



**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΕΘΝΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΥ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ**

**Α' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΕΤΡΟΣ ΣΦΗΚΑΚΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΘΕΜΑ:**

**«ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ  
ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΜΥΕΛΩΜΑΤΟΣ, ΧΛΛ/SLL ΤΗΝ ΕΠΟΧΗ ΤΩΝ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ  
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ»**

**ΒΑΣΙΛΙΚΗΣ ΜΠΑΡΤΖΗ**

**ΙΑΤΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ 2020**

**«ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ  
ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΜΥΕΛΩΜΑΤΟΣ, ΧΛΛ/SLL ΤΗΝ ΕΠΟΧΗ ΤΩΝ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ  
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ»**

Στον πατέρα μου

και τον γιο μου

«Ἐφη δὲ τὴν μὲν μετὰ λόγου ἀληθῆ δόξαν **ἐπιστήμην** εἶναι.»

Πλάτων, Θεαίητος.

## ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ  
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ  
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ  
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ἠΓΗΣΕΣΘΑΙ  
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ,  
ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ  
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΤΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΩΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-  
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΣΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ  
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-  
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ  
ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ  
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-  
ΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.  
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ  
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΞΕΙΝ.  
ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙ-  
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΚΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ  
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ  
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ  
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ  
ΠΡΗΣΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ  
ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-  
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ  
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ  
ΔΟΥΛΩΝ, Α ΔΕ ΑΙ' ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΪΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ  
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-  
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-  
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ  
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΣΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-  
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ  
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

<b>Παναγιώτης Παναγιωτίδης</b>	<b>Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ</b>
<b>Γεράσιμος Πάγκαλης</b>	<b>Ομότιμος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ</b>
<b>Ιωάννης Δερβενούλας</b>	<b>Ομότιμος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ</b>

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>Βιογραφικό Σημείωμα</b>	8
<b>Ευχαριστίες</b>	14
<b>Πρόλογος</b>	15
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	17
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b>	
1. Πολλαπλό Μυέλωμα	17
1.1 Ορισμοί – Επιδημιολογία – Αιτιολογία	17
1.2 Μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρινίστου σημασίας (MGUS)	18
1.3 Έρπον Πολλαπλό Μυέλωμα – Διαγνωστικά κριτήρια συμπτωματικού Πολλαπλού Μυελώματος	19
1.4 Κλινικά γνωρίσματα	20
1.4.1 Αναιμία	21
1.4.2 Νεφρική Δυσλειτουργία	21
1.4.3 Οστική νόσος	22
1.4.4 Υπερασβεστιαμία	22
1.4.5 Λοιμώξεις	23
1.4.6 Λοιπές κλινικές εκδηλώσεις	23
1.5 Διαγνωστική προσέγγιση	24
1.6 Προγνωστικοί Παράγοντες	25
1.7 Καθορισμός σταδίου νόσου (Σταδιοποίηση)	26
1.8 Κυτταρογενετικές ανωμαλίες	29
1.8.1 Αριθμητικές ανωμαλίες	32
1.8.2 Αναδιατάξεις του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών	34
1.9 Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση	37
1.9.1 Συνοσηρότητες και κλινική κατάσταση	37
1.9.2 Νεφρική λειτουργία	38
1.9.3 MGUS, τύπος παραπρωτεΐνης και ελεύθερες αλυσίδες ορού	38
1.9.4 Εξωμυελική νόσος	39
1.9.5 Πλασματοκυτταρική Λευχαιμία και παρουσία πλασματοκυττάρων στο αίμα	39
1.10 Θεραπεία	39
1.10.1 Θαλιδομίδη	45
1.10.2 Αναστολείς πρωτεασώματος	46
1.10.3 Ανοσορυθμιστικοί παράγοντες	49
1.10.4 Μονοκλωνικά αντισώματα	52
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b>	
2. Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία – Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα	55
2.1 Ορισμοί – Επιδημιολογία	55

2.2 Παθογένεια	55
2.3 Μονοκλωνική Β λεμφοκυττάρωση	57
2.4 Κλινική εικόνα	58
2.5 Προγνωστικοί παράγοντες	58
2.5.1 Σταδιοποίηση κατά Rai και Binet	59
2.5.2 Κυτταρογενετικές ανωμαλίες	60
2.5.3 Σταδιοποίηση νόσου CLL-IPi	61
2.6 Συγκεκριμένες μοριακές βλάβες	62
2.6.1 Έλλειψη 17p και μεταλλάξεις της TP53	62
2.6.2 Έλλειψη 11q22-23 (ATM)	64
2.6.3 Μεταλλάξεις της βαριάς αλυσίδας των Ανοσοσφαιρινών	65
2.7 Ελάχιστη Υπολειπόμενη νόσος	66
2.8 Θεραπεία	67
2.8.1 Ασθενείς που δεν πληρούν τα κριτήρια έναρξης θεραπείας	68
2.8.2 Ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια έναρξης θεραπείας	68
2.8.3 Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις	69
2.8.4 Θεραπεία σε συγκεκριμένους προγνωστικούς παράγοντες	71
2.8.5 Θεραπεία ανθεκτικής ΧΛΛ ή σε υποτροπή	72
2.9 Κριτήρια ανταπόκρισης στη θεραπεία	75
2.10 Ειδικές καταστάσεις	76
2.10.1 Αυτοάνοσες εκδηλώσεις	76
2.10.2 Λοιμώξεις	76
2.11 Νέα φάρμακα και κίνδυνος λοίμωξης	77
2.12 Επιπλοκές	80
2.12.1 Αυτοάνοσα φαινόμενα	80
2.12.2 Νόσος ψυχροσυγκολλητινών	82
2.12.3 Παρανεοπλασματική πέμφιγα	82
2.12.4 Νευροπάθεια	83
2.12.5 Σύνδρομο Richter	83
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b>	<b>94</b>
3.1 Σκοπός	94
3.2 Ασθενείς και μέθοδοι	94
3.2.1 Χαρακτηριστικά ασθενών	96
3.2.2 Μεθοδολογία – Καρυότυπος, FISH, PCR, Ανάλυση Υπερμεταλλάξεων VH	97
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b>	
4.1 Παραδείγματα ΠΜ ασθενών ως προς συγκεκριμένες κυτταρογενετικές ανωμαλίες	124
4.2 Ασθενείς υπό Λεναλιδομίδη και υπερδιπλοειδή καρυότυπο	125

4.3 Επιβίωση μετά τη θεραπεία με Λεναλιδομίδη σε σχέση με την παρουσία ή μη οποιασδήποτε καρυοτυπικής βλάβης	129
4.4 Επιβίωση μετά τη θεραπεία με Λεναλιδομίδη σε σχέση με την παρουσία ή μη υπερδιπλοειδή καρυότυπου	130
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5</b>	
5.1 ΧΛΛ – SLL	131
5.2 Ανθεκτικοί ή σε υποτροπή ασθενείς υπό Ibrutinib	132
5.3 Ανθεκτικοί ή σε υποτροπή ασθενείς υπό Venetoclax	133
5.4 Επιβίωση ασθενών ανάλογη της ανταπόκρισης στο Ibrutinib	136
5.5 Επιβίωση ασθενών υπό Ibrutinib σε σχέση με περισσότερες των δύο χρωμοσωμικών ανωμαλιών	137
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 - Συμπεράσματα</b>	138
<b>Ελληνική Περίληψη</b>	141
<b>Αγγλική Περίληψη</b>	143
<b>Βιβλιογραφία</b>	144



## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **Προσωπικά στοιχεία**

Όνομα: Βασιλική Μπάρτζη  
Ημερ. γέννησης: 05 Ιουλίου 1974  
Τόπος γέννησης: Αθήνα  
Υπηκοότητα: Ελληνική

### **Σχολική εκπαίδευση**

Ιούνιος 1992 Αποφοίτηση από το 2<sup>ο</sup> Γενικό Λύκειο Νέου  
Ψυχικού

### **Σπουδές**

9/1994 – 9/2000

Φοίτηση στο Αγγλόφωνο τμήμα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου «OVIDIUS» Constanta Ρουμανίας (English Course), (Βαθμός πτυχίου 8.82 )

6/2002

Αναγνώριση τίτλου σπουδών από ΔΙ.ΚΑ.ΤΣΑ και απόκτηση άδειας ασκήσεως ιατρικής στην Ελλάδα

## Επαγγελματική εξέλιξη

9/2002 - 12/2002

Υποχρεωτική τρίμηνη εκπαίδευση στις ειδικότητες της Καρδιολογίας, Παθολογίας και Χειρουργικής στο Νοσοκομείο «Σκυλίτσειο» Χίου.

1/2003 – 1/2004

Ιατρός υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου στο Π. Ι Καλαμωτής του Κ.Υ. Πυργίου Ν. Χίου.

9/2004 – 6/2006

Ειδικευόμενη ιατρός τμήματος Παιδιατρικής Γενικού Νοσοκομείου Καλαμάτας, για απόκτηση τίτλου ειδικότητας στην Αιματολογία.

6/2006 – 6/2015

Μοριακές τεχνικές στο εργαστήριο του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με ειδίκευση στην τεχνική «Φθορίζοντα insitu υβριδισμού (FISH)» για ανίχνευση μοριακών μεταλλάξεων και ογκογονιδίων στα αιματολογικά νοσήματα.

7/2007 – 6/2008

Επιστημονικός συνεργάτης Ε.Κ.Π.Α στην επιστημονική έρευνα με τίτλο «Μοριακή διερεύνηση αιματολογικών νοσημάτων» (φθορίζοντα insitu υβριδισμός (FISH), κυτταροκαλλιέργειες).

9/2007- 5/2012

Ειδίκευση στην Αιματολογία στην Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική του Λαϊκού Νοσοκομείου Αθηνών.

Συμπεριλαμβάνεται εξάμηνη εκπαίδευση στο τμήμα Αιμοδοσίας του Λαϊκού Νοσοκομείου και εξάμηνη εκπαίδευση στο τμήμα Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών του Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός».

Κατά τη διάρκεια της ειδικότητάς μου στο Γ.Ν Αθηνών Λαϊκό, αλλά και μετά ως επιστημονικός συνεργάτης είχα την δυνατότητα στη διάγνωση, νοσηλεία και θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενών με μεσογειακή αναιμία και αιμοσφαιρινοπάθειες (δρεπανοκυτταρική νόσο, αιμοσφαιρινοπάθειαC).

Ιούλιος 2012

Απονομή τίτλου ειδικότητας Αιματολογίας

1/3/2012 έως 07/6/2015

Επιστημονικός συνεργάτης στην Α΄ΠΠΚ, ΓΝΑ Λαϊκό, ΕΚΠΑ (Αιματολογικό εξωτερικό

Ιατρείο και κλινική ημερήσιας νοσηλείας  
με >10.000 ασθενείς ετησίως)

[1/3/2012 – 28/2/2013  
Επιστημονικά υπεύθυνη καθ. κ.  
Κυρτσώνη

[1/3/2013 – 07/6/2015  
Επιστημονικά υπεύθυνος καθ. κ. Π.

Παναγιωτίδης.]

4/2013 έως 2016

Ιδιωτικό Ιατρείο στο Κιάτο Κορινθίας

5/6/2015 έως 7<sup>ο</sup>/2016

Επιμελήτρια Β' στο «ΕΡΡΙΚΟΣ ΝΤΥΝΑΝ  
Hospital Center ΗΜΙΘΕΑ ΑΕ» με σύμβαση  
εξαρτημένης εργασίας, αορίστου χρόνου  
και πλήρους απασχόλησης.

31/3/2017 έως 15/6/2019

Επιμελήτρια Β' στο Γ.Ν.Καρδίτσας.

15/6/19 – 15/9/19

Σε μετακίνηση στα εξωτερικά ιατρεία του  
Αιματολογικού Τμήματος της Α' ΠΠΚ του  
Λαϊκού Νοσοκομείου

16/9/19 έως και σήμερα

Ακαδημαϊκός Υπότροφος ΕΚΠΑ Α'  
Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική και  
Ειδική Νοσολογία Νοσοκομείο «Λαϊκό»

Επιστ. Υπεύθυνη: καθ. κ. Μ-Χ Κυρτσώνη

### **Επιστημονικό έργο**

86 ανακοινώσεις σε Ελληνικά και 50 σε  
Διεθνή Συνέδρια.

Βραβεία / Υποτροφίες σε Διεθνή Συνέδρια:  
5

Σε Ελληνικά Συνέδρια: 1

**Εκπαιδευτικό έργο ως  
εκπαιδευτής**

2009 – 2015

Συμμετοχή στο πρόγραμμα μαθημάτων φοιτητών Ιατρικής 7<sup>ου</sup> και 8<sup>ου</sup> εξαμήνου της Α΄ ΠΠΚ του ΕΚΠΑ

Συμμετοχή στο πρόγραμμα μαθημάτων ειδικευόμενων ιατρών στην Αιματολογία της Α΄ ΠΠΚ του ΕΚΠΑ

Συμμετοχή στις εκπαιδευτικές δραστηριότητες της Αιματολογικής κλινικής – λεμφωμάτων, Μονάδα μεταμόσχευσης Μυελού οστών Γ.Ν.Αθήνας «Ο Ευαγγελισμός».

**Μετεκπαίδευση**

Μοριακές τεχνικές (FISH),  
κυτταροκαλλιέργειες.

Συνέδρια, Μετεκπαιδευτικά σεμινάρια

Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.

**Συγγραφικό έργο**

Συμμετοχή σε συγγραφή κεφαλαίων ελληνικού και διεθνών επιστημονικών βιβλίων

**Ερευνητικό έργο**

Συμμετοχή σε συνολικά δεκαπέντε διεθνείς κλινικές μελέτες φάσης II και III ως υποερευνητής

Ενδεικτικά: CAMN107CIC03,  
CINC424AGR01(ESCAPE), ML22235  
(CALLYPSO, MO28543(GREEN), PCI-

32765 CLL3001 (HELIOS), AB06006 με ΠΙ τον καθ.κ.Π.Παναγιωτίδη.

CA204006 (ELOQUENT 1), 20090482, CC-5013-MM-026, C16020, C16019, PCYC-1127-CA με ΠΙ την Αν. καθ.κ.Κυρτσώνη

Certification of course on GOOD CLINICAL PRACTICES(Πιστοποιητικό ολοκλήρωσης στις Ορθές Κλινικές Πρακτικές) - modules: Institutional Review Boards, Imformed Concent, Confidentiality & Privacy, Participant Safety & Adverse Events, Quality Assurance, The Research Protocol, Documentation & Record-Keeping, Research Misconduct, Roles & Responsibilities, Recruitment & Retention, Investigational New Drugs (6/2016 και 5/2019)

### **Συνέδρια**

Παρακολούθηση 27 Ελληνικών και 14 Διεθνών συνεδρίων

### **Ξένες γλώσσες**

Αγγλικά

### **Επιστημονικές εταιρίες**

Μέλος του Ιατρικού συλλόγου Αθηνών

Μέλος του Ιατρικού συλλόγου Κορίνθου

Μέλος του Ιατρικού συλλόγου Καρδίτσας

Μέλος της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας

### **Επιπλέον προσόντα**

European Computer Driving Licence

Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Αιρετό μέλλος στο Επιστημονικό  
Συμβούλιο Γ.Ν Καρδίτσας

Αιρετό μέλλος στο Διοικητικό Συμβούλιο  
Γ.Ν. Καρδίτσας

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια της άσκησής μου στην ειδικότητα της Αιματολογίας στην Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών. Τη στιγμή αυτή νιώθω τη μεγάλη ανάγκη να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Παναγιώτη Παναγιωτίδη που με την επιστημονική του καθοδήγηση, αλλά και την κατευθυνόμενη αυτενέργεια, την αμέριστη υποστήριξη και την ενθάρρυνση στις δυσκολίες που μου πρόσφερε ολοκλήρωσα το επιστημονικό αυτό πόνημα. Με την παρουσία και τη συμμετοχή του συνέβαλε στην επιστημονική μου κατάρτιση και ανέλιξη διαμορφώνοντάς μου επιστημονική συνείδηση με ανθρωποκεντρικό χαρακτήρα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την καθηγήτρια κ. Μ.Χ. Κυρτσώνη, η οποία αφειδώς πρόσφερε όχι μόνο ό,τι επιστημονικά ήταν απαραίτητο για την έρευνα αυτή, αλλά και προσωπικό ενδιαφέρον και ουσιαστική έμπρακτη συμβολή. Την ευχαριστώ ακόμη για τον πολύτιμο από τον χρόνο της που μου διέθεσε, την συμπαράστασή της και την πραγματική της βούληση να συμβάλλει στην επιστημονική μου αυτή προσπάθεια.

Ακόμη ένα μεγάλο ευχαριστώ επιθυμώ να εκφράσω στην Αιματολόγο κ. Μαρία Δήμου που υποστηρικτικά μου πρόσφερε υλικό και στοιχεία, όποτε χρειάστηκα, προκειμένου να ολοκληρώσω την ερευνητική μου αυτή προσπάθεια.

Πολλές ευχαριστίες απευθύνω στην κ. Ειρήνη Ρισσάκη χωρίς τη βοήθεια της οποίας η γραφειοκρατική και τεχνική κάλυψη της διατριβής αυτής δεν θα είχε τελειοποιηθεί.

Θα πρέπει να ευχαριστήσω επίσης τους συναδέλφους μου κ. Ευστάθιο Κουλιέρη και κ. Τατιάνα Τζένου για την βοήθεια και υποστήριξή τους.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το Πολλαπλό Μυέλωμα (ΠΜ) είναι μια νεοπλασία που χαρακτηρίζεται από ετερογένεια στην έκβασή του. Πρόσφατες θεραπευτικές προσεγγίσεις, όπως τα iMids, οι αναστολείς πρωτεασώματος (PIs) και τα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-CD38, έχουν βελτιώσει την πρόγνωση των ασθενών. Οι παράμετροι που προβλέπουν δυσμενή πρόγνωση είναι καλά τεκμηριωμένες στις μέρες μας και περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων κυτταρογενετικές διαταραχές όπως η t(4;14), t(14;16), t(14;20), ανωμαλίες του χρωμοσώματος 1 και έλλειψη του χρωμοσώματος 17p. Γονιδιακές διαταραχές που παρατηρούνται σχεδόν στο 100% των κλωνικών μυελωματικών κυττάρων των ασθενών στη διάγνωση θεωρείται ότι σχετίζονται με την έναρξη της νόσου και αυτές που παρατηρούνται σε υποκλώνους θεωρούνται δευτεροπαθείς. Από αυτή την άποψη το Πολλαπλό Μυέλωμα φαίνεται ότι ξεκινά μέσω υπερδιπλοειδίας ή χρωμοσωμικών αντιμεταθέσεων που εμπλέκουν το γονίδιο της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών. Χρωμοσωμικές αριθμητικές διαταραχές και σωματικές γονιδιακές μεταλλάξεις θεωρούνται δευτεροπαθή συμβάματα και σχετίζονται με την πρόοδο της νόσου.

Η Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ) είναι μια νεοπλασία ώριμων κλωνικών Β κυττάρων και εμφανίζει επίσης ιδιαίτερη κλινική και βιολογική ετερογένεια. Με την πάροδο των ετών έχουν αναγνωριστεί ειδικοί προγνωστικοί παράγοντες βοηθώντας στη διαστρωμάτωση των ασθενών σε υποομάδες με διακριτή κλινική πορεία και ανταπόκριση στη θεραπεία. Αυτό αντικατοπτρίζεται στις κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και θεραπεία της ΧΛΛ δημοσιευμένο από το International Workshop on CLL το 2008, η οποία συνιστούσε τη διενέργεια FISH μεσοφασικών πυρήνων. Γενετικές διαταραχές που ανιχνεύονται με FISH και καρυότυπο παρέχουν σημαντικές προγνωστικές πληροφορίες για τους ασθενείς και προβλέπουν την επιβίωση και την εξέλιξη της νόσου. Η παρουσία γενετικών διαταραχών επηρεάζει την επιλογή θεραπευτικής προσέγγισης με χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, αναστολείς κίνησης, παράγοντες αντι-BCL2, κ.α.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης, η οποία άρχισε να εκπονείται το 2010, ήταν να αξιολογήσει την επίπτωση των κυτταρογενετικών ανωμαλιών στην πορεία του κάθε νοσήματος και στην πρόγνωσή τους υπό θεραπεία με νέους παράγοντες.



# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### 1. ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ

#### 1.1 Ορισμοί – Επιδημιολογία – Αιτιολογία

Το Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ) αποτελεί μια αιματολογική κακοήθη νόσο της ευρύτερης οικογένειας των πλασματοκυτταρικών δυσκρασιών, των νοσημάτων δηλαδή που προκύπτουν από την κλωνική εξαλλαγή Β λεμφοκυττάρων που βρίσκονται στο τελικό στάδιο διαφοροποίησής τους. Χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων στον μυελό ή εξωμυελικά, που τις περισσότερες φορές εκκρίνουν μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη με συνέπεια την βλάβη σε όργανα στόχους<sup>1</sup>.

Περιγράφονται περίπου 176404 καινούριες διαγνώσεις πολλαπλού μυελώματος και 117077 σχετιζόμενοι με πολλαπλό μυέλωμα θάνατοι ασθενών παγκοσμίως το 2020<sup>2</sup>. Το πολλαπλό μυέλωμα συναντάται περίπου στο 1,8% όλων των κακοηθειών και 15% των αιματολογικών κακοηθειών στις Ηνωμένες Πολιτείες με μέση ηλικία διάγνωσης τα 70 έτη, με υπεροχή των αντρών (3:2) και κυρίως των Αφροαμερικανών. Εκτιμάται ότι το 2021 οι καινούριες περιπτώσεις θα ανέρχονται στις 34920 (19320 άντρες και 15600 γυναίκες) και οι εκτιμώμενοι θάνατοι 12410 (6840 άντρες και 5570 γυναίκες) στις Ηνωμένες Πολιτείες. Αντιπροσωπεύει τη 2<sup>η</sup> πιο συχνή αιματολογική κακοήθεια (10% όλων των αιματολογικών κακοηθειών) μετά από τα μη Hodgkin λεμφώματα με αύξηση της συχνότητας του παγκοσμίως τα τελευταία 25 έτη. Τα δεδομένα παγκοσμίως από το 2016 έδειξαν ότι η συχνότητα του πολλαπλού μυελώματος ήταν 2,1 ανά 100.000, με τις περισσότερες περιπτώσεις στην Αυστραλία και Δυτική Ευρώπη. Ο αριθμός των περιπτώσεων που διαγιγνώσκονται ετησίως φαίνεται ότι θα διπλασιαστεί στην 20ετία. Η ακριβής αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη, αν και είναι εμφανές ότι γενετικές ανωμαλίες σε ογκογονίδια όπως τα c-myc, NRAS, KRAS παίζουν σημαντικό ρόλο. Επιπλέον έχει συσχετιστεί με άλλους παράγοντες όπως το αλκοόλ, η παχυσαρκία, διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες (εντομοκτόνα) και η ιονίζουσα ακτινοβολία.

## 1.2 Μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρινίστου σημασίας (MGUS)

Αποτελεί μια μη κακοήγη κλωνική διαταραχή. Ταξινομείται ανάλογα με την εμπλεκόμενη ανοσοσφαιρίνη. Η πιο συχνή βαριά αλυσίδα στο MGUS είναι η IgG που συναντάται στο 70% των ασθενών και ακολουθούν οι IgM (15%), IgA(12%) και η δικλωνική γαμμαπάθεια (3%)<sup>3</sup>. Ορίζεται ως:

- μη IgM μονοκλωνική παραπρωτεΐνη <3g/dl,
- <10% μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα στον μυελό
- απουσία συμβαμάτων από το μυέλωμα ή κριτηρίων CRAB, όπου CRAB αποτελεί το ακρωνύμιο των:

C: Ασβέστιο (>11mg/dl ή >1 mg/dl υψηλότερο από το ULN)

R: Νεφρική Ανεπάρκεια (CrCl< 40 ml/min ή κρεατινίνη ορού >2 mg/dl)

A: Αναιμία (Hb< 10g/dl ή 2 g/dL< NV)

B: Οστική νόσος (≥ 1 λυτική εστία στις ακτινογραφίες, CT ή PET/CT).

MGUS ελαφρών αλύσεων ορίζεται ως:

- ο λόγος FLC<0,26 ή >1,65 με παρουσία αυξημένης τιμής της εμπλεκόμενης ελαφράς αλύσου στον ορό
- <10% διήθηση κλωνικών πλασματοκυττάρων στον μυελό και
- απουσία μονοκλωνικής βαριάς αλυσίδας, κριτηρίων CRAB ή αμυλοείδωσης.

Η συχνότητά του στον γενικό πληθυσμό υπολογίζεται περίπου 3% σε ηλικίες >50 ετών και η εξέλιξη σε ΠΜ 1% ετησίως. Πιθανολογείται ότι η ανάπτυξη του MGUS γίνεται λόγω κυτταρογενετικών ανωμαλιών που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια μιας μη φυσιολογικής ανταπόκρισης σε αντιγονική πρόκληση, με αποτέλεσμα την παραγωγή μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης. Η εξέλιξή του θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα επιπρόσθετων κυτταρογενετικών διαταραχών που αποκτήθηκαν από τον αρχικό πλασματοκυτταρικό κλώνο είτε λόγω γενετικής αστάθειας, είτε λόγω ανωμαλιών του μικροπεριβάλλοντος. Η διαχείριση των ατόμων με MGUS φαίνεται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1: Διαχείριση ατόμων με MGUS					
Σεόλους	Διαστρωμάτωση κινδύνου	Ταξινόμηση	Πρόσθετος έλεγχος στη διάγνωση	Έλεγχος και αξιολόγηση	
Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών (Η/Λ) ορού, γεν. αίματος (ΓΑ), κρεατινίνη (crea)	Παράγοντες κινδύνου για εξέλιξη: <ul style="list-style-type: none"> <li>• M-πρωτεΐνη &gt;1.5g/dl</li> <li>• Μη-IgG (IgA, IgM)</li> <li>• FLC &lt;0,26 ή &gt;1,65</li> </ul>	0	Χαμηλού κινδύνου	Δεν χρειάζονται επιπρόσθετες εξετάσεις	Επανάληψη Η/Λ, ΓΑ, crea ορού κάθε 6 μήνες και μετά κάθε 2-3 χρόνια αν είναι σταθερά
		1	Χαμηλού ενδιάμεσου	LDH β2 μικροσφαιρίνη OMB/FISH	Αν ο επιπρόσθετος έλεγχος (-) : Η/Λ, ΓΑ, crea κάθε 6 μήνες και έπειτα ετησίως εάν παραμένουν σταθερά  Αν ενδείξεις προόδου: συχνός έλεγχος, διαχείριση λεμφοπλάσμα τοκυτταρικής κακοήθειας
		2	Υψηλού ενδιάμεσου	Μη-IgMMGUS: χαμηλής έντασης CT	
		3	Υψηλού κινδύνου	Ελαφρών αλύσεων MGUS: NTproBNP, τροπονίνες, λεύκωμα ούρων	

### 1.3 Έρπον Πολλαπλό Μυέλωμα – Διαγνωστικά κριτήρια συμπτωματικού Πολ. Μυελώματος

Σύμφωνα με τα κριτήρια του National Comprehensive Cancer Network (NCCN) το πολ. Μυέλωμα διακρίνεται σε **έρπον (SMM ασυμπτωματικό)** και ενεργό (**συμπτωματικό**) μυέλωμα<sup>5</sup>. Το SMM προοδεύει σε μυέλωμα περίπου 10% ανά έτος για τα πρώτα 5 έτη μετά τη διάγνωση, 3% ανά έτος για τα επόμενα 5 και 1% για τα επόμενα 10 έτη. Αυτή η συχνότητα επηρεάζεται από τον υποκείμενο κυτταρογενετικό τύπο της νόσου. Ασθενείς με t(4;14), del17p και gain(1q) βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης πολ. Μυελώματος.

