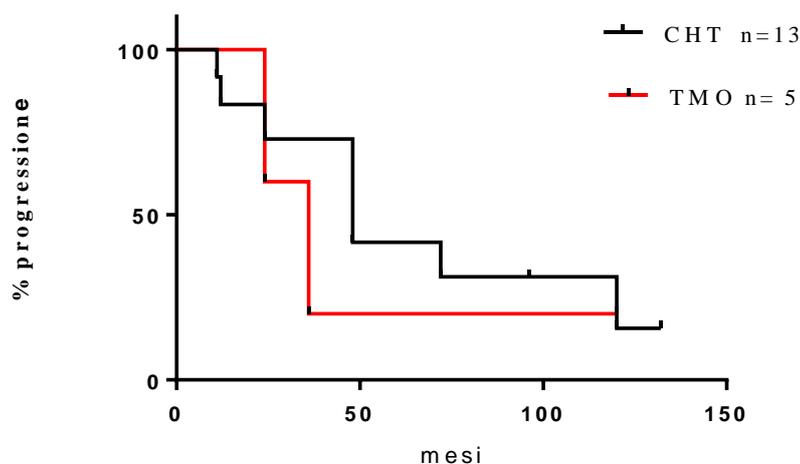


Grafico 7. TTP post terapia di salvataggio: TMO vs CHT

Il TTP nel caso del secondo TMO è di 36 mesi [HR 0.75 IC 95%, 0.22-2.5]; per la terapia farmacologica è di 48 mesi [HR 1.3 IC95%, 0.4-4.2]. I numeri considerati non permettono di effettuare conclusioni di superiorità di un approccio rispetto all' altro in quanto il p-value = 0,6. Il dato interessante emerso dalla nostra casistica è che 10 sui 25 pazienti, dopo varie linee terapeutiche, sono in remissione clinica completa. Sono pazienti che hanno effettuato ASCT come prima linea con una RC, sostenuta da sola terapia di mantenimento. In 4 casi è stato effettuato il secondo trapianto alla ripresa di malattia. Per le caratteristiche si rimanda alla tabella 8.

Variabile numero (percentuale o range) mediana (range)n=10/25	
Età a diagnosi (anni)	54 (45-66)
Tipologia	
IgGκ	6 (60%)
IgGλ1	2(20%)
Non secernete	1(10%)
Micro secernente	1(10%)
DSS	
IA	1
IIA	1
IIIA	6
Trattati con 1 ASCT	9/10
Trattati con 2 ASCT	4/10
Terapia di mantenimento	
Interferone α	7
Talidomide	0
Lenalidomide	2
Numero di linee effettuate	
1	8
>1	2
Anni in media di sospensione da terapia	4,5 (0-10)

Tabella 8. Caratteristiche dei pazienti che sono in RCC da 5 anni.

Si può supporre sulla base di tali dati che, i pazienti che effettuano un trapianto come prima linea ed hanno una remissione completa nel tempo hanno una probabilità maggiore nel caso di recidiva di rispondere altrettanto bene al secondo trapianto e quindi di avere una risposta prolungata nel tempo.

5. DISCUSSIONE

Il MM è una malattia ematologica incurabile, tuttavia esiste un subset di pazienti che raggiunge una remissione e una sopravvivenza lunga. Pochi sono in letteratura gli studi in merito all'argomento. Usmani et al. nel 2018 hanno pubblicato un grosso studio internazionale, retrospettivo con una casistica molto ampia, in cui sono state esaminate le caratteristiche cliniche dei pazienti lungosopravvissuti e la correlazione con la profondità di risposta. I pazienti che avevano raggiunto una CR a 1 anno avevano una PFS maggiore rispetto a coloro che non la raggiungevano (PFS mediana 3.3 vs 2.6 anni, $p < 0.0001$), così come per l'OS (OS mediana di 8.5 vs 6.3 anni, $p < 0.0001$). Da questo studio è emerso che il raggiungimento della CR è un importante fattore predittivo di lungosopravvivenza per i MM eleggibili a terapia ad alte dosi. Inoltre nell'analisi multivariata sono emersi i fattori che sono associati negativamente a una lungosopravvivenza, quali età superiore ai 65 anni, isotipo IgA, bassa albumina, elevato valore di beta-2-microglobulina, Hb < 10 g/dl e conta piastrinica < 150000 /microlitro.

Il nostro studio, sebbene multicentrico, ha mostrato avere una bassa adesione da parte degli altri centri (12% dei centri), per un totale di 188 pazienti registrati nel database.

