UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DIPARTIMENTO DI
MEDICINA SPERIMENTALE
E CLINICA

Progetto di ricerca:
VALUTAZIONE DELLA MALATTIA MINIMA RESIDUA IN PAZIENTI AFFETTI DA MIELOMA MULTIPLO

BACKGROUND

Il Mieloma Multiplo (MM) è un disordine neoplastico ematologico, caratterizzato dalla proliferazione di plasmacellule maligne nel midollo osseo, dalla presenza di una componente monoclonale (CM) nel siero e/o nelle urine, a cui si associa una disfunzione d'organo[1].

Il trattamento del mieloma multiplo di nuova diagnosi è notevolmente cambiato in questi ultimi anni, soprattutto in seguito all'introduzione di nuovi farmaci e al più ampio utilizzo del trapianto di cellule staminali autologhe (ASCT), consentendo di ottenere un più elevato tasso di risposte complete (CR) che si traduce in un allungamento della sopravvivenza libera da progressione (PFS) e sopravvivenza globale (OS)[2]. E' stato in effetti osservato un allungamento della OS mediana dei pazienti con MM da 2-3 anni a 8-10 anni[1]. Nonostante ciò, la quasi totalità dei pazienti, anche se ottiene la CR, recidiva a distanza di tempo variabile a causa della persistenza di una quota di malattia minima residua (MRD) che non viene identificata utilizzando gli esami di laboratorio convenzionali e/o con la valutazione istopatologica della biopsia osteomidollare (BM)[3]. Sono informativi al riguardo gli studi recenti che segnalano che i pazienti affetti da mieloma multiplo di nuova diagnosi con MRD-negativa dopo trapianto autologo hanno una sopravvivenza significativamente più lunga rispetto ai pazienti con MRD-positiva[4-5], sottolineando l'importanza della valutazione della MRD nella gestione del paziente con MM. Le linee guida dell'International Myeloma Working Group (IMWG) definiscono come MRD positività il riscontro di una cellula neoplastica su 10^5 cellule normali analizzate.

Recentemente anche lo scenario terapeutico per i pazienti con MM refrattario è completamente cambiato, grazie all'introduzione di farmaci come anticorpi monoclonali o inibitori del proteasoma di seconda generazione. Questi regimi terapeutici consentono l'ottenimento di una risposta anche in chi ha fallito la prima linea di terapia e permettono un eventuale trapianto autologo di cellule staminali. Allo stato attuale, non sono ancora disponibili in letteratura dati sulla MRD in questa tipologia di pazienti.

In generale, la MRD nel MM può essere studiata su campioni di sangue midollare con due principali tipi di tecniche: un approccio molecolare (ASO-PCR e NGS) e un approccio citofluorimetrico (NGF). Le tecniche molecolari ricercano come marker di malattia nel mieloma multiplo il riarrangiamento dei geni delle immunoglobuline, tuttavia la valutazione della MRD in NGS, nonostante sia stata utilizzata in alcuni clinici multicentrici[7-9,] non è di uso comune nella maggior parte dei laboratori. La citometria a flusso utilizza un pannello di marcatori di superficie per identificare e distinguere le

plasmacellule normali dalle le patologiche, inizialmente utilizzando combinazioni a 4 colori che sono state recentemente migliorate fino a 8-10 colori[3,5,10]. In generale la citometria convenzionale è più facilmente applicabile nella normale pratica clinica rispetto all'NGS, risultando però meno sensibile (sensibilità tra 10^{-4} e 10^{-5} per citometria vs. 10^{-6} per NGS), differenza equiparata invece utilizzando next-generation flow (NGF). Alcuni studi hanno paragonato NGS e citometria convenzionale[7-9] o citometria in NGF[10] per la valutazione della MRD in setting di pazienti molto specifici e all'interno di studi clinici.
Queste esperienze indicano come la valutazione e il monitoraggio della MRD nel MM stia diventando di importanza rilevante nella gestione a medio-lungo termine, anche se ad oggi la terapia non è guidata da questo parametro in mancanza di studi prospettici.