Τα κριτήρια του SMM σύμφωνα με το National Comprehensive Cancer Network (NCCN) είναι τα ακόλουθα:

- Μονοκλωνική πρωτεΐνη ορού: IgG ή IgA  $\geq$  3g/dL ή
- Bence Jones πρωτεΐνη  $\geq$  500mg/24ώρες και/ή
- Κλωνικά πλασματοκύτταρα μυελού 10%-59% και
- Απουσία σημείων και συμπτωμάτων μυελώματος ή αμυλοείδωσης

Το NCCN επίσης συστήνει για έναν ασθενή του οποίου ο ακτινογραφικός οστικός έλεγχος απέβη αρνητικός, θα πρέπει να υποβληθεί σε ολόσωμη χαμηλής έντασης CT ή MRI ή PET/CT προκειμένου να διαφοροποιηθεί από το συμπτωματικό μύελωμα.

Τα πρόσφατα διαγνωστικά κριτήρια του **πολ. μυελώματος** είναι τα κάτωθι (για τη διάγνωση απαιτούνται και τα δύο κριτήρια):

- Κλωνική πλασματοκυτταρική διήθηση  $\geq 10\%$  ή οστικό ή εξωμυελικό πλασματοκύττωμα επιβεβαιωμένο με βιοψία και
- Ένα ή περισσότερα από τα:
  - Τιμή ασβεστίου ορού  $>1\text{mg/dL}$  ( $>0.25\text{mmol/L}$ ) υψηλότερη από την ανώτερη φυσιολογική τιμή ή  $>11\text{mg/dL}$  ( $>2,75\text{mmol/L}$ )
  - Νεφρική ανεπάρκεια: κάθαρση κρεατινίνης  $<40\text{ml/min}$  ή κρεατινίνη ορού  $>2\text{mg/dL}$  ( $>177\mu\text{mol/L}$ )
  - Αναιμία:  $\text{Hb}>2\text{g/dL}$  μικρότερη τιμή από την κατώτερη φυσιολογική ή τιμή  $\text{Hb}<10\text{g/dL}$ .
  - Οστικές αλλοιώσεις: μία ή περισσότερες οστεολύσεις στον ακτινολογικό έλεγχο, CT ή PET-CT.
  - Πλασματοκυτταρική κλωνική διήθηση μυελού  $\geq 60\%$
  - FLC λόγος  $\geq 100$  (η εμπλεκόμενη ελαφρά άλυσος  $\geq 100\text{mg/L}$ ).
  - $> 1$  εστιακή αλλοίωση στην MRI τουλάχιστον 5mm.

#### 1.4 Κλινικά γνωρίσματα.

Στους ασυμπτωματικούς ασθενείς, το πολλαπλό μύελωμα ανευρίσκεται λόγω παθολογικών ευρημάτων στον εργαστηριακό έλεγχο, όπως αναιμία, υπερασβεστιαμία ή λευκωματουρία. Οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάζονται με μη ειδικά συμπτώματα όπως ναυτία, έμετους, αδυναμία, υποτροπιάζουσες λοιμώξεις ή απώλεια βάρους. Συμπτώματα από την οστική νόσο (αυτόματα κατάγματα, συμπίεση νωτιαίου μυελού), περιφερική νευροπάθεια ή συμπτώματα υπεργλοιότητας μπορεί επίσης να παρουσιαστούν (π.χ δύσπνοια, παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, αιμορραγία αμφιβληστροειδούς). Η συχνότητα των βασικών κλινικών συμπτωμάτων και εργαστηριακών ευρημάτων απεικονίζεται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2:

Ευρήματα στη διάγνωση	
Συμπτώματα και εργαστηριακά ευρήματα	% των ασθενών
Αναιμία (Hb<12g/dL)	73
Οστικά άλγη	58
Αύξηση κρεατινίνης >1,3mg/dl	48
Γενικευμένη κόπωση και αδυναμία	32
Υπερασβεστιαμία (Ca>10,1mg/dl)	28
Απώλεια βάρους	24

#### 1.4.1 Αναιμία

Η ανεύρεση αναιμίας άλλοτε άλλου βαθμού είναι συχνή (60-70%) στους ασθενείς με ΠΜ, ενώ λευκοπενία και θρομβοπενία συναντάται σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο. Η αιτιολογία της είναι πολυπαραγοντική. Η διήθηση του μυελού από τα πλάσματοκύτταρα απωθεί τη φυσιολογική αιμοποίηση. Ταυτόχρονα, η δράση κυτταροκινών όπως IL-1β, η IL-6, η IFN-γ και παράγοντες όπως ο Tumor Necrosis Factor και η επιδίνη μέσω μηχανισμών που δεν έχουν ακόμη διερευνηθεί πλήρως, επηρεάζουν το μεταβολισμό του σιδήρου με τέτοιο τρόπο ώστε να υπάρχει μειωμένη παραγωγή και βραχύτερη επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Τέλος το ΠΜ προκαλεί νεφρική δυσλειτουργία, η οποία μέσω της μειωμένης έκκρισης ερυθροποιητίνης συμβάλει στην επιδείνωση της αναιμίας. Ο αυξημένος όγκος πλάσματος σε περιπτώσεις υπεργλοιοίτητος τέλος δύναται να επιτείνει την αναιμία<sup>6</sup>.

#### 1.4.2 Νεφρική Δυσλειτουργία

Διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας αποτελεί συχνό εύρημα (50%) στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα από διάφορες αιτίες, περιλαμβανομένων της βλάβης των νεφρικών σωληναρίων από την εναπόθεση ελαφρών αλύσεων, ή της απόφραξης των νεφρικών σωληναρίων από πρωτεϊνικούς κυλίνδρους που σχηματίζονται από τις ελαφρές αλύσους. Αίτια οξείας νεφρικής ανεπάρκειας

αποτελούν η υπερασβεστιαμία, η οποία απαντάται συχνά επιδεινώνοντας την ενδιάμεση νεφρίτιδα από την εναπόθεση του ασβεστίου στα νεφρικά σωληνάκια, η υπερουριχαιμία, οι λοιμώξεις, η αφυδάτωση και βέβαια τα νεφροτοξικά φάρμακα. Στους ασθενείς με νεφρική βλάβη και υψηλές τιμές των ελαφρών αλύσεων, χορηγείται δεξαμεθαζόνη σε συνδυασμό με την κατάλληλη θεραπεία προκειμένου να μειωθεί το φορτίο της νόσου<sup>7</sup>.

### **1.4.3 Οστική νόσος**

Οστική νόσος αναπτύσσεται στο 80-90% των ασθενών με μυέλωμα και εμφανίζεται με άλγος, παθολογικά κατάγματα (40%), συμπίεση νωτιαίου μυελού (5%) και υπερασβεστιαμία, επηρεάζοντας την κίνηση, την ανεξαρτησία τους και κατ'επέκταση την ποιότητα ζωής τους. Η οστική νόσος δεν χαρακτηρίζεται μόνον από αύξηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας (RANKL, OPG, Dkk-1 κλπ) αλλά και από καταστολή της παραγωγής οστίτη ιστού. Από το 2013 το IMWG συστήνει τη χορήγηση του ζολεδρονικού ή της παμιδρονάτης σε όλους τους ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία ανεξάρτητα της παρουσίας οστικής νόσου. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι σε μια μελέτη η χορήγηση ζολεδρονικού οξέος σε συγχορήγηση με τη θεραπεία βελτίωνε την επιβίωση<sup>8</sup>.

### **1.4.4 Υπερασβεστιαμία**

Η υπερασβεστιαμία αποτελεί την πιο συχνή μεταβολική επιπλοκή του πολλαπλού μυελώματος, αλλά η παθογένειά του παραμένει ασαφής. Το κύριο αίτιο της υπερασβεστιαμίας είναι η εκτεταμένη καταστροφή των οστών από τη νόσο που οφείλεται στην αυξημένη οστική απορρόφηση από κυττοκίνες που εκφράζονται ή εκκρίνονται τοπικά από τα μυελωματικά κύτταρα ( RANKL, MIP-1a, TNFs) ή από την υπερέκφραση άλλων κυττάρων στο μικροπεριβάλλον. Αυτή η οστική απορρόφηση οδηγεί με τη σειρά της στην έκκριση ασβεστίου στο εξωκυττάριο υγρό. Η υπερασβεστιαμία παρατηρείται συχνότερα στους ασθενείς με μεγαλύτερο φορτίο νόσου. Η διάγνωση της υπερασβεστιαμίας βασίζεται στην συγκέντρωση του ιονισμένου ασβεστίου, διότι τα επίπεδα του ασβεστίου ορού μπορεί να είναι ψευδώς χαμηλά λόγω της σύνδεσης κυκλοφορούντος ασβεστίου με τη λευκωματίνη. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίζονται χωρίς συμπτώματα ή μπορεί να εμφανίζουν ξηροστομία, ανορεξία, εμέτους, πολυουρία, πολυδιψία, κατάθλιψη ή σύγχυση ή σπανιότερα κώμα<sup>9</sup>.

#### **1.4.5 Λοιμώξεις**

Οι κλωνικές ανοσοσφαιρίνες δεν έχουν αντιμικροβιακή δράση, ενώ η παραγωγή φυσιολογικών ανοσοσφαιρινών είναι ελλιπής. Οι λοιμώξεις αποτελούν ένα σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. Μια μελέτη από τη Σουηδία 9253 ασθενών έδειξε ότι η συχνότητα ειδικών λοιμώξεων όπως η πνευμονία ή η σηψαιμία, είναι 10 φορές μεγαλύτερη από τους φυσιολογικούς μάρτυρες ίδιας ηλικίας<sup>10</sup>. Ο Augustson και συνεργάτες<sup>11</sup> σε μια μελέτη 3000 ασθενών διαπίστωσαν ότι το 45% των πρόωρων θανάτων (εντός 6 μηνών) των ασθενών οφειλόταν στις λοιμώξεις. Η ανοσοανεπάρκεια εμπλέκει τη δυσλειτουργία των Β κυττάρων, όπως η υπογαμμασφαιριναιμία, καθώς και των Τ λεμφοκυττάρων, των δενδριτικών και των NK κυττάρων. Επίσης ο αυξημένος κίνδυνος λοιμώξεων ασθενών με MGUS επισημαίνουν τη συμβολή των παθολογικών πλασματοκυττάρων στην ανοσοανεπάρκεια. Οι Palumbo et.al ανέφεραν ότι 16-22% των ασθενών που ελάμβαναν θαλιδομίδη ανέπτυξαν λοιμώξεις βαθμού 3 και 4<sup>12</sup>. Οι Chanan – Khan et.al στη μελέτη APEX περιέγραψαν την αυξημένη συχνότητα έρπητα ζωστήρα στους ασθενείς που ελάμβαναν bortezomib<sup>13</sup>.

#### **1.4.6 Λοιπές κλινικές εκδηλώσεις**

##### **Θρομβοεμβολικά συμβάματα**

Τα θρομβοεμβολικά συμβάματα είναι ιδιαίτερα συχνά κυρίως σε αυτούς τους ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοτροποποιητικούς παράγοντες. Τυχαίοποιημένες μελέτες έδειξαν ελάττωση της συχνότητας αυτών με τη συγχορήγηση χαμηλής δόσης ηπαρίνης, βαρφαρίνης ή ασπιρίνης, από 12-26% σε 5-8%. Οι ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία κυρίως αυτοί υπό ανοσορρυθμιστικούς παράγοντες θα πρέπει να λαμβάνουν προφύλαξη για 4-6 μήνες στη διάγνωση ή έως ότου η νόσος τους ελεγχθεί. Η American Society of Clinical Oncology συστήνει τη χορήγηση χαμηλής δόσης ηπαρίνης ή βαρφαρίνης (επίπεδα INR: 2-3). Το IMWG συστήνει την στρωματοποίηση των ασθενών ανάλογα των παραγόντων κινδύνου με την ασπιρίνη να δίνεται μόνο στους χαμηλού κινδύνου ασθενείς.



Εκτός των προαναφερθέντων, οι ασθενείς με ΠΜ μπορούν να παρουσιάσουν μια πληθώρα κλινικών εκδηλώσεων, όπως σύνδρομο **υπεργλοιότητας** ή **αμυλοείδωση**.

Κατά τη διάγνωση ή και σε περιπτώσεις υποτροπής του ΠΜ παρατηρούνται και εξωμυελικές εντοπίσεις της νόσου που μπορούν να αφορούν διάφορα όργανα. **Πλασματοκύττωμα** ονομάζεται η ιστολογικά επιβεβαιωμένη αλλοίωση οστού ή μαλακών μορίων με κλωνικά πλασματοκύτταρα χωρίς την παρουσία κλωνικών πλασματοκυττάρων στον μυελό (μεμονωμένο) ή παρουσία <10%, χωρίς βλάβη των οργάνων ή άλλων οστικών αλλοιώσεων πλην αυτού. Τα πλασματοκυττώματα μπορούν να προκαλέσουν πιεστικά συμπτώματα σε ιστούς και νεύρα και να χρήζουν άμεσης αντιμετώπισης. Αυτή η επιθετική και συνήθως ανθεκτική στη θεραπεία υποκατηγορία του Πολ. Μυελώματος, αποτελεί πρωτοδιάγνωση στο 7-18% και κατά την υποτροπή ήδη γνωστού μυελώματος σε ποσοστό 6-20%<sup>14</sup>. Υψηλού κινδύνου γενετικές ανωμαλίες όπως η 1q21 gain και η del(1p32) απαντώνται >55% των ασθενών, η t(4;14) 52%, myc 38%, 17p del 35%, del13q14 31%. Φαίνεται ότι ανωμαλίες του χρωμοσώματος 1 στα μυελωματικά κύτταρα σχετίζονται με την εμφάνιση εξωμυελικών πλασματοκυττωμάτων. Η **πλασματοκυτταρική λευχαιμία** ορίζεται ως η παρουσία >20% (απόλυτος αριθμός >2x10<sup>9</sup>/L) παθολογικών πλασματοκυττάρων στο αίμα<sup>15</sup>. Αποτελεί μια ιδιαίτερα επιθετική πλασματοκυτταρική δυσκρασία με δυσμενή πρόγνωση. Αποτελεί 1-2% των ασθενών με Πολ. Μυέλωμα. Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα γενετικές ανωμαλίες όπως οι ελλείψεις των 13q και 17p, amplification 1q και την αντιμετάθεση t(14;16) σε σχέση με τους ασθενείς με Πολ. Μυέλωμα, παρατήρηση που ερμηνεύει το γεγονός ότι η PCL ομοιάζει με το υψηλού κινδύνου ΠΜ. Επιπρόσθετα, μερικοί ασθενείς που φέρουν τις παραδοσιακά χαμηλού κινδύνου ανωμαλίες όπως την αντιμετάθεση t(11;14) ή την υπερδιπλοειδία, εξακολουθούν να χαρακτηρίζονται από ανθεκτικότητα στη θεραπεία και δυσμενή πρόγνωση.

### 1.5 Διαγνωστική Προσέγγιση

Η τυπική διαγνωστική προσέγγιση του ΠΜ περιέχει τα κάτωθι:

Πίνακας 3:

<b>Έλεγχος</b>	
<b>Αίμα</b>	Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών και ανοσοκαθήλωση  Ποσοτικός προσδιορισμός ανοσοσφαιρινών Ελεύθερες αλυσίδες ορού Ολικές πρωτεΐνες ορού, λευκωματίνη ορού, κρεατινίνη, ηλεκτρολύτες, LDH, β2 μικροσφαιρίνη Γενική αίματος
<b>Ούρα</b>	Ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων ούρων και ανοσοκαθήλωση Ολικές πρωτεΐνες και ελεύθερες αλυσίδες 24ωρου
<b>Μυελόσποστών</b>	Μυελόγραμμα και βιοψία για ποσοστό διήθησης και ανίχνευση αμυλοειδούς Καρυότυπος και FISH για ανίχνευση del13, del17p13, t(4;14), t(11;14), t(14;16), 1q+
<b>Οστά</b>	Ακτινολογικός έλεγχος ή χαμηλής έντασης CT
<b>Ολόσωμες απεικονίσεις</b>	MRI, PET-CT  Βιοψία πλασματοκυττώματος

Ασθενείς με διάγνωση έρποντος πολλαπλού μυελώματος δεν έχουν ένδειξη θεραπείας, αλλά μόνο παρακολούθησης μιας που δεν έχει αποδειχθεί κλινικό όφελος πρώιμης έναρξης. Ασθενείς με βλάβη οργάνου, που ορίζεται κυρίως από το γνωστό ακρωνύμιο «CRAB» που κάθε γράμμα αντιστοιχεί και σε ένα σύμπτωμα, χρήζει θεραπείας [C(Calcium), R(renal), A(anemia), B(Bone lesions/pain)].

### 1.6 Προγνωστικοί Παράγοντες

Παρόλο που έχει επιτευχθεί πρόοδος στη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος όσον αφορά στην επιβίωση, κυρίως για τους νέους ηλικιακά ασθενείς, το πολλαπλό μυέλωμα παραμένει ανίατο νόσημα. Η μέση επιβίωση μετά από τη θεραπεία είναι 3-4 χρόνια, ενώ με τη megaθεραπεία και την αυτόλογη μεταμόσχευση μπορεί να διευρυνθεί σε 5-7 χρόνια. Η πορεία της νόσου διαφέρει από ασθενή σε ασθενή με κάποιους ασθενείς να καταλήγουν από ανθεκτικό μύελωμα μέσα σε λίγες εβδομάδες, ενώ άλλοι να επιβιώνουν πάνω από τη δεκαετία. Γι αυτόν τον λόγο αρκετοί

προγνωστικοί δείκτες και συστήματα σταδιοποίησης έχουν αναπτυχθεί προκειμένου να καθορίσουν την συμπεριφορά του νοσήματος, να καθορίσουν τις θεραπευτικές επιλογές και να προβλέψουν την εξέλιξη. Ο συνδυασμός της β2 μικροσφαιρίνης ορού με την λευκωματίνη ορού έχουν προταθεί ως δείκτης πρόγνωσης στο International Staging System (ISS). Δεν περιλαμβάνει όμως παράγοντες που σχετίζονται με την βιολογία, όπως κυτταρογενετικές ή μοριακές ανωμαλίες και περιορίζει την κλινική του χρήση. Ο φθορίζων insitu υβριδισμός μπορεί να ανιχνεύσει ειδικές αλλαγές στα μεσοφασικά κύτταρα, κάτι που υπερνικά το πρόβλημα της έλλειψης διαιρούμενων κυττάρων που χρειάζεται ο συμβατικός κυτταρογενετικός έλεγχος.

### **1.7 Καθορισμός σταδίου νόσου (Σταδιοποίηση)**

Η σταδιοποίηση του ασθενούς αποσκοπεί στον καθορισμό της πρόγνωσης της νόσου και της επιβίωσης των ασθενών. Το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο σύστημα σταδιοποίησης είναι αυτό των Durie-Salmon, το οποίο παρατίθεται παρακάτω<sup>16</sup>. Ο ίδιος ο Durie αναθεώρησε την σταδιοποίηση του ΠΜ το 2006, εισάγοντας την χρήση αξονικής ή μαγνητικής τομογραφίας και του PETscan για τη λεπτομερέστερη εκτίμηση της οστικής νόσου.

Προσφάτως προτάθηκε το Διεθνές Σύστημα Βαθμολόγησης ISS (International Scoring System) για το ΠΜ<sup>17</sup>, που βασίζεται στις τιμές β2-μικροσφαιρίνης και λευκωματίνης ορού.

#### ***Durie-Salmon Staging System***

Αποτελεί το παλαιότερο σύστημα ευρέως χρησιμοποιούμενο για δεκαετίες. Ταξινομεί τους ασθενείς σε 3 ομάδες κινδύνου (χαμηλού, μέσου και υψηλού κινδύνου) σύμφωνα με το φορτίο νόσου και τη βλάβη που έχει προκαλέσει, όπως οστική νόσο, υπερασβεστιαμία και αναιμία και υποκατηγοριοποιούνται σε 2 υποομάδες ανάλογα με τη νεφρική τους λειτουργία. Στις μέρες μας το σύστημα αυτό έχει περιορισμένη χρήση.

Στάδιο I: Απαιτείται η παρουσία όλων των παρακάτω:

- Χαμηλά επίπεδα παραπρωτεΐνης (IgG < 5g/dL, IgA < 3g/dL, <4 g/24h για το ΠΜ ελαφρών αλύσεων)
- Αιμοσφαιρίνη  $\geq$  10 g/dL
- Ασβέστιο  $\leq$  10,5 mg/dL
- Φυσιολογικός οστικός έλεγχος ή παρουσία μονήρους πλασματοκυττώματος.

Στάδιο II: Στοιχειοθετείται όταν δεν πληρούνται ούτε τα κριτήρια του σταδίου I ούτε και αυτά του σταδίου III

Στάδιο III: Απαιτείται η παρουσία μόνο ενός από τα παρακάτω:

- Υψηλά επίπεδα παραπρωτεΐνης (IgG > 7g/dL, IgA > 5g/dL, >12g/24h για το ΠΜ ελαφρών αλύσεων)
- Αιμοσφαιρίνη < 8,5 g/dL
- Ασβέστιο > 12 mg/dL
- Εκτεταμένες οστικές βλάβες (>3) ή παθολογικό κάταγμα

Επιπλέον γίνεται διάκριση των ασθενών ανάλογα με τη νεφρική λειτουργία

A: φυσιολογική νεφρική λειτουργία (κρεατινίνη ορού: <2mg/dl) και

B: παθολογική νεφρική λειτουργία (κρεατινίνη ορού: >2 mg/dL).

### ***International Staging System (ISS)***

Το σύστημα αυτό επικράτησε το 2008 μετά από μια πολυκεντρική μελέτη 10750 ασθενών, χρησιμοποιώντας μόνο 2 παραμέτρους: την  $\beta_2$  μικροσφαιρίνη και τα επίπεδα της αλβουμίνης ορού ως προγνωστικούς παράγοντες για τους ασθενείς με νέα διάγνωση.

- Στάδιο 1: αλβουμίνη ορού > 3,5 g/dL και  $\beta_2$  μικροσφαιρίνη ορού < 3,5 mg/L
- Στάδιο 2: αλβουμίνη < 3,5 g/dL και  $\beta_2$  μικροσφαιρίνη: 3,5 έως 5,5 mg/L

- Στάδιο 3: β2 μικροσφαιρίνη > 5,5 mg/L

Ενώ η αύξηση της LDH σχετίζεται με την παρουσία εξωμυελικής νόσου και με βραχύτερη επιβίωση, εντούτοις δεν περιλαμβάνονταν στο προγνωστικό σύστημα. Αυτό έγινε αργότερα, στο αναθεωρημένο προγνωστικό σύστημα, μετά την εισαγωγή των αναστολέων πρωτεασώματος και των ανοσορρυθμιστικών παραγόντων στη θεραπεία των ασθενών με μυέλωμα.

### ***The Revised International Staging System (R-ISS)***

Προκειμένου να συμπεριληφθεί το ετερογενές γενετικό υπόστρωμα του πολλαπλού μυελώματος σε ένα πιο απλοποιημένο προγνωστικό σύστημα, αναπτύχθηκε το αναθεωρημένο ISS (R-ISS)<sup>18</sup>. Το σύστημα R-ISS προσθέτει στην σταδιοποίηση του τις κυτταρογενετικές ανωμαλίες και τα επίπεδα της LDH στις ήδη γνωστές τιμές της λευκωματίνης και της β2 μικροσφαιρίνης. Πάνω από 4000 ασθενείς με νέα διάγνωση μυελώματος μελετήθηκαν από 11 διεθνείς μελέτες. Βάση αυτών, 3 ομάδες αναγνωρίστηκαν. Το Πολλαπλό Μυέλωμα σταδιοποιείται σύμφωνα με το Revised International Staging System (R-ISS) βασιζόμενο σε τέσσερις παράγοντες:

- Τα επίπεδα λευκωματίνης ορού
- Τα επίπεδα της β2 μικροσφαιρίνης ορού
- Τα επίπεδα της γαλακτικής αφυδρογονάσης ορού
- Τις ειδικές γονιδιακές ανωμαλίες

## **Αναθεωρημένο ISS (R-ISS)**

### **Στάδιο I**

Όλα τα παρακάτω

- Λευκωματίνη ορού  $\geq 3.5\text{g/dL}$  και
- $\beta 2$  μικροσφαιρίνη ορού  $< 3,5\text{mg/L}$
- Χωρίς κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου  
t(4;14), t(14;16), del(17p)
- Φυσιολογική LDH

### **Στάδιο II**

Κανένα από τα κριτήρια των σταδίων I,II

### **Στάδιο III**

Και τα δύο κριτήρια

- $\beta 2$  μικροσφαιρίνη  $> 5,5\text{mg/L}$  και
- Αυξημένη LDH, ή
- Υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες t(4;14), t(14;16) ή έλλειψη 17p

## **1.8 Κυτταρογενετικές ανωμαλίες**

Η ανίχνευση κυτταρογενετικών ανωμαλιών<sup>19,20</sup> με Φθορίζοντα in situ υβριδισμό (FISH) στη διάγνωση παραμένει μία από τις πιο σημαντικές προγνωστικές παραμέτρους στους ασθενείς με πολλαπλό μύελωμα. Εκτελείται σε μεσοφασικούς πυρήνες και γι αυτό υπερισχύει του καρυοτύπου.