L'età media è bassa (50% hanno fino a 60 anni; r.: 33-82) con lieve eccedenza di uomini (53%); l'isotipo Ig non appare correlabile alla buona prognosi, essendo presente in percentuali simili a quelle riscontrabili a diagnosi. Del pari la moderata insufficienza renale, ma non la severa (assenza di pazienti dialitici). L'assenza delle forme non secernenti sembra

confermare la peggiore prognosi. Le stadiazioni DS ed IPSS non appaiono avere peso prognostico: a diagnosi DS > 1 nel 70% dei casi, IPSS >1 nel 40%. Il DS però appare generalmente accettato come criterio operativo ai fini terapeutici: solo il 30% è stato trattato in stadio I. La durata dell'MGUS non appare direttamente correlata alla sopravvivenza (MGUS <24 mesi nell'84% - 85/116).

A differenza di quanto è emerso dallo studio di Usmani et al., nel nostro studio il raggiungimento della RC dopo terapia di prima linea non appare condizione necessaria né sufficiente ai fini della lunga sopravvivenza, perché quasi metà dei pazienti non era in RC dopo la prima linea e 6% dei pazienti non ha mai raggiunto la RC anche nelle terapie successive. L'importanza delle linee di terapia successive alla prima, sottolineata dal fatto che il 34% dei pazienti ha ricevuto 4 linee di trattamento, indica anche che il decorso non aggressivo e la persistente chemiosensibilità siano i caratteri clinici e biologici associati alla lunga sopravvivenza. Va comunque sottolineato che tutti i pazienti viventi oltre i 15 anni (14, 12 dei quali ancora in vita) erano in RC dopo la prima linea e sono stati trattati con procedure ad alte dosi (6 doppio autotr., 5 singolo auto, 3 allotrap.).

Rispetto al totale dei pazienti, nel piccolo sottogruppo afferente all'AOU FEDERICO II, emerge che il profilo clinico del paziente con MM lungosopravvivenza ha un'età mediana un po' più bassa di 54 anni, una pregressa storia di MGUS, l'isotipo IgGk e l'assenza di paraproteine meno frequenti e associate e una peggiore prognosi, un basso ISS a diagnosi e una mediana di linee terapeutiche pari a 2. Il raggiungimento di una remissione completa è pari al 28 %.

I dati presenti in letteratura, riportano che coloro che effettuano come prima linea l'ASCT con MEL 200 o MEL140, vanno incontro a progressione entro 21 mesi. Nei pazienti a lunga sopravvivenza la differenza è notevole: 108 mesi vs 21. Nella nostra esperienza, il tandem-ASCT si associa ad una PFS mediana maggiore rispetto a chi ha effettuato il singolo (132

vs 108). La scarsa numerosità campionaria non permette comunque di poter considerare questa differenza statisticamente significativa (p-value = 0,4).

Anche i dati presenti in letteratura non sono considerati conclusivi sulla superiorità del tandem rispetto al single.

Per quanto riguarda la terapia di mantenimento, sebbene siano stati considerati solo i pazienti lungosopravvivenenti, l'utilizzo dell'interferone sembra avere un vantaggio rispetto alle altre terapie. Questo dato può essere spiegato dalla ridotta tossicità a lungo termine dell'interferone paragonato a talidomide e lenalidomide. Tuttavia questi dati si riferiscono ovviamente al periodo antecedente all'introduzione della lenalidomide come mantenimento nelle linee guida.

Avere un prolungato tempo senza progressione della malattia non solo dopo la prima linea terapeutica, ma anche dopo la seconda linea è di rilevanza clinica per i pazienti lungosopravvivenenti. Infatti in letteratura è riportato che mediamente la PFS post secondo trapianto è di 7 mesi. Sebbene con le dovute differenze tra auto ed allo-trapianto, non effettuate in questa sede, appare evidente che la differenza è sostanziale: 36 vs 7mesi rispetto i pazienti affetti da mieloma non lungo sopravvivenenti.

Inoltre diversi studi mettono in evidenza che il tempo tra il primo ed il secondo trapianto sia predittivo dell'esito del secondo e dell'andamento della malattia. È stato determinato il Time to progression tra il primo ed il secondo trapianto, risultato pari a 66 mesi (60-120). In letteratura il valore medio più frequente è 37 mesi. Nella nostra osservazione, anche il tempo tra i due trapianti, è maggiore: 66 vs 37mesi.