DISEGNO DEL PROGETTO DI RICERCA

Sulla base di queste premesse, questo progetto sperimentale si prefigge sia di analizzare la capacità della terapia di prima linea (intesa come terapia di induzione, trapianto autologo di cellule staminali, terapia di consolidamento e terapia di mantenimento) di negativizzare la MRD e sia di monitorare questo parametro nel tempo.
Lo studio analizzerà pazienti affetti da mieloma multiplo di nuova diagnosi in un setting di real life, utilizzando pertanto terapie codificate secondo le linee guida in uso. La MRD sarà valutata sia con analisi citofluorimetrica che molecolare, permettendo quindi di valutare parallelamente le due metodiche, in termini di sensibilità e di applicabilità clinica.
La fase di arruolamento dello studio avrà una durata di due anni; sulla base della nostra casistica è previsto un arruolamento di 40 pazienti/anno, per un totale di 80 pazienti che verranno seguiti fino a progressione.

OBIETTIVI DELLA SPERIMENTAZIONE

1) **VALUTAZIONE MRD IN PAZIENTI CON MM DI NUOVA DIAGNOSI IN CORSO DI TRATTAMENTO**

- Valutare la MRD durante tutte le fasi del trattamento: post-induzione, sul prodotto aferetico, a +100 giorni dal trapianto autologo
- Correlare le caratteristiche cliniche e biologiche del paziente con la persistenza di MRD positività post trapianto

2) **VALUTAZIONE MRD IN PAZIENTI CON MM DI NUOVA DIAGNOSI IN CORSO DI TERAPIA DI MANTENIMENTO POST TRAPIANTO AUTOLOGO**

- Valutare l'incidenza di MRD negatività post trapianto autologo e la durata della stessa in corso di terapia di mantenimento.
- Valutare la perdita o le oscillazioni dello status di MRD in corso di terapia di mantenimento per correlarla con/predire la recidiva
- Correlare le caratteristiche cliniche e biologiche del paziente con la persistenza di MRD negatività e la durata della risposta clinica.

Bibliografia.

1) Palumbo A, Anderson K. Multiple Myeloma. N Eng J Med 2011; 364:1046-1060
2) Cavo, M., Rajkumar, S.V., Palumbo A. International Myeloma Working Group (IMWG) consensus approach to the treatment of multiple myeloma patients who are candidates for autologous stem-cell transplantation. Blood 2011; 117, 6063– 607
3) Mailankody, S., Korde, N., Lesokhin. Minimal residual disease in multiple myeloma: bringing the bench to the bedside. Nature Reviews: Clinical Oncology 2015;12, 286– 295.
4) Munshi, N.C. & Anderson, K.C. Minimal residual disease in multiple myeloma. Journal of Clinical Oncology 2013; 31, 2523– 2526.
5) Paiva, B., van Dongen, J.J. & Orfao, A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. Blood 2015; 125, 3059– 3068.
6) Kumar, S., Paiva, B., Anderson, K.C., International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. Lancet Oncology 2016; 17,e328– e346.
7) Martinez-Lopez, J., Lahuerta, J.J., Pepin. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. Blood 2014, 123, 3073– 3079
8) Korde, N., Roschewski, M., Zingone. Treatment with Carfilzomib-Lenalidomide-Dexamethasone with Lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. JAMA Oncology 2015, 1, 746– 754
9) Avet-Loiseau, H., Corre, J., Lauwers-Cances, V. Evaluation of Minimal Residual Disease (MRD) by Next Generation Sequencing (NGS) is highly predictive of progression free survival in the IFM/DFCI 2009 trial. Blood 2015, 126, 191.
10) Flores-Montero, J., Sanoja-Flores, L., Paiva, B. Next generation flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. Leukemia 201; 31, 2094– 2103.

Alessandro M. Vannucchi
Full Professor of Hematology,
Department of Experimental and Clinical Medicine
Head, Center of Research and Innovation of Myeloproliferative Neoplasms
AOU Careggi, University of Florence
Florence, Italy