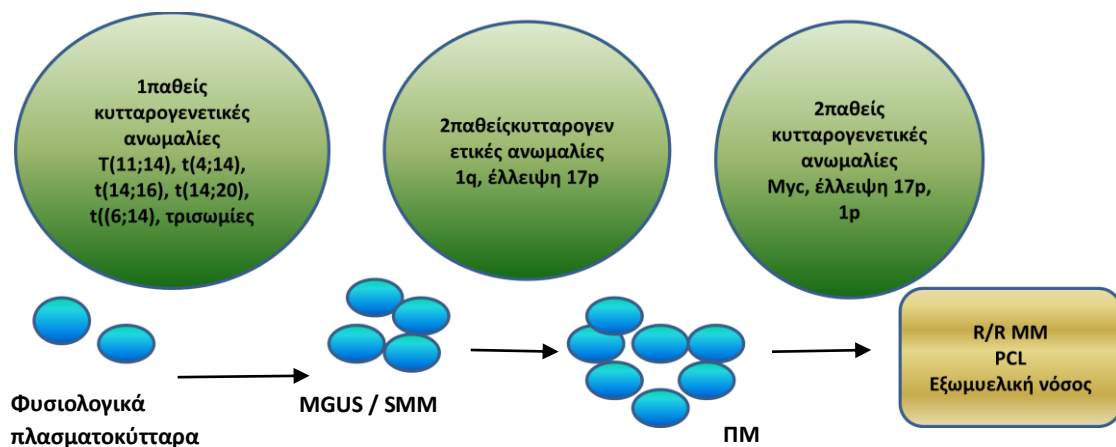
Η FISH ανιχνεύει

α. αντιμεταθέσεις που εμπλέκουν τη βαριά αλυσίδα των ανοσοσφαιρινών στο χρωμόσωμα 14:  $t(4;14)(p16;q32)$ ,  $t(11;14)(q13;q32)$ ,  $t(14;16)(q32;q23)$ ,  $t(14;20)(q32;q11)$

β. την έλλειψη του χρωμοσώματος 17p13

γ. την υπερδιπλοειδία με τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 3,5,7,9,11,15,19, 21,

δ. την εστιακή προσθήκη ή έλλειψη τμήματος χρωμοσωμάτων:  $gain(1q21)$ ,  $del(1p)$ ,  $del(13q14)$ ,  $14q32$ .



Εικόνα 1: Οι τρισωμίες ή οποιαδήποτε αντιμετάθεση που εμπλέκει την IgH σχετίζονται με την καθιέρωση του κλώνου. Οι 2παθείς κυτταρογενετικές ανωμαλίες κατά την πρόοδο της νόσου. Η έλλειψη 17p, η 1q ampI και η  $t(4;14)$  σχετίζονται με υψηλού κινδύνου ΠΜ. Επιπλέον, η έλλειψη 17p, η  $t(14;16)$  και η  $t(14;20)$  σχετίζονται με κακής πρόγνωσης ΠΜ.

Υψηλού κινδύνου πολ. Μυέλωμα ορίζεται κυρίως από την παρουσία τουλάχιστον ενός από τα παρακάτω:  $del17p$ ,  $t(4;14)$ ,  $t(14;16)$ ,  $t(14;20)$  που έχουν ανιχνευθεί με FISH, ενώ η έλλειψη του 1p, όπως και η υποδιπλοειδία επίσης θεωρούνται υψηλού κινδύνου δείκτες.

4.2.1 Στο πολλαπλό μυέλωμα τα πρωτογενή συμβάματα αφορούν στις χρωμοσωμικές αντιμεταθέσεις που εμπλέκουν τη βαριά αλυσίδα των ανοσοσφαιρινών (IgH) και παρατηρούνται στο 40% των περιπτώσεων. Τα πιο συχνά χρωμοσώματα που συμμετέχουν είναι τα 4p16 (FGFR3/MMSET) (12-15%), 11q13 (CCND1) (15-20%), 16p23 (MAF) (3%), 6p21 (CCND3) (<5%) και 20q11 (MAFB) (1%).

Οι αντιμεταθέσεις t(4;14), t(6;14), t(11;14), t(14;16) και t(14;20) οδηγούν στην υπερέκφραση των ογκογονιδίων FGFR3/MMSET, cyclinD3 (CCND3), CyclinD1 (CCND1), MAF και MAFB.

Συγκεκριμένα:

Η **αντιμετάθεση t(4;14)(p16.3;q32.3)**<sup>21,22,23</sup> οδηγεί σε απορρύθμιση του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών 3 (FGFR3) και του γονιδίου Multiple Myeloma SET domain (MMSET). Επειδή το FGFR3 δεν εκφράζεται στο 1/3 των ασθενών με t(4;14), το γονίδιο στόχος είναι περισσότερο το MMSET. Η αντιμετάθεση t(4;14) σχετίζεται με ελάττωση της επιβίωσης ελεύθερης νόσου, αλλά και της ολικής επιβίωσης. Μελέτες έδειξαν ότι η μπορτεζομίμη βελτιώνει την επιβίωση των ασθενών με την συγκεκριμένη αντιμετάθεση. Αυτοί οι ασθενείς ωφελούνται επίσης από τη μεθεταχείριση και τη διπλή αυτόλογη μεταμόσχευση.

Η **t(14;16)(q32;q23)**<sup>19,23</sup> έχει ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση του πρωτοογκογονιδίου-MAF, επίσης κακής πρόγνωσης. Μία ανάλυση από την Intergroupe Francophone de Myelome (IFM) δεν αναγνώρισε την αντιμετάθεση ως κακής πρόγνωσης, ίσως γιατί οι ασθενείς που την έφεραν είχαν υποβληθεί σε διπλή αυτόλογη μεταμόσχευση.

Η **αντιμετάθεση t(14;20)(q32;q12)** οδηγεί σε απορρύθμιση του ογκογονιδίου MAFB, κακής πρόγνωσης.

Η **αντιμετάθεση t(11;14)(q13;q32)** έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης της D1 κυκλίνης και χαρακτηρίστηκε ως καλής πρόγνωσης από ορισμένες μελέτες, ενώ κάποιες άλλες δεν κατάφεραν να δείξουν κάποια επιδραση θετική ή αρνητική. Η αντιμετάθεση αυτή σχετίζεται με την έκφραση CD20 και λεμφοπλασματοκυτταρική μορφολογία. Γενικά, οι αντιμεταθέσεις t(6;14), t(11;14), gain(5q), καθώς και η υπερδιπλοειδία δεν προσδίδουν κακή πρόγνωση σε ασθενείς που τις φέρουν.

Η **αντιμετάθεση t(6;14)(p21;q32)** παρατηρείται περίπου στο 4% των ασθενών με ΠΜ. Αυτή η αντιμετάθεση δεν είναι χαρακτηριστική του μυελώματος, αλλά παρατηρείται και σε μη-Hodgkin λεμφώματα. Δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα για την προγνωστική της αξία λόγω της χαμηλής συχνότητάς της, αλλά είναι γνωστό ότι προκαλεί δυσλειτουργία της κυκλίνης D3.

Η **αντιμετάθεση t(8;14)(q24;q32)**, γνωστή και από το λέμφωμα Burkitt και τα μη-Hodgkin λεμφώματα, παρατηρείται και στο ΠΜ. Η ίδια περιοχή μπορεί να εμπλέξει αντιμεταθέσεις και με άλλα χρωμοσώματα. Αναδιατάξεις του c-myc συναντώνται σε συχνότητα 15% χωρίς σαφή κλινική σημασία.



### 1.8.1 Αριθμητικές ανωμαλίες

Μεμονωμένη **υπερδιπλοειδία**<sup>24,25,26</sup> παρατηρείται στο 50%-60% των ασθενών και έχει σχετιστεί με καλύτερη πρόγνωση και μακρύτερη επιβίωση, παρόλο που το όφελος επιβίωσης χάνεται όταν συνδυάζεται με πτωχής πρόγνωσης ανωμαλίες όπως με την έλλειψη του 17p13, δήλωση που επιβεβαιώνεται και από την MRCIX μελέτη. Συνήθως εμπλέκει τα χρωμοσώματα 3,5,7,9,11,15 και 19. Οι ασθενείς που φέρουν την προσθήκη του 5q31, έχει αναφερθεί ότι έχουν καλύτερη έκβαση από τις περιπτώσεις υπερδιπλοειδίας χωρίς 5q31, ενώ δεν υπήρχε διαφορά στην επιβίωση μη υπερδιπλοειδίας και υπερδιπλοειδίας χωρίς την 5q31.

Η συχνότητα της **υποδιπλοειδίας** υπολογίζεται περίπου στο 10%. Η πτωχή πρόγνωση που της καταλογίζεται πιθανώς να οφείλεται στην μονοσωμία συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων, αν και η συσχέτισή της με δυσμενή έκβαση έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες ανεξάρτητα άλλων κυτταρογενετικών ανωμαλιών.

Η **έλλειψη του 17** επηρεάζει όλο το βραχύ σκέλος και παρατηρείται στο 10% περίπου των ασθενών στη διάγνωση, ποσοστό που αυξάνεται σημαντικά –έως και 80%- σε προχωρημένο στάδιο της νόσου. Αυτή η περιοχή περιέχει το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53, μεταλλάξεις του οποίου συνυπάρχουν στο 25-40% των ασθενών με 17p έλλειψη. Το γονίδιο TP53 λειτουργεί ως μεταγραφικός ρυθμιστής ο οποίος επηρεάζει τη διακοπή “arrest” του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και την απόπτωση ως απάντηση στη βλάβη του DNA. Σε ασθενείς με πολ. Μυέλωμα η απώλεια του 17p σχετίζεται με πτωχή ολική επιβίωση, χειρότερη έκβαση και ανάπτυξη εξωμυελικής νόσου και πλασματοκυττώματος. Σύμφωνα με την ομάδα IFM ασθενείς με έλλειψη του 17p >60% των CD138 πλασματοκυττάρων έχουν μέση επιβίωση ελεύθερη συμβαμάτων 14,6 μήνες σε σύγκριση με 34,7 μήνες που έχουν οι ασθενείς με 17p del <60%. Ο Mertz και συνεργάτες<sup>27</sup> έδειξαν βραχύτερη επιβίωση ελεύθερης προόδου νόσου (PFS) στους ασθενείς με >60% 17pdel (19 ως 26 μήνες). Χρησιμοποιώντας ένα cut-off 50% ο An et al<sup>28</sup> έδειξε ότι μεγαλύτερο ποσοστό 17p del στη FISH σχετιζόταν με βραχύτερη ολική επιβίωση και PFS (μέση επιβίωση 24 vs 40 μήνες και μέση PFS 4 vs 24 μήνες).

Επίκτητη έλλειψη 17p κατά την παρακολούθηση των ασθενών είναι σπανιότερο με ποσοστό ανίχνευσης ~3,8%. Ο Lakshman<sup>29</sup> και συνεργάτες σε μία σειρά 80 ασθενών με έλλειψη 17p που εμφανίστηκε κατά την πορεία, έδειξαν ότι η επιβίωση είναι μικρότερη, με PFS 5,4 μήνες και OS (συνολική επιβίωση) περίπου 18 μήνες. Σε προηγούμενες μελέτες σε ασθενείς με ανθεκτικό μυέλωμα ή σε υποτροπή φέροντες την έλλειψη 17p που έχουν λάβει θεραπεία με μπορτεζομίμη ή λεναλιδομίδη, το

μέσο PFS ήταν 3,4-5 μήνες. Σε μία φάσης III μελέτη καρφιλοζομίμπης ή μπορτεζομίμπης με δεξαμεθαζόνη, το PFS στις δύο ομάδες ήταν 7,6 και 4,9 μήνες αντίστοιχα. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι σε μια πρόσφατη μελέτη με ιξαζομίμπη, λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη έναντι λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη (iRd vs Rd)<sup>30</sup>, έδειξε ότι το PFS ήταν 21,4 έναντι 9,7 μήνες αντίστοιχα, δίνοντας αποτελέσματα παρόμοια με ασθενείς standard κινδύνου. Αυτά τα αποτελέσματα δίνονταν σε FISH με cutoff >5%. Σε cutoff 20-60%, το PFS κυμαινόταν από 5,3 έναντι 3,5 μήνες, δηλώνοντας ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των πλασματοκυττάρων με έλλειψη του 17p, τόσο μικρότερο είναι το PFS. Υψηλή τιμή LDH στη διάγνωση και η παρουσία δυσμενών κυτταρογενετικών ανωμαλιών προσδίδει μεγαλύτερη πιθανότητα επίκτητης έλλειψης 17p κατά την πορεία της νόσου. Παραμένει ασαφές ποιο είναι το ελάχιστο ποσοστό των κυττάρων που φέρουν την έλλειψη 17p που χρειάζεται για τη δυσμενή πρόγνωση ή τότε αυτό επηρεάζει την επιλογή της θεραπείας και το στάδιο της νόσου. Το cutoff των 20% και των 60% έχουν προταθεί για την έλλειψη 17p. Ίσως μια διεθνής μετανάλυση θα μπορούσε να αντιμετωπίσει το ζήτημα αυτό.

Η **έλλειψη του 13q**<sup>19</sup> προδικάζει χειρότερη PFS/OS όταν ανιχνεύεται στον καρυότυπο. Η μονοσωμία του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 13 παρουσιάζεται στο 45-50% των ασθενών με ΠΜ και γενικά σχετίζεται με μη υψηλού κινδύνου. Την έλλειψη την συναντάμε και στις περιπτώσεις MGUS, δείχνοντας ότι η συγκεκριμένη ανωμαλία παίζει ρόλο ως πρωταρχικό συμβάν στην ογκογένεση της νόσου. Σε περίπου 85% των ασθενών επιδρά σε ολόκληρο το βραχύ σκέλος. Η περιοχή σε έλλειψη 13q14.11-13q14.3 περιέχει 68 γονίδια όπως το RB1, EBPL, RNASEH2B, RCBTB2 και τα mir-16-1 και mir-15a. Η αρνητική επίδραση της έλλειψης 13q με την FISH σχετίζεται με έλλειψη 17p και την αντιμετάθεση t(4;14), ενώ σαν μοναδική ανωμαλία δεν προσφέρει κακή πρόγνωση.

Η **έλλειψη του 8p21** αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα πτωχής πρόγνωσης που επιδρά δυσμενώς τόσο στο PFS, όσο και στην ολική επιβίωση. Η ανάλυση των γονιδίων που εδρεύουν στην περιοχή μπορεί να οδηγήσουν σε νέους θεραπευτικούς στόχους, όπως τον υποδοχέα TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) που σχετίζεται με την απόπτωση, τις πρωτείνες BMP1, BMP2, BMP4 (Bone morphogenetic protein), την προαποπτωτική μιτοχονδριακή πρωτεΐνη Nix (BNIP3L) και το ογκοκατασταλτικό γονίδιο SCAR3. Περαιτέρω μελέτες σε μοριακό επίπεδο χρειάζονται για να αναγνωρίσουν τους μηχανισμούς πίσω από την επίδραση της έλλειψης του 8p21 στο πολλαπλό μύελωμα.

Περίπου 30% των ασθενών εμφανίζουν **ελλείψεις του 1p**<sup>31</sup>, που σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Η έλλειψη των δύο περιοχών του 1p, 1p12 και 1p32.3 παίζουν ρόλο στην

παθογένεια της νόσου. Το 1p12 περιέχει το ογκοκατασταλτικό γονίδιο FAM46C, η έκφραση του οποίου σχετίζεται με ριβοσωμικές πρωτεΐνες και ευκαρυωτικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην μετάφραση των πρωτεϊνών. Απαντάται στο 10% περίπου των ασθενών με ΠΜ και αποτελεί παράγοντα πτωχής πρόγνωσης. Η περιοχή 1p32.3 περιέχει τα γονίδια CDKN2C και FAF1. Το CDKN2A απαντάται στο 1,5% των ασθενών και αποτελεί έναν cyclin-dependent kinase 6 αναστολέα της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, ενώ το FAF1 κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη έναρξη της απόπτωσης μέσω του FAS μονοπατιού.

Ασθενείς με  $\geq 3$  αντίγραφα του 1q έχουν χειρότερη ανταπόκριση στη θεραπεία αντανακλώντας σε μία δοσολογική επίδραση γονιδίων όπως το CKS1B. Η προσθήκη (gain) 1q συνήθως συνυπάρχει με την έλλειψη 1p32 και δίνουν πτωχή πρόγνωση.

### **1.8.2 Αναδιατάξεις του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών**

Μεταξύ των ασθενών με αναδιατάξεις του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών, στο 62% συνυπάρχει gain(1q), συγκρινόμενοι με το 32,4% των μαρτύρων. Η συχνότητα της έλλειψης του 17p είναι παρόμοια σε σχέση με αυτούς που δεν φέρουν IgVH αντιμεταθέσεις. Μεταξύ των ασθενών με IgVH αντιμεταθέσεις και/ή gain(1q) ή del(17p), 20% έχουν >2 κυτταρογενετικές ανωμαλίες. Η επιβίωση σε ασθενείς με IgVH αντιμετάθεση, gain1q και del(17p) υπολογίζεται στους 9,1 μήνες. Σε ασθενείς με t(4;14), το PFS είναι χειρότερο όταν συνυπάρχουν οι ελλείψεις (1q32) ή (22q), ενώ όταν συνυπάρχουν οι ελλείψεις (13q14) ή (1p32) η ολική επιβίωση βραχύνεται. Οι del(17p), del(6q) μειώνουν το PFS των ασθενών, ενώ οι gain15 και del14 έχουν προστατευτικό ρόλο. Η del(1p32) μειώνει την ολική επιβίωση, ενώ όταν παρατηρούνται >8 αριθμητικές ανωμαλίες βελτιώνουν την επιβίωση.

Στη μελέτη MyelomaIX<sup>32</sup>, 58% των ασθενών παρουσίαζαν υπερδιπλοειδία. Από αυτούς 61% εμφάνιζαν  $\geq 1$  δυσμενή ανωμαλία [t(4q14), t(14;16), t(14;20), gain1q ή del17p]. Η OS όπως και η PFS ήταν βραχύτερες σε ασθενείς με υπερδιπλοειδία και μια δυσμενή ανωμαλία, σε σύγκριση με αυτούς που εμφάνιζαν υπερδιπλοειδία μόνο (μέση PFS 23 vs 15,4 μήνες, μέση επιβίωση 60,9 vs 35,7 μήνες).

Η MayoClinic πρόσθεσε στην ταξινόμηση της IMWG στο R-ISS<sup>18</sup> την υποδιπλοειδία και την αντιμετάθεση t(14;20). Η παρουσία της έλλειψης του 13q, t(11;14) και η υπερδιπλοειδία θεωρούνται σταθερού κινδύνου, αλλά ο ρόλος του gain(1q) δεν έχει αποσαφηνιστεί.

Ο Boyd et al<sup>32</sup> ερεύνησε την επιβίωση σε σχέση με τις δυσμενείς κυτταρογενετικές ανωμαλίες σε 1069 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία στη μελέτη

MRC Myeloma IX. Όρισε ως double hit την παρουσία δύο από τις παρακάτω ανωμαλίες

1. t(4;14), t(14;16), t(14;20)
2. Gain(1q),
3. Del(17p).

Ακολουθώντας λοιπόν αυτήν την προσέγγιση αναγνωρίστηκαν 3 ομάδες: μία ομάδα χαμηλού κινδύνου με απουσία δυσμενών κυτταρογενετικών ανωμαλιών (μέση επιβίωση 60,6 μήνες, μέση PFS 23,5 μήνες), μία ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου με 1 δυσμενή κυτταρογενετική ανωμαλία (μέση ολική επιβίωση 41,9 μήνες, μέση PFS 17,8 μήνες) και μία υψηλού κινδύνου ομάδα με >1 δυσμενείς κυτταρογενετικές ανωμαλίες (μέση ολική επιβίωση 21,7 μήνες, μέση PFS 11,7 μήνες). Παρόμοια στην ομάδα Myeloma IX, οι ασθενείς με triplehit ( μία δυσμενή ανωμαλία, gain(1q) και del(17p) σχετιζόταν με πολύ μικρή μέση επιβίωση των 19 μηνών.

Συνοψίζοντας, οι αντιμεταθέσεις t(4;14), t(14;16), t(14;20) και η del(17/17p) και κάθε μη υπερδιπλοειδής καρυότυπος θεωρούνται υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες στα πολλαπλά μυελώματα νέας διάγνωσης ανεξαρτήτου θεραπείας. Η Gain(1q) που σχετίζεται με del(1p) προσφέρει κακή πρόγνωση. Οι ασθενείς με .3 κυτταρογενετικές ανωμαλίες έχουν πολύ πτωχή πρόγνωση με <2 έτη επιβίωση. Οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες μπορεί να διαφέρουν στην πρώτη υποτροπή ή μετέπειτα στην πορεία του νοσήματος λόγω της κλωνικής εξέλιξης, η οποία μπορεί να επηρεάσει το αποτέλεσμα της θεραπείας διάσωσης.

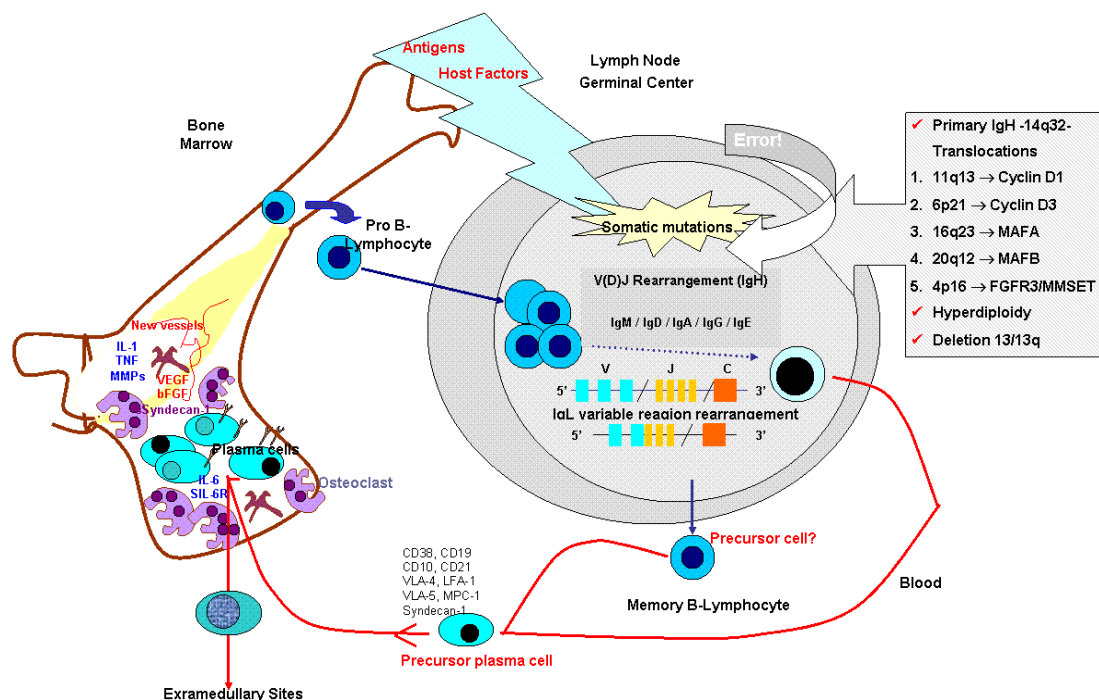
Παρόλο λοιπόν τη βαθύτερη και την καλύτερη κατανόηση της βιολογίας του μυελώματος και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων που παρατείνουν την επιβίωση των ασθενών, το πολλαπλό μύελωμα παραμένει ένα νόσημα πτωχής πρόγνωσης στους ασθενείς με αυτά τα ειδικά χαρακτηριστικά.

Το International Myeloma Working Group (IMWG) έχει ορίσει υψηλού κινδύνου ασθενείς με μέση επιβίωση λιγότερο από 3 έτη σε ασθενείς που δύνανται να οδηγηθούν σε αυτόλογη μεταμόσχευση και λιγότερο από 2 έτη σε ασθενείς που δεν δύνανται να υποβληθούν σε αυτήν.

Οι πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς κυτταρογενετικές ανωμαλίες με τα εμπλεκόμενα γονίδια και την προγνωστική τους αξία φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 4).

Πίνακας 4:

Κυτταρογενετικές ανωμαλίες	Εμπλεκόμενα γονίδια	Συχνότητα ασθενών (%)	Προγνωστική αξία
<b>1παθή συμβάματα</b>			
Αντιμεταθέσεις	t(11;14): CCND1	15	Ουδέτερη ή
	t(4;14): FGFR3/MMSET	15	Δυσσιώνη
	t(6;14): CCND3		Δυσσιώνη
	t(14;16): MAF	2	
	t(14;20): MAFB	5	Ουδέτερη ή
		1	Ουδέτερη ή Δυσσιώνη Δυσσιώνη
Αριθμητικές ανωμαλίες	Υπερδιπλοειδία: tris3,5,7,9,11,15,19,21	50	Ευνοϊκή
	Del13: RB1, DIS3, mir15a, mir16.1	40	Ουδέτερη
<b>2παθή συμβάματα</b>			
Προσθέσεις χρωμοσωμάτων	1q: MCL1, CKS1B, ANP32E, BCL9	40	Δυσσιώνη
	8q:MYC		
	11q: CCND1	15	Ουδέτερη
		15	Ουδέτερη
Ελλείψεις χρωμοσωμάτων	1p: CDKN2C, FAM46C	30	Δυσσιώνη
	12p: CD27		
	14q: TRAF3	15	Δυσσιώνη
	16q: CYLD, WWOX	10	Αδιευκρίνιστη
	17p: TP53	30	Ουδέτερη
		10	Δυσσιώνη
Αντιμεταθέσεις	MYC	15	Δυσσιώνη
Σωματικές μεταλλάξεις	<i>MAPK pathway</i> : KRAS, NRAS, BRAF	45	Ουδέτερη
	<i>NF-Kb pathway</i> : CYLD, TRAF3, LBT, NIK	15	Ουδέτερη
	<i>RNA metabolism</i> : DIS3, FAM46C	15	Ουδέτερη
	<i>DNA-repair pathway</i> : TP53, ATM, ATR	10	Δυσσιώνη



Εικόνα 2: Η σημασία τόσο των γενετικών αλλαγών, όσο και του μικροπεριβάλλοντος του μυελού  
Kyrtonis et al, The Application of Clinical Genetics, 2010.