Il TTP nel caso del secondo TMO è di 36 mesi [HR 0.75 IC 95%, 0.22-2.5]; per la terapia farmacologica è di 48 mesi [HR 1.3 IC95%, 0.4-4.2]. I numeri considerati non permettono di effettuare conclusioni di superiorità di un approccio rispetto all' altro in quanto il p-value

= 0,6. Il dato rilevante è che la sopravvivenza mediana in questi pazienti, trattati quasi tutti con LD è superiore rispetto alla media: 48 mesi vs 23.2 mesi.

6. CONCLUSIONI

Questo lavoro vuole essere una disamina delle caratteristiche cliniche dei pazienti che sono affetti da Mieloma Multiplo con una lunga sopravvivenza, definita come maggiore di 10 anni. Uno dei più importanti successi dell'ematologia moderna è quello di aver portato questi pazienti da una sopravvivenza mediana di 3 anni a 5-7 anni nell'ultimo ventennio grazie ai nuovi farmaci che hanno permesso di "cronicizzare" la malattia. Nonostante ciò, il mieloma resta una malattia inguaribile, progressiva ma trattabile.

Da un punto di vista logico formale, il raggiungimento della RC dopo terapia di prima linea non appare condizione necessaria ne' sufficiente ai fini della lunga sopravvivenza, perché quasi metà dei pazienti non era in RC dopo la prima linea e 6% dei pazienti non ha mai raggiunto la RC anche nelle terapie successive. L'importanza delle linee di terapia successive alla prima, sottolineata dal fatto che il 34% dei pazienti ha ricevuto 4 linee di trattamento, indica anche che il decorso non aggressivo e la persistente chemiosensibilità siano i caratteri clinici e biologici associati alla lunga sopravvivenza. Va comunque sottolineato che tutti i pazienti viventi oltre i 15 anni (14, 12 dei quali ancora in vita) erano in RC dopo la prima linea e sono stati trattati con procedure ad alte dosi (6 doppio autotr., 5 singolo auto, 3 allotrap.).

Nel campione afferente all'AOU FEDETICO II è emerso che il profilo clinico del lungosopravvivate ha delle caratteristiche cliniche e biochimiche differenti dalla popolazione tipica. La PFS potrebbe essere usata come predittore di una lungasopravvivenza perché i pazienti che hanno una PFS prolungata hanno una maggiore probabilità di avere una sopravvivenza maggiore rispetto a chi va in progressione rapida. La

remissione completa è stata ottenuta nel 28%; tuttavia c'è un piccolo gruppo di pazienti che nonostante non abbia mai raggiunto alcuna remissione, ha una maggiore sopravvivenza.

Tuttavia queste osservazioni sono state fatte nonostante lo studio abbia dei limiti: innanzitutto c'è stata una bassa adesione da parte degli altri centri allo studio e quindi un'analisi più dettagliata è stata possibile effettuarla solo sulla casistica dell'AOU FEDERICO II; l'arco temporale preso in esame è molto ampio, raggruppando pazienti che hanno ricevuto diagnosi anche in epoca pre-inibitori del proteasoma (1998-2008). I dati sono quindi molto eterogenei. Una carenza rilevante è rappresentata dalla mancanza dello studio di citogenetica in molti casi.

In prospettiva, l'obiettivo è quello di ottenere, sulla base dei criteri prima analizzati, degli score prognostici, in modo da poter determinare già dalle fasi precoci della malattia l'andamento del paziente e quindi utilizzare la sequenza terapeutica migliore. Lo studio della malattia minima residua e l'aumento delle conoscenze delle caratteristiche di tali pazienti permetterà di stabilire non solo l'iter terapeutico ma anche il timing più corretto, cercando di prolungare sempre di più la sopravvivenza di questi pazienti rispetto ad una malattia che ancora oggi è definita incurabile.

7. REFERENZE

1. Siegel, R. L., Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J. Clin.* 66, 7-30 (2016).
2. Kumar, S. K. *et al.* Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 28, 1122-1128 (2014).
3. Gonsalves, W. I. *et al.* Prognostic significance of quantifying circulating plasma cells in multiple myeloma. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 14, S147 (2014).
4. Drayson, M. *et al.* Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 97, 2900-2902 (2001).
5. Kyle, R. A. *et al.* Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin. Proc.* 78, 21-33 (2003)
6. Turesson, I., Velez, R., Kristinsson, S. Y. & Landgren, O. Patterns of multiple myeloma during the past 5 decades: stable incidence rates for all age groups in the population but rapidly changing age distribution in the clinic. *Mayo Clin. Proc.* 85, 225-230 (2010).
7. Kyle, R. A., Nobrega, F. T. & Kurland, L. T. Multiple myeloma in Olmsted County, Minnesota, 1945-1964. *Blood* 33, 739-745 (1969).
8. Waxman, A. J. *et al.* Racial disparities in incidence and outcome in multiple myeloma: a population-based study. *Blood* 116, 5501-5506 (2010).
9. AIRTUM, numeri del cancro in Italia 2016
10. Kyle, R. A. *et al.* A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.* 346, 564-569 (2002).
11. Kyle RA *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia.* 2010 Jun;24(6):1121-7