## 1.9 Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση

### 1.9.1 Συνοσηρότητες και κλινική κατάσταση

Ο IMWG πρότεινε ένα καινούριο σύστημα χρησιμοποιώντας τα Katz Activity of Daily Living, Lawton Instrumental Activity of Daily Living και το Charlson Comorbidity Scale<sup>33</sup> προκειμένου να συνδέσει τις συνοσηρότητες και τις ευπαθείς ομάδες των ασθενών. 869 ασθενείς ηλικίας >65 ετών που ελάμβαναν νέους θεραπευτικούς παράγοντες κατηγοριοποιήθηκαν σε 3 ομάδες: στην ομάδα ασθενών καλής κατάστασης, στην ενδιάμεση και στην ευπαθή ομάδα. Η ευπαθής ομάδα ασθενών είχαν 3ετή επιβίωση 57%, σε αντίθεση με τους ασθενείς της ομάδας καλής κατάστασης που αντίστοιχο ποσοστό ανερχόταν στο 84%.

Παρόμοια ο Chretienetal<sup>34</sup> παρουσίασε τα δεδομένα από την Intergroupe Francophone Du Myelome (IFM) όπου η μέση επιβίωση άγγιζε τα 4 – 6 χρόνια για ασθενείς ≥65 ετών και περίπου 10 έτη για νεότερους ασθενείς. Οι κύριες αιτίες για την πτωχή πρόγνωση των ηλικιωμένων ασθενών είναι οι συνοσηρότητες των ασθενών αυτών, όπως και οι λιγότερο εντατικές θεραπείες που μπορούν να λάβουν.

Στη μελέτη IFM, συνολικά 2316 ασθενών, η επιβίωση των ασθενών ηλικίας 60-66 ετών μετά τη θεραπεία εδραίωσης και την αυτόλογη μεταμόσχευση (1 ή 2), ήταν μικρότερη σε σχέση με τους ασθενείς ηλικίας <60 ετών. Αξιοσημείωτο βέβαια ήταν ότι κάποιες δυσμενείς αντιμεταθέσεις όπως η t(4;14) συναντόταν περισσότερο στους ασθενείς <66 ετών. Η έκβαση των ασθενών >75 ή >80 ετών παραμένει ιδιαίτερα πτωχή και περισσότερο σχετιζόμενη με τις συνοσηρότητες των ασθενών ή την τοξικότητα των θεραπειών που υποβάλλονται.

### **1.9.2 Νεφρική λειτουργία**

Οι ασθενείς με μυέλωμα που εμφανίζουν νεφρική ανεπάρκεια παρουσιάζουν χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με τους ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία με περίπου 3 φορές αύξηση κινδύνου θανάτου στους πρώτους 2 μήνες με επίπεδα κρεατινίνης ορού >2mg/dL, ιδίως αυτοί οι ασθενείς που χρήζουν αιμοδιάλυση, η μέση ολική επιβίωση υπολογιζόταν <12 μήνες. Δεδομένα από τις APEX και HOVON-65/GMMG-HD4<sup>35</sup> μελέτες έδειξαν ότι τα σχήματα βασισμένα στην μπορτεζομίπη μπορούν να υποστρέψουν τη δυσμενή επίπτωση της νεφρικής δυσλειτουργίας. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι η Mayo Clinic παρουσίασε ότι ασθενείς με κρεατινίνη ορού >1,5mg/dl είναι πιο πιθανό να πετύχουν VGPR ή καλύτερα με PIs από εκείνους με χαμηλές τιμές κρεατινίνης ορού.

### **1.9.3 MGUS, τύπος παραπρωτεΐνης και ελεύθερες αλυσίδες ορού**

Βάση των ευρημάτων της Σουηδικής μελέτης, μία προηγουμένως διάγνωση MGUS σχετίζεται με μακρύτερη επιβίωση. Ένα σταθερό MGUS για μεγάλο χρονικό διάστημα προσδίδει ένα πιο αθώο νόσημα, ενώ παρακολούθηση και πιο πρώιμη θεραπεία όταν χρειαστεί προφυλάσσει τους ασθενείς από τη παρουσία επιπλοκών απειλητικών για τη ζωή των ασθενών. Οι Βρετανοί επίσης παρατήρησαν ότι οι ασθενείς με μυέλωμα που πρωτοεμφανίζονται σε επείγουσα κατάσταση είχαν χειρότερη επιβίωση στο έτος (51% vs 82%) συγκρινόμενοι με ασθενείς που διαγιγνώσκονται στον προγραμματισμένο τους έλεγχο.

Αναφορικά με τον τύπο της παραπρωτεΐνης, τα IgA μυελώματα θεωρούνται χειρότερης πρόγνωσης από τα IgG. Τα IgD μυελώματα χαρακτηρίζονται συχνότερα από προχωρημένη νόσο στη διάγνωση, ISS-3 και αύξηση της LDH, εξωμυελική νόσο και σημαντική νεφρική δυσλειτουργία.

Οι ελεύθερες αλυσίδες ορού και ο λόγος τους έχουν επίσης χαρακτηριστεί ως προγνωστικοί παράγοντες όσον αφορά στη ανταπόκριση στη θεραπεία και στη

πρόοδο νόσου σε ασθενείς με MGUS ή SMM στα μη εκκριτικά μυελώματα. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι η προγνωστική αξία των FLC ήταν ανεξάρτητη των αντιμεταθέσεων υψηλού κινδύνου σαν τις t(4;14) και t(14;16).

#### 1.9.4 Εξωμυελική νόσος

Η εξωμυελική νόσος συναντάται περισσότερο στους ασθενείς με t(14;16), t(14;20), t(4;14)<sup>36</sup> και σχετίζεται με βραχύτερο PFS και OS ακόμα και στις μέρες μας με τους καινούριους θεραπευτικούς παράγοντες.

#### 1.9.5 Πλασματοκυτταρική Λευχαιμία και παρουσία πλασματοκυττάρων στο αίμα

Η πλασματοκυτταρική λευχαιμία (2-4% των πλασματοκυτταρικών δυσκρασιών), ορίζεται ως την παρουσία πλασματοκυττάρων στο αίμα σε απόλυτο αριθμό >2x10<sup>9</sup>/L. Η πρόγνωση είναι σημαντικά πτωχή και στις πρωτοπαθείς και στις 2παθείς, με ολική επιβίωση 4-6 έως 12 μήνες. Η 1παθής πλασματοκυτταρική λευχαιμία σχετίζεται με εξωμυελική νόσο, νόσο ελαφρών αλύσεων, υψηλό δείκτη πολλαπλασιασμού, υψηλές τιμές LDH και β2 μικροσφαιρίνης, πλασμαβλαστική μορφολογία κυττάρων, αυξημένη συχνότητα υποδιπλοειδίας, del 17p, t(14;16).

#### 1.10 Θεραπεία

Τα κριτήρια ανταπόκρισης της θεραπείας σύμφωνα με το IMWG<sup>37</sup> συνοψίζονται στον πίνακα 5

Πίνακας 5

Ανταπόκριση	IMWG κριτήρια
<b>sCR – Αυστηρή πλήρης ύφεση</b>	Πλήρης ύφεση + φυσιολογικός λόγος FLC + απουσία κλωνικών κυττάρων στον μυελό επιβεβαιωμένο από ανοσοισστοχημεία ή ανοσοφθορισμό
<b>CR – Πλήρης ύφεση</b>	Αρνητική ανοσοκαθήλωση στον ορό και ούρα, απουσία πλασματοκυττώματος και <5% πλασματοκύτταρα στον μυελό
<b>VGPR – Πολύ καλή μερική ύφεση</b>	Ανιχνεύσιμη μονοκλωνική πρωτεΐνη στην ανοσοκαθήλωση στον ορό και ούρα, αλλά όχι στην ηλεκτροφόρηση ή >90% μείωση της παραπρωτεΐνης στον ορό και παραπρωτεΐνη



	ούρων <100mg/24ωρο
<b>PR – Μερική ύφεση</b>	<p>&gt;50% μείωση της παραπρωτεΐνης ορού και μείωση της παραπρωτεΐνης ούρων κατά &gt;90% ή &lt;200mg/24ωρο.</p> <p>Αν η παραπρωτεΐνη ορού και ούρων και οι ελεύθερες αλυσίδες ορού δεν είναι μετρήσιμες, &gt;50% μείωση στα πλάσματοκύτταρα αν το baseline % &gt;30%.</p> <p>Σε περίπτωση πλάσματοκυττώματος&gt;50%μείωση του μεγέθους του</p>
<b>Σταθερή νόσος</b>	Δεν πληροί τα κριτήρια για CR, VGPR, PR ή πρόοδο νόσου
<b>Πρόοδος νόσου</b>	<p>Αύξηση &gt; 25% από τη χαμηλότερη τιμή που επιτεύχθηκε σε οποιοδήποτε από τα παρακάτω:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Μονοκλωνική πρωτεΐνη ορού και/ή (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι &gt; 0,5 g/dL).</li> <li>2. Μονοκλωνική πρωτεΐνη ούρων και/ή (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι <math>\geq</math>200 mg/24ωρο).</li> <li>3. Μόνο για ασθενείς με μη μετρήσιμα επίπεδα μονοκλωνικής πρωτεΐνης σε ορό και ούρα: Η διαφορά ανάμεσα στα επίπεδα της παθολογικής και φυσιολογικής ελαφράς αλύσου. Η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι &gt;10 mg/dL.</li> <li>4. Ποσοστό διήθησης μυελού: Ο απόλυτος αριθμός πρέπει να είναι &gt; 10%.</li> <li>5. Εμφάνιση νέων οστικών βλαβών ή πλάσματοκυττωμάτων ή αύξηση μεγέθους των ήδη υπαρχόντων οστικών βλαβών ή πλάσματοκυττωμάτων.</li> <li>6. Εμφάνιση υπερασβεστιαμίας (διορθωμένο ασβέστιο ορού &gt; 11,5 mg/dL ή 2,65mmol/L) ή που μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στη νόσο.</li> </ol>
<b>Υποτροπή</b>	<p>Ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω:</p> <p>Επανεμφάνιση θετικής ανοσοκαθήλωσης ή ανοσοηλεκτροφόρησης ορού ή ούρων.</p> <p>Πλάσματοκύτταρα &gt; 5% στο μυελό.</p>

Νέο πλασματοκύττωμα ή οστική βλάβη

50% αύξηση της εγκάρσιας διαμέτρου του ήδη υπάρχοντος πλασματοκυττώματος ή οστικής αλλοίωσης

Υπερασβεστιαμία >11,5mg/dl

Μείωση της αιμοσφαιρίνης >2g/dl

Αύξηση της κρεατινίνης ορού κατά  $\geq 2$ mg/dl.

Παρόλο την βελτίωση στην συνολική επιβίωση των ασθενών λόγω της καλύτερης κατανόησης της βιολογίας της νόσου, αλλά και τους καινούριους θεραπευτικούς παράγοντες, το πολ.μυέλωμα παραμένει ανίατη νόσος. Χαρακτηρίζεται από περιόδους ύφεσης ακολουθούμενες από υποτροπές με τα νεοπλασματικά κύτταρα να δείχνουν έως έναν βαθμό ανθεκτικότητα στη θεραπεία. Ως εκ τούτου, ακόμα υπάρχει η επιτακτική ανάγκη για την ανάπτυξη νέων παραγόντων πιο δραστικών για το πολλαπλό μυέλωμα. Η μέση ολική επιβίωση ασθενών που είναι ανθεκτικοί ή υποτροπιάζουν στην πρώτη γραμμή θεραπείας, περιλαμβανομένων τους αναστολείς πρωτεασώματος και ανοσορυθμιστικούς παράγοντες και που έχουν εκτεθεί σε αλκυλιούντες, είναι μόνο 13 μήνες. Παρόλα αυτά σημαντική πρόοδος έχει επιτευχθεί οδηγώντας σε μακρύτερη επιβίωση. Η κινητήρια δύναμη για αυτή τη βελτίωση ήταν η εμφάνιση νέων παραγόντων όπως αναστολέων πρωτεασώματος και ανοσορυθμιστικών παραγόντων, που αποτελούν τον κανόνα στην κλινική πράξη. Στις αρχές της δεκαετίας του 1960 στη θεραπεία του μυελώματος κυριαρχούσε η μελφαλάνη με πάνω από 2 έτη επιβίωσης σ αυτούς τους ασθενείς που ανταποκρίνονταν. Στα τέλη του 1980, η θεραπεία του μυελώματος πήγε ένα βήμα μπροστά με τις υψηλές δόσεις μελφαλάνης και ακολούθως αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών αρχέγονων κυττάρων, με 3ετή επιβίωση. Η εμφάνιση των ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων (IMiDs: Θαλιδομίδη, λεναλιδομίδη) και οι αναστολείς του πρωτεασώματος (PI) μπορετζομίμπη άλλαξαν την πρόγνωση του νοσήματος. Γενικά, για τους ασθενείς με πρώτη διάγνωση μυελώματος, οι οποίοι είναι κατάλληλοι για αυτόλογη μεταμόσχευση (ABMT) η τριπλέτα που αποτελείται από έναν ανοσοτροποποιητικό, έναν αναστολέα πρωτεασώματος και κορτικοειδές,

αποτελούν τη συνήθη θεραπεία, ακολουθούμενοι από αυτόλογη μεταμόσχευση και θεραπεία συντήρησης με χαμηλή δόση IMiD. Για τους ακατάλληλους για αυτόλογη μεταμόσχευση ασθενείς, η επιλογή της θεραπείας εξαρτάται από τις συνοσηρότητες και την κλινική κατάσταση του ασθενούς. Η προσθήκη της μπορτεζομίμπης στη λεναλιδομίδη – δεξαμεθαζόνη έδειξε ότι βελτίωσε τόσο την επιβίωση ελεύθερης προόδου νόσου, όσο και την συνολική επιβίωση. Έτσι, είτε ο συνδυασμός των τριών μπορεί να δοθεί για 12 -18 μήνες ή ο συνδυασμός δύο φαρμάκων μπορεί να χρησιμοποιηθεί μέχρι την υποτροπή.

Στη φάση της υποτροπής, η πομαλιδομίδη (3<sup>η</sup> γενιάς ανοσοτροποποιητικός παράγοντας) και η καρφιλοζομίμπη (2<sup>ης</sup> γενιάς PI) έδειξαν ότι βελτιώνουν την επιβίωση. Πρόσφατα η ανοσοθεραπεία λαμβάνει κεντρικό ρόλο στη θεραπεία του μυελώματος, δείχνοντας συνεργικό όφελος μεταξύ της ελοτουζουμάμπης και της λεναλιδομίδης – δεξαμεθαζόνης παρατείνοντας το PFS. Σημαντικό όφελος επιβίωσης στα ανθεκτικά μυελώματα δίνει η νταρατουμουάμπη που θα αναλυθεί παρακάτω.

Οι ενδείξεις θεραπείας βασίζονται στη βλάβη οργάνων (υπερασβεστιαμία, νεφρική ανεπάρκεια, αναιμία, οστικές λύσεις) και δείκτες ενεργού νόσου (κ/λ>100, πλασματοκυτταρική διήθηση μυελού >60%) ή >1 οστική βλάβη στην MRI.

Η ανταπόκριση στη θεραπεία και η επιβίωση των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών ποικίλλει με μία μέση επιβίωση να κυμαίνεται από 2 έως και >10 έτη. Όπως προαναφέρθηκε, το πολλαπλό μύελωμα χαρακτηρίζεται από χρωμοσωμική αστάθεια και κυτταρογενετικές ανωμαλίες που επηρεάζουν την επιβίωση. Αυτή η προοπτική ορίζει τις υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες και παρέχει συστάσεις για την αντιμετώπιση των ασθενών με νέα διάγνωση. Ο καρυότυπος αποκαλύπτει κυτταρογενετικές ανωμαλίες σε ποσοστό 20-30% των ασθενών, κυρίως αριθμητικές. Πολλές αντιμεταθέσεις, όπως και η t(4;14) δεν ανιχνεύονται με τον συμβατικό καρυότυπο.

Το 2009<sup>38</sup> η mSMART ακύρωσε την ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου και διαίρεσε τους ασθενείς νέας διάγνωσης σε 2 κατηγορίες:

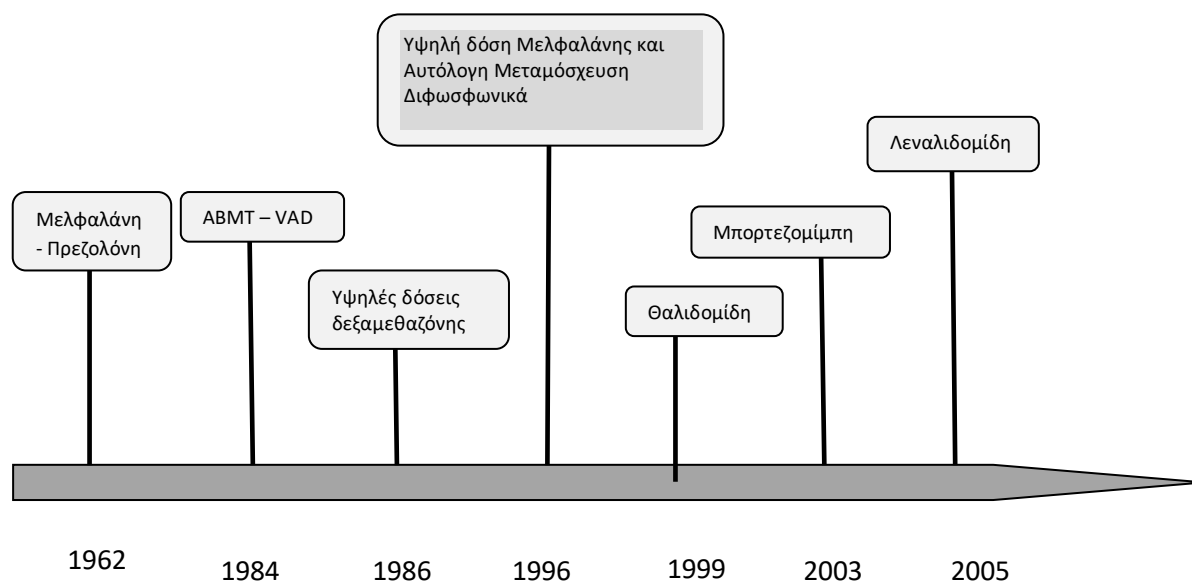
a. Σε υψηλού κινδύνου (25% των ασθενών, περιλαμβανομένων τους ασθενείς με t(4;14), t(14;16), del17p, del13 ή υποδιπλοειδία και PCLI (Plasma Cell Labeling Index) >5% και

b. Σταθερού κινδύνου (75% των περιπτώσεων, με υπερδιπλοειδία, t(11;14) ή t(6;14)). Το 2013 η mSMART επανέφερε την ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου περιλαμβάνοντας την t(4;14), del13, την υποδιπλοειδία και PCL1≥3%.

Το σύγχρονο mSMART ταξινομεί την t(4;14) στην ομάδα υψηλού κινδύνου μαζί με την t(14;16), και την +1q, προτείνοντας στους ασθενείς αυτούς περαιτέρω θεραπεία με PI ως συντήρηση μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση.

Η χρονολογική σειρά εμφάνισης των θεραπειών φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:

Σχήμα1



VAD: Vincristine, doxorubicin, dexamethasone

Οι Zhang και συνεργάτες το 2017<sup>39</sup>, υποστήριξαν ότι τα σχήματα εμπιρεύοντα λεναλιδομίδη υπερίσχυαν της μπορτεζομίμης, θαλιδομίδης ή πομαλιδομίδης βασισμένα τριπλέτας ενώ η δράση της νταρατουνομάμης σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη ήταν δραστικότερα από την νταρατουνομάμη σε συνδυασμό με πομαλιδομίδη ή μπορτεζομίμη. Παρόμοια, η δράση της ελοτουζουμάμης σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη υπερίσχυε της ελοτουζουμάμης σε συνδυασμό με δεξαμεθαζόνη και ή μπορτεζομίμη ή θαλιδομίδη. Έτσι, η νταρατουνομάμη σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη αποτελεί το δραστικότερο σχήμα από όλες τις τριπλέτες για το υποτροπιάζον ή ανθεκτικό μύελωμα. Ο μοναδικός μηχανισμός δράσης της νταρατουνομάμης και η ελάχιστη τοξικότητα αυτού του παράγοντα συστήνει ότι μάλλον αυτός είναι ο πιο δραστικός παράγοντας για το ανθεκτικό υποτροπιάζον μύελωμα. Η θεραπεία για το μύελωμα διαρκώς εξελίσσεται λόγω της ανάπτυξης καινούριων μονοκλωνικών αντισωμάτων, κυρίως του CD38 και του PD1. Μελλοντικές κλινικές μελέτες αυτών των παραγόντων θα αποκαλύψουν ποιοι συνδυασμοί φαρμάκων θα ναι πιο δραστικοί για θεραπεία συντήρησης, νεοδιαγνωσθέντα μυελώματα και ανθεκτικά υποτροπιάζοντα.

Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της βιολογίας του πολλαπλού μυελώματος αποτελεί η ανοσολογική δυσλειτουργία που αναγνωρίζεται νωρίς στη φυσική ιστορία του νοσήματος. Πράγματι, ακόμα και οι ασθενείς με μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρινίστου σημασίας εμφανίζουν 2 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο βακτηριαιμίας συγκρινόμενοι με υγιείς μάρτυρες ίδιας ηλικίας. Άλλο γεγονός που δείχνει την ανοσολογική δυσλειτουργία φαίνεται και από την υποβλεπόμενη ανταποκρίσεις στον εμβολιασμό έναντι ποικίλων παθογόνων σε ασθενείς με πολλαπλό μύελωμα. Οι βλάβες της ανοσοποίησης αφορούν στη λειτουργία των Β, Τ, δένδριτικών και ΝΚ κυττάρων των ασθενών. Πολλά υποκινούνται από ένα ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών που προάγει την επιβίωση του όγκου και την εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Πράγματι, το πολύπλοκο σύστημα των επιδράσεων στο μικροπεριβάλλον του μυελού των ασθενών με πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες αποτελεί βασικό παράγοντα στη λειτουργική βλάβη του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή και ήδη από το στάδιο του MGUS, το ανοσοποιητικό σύστημα αποτυγχάνει να εξαλείψει τα κακοήθη κύτταρα. Σ αυτό το στάδιο η νόσος ακόμα ελέγχεται από κύτταρα ανοσίας και μια ισορροπία μεταξύ του πολλαπλασιασμού των πλασματοκυττάρων και της λειτουργίας των ανοσολογικών παραγόντων υπάρχει ακόμα. Κατά την πρόοδο της νόσου, η ανοσολογική απάντηση από τα μυελωματικά κύτταρα εμφανίζεται και καθοδηγείται από πολλαπλούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, ο PD-L1 που εκφράζεται στα νεοπλασματικά κύτταρα δεσμεύει την PD1 στα ενεργοποιημένα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα αναστέλλοντας την δραστηριότητά τους.

Κάθε ένα από τα παραπάνω αντιπροσωπεύει μια μοναδική ευκαιρία για ανάπτυξη ανοσοθεραπευτικών παραγόντων που θα βοηθήσουν στην επανάκτηση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού και θα προσθέσουν καινούριες θεραπευτικές στρατηγικές στη φαρέτρα του Πολ. Μυελώματος.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι σημαντικότεροι από τους νέους θεραπευτικούς παράγοντες:

Πίνακας 6: Προτεινόμενες θεραπείες σε καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου

	<b>Παράγοντας κινδύνου</b>	<b>Συνιστώμενη θεραπεία</b>
<b>Σχετιζόμενοι με τον ασθενή</b>	Επηρεασμένη φυσική κατάσταση	Θεραπεία με λεναλιδομίδη
	Νεφρική ανεπάρκεια	Θεραπεία με μπορτεζομίμη
<b>Σχετιζόμενοι με τη νόσο</b>	Λευχαιμική εμφάνιση	Συνδυασμός PI-IMiD ακολουθούμενος από ABMT και συντήρηση (μπορτεζομίμη σε t(4;14) ή 17p έλλειψη)
	Εξωμυελικό μυέλωμα	
	Υψηλή LDH	
	Υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες t(4;14), t(4;16), t(4;20), 17p-, +1q21	
	R-ISS III	
	Δυσμενές γονιδιακό προφίλ	
<b>Σχετιζόμενοι με την ανταπόκριση στη θεραπεία</b>	Πρώιμη υποτροπή μετά την ABMT	Κλινική μελέτη, αλλογενής μεταμόσχευση χαμηλής έντασης
	Ανθεκτικότητα στα IMiD και PI	Κλινική μελέτη

### 1.10.1 Θαλιδομίδη

Η χρήση της θαλιδομίδης είναι περιορισμένη στις μέρες μας λόγω της ανάπτυξης νέων παραγόντων με μεγαλύτερη δραστικότητα και ασφάλεια. Η MRC-IX μελέτη εκτίμησε τον ρόλο της σε ασθενείς με δυσμενείς κυτταρογενετικές ανωμαλίες και όχι μόνο δεν απέδειξε όφελος στην PFS των ασθενών, αλλά στην πραγματικότητα είχαν χειρότερη ολική επιβίωση.

Η θαλιδομίδη δεν αναστρέφει τις δυσμενείς επιπτώσεις του υψηλού κινδύνου πολ. Μυελώματος. Στην UAMS μελέτη για τα ανθεκτικά/υποτροπιάζοντα μυελώματα, η έλλειψη 13q από τον καρυότυπο είχε βραχύτερη επιβίωση σε ασθενείς που ελάμβαναν θαλιδομίδη. Επιπλέον θεραπεία συντήρησης με θαλιδομίδη δεν έδειχνε να βοηθάει τους υψηλού κινδύνου ασθενείς σε 3 μελέτες. Στην HOVON50/GMMG-HD2, η θεραπεία με θαλιδομίδη βοήθησε στην 1<sup>η</sup> PFS, ενώ ήταν σαφώς βραχύτερη στην 2<sup>η</sup>, έχοντας ως αποτέλεσμα την βραχύτερη OS. Στη μελέτη TT2, η παρουσία κυτταρογενετικών ανωμαλιών σχετιζόταν με βραχύτερη επιβίωση. Όφελος από την θαλιδομίδη παρατηρήθηκε σε ένα μικρό υποσύνολο ασθενών μετά τα 10 έτη. Έτσι, η θεραπεία με θαλιδομίδη δεν μπορεί να υποστρέψει το πτωχή πρόγνωση των

ασθενών με t(4;14), t(14;16), t(14;20), del(17/17p) ή gain(1q). Δεδομένα από ηλικιωμένους ή ευπαθείς ομάδες δεν είναι διαθέσιμα.

### 1.10.2 Αναστολείς πρωτεασώματος

#### Μπορτεζομίμη

Η ομάδα UAMS ως μέλος της Total Therapy 3 (TT3) όταν συγκρίθηκε με την TT2 έδειξε ένα σημαντικό πλεονέκτημα στους νεότερους ασθενείς με μυέλωμα υψηλού κινδύνου. Η επιβίωση ελεύθερη συμβάματος στα 2 χρόνια, αλλά και η συνολική επιβίωση τάχθηκε υπέρ των σχημάτων εμπεριέχοντα μπορτεζομίμη στην πρώτη θεραπεία στους υψηλού κινδύνου ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα<sup>40</sup>. Επίσης και ο Jagannath et al<sup>41</sup> πρότεινε ότι η μπορτεζομίμη είναι ικανή να δώσει ανταποκρίσεις στους ασθενείς ανεξάρτητα του πλαισίου κινδύνου. Η μελέτη IFM<sup>42</sup> σύγκρινε την μπορτεζομίμη/δεξαμεθαζόνη με το χημειοθεραπευτικό σχήμα vincristine, dexamethasone, doxorubicin (VAD) ως θεραπεία έναρξης πριν τη megaθεραπεία και την αυτόλογη μεταμόσχευση. Ασθενείς με t(4;14) φάνηκε να έχουν σαφώς καλύτερη έκβαση με την μπορτεζομίμη/δεξαμεθαζόνη ως θεραπεία έναρξης συγκρινόμενη με τους ασθενείς με del 17p. Άλλη μελέτη σύγκρινε την μπορτεζομίμη σε συνδυασμό με θαλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη (VTD) στους ασθενείς υψηλού κινδύνου. Ο Cano και συνεργάτες<sup>43</sup> απέδειξαν ότι το σχήμα VTD με την μπορτεζομίμη ως θεραπεία εδραίωσης μπορεί να εξαλείψει την αρνητική επίδραση της αντιμετάθεσης t(4;14), ενώ δεν συνέβαινε το ίδιο στην ομάδα της θαλιδομίδης/δεξαμεθαζόνης (TD)

Στην IFM-2005-01 μελέτη<sup>42</sup>, ο συνδυασμός μπορτεζομίμης/δεξαμεθαζόνης έδειξε καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά στην ανταπόκριση και στην ολική επιβίωση σε σύγκριση με το σχήμα βινκριστίνη/δοξορουμπικίνη/δεξαμεθαζόνη. Αυτός ο συνδυασμός οδήγησε σε καλύτερη επιβίωση ελεύθερη συμβαμάτων (EFS) και OS για τους ασθενείς που έφεραν την αντιμετάθεση t(4;14), αλλά δεν βελτιώνει την έκβαση των ασθενών με 17p έλλειψη (OS στην τετραετία 50% vs 79%). Στη HONON65/GMMG-HD4 μελέτη, η μπορτεζομίμη στην θεραπεία εφόδου και στη συντήρηση έδειξε καλύτερα αποτελέσματα για τους ασθενείς με del17p (μέση PFS 26 vs 12 μήνες, και επιβίωση στην τριετία 69% vs 17%). Σε ασθενείς με t(4;14) το PFS δεν υπερερούσε με την μπορτεζομίμη (25 vs 22 μήνες), αλλά η ολική επιβίωση ήταν καλύτερη (69% vs 44% στην τριετία) σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς την αντιμετάθεση (85%). Στη GEM 2005 μελέτη, το σχήμα μπορτεζομίμη/θαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη (VTD) ακολουθούμενο από αυτόλογη μεταμόσχευση και θεραπεία συντήρησης δεν κατάφερε να βελτιώσει την ολική

επιβίωση στους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες. Στη GINEMA<sup>44</sup> σύγκριναν το σχήμα VTD με TD για την θεραπεία εφόδου και σταθεροποίησης με διπλή αυτόλογη μεταμόσχευση. Σε ένα υποσύνολο ασθενών 25% με t(4;14), η ολική επιβίωση ήταν 69% vs 37% υπέρ του VTD συγκρινόμενο με 74% vs 63% χωρίς την αντιμετάθεση t(4;14) ή/και del17p. Μια μετανάλυση τεσσάρων τυχαιοποιημένων μελετών έδειξε ότι η υπόθεση για πλήρη ύφεση και σχεδόν πλήρης ύφεση στους ασθενείς που ελάμβαναν μπορτεζομίμη ήταν παρόμοιες σ αυτούς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες σε σύγκριση με τους standard κινδύνου (0,44 vs 1,67, n.s). Αυτές οι μελέτες – 1874 ασθενών – έδειξαν ότι η μπορτεζομίμη συν αυτόλογη μεταμόσχευση υπερείχε (PFS 41 vs 33 μήνες) (p<.0001). Στους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες που ανιχνεύθηκαν με FISH αυτό ήταν 32 vs 22 μήνες (p<.0001). Όφελος στο PFS παρατηρήθηκε στους ασθενείς με t(4;14), αλλά χωρίς έλλειψη 17p (36 vs 24 μήνες, p=.001) και στους ασθενείς με del(17p) χωρίς t(4;14) (27 vs 19 μήνες, p=.014), αλλά όχι στους ασθενείς και με τις δύο ανωμαλίες. Στην TT3, η ολική επιβίωση ήταν σημαντικά βραχύτερη στους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες (56% vs 88% στη διετία) συγκρινόμενο με τους standard κινδύνου με εξαίρεση αυτούς με χαμηλή έκφραση TP53.

Τα δεδομένα από τους ασθενείς που δεν είναι υποψήφιοι για αυτόλογη, παραμένουν ασαφή. Η μελέτη VISTA<sup>45</sup> σύγκρινε το θεραπευτικό σχήμα μελφαλάνη/πρεδνιζόνη (MP) με το μελφαλάνη/πρεδνιζόνη/μπορτεζομίμη (VMP). Στους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες δεν επηρεαζόταν η έκβαση όταν ελάμβαναν VMP σε σύγκριση με τους ασθενείς με σταθερού κινδύνου (56% vs 71%). Στην μελέτη PETHEMA<sup>46</sup> όταν σύγκριναν το VMP με μπορτεζομίμη/θαλιδομίδη/πρεδνιζόνη (VPT) που ακολουθούσε θεραπεία συντήρησης με μπορτεζομίμη/θαλιδομίδη έναντι μπορτεζομίμη/πρεδνιζόνη, οι HR-CA είχαν μικρότερη PFS σε σχέση με τους ασθενείς με SR από την 1<sup>η</sup> (24 vs 33 μήνες) και 2<sup>η</sup> τυχαιοποίηση (17 vs 27 μήνες) και βραχύτερη επιβίωση (55 vs 77% επιβίωση στην τριετία). Στη GINEMA που σύγκριναν VMP με VMP/θαλιδομίδη οι ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές διαταραχές (HR –CA) είχαν παρόμοιο PFS με τους ασθενείς σταθερού κινδύνου (SR). Η IFM ομάδα παρατήρησε ότι στα σχήματα που περιέχουν μπορτεζομίμη δεν υπήρχε όφελος στους HA-CA ασθενείς που δεν ήταν κατάλληλοι για αυτόλογη μεταμόσχευση.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η μπορτεζομίμη βοηθά στην έκβαση των ασθενών με τη δυσμενή πρόγνωση της αντιμετάθεσης t(4;14) και πιθανώς και της έλλειψης του 17p στη CR, PFS και OS. Δεν φαίνεται όμως να επιδρά στους ασθενείς υποψήφιους για αυτόλογη μεταμόσχευση που φέρουν και την t(4;14) και την del 17p. Όσον αφορά



στους μη κατάλληλους ασθενείς για αυτόλογη μεταμόσχευση, το θεραπευτικό σχήμα VMR ίσως εν μέρει βοηθά στο PFS τους HR-CA ασθενείς.

### **Καρφιλοζομίμπη**

Η επίδραση της καρφιλοζομίμπης στους υψηλού κινδύνου ασθενείς εξετάστηκε στην PX-171-003-A1 μελέτη<sup>47</sup>. Οι ασθενείς που έφεραν την t(4;14) είχαν την μακρύτερη ORR με ποσοστό 38,9%. Οι ασθενείς με 17p del, μόλις 16,7%. Στους υψηλού κινδύνου ασθενείς με μοναδική ανωμαλία την t(4;14), η συνολική επιβίωση ήταν 15,8 μήνες και στο σύνολο των ασθενών υψηλού κινδύνου η συνολική επιβίωση ήταν μικρότερη από του ασθενείς standard κινδύνου (9 vs 23 μήνες). Στην φάσης III ENDEAVOR<sup>48</sup> μελέτη, συγκρίθηκαν δύο αναστολείς του πρωτεασώματος, η καρφιλοζομίμπη και η μπορτεζομίμπη σε συνδυασμό με δεξαμεθαζόνη. Ο συνδυασμός καρφιλοζομίμπης/δεξαμεθαζόνης ήταν ανώτερο από το άλλο σκέλος, ανεξαρτήτως κυτταρογενετικών ανωμαλιών. Η PFS όμως ήταν βραχύτερη σε σχέση με τους standard κινδύνου ασθενείς. Η μελέτη φάσης III ASPIRE<sup>49</sup> σύγκρινε τον συνδυασμό καρφιλοζομίμπης/λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη (KRd) με τη λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη (Rd) και το σκέλος KRd έφερε υψηλότερα ποσοστά ανταποκρίσεων τόσο για τους υψηλού κινδύνου, όσο και του χαμηλού κινδύνου ασθενείς. Οι συνολικές ανταποκρίσεις ανάμεσα στους υψηλού και σταθερού κινδύνου με το σχήμα KRd ήταν 79,2% vs 91,2% και για τη λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη ήταν 56,9% vs 73,5% αντίστοιχα. Η μέση PFS στους σταθερού κινδύνου ασθενείς που έλαβαν KRd έναντι τους t(4;14), έναντι del17p ήταν 29,6, 23,1 και 24,5 μήνες, ενώ για το Rd ήταν 19,5, 16,7 και 11,1 μήνες αντίστοιχα. Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη ο συνδυασμός καρφιλοζομίμπης, πομαλιδομίδης και χαμηλή δόσης δεξαμεθαζόνης για υποτροπιάζον ή ανθεκτικό μυέλωμα, έφεραν υψηλά ποσοστά συνολικού ποσοστού ανταπόκρισης (ORR) ακόμα και σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες.

### **Ιξαζομίμπη**

Η ιξαζομίμπη είναι ο νεότερος από του στόματος αναστολέας του πρωτεασώματος. Στην φάσης III TOURMALINE-MM1 μελέτη<sup>50</sup>, 722 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν προκειμένου να λάβουν λεναλιδομίδη/ δεξαμεθαζόνη ή ιξαζομίμπη/ λεναλιδομίδη/ δεξαμεθαζόνη (iRd). Ο συνδυασμός iRd έδειξε καλύτερα ποσοστά ανταπόκρισης ή καλής μερικής ανταπόκρισης και στους υψηλού και στους σταθερού κινδύνου ασθενείς. Τουλάχιστον πολύ καλή μερική ανταπόκριση με το iRd για σταθερού έναντι t(4;14), έναντι 17p del ήταν 20,6, 18,5 και 21,4 μήνες και για την Rd ήταν 15,6, 12 και 9 μήνες αντίστοιχα. Αυτά τα αποτελέσματα όπως και στο KRd ενισχύουν την άποψη ότι ένας αναστολέας πρωτεασώματος σε συνδυασμό με έναν ανοσορρυθμιστικό

παράγοντα και δεξαμεθαζόνη αποτελεί τον αποτελεσματικότερο συνδυασμό για τους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες.

### 1.10.3 Ανοσορυθμιστικοί παράγοντες

#### Λεναλιδομίδη

Η εμπειρία της λεναλιδομίδης ως πρώτη γραμμή θεραπείας είναι περιορισμένη. Στους HR-CA ασθενείς το PFS με λεναλιδομίδη ήταν κατώτερο συγκρινόμενο με τους SR ασθενείς (18 vs 26 μήνες). Στη GINEMA μελέτη που συνέκριναν ασθενείς που έλαβαν υψηλές δόσεις μελφαλάνης με αυτούς που έλαβαν μελφαλάνη, πρεσνιζολόνη, λεναλιδομίδη (MPR), υπήρχε η τάση για καλύτερο PFS με συντήρηση με λεναλιδομίδη στους SR από τους HR-CA (HR 0,38 [0.24-0,62] vs 0,73 [0,37-1,42]), χωρίς επίδραση στην ολική επιβίωση. Στην IFM 2005-02 μελέτη, η συντήρηση με λεναλιδομίδη δεν επιδρούσε ευνοϊκά στην δυσμενή πρόγνωση των ασθενών με t(4;14) (27 vs 24 μήνες) και μόνο μερικώς στους ασθενείς με έλλειψη 17p (29 vs 14 μήνες vs 42 μήνες σε όλους τους ασθενείς). Η μελέτη FIRST<sup>51</sup> στους νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς δεν απέδειξε όφελος στους HR-CA ασθενείς με συνεχιζόμενη λεναλιδομίδη. Στην περίπτωση υποτροπής, η καρφιλοζομίμη σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη (KRd) ήταν δραστική έναντι στους HR και στους SR ασθενείς (23 vs 29), ενώ η λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη λιγότερο δραστική (13 vs 19 μήνες, P=.004). Δεδομένα από την IFM δεν έδειξαν όφελος του Rd σε υποτροπιάζον/ανθεκτικό πολλαπλό μυέλωμα με del13q ή t(4;14). Στην Eloquent 2<sup>52</sup> μελέτη για το ανθεκτικό/ υποτροπιάζον μυέλωμα, η ελοτουζουμάμπη με Rd (E-Rd) έδειξε υπεροχή στην έκβαση στους ασθενείς με del17p.

Συμπερασματικά, η λεναλιδομίδη φαίνεται ότι μερικώς επιδρά θετικά στους ασθενείς με t(4;14) και del17p όσον αφορά στο PFS, αλλά όχι στην ολική επιβίωση στους κατάλληλους για αυτόλογη μεταμόσχευση ασθενείς. Στους μη κατάλληλους ασθενείς δεν υπάρχουν δεδομένα που να αποδεικνύουν όφελος στους HR-CA ασθενείς. Η πομαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη δίνει υποσχόμενα δεδομένα στους ασθενείς με ανθεκτικό/υποτροπιάζον μυέλωμα στους ασθενείς με 17pdel.

Η λεναλιδομίδη σε συνδυασμό με τη δεξαμεθαζόνη ως θεραπεία έναρξης σε υψηλού κινδύνου ασθενείς δεν έδωσε καλύτερα αποτελέσματα. Σε 40 ασθενείς που παρουσίαζαν t(4;14), t(14;20) ή del17p στη FISH, η μέση επιβίωση ελεύθερης εξέλιξης νόσου ήταν 1,4 έτη (συγκρινόμενα με τους σταθερού κινδύνου με μέση PFS

3,4 έτη). Η μέση ολική επιβίωση ήταν 47% και του σταθερού κινδύνου 77% υπέρ των ασθενών σταθερού κινδύνου. Τα αποτελέσματα επίσης από τη μελέτη FIRST δεν απέδειξαν κανένα όφελος επιβίωσης για τους ασθενείς που δεν ήταν υποψήφιοι για αυτόλογη μεταμόσχευση. Αυτά τα αποτελέσματα προτείνουν ότι ένα θεραπευτικό σχήμα, όπως μπορτεζομίμη, λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη ίσως να είναι το πλέον κατάλληλο για τους ασθενείς υψηλού κινδύνου ακατάλληλους για μεταμόσχευση. Ανάμεσα στους ασθενείς με ανθεκτικό μυέλωμα ή σε υποτροπή, ο Reese et al<sup>53</sup> αξιολόγησε τις συνέπειες των κυτταρογενετικών ανωμαλιών, χρησιμοποιώντας λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη σε ασθενείς με μυέλωμα σε υποτροπή. Οι ασθενείς με del17p είχαν χειρότερη πρόγνωση με μέση ολική επιβίωση 4,7 μήνες. Αντίθετα, ασθενείς με t(4;14) είχαν παρόμοια μέση ολική επιβίωση με ασθενείς χωρίς κυτταρογενετικές ανωμαλίες, αποδεικνύοντας ότι η λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη ίσως υπερνικά την πτωχή πρόγνωση των ασθενών με t(4;14).

### **Πομαλιδομίδη**

Η επίδραση των κυτταρογενετικών ανωμαλιών σε ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον μυέλωμα που λαμβάνουν θεραπεία με πομαλιδομίδη και μικρή δόση δεξαμεθαζόνης παρουσιάστηκε από τους Dimopoulos et al στη φάσης III MM003 μελέτη<sup>54</sup>. Η μέση PFS για τους ασθενείς standard risk έναντι del17p, έναντι t(4;14) ήταν 4,2, 4,6 και 2,8 μήνες αντίστοιχα. Η μέση ολική επιβίωση ήταν 14, 12,6 και 7,5 μήνες αντίστοιχα, προτείνοντας έτσι ότι η πομαλιδομίδη/μικρές δόσεις δεξαμεθαζόνης μπορούν να υπερνικήσουν τη πτωχή πρόγνωση της del17p, αλλά όχι της αντιμετάθεσης t(4;14). Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε και η Intergroupe Francophone du Myelome. Ασθενείς με del17p και t(4;14) που λάμβαναν πομαλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη πέτυχαν μέσο χρόνο εξέλιξης νόσου (TTP) για 17p και t(4;14) 7,3 έναντι 2,8 μήνες και η επιβίωση στους 8 μήνες ήταν 41% έναντι 12,4% αντίστοιχα. Πρόσφατα στοιχεία της δράσης της πομαλιδομίδης με δεξαμεθαζόνη σε ασθενείς με ανθεκτικό/ υποτροπιάζον μυέλωμα έδειξαν ότι αυτός ο συνδυασμός δεν μπορεί να υποστρέψει την δυσμενή έκβαση στους HR-CA, ενώ η ολική επιβίωση δύναται να βελτιωθεί στους ασθενείς με 17p del. Επίσης, πρόσφατα, σε μελέτες φάσης 2, φαίνεται ότι η πομαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη ωφελεί τους ασθενείς με έλλειψη 17p.

### **Συνδυασμός αναστολέα πρωτεασώματος και λεναλιδομίδης**

Η προσθήκη της μπορτεζομίμης στο σχήμα Rd (VRd) βελτιώνει την επίδραση του Rd. Σε νέες περιπτώσεις, το σχήμα VRd προσφέρει δείκτη ανταπόκρισης 100%, με

VGPR στο 70% των ασθενών. Για ασθενείς με δυσμενή κυτταρογενετικά στοιχεία περιλαμβανομένων τις t(4;14) και 17p del, το προβλεπόμενο PFS ήταν 18 μήνες και ήταν συγκρίσιμο με το αντίστοιχο των ασθενών με σταθερού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες. Ο Nooka et al<sup>55</sup> πρότεινε τη συνέχιση του VRd ως εδραίωση και συντήρηση μετά από την αυτόλογη μεταμόσχευση και φαίνεται υποσχόμενη θεραπεία στους ασθενείς υψηλού κινδύνου με πολύ καλά αποτελέσματα των PFS και OS (τουλάχιστον VGPR: 96%, μέση PFS 32 μήνες και ολική επιβίωση στην 3ετία 93%).

Η μπορτεζομίπη σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη σε μελέτη 66 ασθενών φάσης 1 / 2 με νέας διάγνωσης Πολ. Μυέλωμα έδειξε 18 μηνών PFS 100% σε 13 ασθενείς με 17pdel ή και t(4;14). Η EVOLUTION μελέτη<sup>56</sup> μελέτησε διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα περιλαμβανομένου και του VRd στα νεοδιαγνωσθέντα Πολ. Μυελώματα. Το PFS σε ένα έτος ήταν παρόμοιο στους ασθενείς με HR-CA (17% σε όλους τους ασθενείς) και στους SR. VRd στους ασθενείς υποψήφιους για αυτόλογη με νέα διάγνωση μυέλωμα είχαν παρόμοια PFS στην τριετία (86%) σε ασθενείς με >60% del 17p ή t(4;14) ή del 13q σε σύγκριση με όλους τους ασθενείς.

Η μονοθεραπεία με καρφιλοζομίπη δεν βελτίωσε την PFS/OS στους ασθενείς με t(4;14) ή 17pdel σε ανθεκτικό/υποτροπιάζον μυέλωμα. Η καρφιλοζομίπη σε συνδυασμό με πομαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη είχαν παρόμοια αποτελέσματα στο PFS και στους HR-CA και στους SR ασθενείς. Στη μελέτη Aspire στους ασθενείς με υποτριάζον/ανθεκτικό μυέλωμα, το σχήμα KRd φάνηκε να υπερέχει του Rd όσον αφορά στο PFS, προτείνοντας έτσι ότι αυτός ο συνδυασμός υποστρέφει τη συσμενή πρόγνωση των t(4;14) και της del 17p. Παρόμοια, στην Tourmaline-MM1, η ιξαζομίπη σε συνδυασμό με Rd έδειξε παρόμοια PFS σε ασθενείς με del17p ή t(4;14) ή χωρίς κυτταρογενετικές ανωμαλίες (20 vs 18 vs 20 μήνες). Πρόσφατα, η καρφιλοζομίπη σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη (KRd) ή θαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη (KTd) σε ασθενείς με νέας διάγνωσης μυέλωμα έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα στην ανταπόκριση των ασθενών (>60%) και στο PFS μεταξύ των HR και SR ασθενών. Τα τελευταία χρόνια πολύ καλές ανταποκρίσεις παρατηρούνται με τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του CD38 (Daratumumab) ή SLAMF7 (Elotuzumab) σε συνδυασμό με Rd στις υποτροπές ή στα ανθεκτικά νοσήματα στις κυτταρογενετικές υποκατηγορίες.

Συνοψίζοντας, ο συνδυασμός ενός αναστολέα πρωτεασώματος με λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη, υποστρέφει σε μεγάλο βαθμό την πτωχή πρόγνωση της αντιμετάθεσης t(4q14) και της del 17p του PFS στους ασθενείς με νέας διάγνωσης

Πολ. Μυέλωμα. Η καρφυλζομίμπη με λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη φαίνεται να έχει δραστικότητα σε ασθενείς με HR-CA.

Η IMWG προτείνει τη FISH για την ανίχνευση των del17p, t(4;14) και t(14;16). Επιπρόσθετα στις κλινικές μελέτες μελετώνται και οι αντιμεταθέσεις t(11;14), t(14;20), καθώς και οι gain1q, del 1p, del 13q και η υπερ-/υποδιπλοειδία. Η μπορτεζομίμπη και η λεναλιδομίδη μπορούν μερικώς να υποστρέψουν την αρνητική έκβαση της έλλειψης 17p. Η μπορτεζομίμπη σε συνδυασμό με iMiDS μπορεί να υποστρέψει την έκβαση των ασθενών με t(4;14). Η διπλή μεταμόσχευση μυελού συν μπορτεζομίμπη βελτιώνουν την έκβαση των ασθενών με HR-CA.

Έως τώρα οι θεραπευτικοί συνδυασμοί ενός PI με IMiDS σε συνδυασμό με την αυτόλογη μεταμόσχευση και τη θεραπεία συντήρησης μετά από αυτή προσδίδει μακρόχρονες επιβιώσεις ακόμα και σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου Πολλαπλό Μυέλωμα<sup>57</sup>. Για παράδειγμα τα σχήματα με μπορτεζομίμπη στην έναρξη και στη συντήρηση μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση θεωρείται τώρα η καθιερωμένη θεραπεία για τους ασθενείς με την αντιμετάθεση t(4;14).

Αναφορικά με την αντιμετάθεση t(11;14) δοκιμάστηκε το venetoclax<sup>58</sup> (αναστολέας της bcl-2), δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως μονοθεραπεία σε ημερήσια δόση 1200mg σε ασθενείς με ανθεκτικό/υποτροπιάζον μυέλωμα. Σε μελέτη φάσης I η ανταπόκριση ανερχόταν στο 86%. Το venetoclax δίνει επίσης υποσχόμενα αποτελέσματα σε συνδυασμό με την μπορτεζομίμπη και δεξαμεθαζόνη με ποσοστά ανταπόκρισης 94% σε έντονη έκφραση BCL2 έναντι 59% με χαμηλή έκφραση.