12. Rajkumar, S. V., Landgren, O., & Mateos, M. (2015). Smoldering multiple myeloma. *Blood*, 125(20), 3069-3075
13. Andrews SW, Kabrah S, May JE, Donaldson C, Morse HR. Multiple myeloma: the bone marrow microenvironment and its relation to treatment. *Br J Biomed Sci*. 2013;70(3):110-20
14. Barlogie, B., Epstein, J., Selvanayagam, P., & Alexanian, R. (1989). Plasma cell myeloma - new biological insights and advances in therapy. *Blood*, 73(4), 865-879
15. Manier, S., Kawano, Y., Bianchi, G., Roccaro, A. M. & Ghobrial, I. M. Cell autonomous and microenvironmental regulation of tumor progression in precursor states of multiple myeloma. *Curr. Opin. Hematol.* 23, 426-433 (2016).
16. S. Vincent Rajkumar, Shaji Kumar .Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. January 2016 Volume 91, Issue 1, Pages 101-119
17. Lambert Let al, Whole-body low-dose computed tomography in multiple myeloma staging: Superior diagnostic performance in the detection of bone lesions, vertebral compression fractures, rib fractures and extraskelatal findings compared to radiography with similar radiation exposure. *Oncol Lett*. 2017 Apr;13(4):2490-2494.
18. Rajkumar, S. V. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*.15, e538-e548 (2014).
19. Antonio Palumbo et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group *J Clin Oncol*. 2015 Sep 10; 33(26): 2863-2869.
20. Kumar S, Fonseca R, Ketterling RP, et al. Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics *Blood*. 2012;119(9):2100-2105.
21. Rajan AM Rajkumar SV Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J*.2015 Oct 30;5:e365.

22. Stella F, Pedrazzini E, Agazzoni M, Ballester O, Slavutsky. Cytogenetic Alterations in Multiple Myeloma: Prognostic Significance and the Choice of Frontline Therapy. I. *Cancer Invest.* 2015;33(10):496-504.
23. Wildes TM, Campagnaro E. Management of multiple myeloma in older adults: Gaining ground with geriatric assessment *J Geriatr Oncol.* 2017 Jan;8(1):1-7.
24. Alexanian R, Bonnet J, Gehan E, et al: Combination chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer* 30:382-389, 1972
25. Attal, M., Harousseau, J.L., Stoppa, A.M. et al, A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *Intergroupe Francais du Myelome. N Engl J Med.* 1996;335:91-9
26. Barlogie, B., Shaughnessy, J., Tricot, G., Jacobson, J., Zangari, M., Anaissie, E., Walker, R., & Crowley, J. (2004). Treatment of multiple myeloma. *Blood*, 103(1), 20-32.
27. Cavo M et al. (2014) Superior efficacy of VTD over VCD as induction therapy for autotransplantation-eligible, newly diagnosed, myeloma patients. *Blood*, 124, 197.
28. Palumbo A. et al. (2011). Melphalan/Prednisone/Lenalidomide (MPR) Versus High-Dose Melphalan and Autologous Transplantation (MEL200) in Newly Diagnosed Multiple Myeloma (MM) Patients <65 Years: Results of a Randomized Phase III Study. *Blood*, 118(21), 3069
29. Barlogie B, Jagannath S, Vesole DH, et al. Superiority of tandem autologous transplantation over standard therapy for previously untreated multiple myeloma. *Blood.* 1997;89:789-93
30. Mehta J, Singhal S. High-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation in myeloma patients under the age of 65 years. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40: 1101-1114.
31. Cavo, Michele, 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." *The Lancet* 376.9758 (2010): 2075-2085
32. 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;366:1782-91.
 33. Sonneveld, P, Schmidt-Wolf, I.G.H, van der Holt, B, el Jarari, L, Bertsch, U, Salwender, H, Goldschmidt, H. (2012). Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: Results of the randomized phase III HOVON-65/ GMMG-HD4 trial. *Journal of Clinical Oncology*, 30(24), 2946-2955.
 34. Gerull S, Stern M, Ben Aissa A, Manz MG, Schanz U, Stussi G, Chalandon Y, Passweg J, Mohty B. Allo-SCT for multiple myeloma in the era of novel agents: a retrospective study on behalf of Swiss Blood SCT Bone Marrow Transplant. 2013 Mar;48(3):408-13.
 35. Kumar SK, Rajkumar V Multiple myeloma *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jul 20;3:17046. doi: 10.1038/nrdp.2017.46.
 36. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20:1467-73.; Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23:3-9
 37. Meletios A. Dimopoulos, Philippe Moreau, et al. *on behalf of the EHA Guidelines Committee and the ESMO Guidelines Committee Multiple Myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-up Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 03 Feb 2021,32(3):309-322
 38. Pieter Sonneveld, Annemiek Broijl. Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma. *Haematologica* Apr 2016, 101 (4) 396-406
 39. Nooka, A. K., Kastiris, E., Dimopoulos, M. A., & Lonial, S. (2015). Treatment options for relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood*, 125(20), 3085-3099