#### **1.10.4 Μονοκλωνικά αντισώματα**

##### **Ελοτουζουμάμπη**

Η ελοτουζουμάμπη αποτελεί ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει την πρωτεΐνη επιφανείας SLAMF7. Η έγκρισή του σε συνδυασμό με την λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη για τη θεραπεία ασθενών που ήδη έχουν λάβει περισσότερες της μίας θεραπείες βασίστηκε στα αποτελέσματα της μελέτης ELOQUENT-2. 646 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν προκειμένου να λάβουν ελοτουζουμάμπη σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη ή μόνο λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη. Το ORR ήταν 79% και η μέση PFS 19,4 vs 14,9 μήνες αντίστοιχα υπέρ του ERd. Η επίδραση της ελοτουζουμάμπης στους ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες απέβησαν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Το 32% των ασθενών έφεραν την έλλειψη του 17p και 9% την αντιμετάθεση t(4;14). Με μέση παρακολούθηση 24 μηνών η PFS για τους standard κινδύνου, έναντι 17p del, έναντι t(4;14) ήταν παρόμοια (19,4, 18,46 και 20,34 μήνες αντίστοιχα). Σε άλλη τυχαιοποιημένη μελέτη, 152 πολυθεραπευμένοι

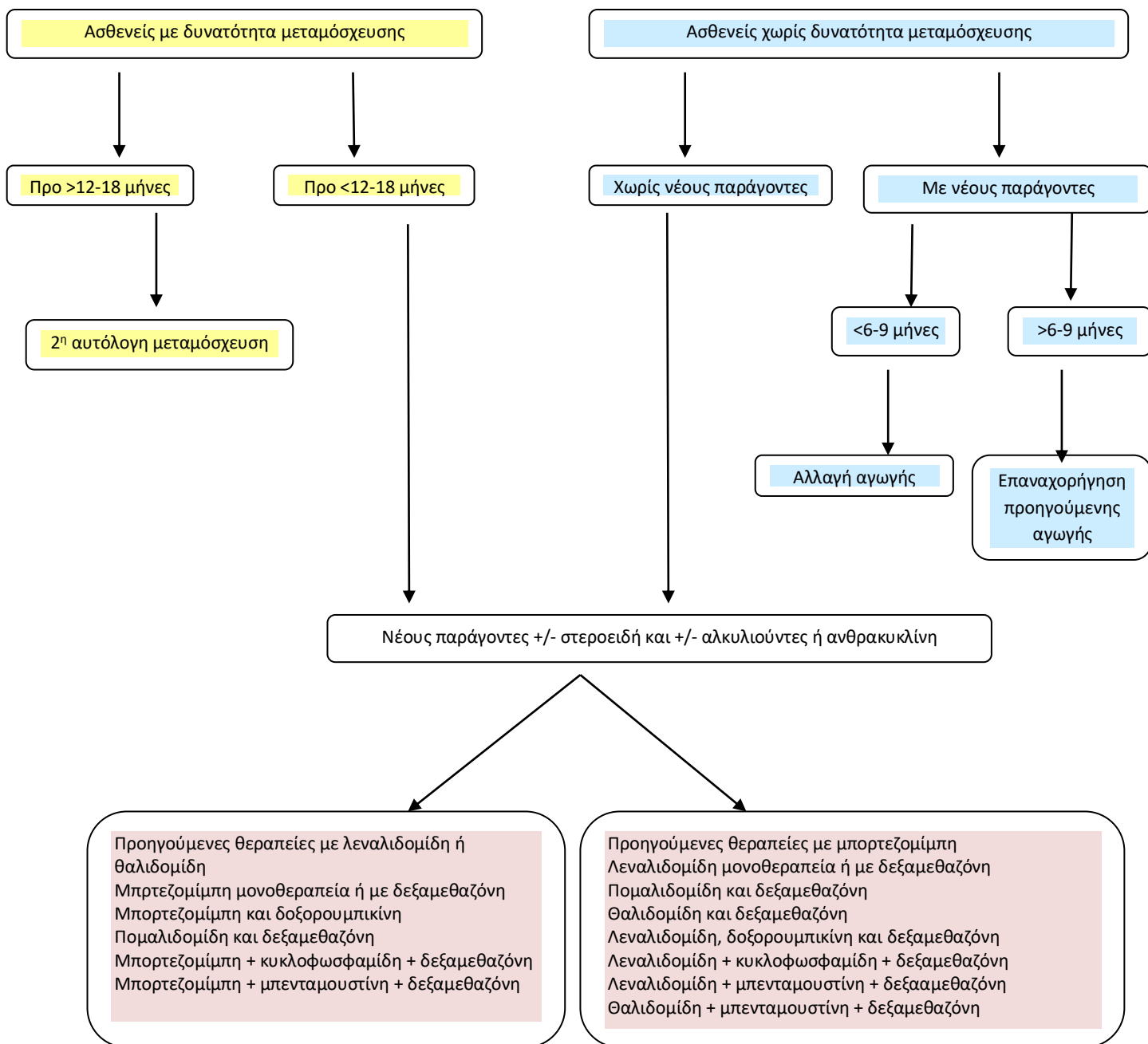
ασθενείς που είχαν ανταποκριθεί στην μπορτεζομίμη, έλαβαν Elotuzumab-Vd ή Vd. Η 27,3 μηνών παρακολούθηση ανέδειξε υπεροχή της PFS περίπου 3 μηνών και της OS στη διετία 73% έναντι 66%.

### **Νταρατουμουμάμη**

Η νταρατουμουμάμη είναι ένα ανθρωποποιημένο IgG1 αντι-CD38 αντίσωμα. Στη δόση των 16mg/kg ως μονοθεραπεία, δείχνει ποσοστό ανταπόκρισης 29%. Σε συνδυασμό με λεναλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη σε ασθενείς με μυέλωμα σε υποτροπή που είχαν λάβει >2 θεραπευτικές γραμμές, η ανταπόκριση ήταν 81% με τα ¾ των ασθενών να πετυχαίνουν τουλάχιστον VGPR (63%). Σ αυτή τη μελέτη, η τοξικότητα αφορούσε περισσότερο στη λεναλιδομίδη. Παρόλο που ανεπιθύμητα συμβάματα βαθμού >3 απαντήθηκαν στο 88% των ασθενών, τα περισσότερα αφούσαν στην ουδετεροπενία (78%), η οποία διαχειριζόταν εύκολα με τη χορήγηση αυξητικού παράγοντα. Οι Charí και συνεργάτες παρουσίασαν τον συνδυασμό της νταρατουμουμάμης με πομαλιδομίδη/δεξαμεθαζόνη σε ασθενείς που είχαν λάβει τουλάχιστον 4 θεραπείες στο παρελθόν. 71% των ασθενών ανταποκρίθηκαν και VGPR επιτεύχθηκε στο 43% των ασθενών, ενώ PFS στο έτος έδειξε το 53% των ασθενών. Τα δεδομένα ανταποκρίσεων στους υψηλού κινδύνου ασθενείς είναι ενθαρρυντικά. Δεν μπορούμε να μην αναφέρουμε την πρόσφατη μελέτη Cassiopeia<sup>59</sup>, κατά την οποία Bortezomib, Thalidomide και dexamethasone (VTd) με ή χωρίς Daratumumab δοκιμάστηκε σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν ΠΜ κατάλληλους για αυτόλογη μεταμόσχευση. Τα αποτελέσματά της είναι θεαματικά στον συνδυασμό με daratumumab, προσφέροντας sCR στο 29% και 64% έναντι 44% των ασθενών που έλαβαν VTd κατάφεραν αρνητική ελάχιστη υπολειπόμενη νόσο (MRD) την εκατοστή ημέρα μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση.

Δεδομένα από τη CASTOR<sup>60</sup> μελέτη σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες έδειξαν ότι ο συνδυασμός της Νταρατουμουμπάμη με Vd αυξάνει σημαντικά το PFS και την ανταπόκριση των ασθενών με υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικά ευρήματα ή ISS-3 νόσο. Αποτελέσματα από την POLLUX<sup>61</sup> μελέτη επίσης έδειξαν ευνοϊκή έκβαση όταν η νταρατουμουμάμη προστέθηκε στο Rd, καταλήγοντας σε αρνητική ελάχιστη υπολειπόμενη νόσο στο 22,4% των ασθενών και PFS στους 12 μήνες σε ποσοστό 83,2%.

Σχήμα 2: Αντιμετώπιση ασθενών με μύελωμα σε πρόοδο νόσου ή ανθεκτικό



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### 2. ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ – ΛΕΜΦΩΜΑ ΑΠΟ ΜΙΚΡΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

#### 2.1 Ορισμοί – Επιδημιολογία

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας θεωρεί τη Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία, τη πιο κοινή λευχαιμία στον δυτικό κόσμο, και το Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα ως διαφορετικές κλινικές εκδηλώσεις του ίδιου νοσήματος.

Η **Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία (ΧΛΛ)** ορίζεται ως μία χαμηλής κακοήθειας λεμφοουπερπλαστική νεοπλασία με  $\geq 5 \times 10^9/L$ , που εμμένουν για τουλάχιστον 3 μήνες<sup>62</sup>, κλωνικά Β-κύτταρα στην κυκλοφορία, στον μυελό των οστών, τους λεμφαδένες και τον σπλήνα, που εκφράζουν CD5, CD19, dimCD20, CD23, CD43, CyclinD1(-) και εκφράζει ασθενώς την IgM και IgD επιφανείας, με την κυτταροπλασματική Ig να ανιχνεύεται μόνο στο 5% των περιπτώσεων. Το CD38 είναι προγνωστικής σημασίας και γι αυτό θα πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στο panel της κυτταρομετρίας ροής. Η FISH για την αντιμετάθεση t(11;14) μπορεί να βοηθήσει στη διαφορική διάγνωση με το λέμφωμα μανδύα.

Η διάγνωση του **Λεμφώματος από μικρά Λεμφοκύτταρα (SLL)** απαιτεί την παρουσία λεμφαδενοπάθειας ή και σπληνομεγαλίας με λιγότερα από 5000/μL Β λεμφοκύτταρα στο αίμα και τεκμηριώνεται με βιοψία λεμφαδένα.

#### 2.2 Παθογένεια

Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι η ικανότητα παραγωγής κλωνικών Β κυττάρων μπορεί να είναι επίκτητη στο στάδιο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, υποδηλώνοντας ότι το πρώτο λευχαιμογόνο συμβάν ίσως να εμπλέκει την πολυδύναμη αυτοανανέωση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Το έναυσμα της νόσου δίνεται από απώλεια ή προσθήκη χρωμοσωμικού υλικού (π.χ έλλειψη 13q, 11q, τρισωμία 12) και ακολουθείται από επιπρόσθετες μεταλλάξεις που καθιστούν τη λευχαιμία πιο επιθετική.



Η έλλειψη στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 13 (13q14), παρατηρείται σε συχνότητα ~ 55% στους ασθενείς με ΧΛΛ. Ως μοναδική διαταραχή, χαρακτηρίζεται ως καλής πρόγνωσης. Τα miRNAs - miR-15a και -16-1 εντοπίζονται στην ίδια περιοχή με την έλλειψη 13q14.

Η έλλειψη στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 (del11q), συναντάται στο 25% των ασθενών νέας διάγνωσης με προχωρημένη νόσο και 10% των ασθενών αρχικού σταδίου<sup>63</sup>. Στην περιοχή αυτή εδρεύει το γονίδιο ATM. Οι ασθενείς φέροντες την συγκεκριμένη έλλειψη, συχνά εμφανίζουν ογκώδη νόσο, γρήγορη εξέλιξη και βραχεία επιβίωση. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι η κακή προγνωστική σημασία του, φαίνεται να υπερνικάται από την συμβατική χημειοθεραπεία.

Η τρισωμία 12 παρατηρείται στο 10-20% των ασθενών με ΧΛΛ. Η προγνωστική του σημασία παραμένει ασαφής αφού τα γονίδια που εμπλέκονται στην παθογένεια αυτής είναι άγνωστα.

Ελλείψεις στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 (17p), βρίσκονται στο 5-8% των ασθενών χωρίς θεραπεία. Οι ελλείψεις σχεδόν πάντα περιλαμβάνουν την περιοχή 17p13, όπου εδρεύει το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53. Οι ασθενείς που φέρουν την έλλειψη, δείχνουν σημαντική ανθεκτικότητα στην χημειοθεραπεία και η προσθήκη αντιCD20 μονοκλωνικού αντισώματος δεν την υποστρέφει. Μεταλλάξεις της TP53 συναντώνται στο 4-37% των ασθενών και σχετίζονται με πολύ πτωχή πρόγνωση. Μεταξύ των περιπτώσεων με επιβεβαιωμένη del 17p, η πλειοψηφία φέρει μεταλλάξεις στο παραμένον TP53 αλληλίο (>80%). Σε περιπτώσεις χωρίς έλλειψη, οι μεταλλάξεις είναι ιδιαίτερα σπάνιες, αλλά έχουν παρόμοια επιζήμια αποτελέσματα όσον αφορά στην ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία.

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες θα αναλυθούν λεπτομερέστερα παρακάτω.

Η επιβίωση των λευχαιμικών κυττάρων εξαρτάται από το μικροπεριβάλλον που αποτελείται από κυτταρικά συστατικά όπως μακροφάγα, T κύτταρα ή δενδριτικά κύτταρα που παρέχουν ερεθίσματα για την ενεργοποίηση των μονοπατιών επιβίωσης και πολλαπλασιασμού των μεταλλαγμένων κυττάρων. Το μικροπεριβάλλον παράγει διάφορες πρωτεΐνες (κυτοκίνες, χημειοκίνες) που επιδρούν με τα λευχαιμικά κύτταρα μέσω ειδικών υποδοχέων επιφανείας ή μορίων προσκόλλησης που στηρίζουν την επιβίωση των κυττάρων της ΧΛΛ. Οι νέοι αναστολείς (ibrutinib, idelalisib) επιδρούν τουλάχιστον εν μέρει στοχεύοντας το μικροπεριβάλλον των λευχαιμικών κυττάρων.

### 2.3 Μονοκλωνική Β λεμφοκυττάρωση

Όλες οι περιπτώσεις της ΧΛΛ προέρχονται από μία κατάσταση γνωστή από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, την **μονοκλωνική Β λεμφοκυττάρωση (MBL)**<sup>62</sup>, που ορίζεται ως  $<5 \times 10^9/L$  κλωνικά Β λεμφοκύτταρα χωρίς λεμφαδενοπάθεια, οργανομεγαλία ή κυτταροπενίες. Η MBL ανευρίσκεται στο 0,2-0,2% υγιών ατόμων <40 ετών, 3,5-6,7% στους 40 έως 60 ετών και 5-9% σε >60 ετών. Ο κίνδυνος για εξέλιξη σε ΧΛΛ που να χρήζει θεραπείας υπολογίζεται στο 1-2% περίπου ανά έτος. Τα αρχικά προτεινόμενα διαγνωστικά κριτήρια ήταν τα εξής:

1. Τεκμηρίωση Β κλωνικού πληθυσμού στο αίμα (παθολογικό κλάσμα κ/λ ή χαμηλή έκφραση Ig επιφανείας >25% των Β κυττάρων) ή αναδιάταξη της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών.
2. Β κύτταρα  $<5 \times 10^9/L$
3. Παρουσία ΧΛΛ φαινότυπου (CD5, CD19, CD23, dimCD20 και dimslg)
4. Καμία ένδειξη λεμφώματος, λοίμωξης ή αυτοάνοσων διαταραχών.

Η οντότητα αυτή αναγνωρίστηκε από την International Working Group of CLL το 2008 με τη διαφορά ότι το κατώτατο όριο της ΧΛΛ επαναπροσδιορίστηκε ως αριθμός των Β λεμφοκυττάρων και όχι ως τον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων.

Οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της MBL και οι παράγοντες κινδύνου για πρόοδο σε ΧΛΛ φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 7)

Πίνακας 7

Παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη MBL	Παράγοντες κινδύνου για πρόοδο σε ΧΛΛ
Οικογενειακό ιστορικό ΧΛΛ	CD38 +
Γενετικοί πολυμορφισμοί	ΑμετάλληκτηIGHV
Ηλικία	Έλλειψη 17p
Λοιμώσεις	Αυξημένος αριθμός Β λεμφοκυττάρων

Συγγενείς ασθενών με ΧΛΛ σημειώνουν αυξημένη συχνότητα MBL (15,6% σε συγγενείς > 60 ετών).

Νέες μελέτες έδειξαν ότι τουλάχιστον 6 πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (rs17483466, rs13397985, rs757978, rs872071, rs2456449, rs735665) που δίδουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΧΛΛ, σχετίζονται με MBL υποστηρίζοντας την υπόθεση της γενετικής βάσης της MBL. Επιπλέον, όπως είναι γνωστό, η συχνότητα της MBL στον γενικό πληθυσμό προοδευτικά αυξάνεται με την ηλικία. Με ευαίσθητες τεχνικές μεθόδους αυτή η συχνότητα υπερβαίνει το 20% σε υγιείς μάρτυρες >60 ετών και το εντυπωσιακό 75% σε >90 ετών. Όσον αφορά στις λοιμώσεις, η MBL έχει σχετιστεί με

ηπατίτιδα C, πνευμονία, γρίπη, κυτταρίτιδα, λοιμώξεις ανωτέρου αναπνευστικού και έρπητα ζωστήρα.

Ο ανοσοφαινότυπος της MBL είναι όμοιος με της ΧΛΛ με απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων <5000/μL, ενώ η αντικειμενική εξέταση αποβαίνει αρνητική. Οι Rawstron και συνεργάτες και οι Rossi και συνεργάτες συνέδεσαν το απόλυτο φορτίο του κλώνου με την εξέλιξη της MBL σε ΧΛΛ. Ο αριθμός Β κλωνικών λεμφοκυττάρων >3700/μL σημαίνει πενταπλάσια μεγαλύτερη πιθανότητα εξέλιξης σε ΧΛΛ σε σχέση με απόλυτο αριθμό <1200/μL. Όσον αφορά στις μοριακές διαταραχές, φαίνεται από μεγάλες σειρές, ότι η πιο συχνή είναι η έλλειψη του 13q και ακολουθεί η τρισωμία 12. Ελλείψεις του 17p και του 11q σπανίζουν, όπως και οι σύνθετοι καρυότυποι. Αμετάλλακτη IGHV αναγνωρίζεται στο 25% των MBL.

Στοιχεία από το National Cancer Institute έδειξαν ότι η οι νέες διαγνώσεις της ΧΛΛ ήταν 4,7/100.000 άντρες και γυναίκες το έτος. Ο αριθμός των θανάτων 1,1/100.000 αντρών και γυναικών ανά έτος (βασισμένα στοιχεία το 2015 -2019 περιπτώσεις και θάνατοι).

Εκτιμάται ότι το 2022, οι νέες διαγνώσεις θα είναι 20.160 που αντιστοιχούν στο 1,1% όλων των νέων διαγνώσεων κακοηθειών και οι θάνατοι θα ανέρχονται σε 4.410 (0,7% όλων των θανάτων από κακοήθεια). Η συνολική επιβίωση στην 5ετία ανέρχεται στο 87,9%<sup>64</sup>.

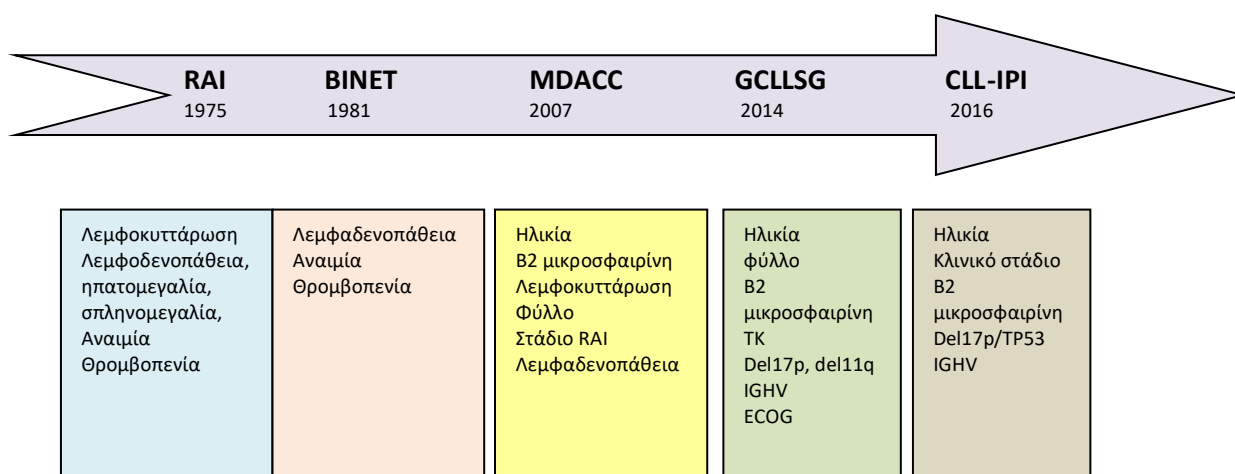
#### **2.4 Κλινική εικόνα**

Η κλινική εικόνα στη διάγνωση ποικίλλει. Κάποιοι ασθενείς ζουν για δεκαετίες χωρίς να χρήζουν θεραπείας, ενώ άλλοι έχουν μια ταχέως εξελισσόμενη νόσο. Περίπου 60% των ασθενών είναι ασυμπτωματικοί κατά τη διάγνωση και η λεμφοκυττάρωση βρίσκεται τυχαία μετά από τακτικό αιματολογικό έλεγχο. Λεμφαδενοπάθεια μπορεί να εμφανίζεται στο 80% των ασθενών και σπληνομεγαλία που συχνά είναι μικρού ή μέτριου βαθμού, στο 50%.

#### **2.5 Προγνωστικοί παράγοντες**

Υπάρχει μια πληθώρα προγνωστικών δεικτών που βοηθούν στην ταξινόμηση των ασθενών με ΧΛΛ.

Σχήμα 3: Προγνωστικά μοντέλα στη ΧΛΛ



### 2.5.1 Σταδιοποίηση κατά Rai και Binet

Από το προγνωστικό μοντέλο των Rai<sup>64</sup> και Binet<sup>65</sup> πριν από τέσσερις περίπου δεκαετίες, στις μέρες μας έχουν ανακαλυφθεί αρκετοί παράγοντες που μας βοηθούν στην κατανόηση της πρόβλεψης για την πρώτη θεραπεία ή στην πρόγνωση των ασθενών στην συνολική επιβίωση. Το σύστημα κατά Rai βασίζεται στην αύξηση των λεμφοκυττάρων, στη λεμφαδενοπάθεια, σπληνομεγαλία, ηπατομεγαλία και τη διήθηση του μυελού που μεταφράζεται σε αναιμία και θρομβοπενία. Στη διάγνωση, οι μισοί ασθενείς βρίσκονται στα στάδια I-II και από 25% στα στάδια 0 και III-IV αντίστοιχα. Το σύστημα κατά Binet λαμβάνει υπόψη 5 λεμφαδενικές περιοχές (τραχηλική, μασχαλιαία και βουβωβική ετερόπλευρα ή αμφοτερόπλευρα, σπλήνα και ήπαρ). Στο στάδιο C στη διάγνωση βρίσκονται 20% των ασθενών, πολλοί από αυτούς με B συμπτώματα.

Πίνακας 8

	Κλινικά χαρακτηριστικά	Μέση επιβίωση (έτη)
<b>Rai</b>		
0 (χαμηλούκινδύνου)	Λεμφοκυττάρωση	>10
I, II (ενδιάμεσουκινδύνου)	Λεμφαδενοπάθεια, σπληνομεγαλία +/- ηπατομεγαλία	7
III, IV (υψηλούκινδύνου)	Αναιμία, θρομβοπενία	0,75 – 4

## Binet

A	<3 λεμφαδενικές περιοχές χωρίς αναιμία ή θρομβοπενία	12
B	>3 λεμφαδενικές περιοχές χωρίς αναιμία ή θρομβοπενία	7
C	Αναιμία <10g/dL Θρομβοπενία <100x10 <sup>9</sup> /L	2 – 4

---

### 2.5.2 Κυτταρογενετικές ανωμαλίες

Η εύρεση των προγνωστικών παραγόντων περιλαμβάνουν απλές εργαστηριακές δοκιμασίες (χρόνος διπλασιασμού λεμφοκυττάρων, LDH, β2 μικροσφαιρίνη, θυμιδίνη κινάση), όπως και δείκτες από την κυτταρομετρία ροής (έκφραση CD38, ZAP-70, CD49d). Το 1999, δύο ανεξάρτητες ομάδες ανέφεραν ότι ασθενείς που φέρουν σωματικές μεταλλάξεις στη βαριά αλυσίδα των ανοσοσφαιρινών (IGHV) - >2% διαφορά από τη γενετική αλληλουχία – έχουν μέση συνολική επιβίωση >20 έτη συγκρινόμενοι με αυτούς με αμετάλλακτη IGHV που είχαν μέση συνολική επιβίωση τα 8 έτη<sup>66,67</sup>. Η εισαγωγή της FISH στην ανίχνευση κυτταρογενετικών ανωμαλιών στα μη-διαιρούμενα κύτταρα οδήγησαν τον Dohner και συνεργάτες<sup>68</sup> να προτείνουν ένα καινούριο προγνωστικό μοντέλο στη ΧΛΛ. Απέδειξαν λοιπόν, ότι οι ασθενείς που έφεραν την έλλειψη του 17p είχαν τη βραχύτερη ολική επιβίωση (3 έτη περίπου), και ακολουθούσε η έλλειψη 11q23 (6,5 έτη), η τρισωμία 12 (9,2 έτη), η αρνητική FISH (9,5 έτη) και η έλλειψη του 13q14 (11 έτη). Σωματικές μεταλλάξεις που ανιχνεύονται με επόμενη γενιάς αλληλουχία βάσεων (Next generation Sequencing-NGS), έδειξαν ότι γονίδια που εμπλέκονται στη βλάβη του DNA και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου (ATM, TP53, RB1, BIRC3), Notch signaling (NOTCH1, NOTCH2, FBXW7), σηματοδότησης κυττοκινών (NRAS, KRAS, BRAF), μονοπάτια φλεγμονής (MYD88, DDX3X, MAPK1) και το SF3B1 (spliceosome machinery), επανειλημμένως μεταλλάσσονται στη ΧΛΛ. Παρόλο που οι μεταλλάξεις των γονιδίων αυτών δεν είναι απόλυτα γνωστές στην παθογένεια και στην έκβαση της νόσου, υπάρχουν ισχυρά δεδομένα ότι ασθενείς που φέρουν το NOTCH1 (συχνά σε ασθενείς με τρισωμία 12), το SF3B1 (κυρίως σε ασθενείς με έλλειψη 13q) και μεταλλάξεις του TP53 χρήζουν θεραπείας συντομότερα και έχουν μικρότερο PFS και OS. Άλλοι παράγοντες αποτελούν τα micro-RNAs, το B-cell receptor stereotypy, το μήκος των τελομερών κ.α.

### 2.5.3 Σταδιοποίηση νόσου CLL-IPI (International Prognostic Index)<sup>69</sup>

Το CLL-IPI μελέτησε 28 προγνωστικές μεταβλητές σε 3472 ασθενείς που δεν είχαν λάβει θεραπεία, από διάφορες μελέτες κέντρων, συμπεριλαμβανομένων και της Mayo Clinic και της Scandinavian CLL Cohort. Πέντε ανεξάρτητοι παράγοντες βρέθηκαν ότι επηρεάζουν την συνολική επιβίωση. Η ηλικία >65 ετών, το στάδιο I-IV κατά Rai, η β2 μικροσφαιρίνη ορού >3,5mg/L, η αμετάλλακτη IGHV και η έλλειψη 17p από FISH ή μετάλλαξη της TP53.

Πίνακας 9

Προγνωστικοί παράγοντες	Πόντοι
Έλλειψη 17p ή μεταλλάξεις του TP53	4
Αμετάλλακτη IGHV	2
B2 μικροσφαιρίνη ορού >3,5mg/L	2
Στάδιο κατά Rai-IV	1
Ηλικία >65 ετών	1

CLL-IPI score	Κατηγορία κινδύνου	5-ετής TFS	5ετής επιβίωση (%)	Αντιμετώπιση
0-1	Χαμηλού κινδύνου	78%	93,2	Χωρίς θεραπεία
2-3	Ενδιάμεσου κινδύνου	54%	79,3	Χωρίς θεραπεία εκτός αν συμπτωματική νόσος
4-6	Υψηλού κινδύνου	32%	63,3	Ενδείκνυται η θεραπεία εκτός αν ασυμπτωματική νόσος
7-10	Πολύ υψηλού κινδύνου	0%	23,3	Αν χρήζουν θεραπείας, προτιμότερο νέος παράγοντας ή θεραπεία σε κλινική μελέτη

Οι τέσσερις ομάδες κινδύνου (χαμηλού, ενδιάμεσου, υψηλού και πολύ υψηλού) είχαν και διαφορετικές συνολικές επιβιώσεις στα 5 έτη, 93%, 79%, 63% και 23% αντίστοιχα. Βέβαια, υπάρχουν περιορισμοί στο νέο προγνωστικό αυτό μοντέλο. Για παράδειγμα:

1. Δεν περιλαμβάνει ασθενείς που λαμβάνουν τις νέες θεραπείες
2. Δεν περιλαμβάνει συνοσηρότητες που μπορεί να έχουν οι ασθενείς και ούτε τις μεταλλάξεις γονιδίων που ανευρίσκονται από την NGS και
3. Παρόλο που ο πρωταρχικός στόχος ήταν η συνολική επιβίωση, περισσότερο εφαρμόζεται για τον προβλεπόμενο χρόνο έναρξης θεραπειάς σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει προηγούμενα.

## 2.6 Συγκεκριμένες μοριακές βλάβες

### 2.6.1 Έλλειψη 17p και μεταλλάξεις της TP53

Το ογκοκατασταλτικό p53 (TP53) ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1979 όταν δύο ανεξάρτητες ομάδες (Laneetal και Linzeretal) δημοσίευσαν την αλληλεπίδραση μιας κυτταρικής πρωτεΐνης περίπου 53-55 kDa και ενός μεγάλου T αντιγόνου ιού πιθήκου (SV40). Περιέχει 393 αμινοξέα και κωδικοποιείται από το TP53 γονίδιο στους ανθρώπους. Εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος (p) του χρωμοσώματος 17 (17p13.1) και διαθέτει 11 εξώνια από τα οποία τα 10 κωδικοποιούνται.

Η p53 αποτελεί μια ειδική δεσμευτική πρωτεΐνη που ρυθμίζει την μεταγραφή<sup>70</sup>. Αποτελείται από δύο τομείς μη τερματικής ενεργοποίησης με ένα πλούσιο σε προλίνη πεδίο, μία κεντρική DNA δεσμευτική περιοχή ακολουθούμενη από ένα C-τελικό άκρο και κωδικοποιεί την απαραίτητη περιοχή για την μεταγραφική δραστηριότητα. Τα επίπεδα της p53 είναι χαμηλά σε φυσιολογικά κύτταρα, αφού διατηρείται από μια σειρά ρυθμιστών όπως τον MDM2.

Ενώ η p53 έχει αρκετές λειτουργίες, η ικανότητα να προωθεί την απόπτωση και το “arrest” του κυτταρικού κύκλου είναι τα περισσότερο κατανοητά. Έχει αναγνωρισθεί ότι η p53 είναι ικανή να ρυθμίσει την CDKN1A (cyclin dependent kinase inhibitor), όπως επίσης έχει επιβεβαιωθεί ότι η μεταγραφική ικανότητα είναι ειδική για τους ιστούς και εμφανής στα λεμφοκύτταρα. Επιπλέον, μπορεί να πυροδοτήσει την απόπτωση επάγοντας τα προαποπτωτικά μέλη της οικογένειας της Bcl-2, διευκολύνοντας την ενεργοποίηση της κασπάσης με συνέπεια τον κυτταρικό θάνατο.

Η TP53 αποτελεί μέλος μιας μεγαλύτερης οικογένειας που περιλαμβάνει και την TP63 και την TP73. Σε αντίθεση με την TP53 οι TP63 και 73 δεν έχουν

ογκοκατασταλτικές ικανότητες. Αρχικά, θεωρούσαν ότι είναι ένα ογκογονίδιο, καθώς υπερεκφράζεται σε πολλές κακοήθειες όπως στον καρκίνο του μαστού ή του πνεύμονα. Αργότερα, ανακαλύφθηκε ότι η TP53 μεταλλάσσεται στις μισές περίπου κακοήθειες και η απώλεια της λειτουργίας ρύθμισης οδηγεί στην ογκογένεση. Οι μεταλλάξεις του TP53 συναντώνται στις περιπτώσεις του Li-Fraumeni συνδρόμου, ένα κληρονομικό σύνδρομο προδιαθεσικό καρκίνου. Η πλειοψηφία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων συχνά απενεργοποιούνται από ελλείψεις ή μεταλλάξεις προκαλώντας την απώλεια της έκφρασης των πρωτεϊνών. Αντίθετα, η TP53 είναι η μοναδική αφού η αδρανοποίηση και στα δύο αλληλία δεν χρειάζεται για να εξαλείψει την λειτουργία της. Η απώλεια της λειτουργίας της TP53 θεωρείται σημαντικό συμβάν στην ογκογένεση και στην ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία και τελικά στην πτωχή πρόγνωση σε πολλούς καρκίνους. Η πιο συχνή και χαρακτηριστική μετάλλαξη της TP53 λαμβάνει χώρα στο πεδίο σύνδεσης με το DNA και αποτελεί το 75% των μεταλλάξεων και από αυτό περίπου το 25% συμβαίνει στα κωδικόνια.

Έχουν περιγραφεί δύο κατηγορίες μεταλλαγμένης p53:

1. Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν τα αμινοξέα τα οποία βρίσκονται σε επαφή με το DNA εμποδίζοντας τη μεταγραφική δραστικότητα με μέγιστη διαταραχή στην πρωτεΐνη και
2. Αυτές που διαταράζουν την τρισδιάστατη δομή της πρωτεΐνης.

Παρόλο που οι μεταλλάξεις του γονιδίου συναντώνται περισσότερο σε συμπαγείς όγκους, η ΧΛΛ περιλαμβάνει ένα ασύνηθες υψηλό ποσοστό διαταραχών της TP53 με σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.

Για περισσότερο από μια δεκαετία, το χημειοθεραπευτικό σχήμα Φλουνταραμπίνη, Κυκλοφωσφαμίδη, Ριτουξιμάμπη (FCR), αποτελούσε για πρώτη φορά, την πρώτη γραμμή θεραπείας στους νέους ασθενείς σε καλή γενική κατάσταση με ΧΛΛ, παρέχοντας υψηλό ποσοστό ανταπόκρισης, βελτιωμένη επιβίωση ελεύθερης εξέλιξης νόσου και μακρύτερη ολική επιβίωση. Παρόλα αυτά το 25% των ασθενών υποτροπιάζουν τα δύο πρώτα έτη, χαρακτηρίζοντάς τους ως χημειοανθεκτικούς. Η Φλουνταραμπίνη, ανάλογο πουρινών, παρεμβαίνει στη σύνθεση και επιδιόρθωση του DNA στα διαιρούμενα και μη κύτταρα και έτσι απαιτεί μια λειτουργική p53 για να είναι δραστική.

Το κατώτερο όριο για θετικό αποτέλεσμα ποικίλλει στα διάφορα εργαστήρια με ένα όμως ευρέως αποδεκτό >10 - 20% των κυττάρων με 17p έλλειψη

Παρόλο που υπάρχει ισχυρή συσχέτιση της έλλειψης 17p και των μεταλλάξεων της TP53 με πτωχή πρόγνωση, υπάρχουν στοιχεία μεταβλητότητας στην κλινική πορεία και στους τύπους των τεκμηριωμένων μεταλλάξεων της TP53 στους ασθενείς.



Πράγματι, δεν έχουν όλοι οι ασθενείς με έλλειψη 17p την ίδια επιθετική νόσο. Υπάρχουν αναφορές για ασθενείς σε αρχικό στάδιο ΧΛΛ και έλλειψη του 17p, με επιβίωση >10 έτη χωρίς να χρήζουν θεραπείας (Bestetal, 2008). Ασθενείς με 17pdel στη διάγνωση (2-4%), 44% δεν έχρηζαν θεραπείας για 2 έτη και η επιβίωση στα 3 έτη έφτανε το 64%. Όπως αναφέρθηκε και στο CLL-IP1 προγνωστικό μοντέλο υπάρχει ετερογένεια που η επιβίωση στην 5ετία κυμαίνεται από 23-63%. Αντίθετα, ασθενείς που είχαν λάβει θεραπεία, παρουσίαζαν μεγαλύτερη συχνότητα επίκτητης έλλειψης του 17p (30-50%) και ταυτόχρονα, σημαντικά χειρότερη πρόγνωση με επιβίωση στην τριετία 47%. Βέβαια πιο σημαντικό φαίνεται να είναι το πώς ορίζουμε τη έλλειψη του 17p. Πράγματι, το ποσοστό της έλλειψης που επηρεάζει την πρόγνωση ποικίλλει στις διάφορες μελέτες. Ο Dohneretal (1995) καθιέρωσε ένα cutoff μόλις 3%, ενώ άλλοι απέδειξαν ότι ασθενείς με εύρεση >10-20% κύτταρα με έλλειψη 17p στη FISH έχουν πραγματικά πτωχότερη πρόγνωση<sup>71</sup>. Ο Delgado και συνεργάτες<sup>72</sup> το 2012 κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συνολική επιβίωση είναι ανάλογη του ποσοστού των κυττάρων με έλλειψη του 17p. Για τους ασθενείς με ποσοστό έλλειψης <25% η συνολική επιβίωση ήταν 64 μήνες, με 25-74% 39 μήνες και με >75% 21 μήνες.

### **2.6.2 Έλλειψη 11q22-23 (ATM)**

Η έλλειψη του χρωμοσώματος 11q22-q23, η οποία συμβαίνει στο 10-20% των περιπτώσεων, αποτελεί την 2<sup>η</sup> πιο συχνή ανωμαλία στην ΧΛΛ και ορίζει μια υποομάδα με νόσο που προοδεύει και πτωχή πρόγνωση. Στην πραγματικότητα, τα λευχαιμικά κύτταρα δείχνουν αυξημένα ποσοστά επιβίωσης, πιθανότατα λόγω της αναστολής της απόπτωσης και αλλαγών των γονιδίων που εμπλέκονται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και της επιβίωσης του κυττάρου.

Το ATM (ataxia-telangiectasia mutated) γονίδιο<sup>73</sup>, εδρεύει στο χρωμόσωμα 11q22-q23 με μία μικρή περιοχή σε έλλειψη που παρατηρείται στη ΧΛΛ, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του γονιδίου. Αποτελεί μέλος της οικογένειας της φωσφατιδυλινοσιτόλης-3 κινάσης (PT3K) γονιδίων και αποτελείται από 66 εξώνια από τα οποία τα 62 κωδικοποιούνται. Η ATM είναι μια πυρηνική σερίνη/θειονίνηκινάση πρωτεΐνη των 350 kDa, της οποίας οι ιδιότητες προέρχονται από θραύσεις διπλού κλώνου που ξεκινούν ενδογενώς ή μετά από έκθεση σε γεγονότα που επηρεάζουν το DNA, συμπεριλαμβανομένων την ιονίζουσα ακτινοβολία και τα φάρμακα. Η ATM πρωτεΐνη είναι ένα πλειοτρόπο μόριο που προστατεύει την ακεραιότητα του γονιδιώματος, ελέγχοντας το «arrest» του κυτταρικού κύκλου στις φάσεις G1/S και G2/M αποτρέποντας την εξέλιξη της βλάβης

του DNA και ενεργοποιώντας τα μονοπάτια της επιδιόρθωσής του προκαλεί απόπτωση εάν η βλάβη του DNA δεν δύναται να επιδιορθωθεί. Πολλές από αυτές τις δράσεις γίνονται μέσω του πεδίου της φωσφατιδυλινοσιτόλη-3 κινάσης στο C τελικό πεδίο της πρωτεΐνης. Η ομόζυγη μετάλλαξη του ATM γονιδίου προκαλεί την αταξία τελανγκιεκτασία (A-T), μια υπολειπόμενη αυτοσωμική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από νευρολογικά και ανοσολογικά συμπτώματα και προδιάθεση σε κακοήθεια, κυρίως του λεμφικού συστήματος. Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι οι φορείς ανέρχονται στο 0,5-1% σε διαφορετικές χώρες και ότι αυτοί έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο μαστού ή ΧΛΛ.

### **2.6.3 Μεταλλάξεις της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών**

Οι μεταλλάξεις της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών (IgHV) αποτελούν προγνωστικό παράγοντα για τους ασθενείς με ΧΛΛ. Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με μεταλλαγμένη IgVH ανταποκρίνονται καλύτερα στην ανοσοχημειοθεραπεία, ενώ οι ασθενείς με αμετάλλακτη χρήζουν θεραπείας συντομότερα, υποτροπιάζουν πιο εύκολα, χαμηλότερη ανταπόκριση στη θεραπεία ή και χημειοανθεκτικότητα και μικρότερη ολική επιβίωση. Γι αυτόν τον λόγο, αν και η σημασία της στους νέους θεραπευτικούς παράγοντες παραμένει λιγότερο σαφής, εντούτοις οι κατευθυντήριες οδηγίες από την International workshop on CLL (iwCLL) συστήνει την πραγματοποίηση της εξέτασης των μεταλλάξεων της IgVH στην αρχική σταδιοποίηση των ασθενών με ΧΛΛ. Μια αναδρομική μελέτη ολικής επιβίωσης και PFS 535 ασθενών με ΧΛΛ υπό ανοσοχημειοθεραπεία έδειξε ότι η εκατοστιαία απόκλιση της αλληλουχίας της μεταβλητής περιοχής του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών από τη κυτταρική αλληλουχία (IgHV%) είναι συνεχώς μεταβλητή. Η επιβίωση των ασθενών σχετίζεται με την συνεχόμενη αύξηση της IgHV% απόκλισης. Όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό της απόκλισης, τόσο καλύτερη θα είναι η ανταπόκρισή τους στη θεραπεία, υποδηλώνοντας ότι η IgHV% είναι συνεχής και όχι διχοτομημένη προγνωστική μεταβλητή. Επιπλέον, το γονιδιακό προφίλ της ΧΛΛ είναι ανεξάρτητο των μεταλλάξεων της IgVH. Συνδέεται στενά με αυτό του μετά βλαστικού κέντρου Β κύτταρα μνήμης και είναι παρόμοια με το γονιδιακό προφίλ των CD5+ φυσιολογικών Β κυττάρων. Τα κύτταρα των ασθενών με ΧΛΛ, ανεξάρτητα των αναδιατάξεων της IgVH, εκφράζουν το CD27, μια πρωτεΐνη επιφανείας που εκφράζεται στα Β κύτταρα μνήμης. Επίσης, τα κύτταρα ΧΛΛ είτε μεταλλαγμένης, είτε αμετάλλακτης IgHV παράγουν ένα ένζυμο (activation-induced deaminase-AID), το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στις σωματικές υπερμεταλλάξεις στα φυσιολογικά Β λεμφοκύτταρα. Επειδή τα φυσιολογικά Β κύτταρα μνήμης ομοιάζουν φαινοτυπικά με τα κύτταρα της ΧΛΛ και επειδή οι σωματικές

υπερμεταλλάξεις σε μοριακό επίπεδο συμβαίνουν και στα μεταλλαγμένα και στα αμετάλλακτα IgHV ΧΛΛ κύτταρα, είναι λογικό αν υποθέσουμε ότι όπως και στα φυσιολογικά κύτταρα Β κύτταρα μνήμης, όλα τα ΧΛΛ κύτταρα έχουν υποστεί σωματικές υπερμεταλλάξεις.

Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν την υπόθεση ότι το προφίλ των μεταλλάξεων προκαλείται από τον βαθμό πολλαπλασιασμού των ΧΛΛ κυττάρων. Διευρυμένα κέντρα πολλαπλασιασμού περιέχουν κύτταρα με υψηλό βαθμό πολλαπλασιασμού, τα οποία βρίσκονται χαρακτηριστικά στις βιοψίες λεμφαδένων ασθενών με αμετάλλακτη και όχι με μεταλλαγμένη IgVH. Επιπλέον, μελέτες που υπολογίζουν τον βαθμό πολλαπλασιασμού των ΧΛΛ κυττάρων, απέδειξαν μια στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ αυξημένου βαθμού πολλαπλασιασμού και ελαττωμένο προφίλ μεταλλάξεων της IgVH. Ο βαθμός μεταλλάξεων του γονιδίου της IgVH των ΧΛΛ κυττάρων, καθορίζεται από τον μηχανισμό της επιδιόρθωσης του DNA που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια των σωματικών υπερμεταλλάξεων. Τα κύτταρα της ΧΛΛ με μεγάλο βαθμό πολλαπλασιασμού, ένας μηχανισμός επιδιόρθωσης υψηλής χρηστικότητας (high utility) είναι εμπλεκόμενο, με αποτέλεσμα τα επίπεδα των μεταλλάξεων της IgVH να είναι χαμηλά (αμετάλλακτη), αντίθετα, τα κύτταρα της ΧΛΛ που πολλαπλασιάζονται σε χαμηλό ρυθμό, εμπλέκεται ένας χαμηλής χρηστικότητας μηχανισμός επιδιόρθωσης, με αποτέλεσμα τον υψηλό βαθμό μεταλλάξεων (μεταλλαγμένη). Ως εκ τούτου, η κατάσταση μεταλλάξεων του γονιδίου της IgVH, δεν επιδρά άμεσα στην πορεία της νόσου ή στην έκβαση της θεραπείας, αλλά μάλλον εξαρτάται στον βαθμό πολλαπλασιασμού των ΧΛΛ κυττάρων.

## **2.7 Ελάχιστη Υπολειπόμενη νόσος**

Η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος (MRD) στο τέλος της θεραπείας, αποτελεί έναν σημαντικό προγνωστικό δείκτη για την συνολική επιβίωση που αποδείχθηκε σε πολλές κλινικές μελέτες τόσο στην ανοσοχημειοθεραπεία όσο και στην εποχή των νέων θεραπειών. Οι κατευθυντήριες οδηγίες της IWCLL 2018<sup>74</sup> προτείνουν να χρησιμοποιούνται η πολλών παραμέτρων κυτταρομετρία ροής ή η allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction (PCR) για να ανιχνευθεί η MRD σε επίπεδα 0,01% (1 λευχαιμικό κύτταρο στα 10.000 λευκά αιμοσφαίρια). Ένας σημαντικός περιορισμός αποτελεί το ότι δεν δύναται να προβλέψει έκβαση νόσο σε ασυμπτωματικούς ασθενείς που βρίσκονται σε παρακολούθηση. Σε μια πρόσφατη μελέτη<sup>75</sup>, μελετήθηκε η αξία της MRD σε σχέση με την κλινική εξέλιξη των 554 ασθενών από τις CLL8 και CLL10. Οι ασθενείς με MRD(-) CR, MRD(-) PR, MRD(+)

CR και MRD(+) PR είχαν μέση PFS από την έναρξη έως το πέρας της θεραπείας, 61, 54, 35 και 21 μήνες αντίστοιχα. ενδιαφέρον προκάλεσε το γεγονός ότι το PFS δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με MRD(-) και CRMRD(-) PR. Σε μια αναδρομική μελέτη 536 ασθενών αναλύθηκαν αυτοί που είχαν πετύχει τουλάχιστον PR με διάφορες θεραπείες από το 1996 έως το 2007 και έλαβαν δείγμα μυελού στο τέλος της θεραπείας. Η MRD σχετιζόταν με την PFS και την OS ανεξάρτητα του τύπου και της γραμμής των θεραπειών. Η μεγαλύτερη επίπτωση της επίτευξης αρνητικής MRD φάνηκε στους ασθενείς μετά την 1<sup>η</sup> γραμμή θεραπείας με 10ετές PFS 65% vs 10% και 10ετή OS 70% vs 30% για τους MRD(-) vs MRD(+) αντίστοιχα.

## 2.8 Θεραπεία

Η απόφαση έναρξης θεραπείας εξαρτάται από την παρουσία ενεργής/συμπτωματικής νόσου. Ασυμπτωματικοί ασθενείς αρχικού σταδίου (RAI 0, BinetA) παρακολουθούνται χωρίς θεραπεία εκτός αν υπάρχουν ενδείξεις για ταχεία πρόοδο της νόσου. Έως τώρα πάντως δεν υπάρχουν μελέτες που να αποδεικνύουν ότι υπάρχει όφελος σε πρώιμη έναρξη θεραπείας. Όταν όμως οι ασθενείς εμφανιστούν με συμπτωματική νόσο ή νόσο σε πρόοδο, η θεραπεία πρέπει να ξεκινήσει. Τα κριτήρια είναι τα ακόλουθα:

Κριτήρια έναρξης θεραπείας (IWCLL 2018)

- Προοδευτική ανεπάρκεια μυελού, Hb<10g/dL, PLT<100x10<sup>9</sup>/L
- Εκσεσημασμένη (>6εκ κάτω από το αριστερό πλευρικό τόξο) ή προοδευτικά αυξανόμενη ή συμπτωματική σπληνομεγαλία.
- Εκσεσημασμένη (>10εκ η μέγιστη διάμετρος) ή προοδευτικά αυξανόμενη ή συμπτωματική λεμφαδενοπάθεια.
- Λεμφοκυττάρωση με αύξηση  $\geq 50\%$  σε δύο μήνες περίοδο ή διπλασιασμός του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων < 6 μήνες.
- Αυτοάνοσες επιπλοκές της ΧΛΛ που δεν ανταποκρίνονται στα κορτικοστεροειδή.
- Συμπτωματική εξωλεμφαδενική εντόπιση (π.χ. δέρμα, πνεύμονας, νεφρός, σπονδυλική στήλη)
- Συμπτώματα εκ νόσου:
  - Ακούσια απώλεια βάρους  $\geq 10\%$  του συνολικού βάρους σώματος το τελευταίο εξάμηνο
  - Σημαντική αδυναμία

- Πυρετός  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  για δύο ή περισσότερες εβδομάδες χωρίς καμία ένδειξη λοίμωξης.
- Νυχτερινοί ιδρώτες που διαρκούν  $\geq 1$  μήνα χωρίς ενδείξεις λοίμωξης.

Λευκόσταση σπάνια παρατηρείται στη ΧΛΛ και γι αυτόν τον λόγο ο απόλυτος αριθμός των λεμφοκυττάρων δεν πρέπει να αποτελεί τον μοναδικό παράγοντα έναρξης θεραπείας.

### **2.8.1 Ασθενείς που δεν πληρούν τα κριτήρια έναρξης θεραπείας**

Ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κινδύνου σύμφωνα με το CLL-IPI, θα πρέπει να παρακολουθούνται για τυχόν πρόοδο νόσου κάθε 6 -12 μήνες. Ασθενείς με υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου κάθε 3 – 6 μήνες. Ανεξάρτητα όμως του CLL-IPI score, οι ασθενείς θα πρέπει να συμβουλευονται για τον κίνδυνο λοιμώξεων και τους απαραίτητους εμβολιασμούς, για τον αυξημένο κίνδυνο μη αιματολογικών κακοηθειών και τον απαραίτητο έλεγχο τους σύμφωνα με την ηλικία και για τις κακοήθειες δέρματος με σύσταση για έλεγχο από δερματολόγο ανά έτος.

### **2.8.2 Ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια έναρξης θεραπείας**

Σ αυτήν την περίπτωση θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η φυσική κατάσταση του ασθενούς συμπεριλαμβανομένων και των συνοσηροτήτων. Για ασθενείς σε καλή γενική κατάσταση, όπως ορίζεται με το Cumulative illness rating scale (CIRS) score, μπορεί να δοθεί συνδυαστική χημειοθεραπεία όπως το FCR. Αντίθετα, σε ασθενείς με επηρεασμένη γενική κατάσταση η χλωραμβουκίλη σε συνδυασμό με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-DC20 (κυρίως obinutuzumab ως πιο δραστικό) είναι προτιμότερο ή μονοθεραπεία με Ibrutinib. Για τους ασθενείς με έλλειψη του 17p ή μεταλλάξεις του TP53 θα πρέπει να λαμβάνουν Ibrutinib εκτός αν αυτό αντενδείκνυται. Η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων θα πρέπει να συζητείται στην 1<sup>η</sup> ή 2<sup>η</sup> υποτροπή.

Ως 2<sup>η</sup> γραμμή θεραπείας, η επιλογή είναι διαφορετική αν η νόσος είναι ανθεκτική (υποτροπή στο πρώτο εξάμηνο μετά την θεραπεία) ή σε περιπτώσεις έλλειψης 17p. οι θεραπευτικές επιλογές είναι οι ακόλουθες.

1. Idelalisib-Rituximab ή Ibrutinib μονοθεραπεία

2. Venetoclax
3. Ibrutinib/venetoclax σε συνδυασμό με αντι-CD20 αντίσωμα
4. Αλλογενήςμεταμόσχευση αν δύναται
5. Alemtuzumab σε συνδυασμό ή ως μονοθεραπεία.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής ομάδας, οι ασθενείς σε καλή φυσική κατάσταση με ανθεκτική ΧΛΛ ή με έλλειψη 17p, εφόσον έχουν αποτύχει σε θεραπεία με αναστολέα κινάσης και έχουν ανταποκριθεί σε δεύτερο παράγοντα. Τέλος είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι ασθενείς με ανθεκτική νόσο πρέπει να θεραπεύονται σε κλινικές μελέτες όπου αυτό είναι εφικτό.

### 2.8.3 Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις

Τα ibrutinib, idelalisib και venetoclax έχουν πάρει έγκριση για την θεραπεία της ΧΛΛ. Το venetoclax είναι ένα BCL-2 mimetic που στοχεύει την BCL-2 πρωτεΐνη με σημαντική αντιαποπτωτική δραστηριότητα.

Οι κλάσης I φωσφατιδυλινοσιτόλη 3 κινάσες ελέγχουν κυτταρικές λειτουργίες σχετικές με την ογκόγνεση. Η έκφραση του PI3Kp110 δ ισοτύπου περιορίζεται σε αιμοποιητικά κύτταρα και παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των B κυττάρων. Στη ΧΛΛ το μονοπάτι της PI3K ενεργοποιείται και εξαρτάται από το PI3Kδ. Το **idelalisib** αποτελεί έναν από του στόματος αναστολέα που στοχεύει την phosphatidylinositol-3-kinasep110-delta (PI3Kδ). Προάγει την απόπτωση των λευχαιμικών κυττάρων χωρίς αυτή των T ή των NK κυττάρων. Το idelalisib αναστέλλει τη χημειοταξία των ΧΛΛ κυττάρων μέσω των CXCL12 και CXCL13. Σε μια φάσης I μελέτη<sup>76</sup>, το idelalisib χορηγήθηκε σε 54 ασθενείς με ογκώδη λεμφαδενοπάθεια (80%), μέσο αριθμό προηγηθείσων θεραπειών τις 5, ανθεκτικούς στη θεραπεία (70%), αμετάλλακτη IGVH (91%), del17p/mutatedTP53 (24%). Η πιο συχνή επιπλοκή ήταν η πνευμονία (20%), ο ουδετεροπενικός πυρετός (11%) και οι διαρροϊκές κενώσεις (6%). Η θεραπεία με idelalisib οδήγησε σε ποσοστό λεμφαδενικής ύφεσης 81% των ασθενών, ενώ το OR ήταν 72% και το PFS 15,8 μήνες.