40. Zhuang SH, Xiu L, Elsayed YA: Overall survival: a gold standard in search of a surrogate: the value of progression-free survival and time to progression as end points of drug efficacy. *Cancer J*. 2009, 15: 395-400. 10.1097.
41. Félix J, Aragão F, Almeida JM, et al. Time-dependent endpoints as predictors of overall survival in multiple myeloma. *BMC Cancer*. 2013;13:122.
42. Goel MK, Khanna P, Kishore J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *International Journal of Ayurveda Research*. 2010;1(4):274-278
43. IngemarTuresson et al. Patterns of Improved Survival in Patients With Multiple Myeloma in the Twenty-First Century: A Population-Based Study - *Journal of Clinical Oncology* 28, no. 5 (February 10 2010) 830-834.
44. Michele Cavo et al Prospective, Randomized Study of Single Compared With Double Autologous Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma: Bologna 96 Clinical Study, *Journal of Clinical Oncology* 2007;25:17, 2434-2441
45. Kumar, A., Kharfan-Dabaja, M. A., Glasmacher, A. & Djulbegovic, B. Tandem versus single autologous hematopoietic cell transplantation for the treatment of multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl Cancer Inst*. 101, 100-106 (2009).
46. Morgan GJ, Davies FE Role of thalidomide in the treatment of patients with multiple myeloma. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013 Oct;88 Suppl 1:S14-22.
47. McCarthy, et al (2010). Phase III Intergroup Study of Lenalidomide Versus Placebo Maintenance Therapy Following Single Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation (AHSCT) for Multiple Myeloma: CALGB 100104. *Blood*, 116(21)
48. Offidani, M et al. (2009), Thalidomide-dexamethasone versus Interferon-alpha-dexamethasone as maintenance treatment after ThaDD induction for multiple myeloma: a prospective, multicentre, randomised study. *British Journal of Haematology*, 144: 653-659.

49. Magarotto, Valeria MD; Palumbo, Antonio MD Evolving Role of Novel Agents for Maintenance Therapy in Myeloma *The Cancer Journal*: November-December 2009 - Volume 15 - Issue 6 - p 494-501
50. Iovino, et al (2014). Mini-Allogeneic Transplantation in Multiple Myeloma: A Single-Center Ten-Year Experience. *Blood*, 124(21), 5928
51. Djordje Atanackovic and Georgia Schilling, Second autologous or allogeneic transplantation after the failure of first autograft in patients with multiple myeloma. *Cancer*. 2006 Mar 1;106(5):1084-9.
52. Olin R, Vogl D, Porter D, et al. Second auto-SCT is safe and effective salvage therapy for relapsed multiple myeloma. *Bone marrow transplantation*. 2009;43(5):417-422. doi:10.1038/bmt.2008.334.
53. Cook G, Ashcroft AJ, Cairns DA, et al. The effect of salvage autologous stem-cell transplantation on overall survival in patients with relapsed multiple myeloma (final results from BSBMT/UKMF Myeloma X Relapse [Intensive]): a randomised, open-label, phase 3 trial *Lancet Haematol*. 2016;3:e340-e351.
54. Meletios A. Dimopoulos et al, Current treatment landscape for relapsed and/or refractory multiple myeloma *Nature Reviews Clinical Oncology* volume 12, pages 42-54 (2015)