Το **Ibrutinib** αποτελεί έναν από του στόματος ισχυρό, μικρομοριακό αναστολέα της τυροσινικήςκινάσηςBruton (BTK). Το Ibrutinib σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό με το υπόλειμμα της κυστεΐνης (Cys-481) στο ενεργό σημείο BTK, οδηγώντας στην παρατεταμένη αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας της BTK. Η BTK, μέλος της οικογένειας κινασώνTec, είναι ένα σημαντικό μόριο σηματοδότησης του αντιγονικού υποδοχέα των B-κυττάρων (BCR) και των μονοπατιών των υποδοχέων

κυτταροκινών. Το μονοπάτι BCR εμπλέκεται στην παθογένεση αρκετών κακοηθειών των B κυττάρων. Ο κείριος ρόλος της BTK στη σηματοδότηση μέσω των επιφανειακών υποδοχέων των B κυττάρων οδηγεί στην ενεργοποίηση των απαραίτητων μονοπατιών για την κυκλοφορία, χημειοταξία και προσκόλληση των B κυττάρων. Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι το Ibrutinib αναστέλλει αποτελεσματικά τον κακοήγη πολλαπλασιασμό και επιβίωση των B κυττάρων *in vivo* καθώς και τη μετανάστευση των κυττάρων και την προσκόλληση στο υπόστρωμα *in vitro*. Το ibrutinib συγκρίθηκε με το ofatumumab σε φάσης III μελέτη<sup>77</sup>. Σε μέση περίοδο 9,4 μηνών 391 ασθενών με ανθεκτική ή ΧΛΛ σε υποτροπή, το ibrutinib βελτίωνε σημαντικά το PFS, καθώς και την OS (90% vs 81% στους 12 μήνες). Στο ASH 2018 ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα της E1912 φάσης III μελέτης (ECOG-ACRIN) που σύγκρινε την δραστικότητα και την ασφάλεια του Ibrutinib με rituximab έναντι του FCR σε μη θεραπευμένους ασθενείς με ΧΛΛ/SLL<sup>78</sup>. Τα αποτελέσματα έδειξαν υπεροχή του σκέλους του ibrutinib-rituximab έναντι του FCR όσον αφορά στο PFS και στην OS με μεγαλύτερη ασφάλεια (grade 3 ουδετεροπενία 23% vs 44%, και λοιμώξεις 7,1% vs 17,7%).

Έχουν ανιχνευθεί μεταλλάξεις στο BTK (κυρίως η BTK<sup>C481S</sup>) και στο PLCG2 (R665W και L845F)<sup>79</sup> οδηγούν σε αυτόνομη BCR δραστηριότητα, ευθύνονται για την ανθεκτικότητα της ΧΛΛ στο ibrutinib. Η Woyach έδειξε ότι ο σύνθετος καρυότυπος, η έλλειψη του 17p13.1 και η ηλικία <65 ετών αποτελούσαν παράγοντες κινδύνου για πρόοδο νόσου. Στους ασθενείς που υποτροπίασαν, επίκτητες μεταλλάξεις του BTK και του PLCG2 ανιχνεύθηκαν στο 85% των ασθενών με μέσο χρόνο θεραπείας τους 9,3 μήνες.

Το **Venetoclax** (BH3-mimetic) είναι ένας ισχυρός εκλεκτικός αναστολέας της B-cell lymphoma (BCL)-2, μιας αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης. Τα ΧΛΛ κύτταρα παρουσιάζουν υπερέκφραση της BCL-2, η οποία βοηθά την επιβίωση των λευχαιμικών κυττάρων και την αντίσταση στη θεραπεία. Το venetoclax προσδένεται απευθείας στη BH3-αύλακα δέσμευσης της BCL-2, εκτοπίζοντας αποπτωτικές πρωτεΐνες που περιέχουν το μοτίβο BH3, όπως η BIM, ώστε να ξεκινήσει η διαπεράτωση της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου (MOMP), η ενεργοποίηση των κασπασών και ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Σε μη κλινικές μελέτες, το venetoclax απέδειξε κυτταροτοξική δραστικότητα σε καρκινικά κύτταρα που υπερεκφράζουν τη BCL-2. Τα αποτελέσματα μελετών έδειξαν ότι η μονοθεραπεία με venetoclax είναι δραστική και καλά ανεκτή σε ασθενείς με ανθεκτική ή ΧΛΛ σε υποτροπή με έλλειψη του 17p, παρέχοντας έτσι μία νέα θεραπευτική προσέγγιση για τον συγκεκριμένο πληθυσμό με πολύ πτωχή πρόγνωση<sup>80</sup>. Η

ανθεκτικότητα ορισμένων ασθενών στο venetoclax έγκειται στη μετάλλαξη Gly101Val στο BCL2 σε χρόνο ανίχνευσης τους 19-42 μήνες θεραπείας<sup>81</sup>.

Δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία αρκετά δεδομένα για τον τρόπο που ο ένας παράγοντας ακολουθεί τον άλλο, ούτε για τον τρόπο που χειριζόμαστε έναν ασθενή στον οποίο απέτυχε η θεραπεία με αυτούς. Οι ασθενείς που διέκοψαν κάποιον από αυτούς τους παράγοντες λόγω τοξικότητας είναι θετικότερο από το να τον διακόψουν λόγω προόδου νόσου ή ανθεκτικότητας. Επιπλέον δεν γνωρίζουμε σαφώς αν η χημειοανοσοθεραπεία θα αποτελέσει δραστική θεραπεία μετά από αυτούς. Στη μελέτη με τη μεγαλύτερη σε αριθμό ασθενών (683), ο Mato και συνεργάτες<sup>82</sup>, έδειξαν την υπεροχή του Ibrutinib στο idelalisib στην 1<sup>η</sup> γραμμή, στην ανθεκτική ή νόσο σε υποτροπή και στους ασθενείς υψηλού κινδύνου, παρά το υψηλότερο ORR που παρατηρήθηκε με το idelalisib-rituximab. Επίσης, έδειξαν ότι οι ασθενείς σε πρόοδο νόσου υπό θεραπεία με έναν από αυτούς τους παράγοντες, έχουν καλύτερη έκβαση με αλλαγή σε έναν άλλο, παρά με την συμβατική θεραπεία, όπως και την υπεροχή του venetoclax σε περιπτώσεις αποτυχίας της θεραπείας με ibrutinib.

#### **2.8.4 Θεραπεία σε συγκεκριμένους προγνωστικούς παράγοντες**

##### **TP53**

Όλοι οι ασθενείς χρήζουν εξέτασης έλλειψης 17p με τη μέθοδο FISH ή των μεταλλάξεων της TP53 με NGS, μιας που 3-5% των ασθενών θα φέρουν μεταλλάξεις της TP53 με αρνητική την ανίχνευση 17p13 με τη FISH. Οι ασθενείς αυτοί έχουν βραχεία επιβίωση ελεύθερης προόδου νόσου (PFS) και συνολική επιβίωση (OS) με την ανοσοχημειοθεραπεία με FCR ή Bendamustine-Rituximab (BR) κι έτσι δεν συνιστώνται. Αντίθετα, μια φάσης II μελέτη με θεραπεία με Ibrutinib σε προηγούμενα μη θεραπευμένους ασθενείς και με ύπαρξη TP53 ανωμαλία, έδωσε ORR 97%, πιθανότητα εξέλιξης νόσου στη διετία 9% και εκτιμώμενη συνολική επιβίωση στη διετία 84%. Αυτά τα αποτελέσματα κάνουν το Ibrutinib θεραπεία εκλογής σε αυτούς τους ασθενείς. Παράλληλα, θα πρέπει να αναφέρονται σε εξειδικευμένο κέντρο για την πιθανότητα αλλογενούς μεταμόσχευσης ή θεραπείας με CAR-Tcells θεραπεία.

##### **IGHV status και φυσική κατάσταση**

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με μεταλλαγμένη IGHV και χωρίς TP53 μεταλλάξεις, έχουν PFS>10 έτη με το θεραπευτικό σχήμα FCR. Το FCR ενδείκνυται σε νέους ηλικιακά ασθενείς (<65 ετών) και καλής φυσικής κατάστασης που μπορούν να ανεχθούν καλώς το σχήμα. Η CLL8 μελέτη<sup>83</sup> σύγκρινε το FCR vs FC σε ασθενείς που δεν είχαν λάβει άλλη θεραπεία πριν και έδειξε ότι η ORR ήταν >90%, Πλήρης



ύφεση (CR) επιτεύχθηκε στο 40% των ασθενών και η PFS ανερχόταν σε 52 μήνες. Στοιχεία από μελέτη φάσης II από το MDACC ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με FCR έδειξαν ότι σε παρακολούθηση 13 ετών, ο κίνδυνος 2παθούς μυελικής νεοπλασίας ήταν ~5% και εκτροπής σε σύνδρομο Richter ~8%. Μία αναδρομική μελέτη φάσης II από το MD Anderson Cancer Center ανέφερε ότι οι ασθενείς αυτοί που ήταν MRD αρνητικοί στον μυελό μετά από 3 κύκλους FCR, είχαν παρόμοια έκβαση με αυτούς τους ασθενείς που είχαν λάβει 6 κύκλους θεραπείας, προτείνοντας ότι ίσως θα μπορούσαν να αποφύγουν την συσσωρευμένη τοξικότητα του σχήματος αυτού. Η CLL10 μελέτη<sup>84</sup> που σύγκρινε τη θεραπεία με FCR vs BR έδειξε ότι οι ασθενείς του πρώτου σκέλους πέτυχαν υψηλότερα ποσοστά CR (40% vs 31%) και PFS (55 μήνες vs 42 μήνες), παρόλο που στην υποομάδα των ασθενών >65 ετών το FCR οδήγούσε σε μεγαλύτερο ποσοστό λοιμώξεων και αιματολογικών τοξικοτήτων.

**Οι ηλικιωμένοι ασθενείς με επηρεασμένη φυσική ικανότητα ή συνοσηρότητες (CIRS>7)** η θεραπεία με χλωραμβουκίλη και obinutuzumab δίνει υψηλότερα ποσοστά ORR (78% vs 65%) και PFS (29 μήνες vs 15 μήνες), συγκρινόμενο με τη χλωραμβουκίλη και Rituximab στην CLL11 μελέτη<sup>85</sup>. Η RESONATE-2 μελέτη<sup>86</sup> σύγκρινε το Ibrutinib έναντι της χλωραμβουκίλης σε ηλικιωμένους ασθενείς με κακή φυσική κατάσταση (≥65 ετών, 69% CIRS score>6, χωρίς έλλειψη του 17p) και έδειξε ότι μετά από μια μέση παρακολούθηση 18 μηνών η μέση PFS δεν επιτεύχθηκε για το Ibrutinib, ενώ για τη χλωραμβουκίλη ήταν 18,9 μήνες. Η OS στους 24 μήνες ήταν 98% για το σκέλος του Ibrutinib έναντι 85% στο σκέλος της χλωραμβουκίλης. Τα ποσοστά αυτά ήταν παρόμοια στους μεταλλαγμένους και μη IGHV ασθενείς, αποδεικνύοντας έτσι ότι η θεραπεία με Ibrutinib μπορεί να εξαλείψει τη πτωχή πρόγνωση της αμετάλλακτης IGHV στους ασθενείς.

Συνοψίζοντας και έως να έχουμε τα αποτελέσματα μελετών εν εξελίξει, η ανοσοχημειοθεραπεία με FCR σε ασθενείς <65 ετών και BR σε ασθενείς >65 ετών με μεταλλαγμένη IGHV αποτελούν τις θεραπείες εκλογής. Για τους ασθενείς αυτούς που φέρουν αμετάλλακτη IGHV το Ibrutinib προτιμάται κυρίως με μη ευνοϊκές ελλείψεις από τη FISH (π.χ έλλειψη 11q).

### **2.8.5 Θεραπεία ανθεκτικής ΧΛΛ ή σε υποτροπή**

Όλοι οι ασθενείς σε υποτροπή, θα πρέπει να επανεκτιμώνται για το νόσημα (PET-CT σε υποψία εκτροπής σε σύνδρομο Richter) και να επαναλαμβάνουν τουλάχιστον την TP53 προ έναρξης νέας θεραπείας.

Σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει Ibrutinib:

Η κεντρική μελέτη RESONATE σύγκρινε το Ibrutinib με το Ofatumumab σε 391 ασθενείς με ΧΛΛ/SLL σε υποτροπή περιλαμβάνοντας και τους ασθενείς υψηλού κινδύνου. Μετά από μια μέση παρακολούθηση 9,4 μηνών η PFS δεν είχε επιτευχθεί στο σκέλος του Ibrutinib συγκρινόμενο με τους 8,1 μήνες στο σκέλος του Ofatumumab και η συνολική επιβίωση στους 12 μήνες ήταν 90% vs 81% αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν και οι ασθενείς με έλλειψη του 17p13. Πρόσφατα, τον Σεπτέμβριο του 2019, ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα της φάσης III RESONATE μελέτης. Σύμφωνα με αυτά, σε παρακολούθηση 65,3 μηνών, το PFS στο σκέλος του Ibrutinib ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο σε σχέση με το ofatumumab (44,1 vs 8,1 μήνες), ακόμα και σε αυτούς τους ασθενείς που έφεραν την έλλειψη του 17p, TP53 μεταλλάξεις, έλλειψη 11q +/- αμετάλλακτη IGHV που αντιπροσώπευαν το 82% των ασθενών. Η συνολική ανταπόκριση ήταν 91% και η συνολική επιβίωση επίσης καταγραφόταν υπέρ του Ibrutinib. Υπέρταση και κοιλιακή μαρμαρυγή συνέβη σε 21 και 12% αντίστοιχα. Μόνο το 16% των ασθενών υποχρεώθηκε να διακόψει τη θεραπεία λόγω ανεπιθύμητων παρενεργειών.

Μια τυχαιοποιημένη μελέτη που σύγκρινε το Ibrutinib vs Ibrutinib-Rituximab σε ασθενείς που δεν είχαν λάβει θεραπεία προηγούμενα και σε ασθενείς σε υποτροπή ή ανθεκτικό νόσημα απέτυχε να αποδείξει όφελος στην προσθήκη του Rituximab, συνιστώντας, μέχρι να είναι διαθέσιμα περισσότερα δεδομένα, ότι το Ibrutinib μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μονοθεραπεία. Τα πιο συχνά μη αιματολογικά ανεπιθύμητα συμβάματα (Grade  $\geq 3$ ) στη μελέτη RESONATE αναφέρονταν η πνευμονία (10%), η διάρροια (5%) και οι αρθραλγίες (2%). Άλλες αποτελούσαν η υπέρταση (15%), η κοιλιακή μαρμαρυγή (10%) και η αιμορραγία (7%). Λοιμώξεις από έρπητα, πνευμονία από *pneumocystis jirovecii* και ασπεργίλωση έχουν επίσης αναφερθεί. Ανεξάρτητα από τις κλινικές μελέτες, στην κλινική πράξη έχει σημειωθεί ότι περίπου 40% των ασθενών αναγκάζονται να διακόψουν το Ibrutinib μετά από 2 έτη θεραπείας λόγω δυσανεξίας ή τοξικότητας.

Το venetoclax έχει δώσει υποσχόμενα αποτελέσματα στη θεραπεία της ΧΛΛ σε υποτροπή. Ως μονοθεραπεία σε 107 ασθενείς που φέρουν έλλειψη του 17p13, η ORR ήταν 79% και η PFS 72% στους 12 μήνες. Βασισμένα σε αυτά τα αποτελέσματα πήρε έγκριση από το FDA για τη θεραπεία ΧΛΛ σε υποτροπή με έλλειψη 17p13. Η μελέτη MURANO φάσης III<sup>87</sup>, σύγκρινε τον συνδυασμό venetoclax-rituximab (VR) vs bendamustine-rituximab (BR) σε 389 ασθενείς με υποτροπή. Μετά από μέση παρακολούθηση 2 ετών, η PFS ήταν 85% στο σκέλος VR vs 36% στο BR. Επιπρόσθετα, η αρνητική MRD στο αίμα των ασθενών ήταν σε σημαντικά αυξημένα ποσοστά στο σκέλος VR vs BR (83% vs 23%), αποδεικνύοντας ότι ο συνδυασμός

Venetoclax-Rituximab μπορεί να πετύχει βαθιές υφέσεις ακόμα και σε ασθενείς με πτωχά προγνωστικά σημεία.

Τα πιο συχνά ανεπιθύμητα συμβάματα στο venetoclax αναφέρονταν η ουδετεροπενία (50%), το σύνδρομο λύσης όγκου και οι λοιμώξεις.

Όπως και να χει, η επιλογή του venetoclax έναντι του ibrutinib και μέχρι να έχουμε αποτελέσματα μελετών που να τα συγκρίνουν, έγκειται στις συνοσηρότητες των ασθενών. Σε ασθενείς με σημαντική καρδιαγγειακή νόσο και που λαμβάνει αντιπηκτική θεραπεία ή με κίνδυνο αιμορραγιών, προτιμάται το venetoclax. Αντίθετα, ασθενείς με ογκώδη νόσο (>10εκ λεμφαδένες), οι οποίοι είναι σε κίνδυνο για σύνδρομο λύσης όγκου, είναι ίσως πιο κατάλληλο το Ibrutinib.

Ο συνδυασμός idelalisib – rituximab έχει επίσης εγκριθεί για τη θεραπεία ΧΛΛ σε υποτροπή. Το idelalisib πάντως έχει ενοχοποιηθεί για ανεπιθύμητα συμβάματα βαθμού>3 περιλαμβάνοντας τη κολίτιδα και την πνευμονίτιδα, όπως και επανεργοποίηση CMV και P. Jirovecii, κάνοντάς το λιγότερο επιθυμητό αν υπάρχουν και άλλες εναλλακτικές θεραπείες. Άλλες θεραπευτικές επιλογές που βρίσκονται σε φάση III μελέτες είναι το acalabrutinib, duvelisib και το umbralisib.

### **Ασθενείς σε υποτροπή υπό Ibrutinib**

Οι ασθενείς με ΧΛΛ που υπόκεινται σε πρόοδο νόσου μπορεί να έχουν ταχεία εξέλιξη και πτωχή πρόγνωση. Το σημαντικότερο είναι να διακρίνουμε αν πρόκειται για εκτροπή σε Richter ή πρόοδο νόσου της ΧΛΛ σε αυτούς τους ασθενείς. Ο σύνθετος καρυότυπος και η BCL6 ανωμαλία σχετιζόταν σε εκτροπή σε Richter σε μια μελέτη 300 ασθενών περίπου που ελάμβανε Ibrutinib. Η εκτροπή συνέβαινε κυρίως το πρώτο έτος, ενώ η πρόοδος νόσου συνέβαινε κυρίως στο δεύτερο έτος θεραπείας με Ibrutinib. Δυστυχώς στην εποχή των καινούριων παραγόντων η αξία του PET δεν είναι απόλυτα σαφής. Επομένως, όλοι οι ασθενείς με ταχέως εξελισσόμενη νόσο, κυρίως στο πρώτο έτος θεραπείας με Ibrutinib και με αύξηση της LDH, πρέπει να υποβάλλονται σε PET scan και σε βιοψία λεμφαδένα προς αποκλεισμό του συνδρόμου.

Σε 91 ασθενείς που ήταν ανθεκτικοί ή είχαν δυσανεξία στο Ibrutinib, το venetoclax σχετίστηκε με ORR 65% (CR: 9%) και μέσο χρόνο προόδου νόσου τους 24 μήνες.

Η CAR-T cell θεραπεία έχει δείξει αξιοσημείωτα αποτελέσματα στη θεραπεία των ασθενών με ΧΛΛ σε πρόοδο νόσου υπό Ibrutinib. Σε μελέτη 27 ανθεκτικών ή σε υποτροπή ΧΛΛ (οι 19 ασθενείς βρίσκονταν υπό Ibrutinib), η anti CD19 CAR-Tcell θεραπεία σχετιζόταν με ORR 74% στις 4 εβδομάδες, με CR 21%. Το 83% των

ασθενών (20 ασθενείς) ανέπτυξαν σύνδρομο κυττοκινών και 33% (8 ασθενείς) νευροτοξικότητα, η οποία ήταν αναστρέψιμη σε όλους πλην ενός που απεβίωσε.

## 2.9 Κριτήρια ανταπόκρισης στη θεραπεία

### CR - Απόλυτη ανταπόκριση

- i. απουσία κλωνικής λεμφοκυττάρωσης
- ii. απουσία σημαντικής λεμφαδενοπάθειας
- iii. απουσία ψηλαφητής ηπατοσπληνομεγαλίας
- iv. απουσία συμπτωμάτων
- v. Ουδετερόφιλα:  $\geq 1500/\mu\text{L}$
- vi. Αιμοπετάλια:  $> 100.000/\mu\text{L}$
- vii. Hb:  $> 11\text{g/dL}$
- viii. BM ελεύθερος κλωνικών λεμφοκυττάρων (στις κλινικές μελέτες)

### CRi

Κριτήρια CR , αλλά με εμμένουσα αναιμία, θρομβοπενία ή ουδετεροπενία

### PR – Μερική ύφεση

- a.  $\geq 50\%$  ελάττωση των λεμφοκυττάρων αίματος
- b.  $\geq 50\%$  μείωση του μεγέθους των λεμφαδένων και χωρίς την παρουσία καινούριων λεμφαδένων
- c.  $\geq 50\%$  μείωση του μεγέθους του σπληνός ή του ήπατος
- d. Ουδετερόφιλα  $\geq$  ή  $> 50\%$  βελτίωση από την αρχική τιμή
- e. Αιμοπετάλια  $\geq 100.00/\mu\text{L}$  ή  $> 50\%$  βελτίωση από την αρχική τιμή
- f. Hb  $\geq 10\text{g/dL}$  ή  $> 50\%$  βελτίωση από την αρχική τιμή

## **2.10 Ειδικές καταστάσεις**

### **2.10.1 Αυτοάνοσες εκδηλώσεις<sup>88</sup>**

Αυτοάνοσες πενίες απαντώνται στο 5-10% των ασθενών με ΧΛΛ. Θεραπεία εκλογής αποτελούν τα κορτικοστεροειδή και το Rituximab ως μονοθεραπεία. Σε ασθενείς που η θεραπεία για ΧΛΛ ενδείκνυται ή είναι ανθεκτικοί στα κορτικοειδή, πρέπει να ακολουθείται θεραπεία για τη ΧΛΛ. Η φλουνταραμπίνη οξύνει την αιμολυτική αναιμία στη ΧΛΛ και πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς με ιστορικό αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας.

### **2.10.2 Λοιμώξεις<sup>89</sup>**

Οι λοιμώξεις αποτελούν τη σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας των ασθενών με ΧΛΛ. Οι ασθενείς αυτοί έχουν υποστεί βλάβες στην κυτταρική και χυμική ανοσία. Έχουν αναφερθεί δυσλειτουργία των ουδετεροφίλων και των NK κυττάρων και μειωμένη δραστηριότητα του συμπληρώματος. Οι μηχανισμοί της ανοσοανεπάρκειας των ασθενών με ΧΛΛ ποικίλλουν και σχετίζονται με την ίδια τη νόσο, την ίδια φυσική κατάσταση των ασθενών, αλλά και με τις θεραπείες που λαμβάνουν.

#### **Παράγοντες νόσου**

- Στάδιο νόσου
- Κατάσταση νόσου (διάγνωση, ανθεκτική, υποτροπή)
- Ανοσοανεπάρκεια (υπογαμμασφαιρηναιμία, μειωμένη λειτουργικότητα T κυττάρων)
- Ανταπόκριση της νόσου στη θεραπεία

#### **Παράγοντες ασθενούς**

- Προχωρημένη ηλικία
- Συνοσηρότητες
- Φυσική κατάσταση

#### **Παράγοντες θεραπείας**

- Είδος τρέχουσας θεραπείας
- Διάρκεια θεραπείας

- Μονοθεραπεία ή συνδυασμός φαρμάκων
- Είδος, αριθμός προηγούμενων θεραπειών (αντι-CD20 μονοκλωνικά αντισώματα, ανάλογα πουρινών)

## 2.11 Νέα φάρμακα και κίνδυνος λοίμωξης

### Ibrutinib

Η χορήγηση Ibrutinib ως 1<sup>η</sup> γραμμή θεραπείας δίνει συχνότητα λοιμώξεων 4-10%. Όταν δίνεται όμως ως θεραπεία σε υποτροπή τα ποσοστά αυτά ανέρχονται σε 24-50% των ασθενών. Οι περισσότερες περιπτώσεις αφορούν στο πρώτο εξάμηνο θεραπείας σε σχέση με τα επόμενα, ίσως γιατί αργότερα ελέγχεται καλύτερα η νόσος. Οι πιο συχνές εντοπίσεις αφορούν στο αναπνευστικό, στο δέρμα και μαλακά μόρια και στο ουροποιητικό σύστημα. Σε κλινικές μελέτες με Ibrutinib αναφέρθηκαν και ασπεργιλώσεις, όπως και λοιμώξεις από *pneumocystis jirovecii*. Το κεντρικό νευρικό και το αναπνευστικό εμπλέκονταν πιο συχνά.

### Idelalisib

Έχουν αναφερθεί σημαντικές παρενέργειες με τη χορήγηση του Idelalisib όπως πνευμονίτιδα, ηπατίτιδα και κολίτιδα που χρήζουν χορήγησης ευρέως φάσματος αντιβιοτικά και διερεύνηση πιθανών παθογόνων. Στην κολίτιδα συνιστάται και λήψη κορτικοειδών, άλλου ένα γνωστού ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου λοιμώξεων. Σε φάσης I, II μελέτες το idelalisib είτε ως μονοθεραπεία, είτε σε συνδυασμό με rituximab, αναφέρθηκαν πνευμονίες σημαντικού βαθμού έως 20%. Έχει σημειωθεί σε μελέτες ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ευκαιριακών και μη λοιμώξεων σε ασθενείς που λαμβάνουν idelalisib σε συνδυασμό με bendamustine και rituximab ή άλλων ανοσοτροποποιητικών παραγόντων. Οι λοιμώξεις και η αύξηση θνησιμότητας είχαν ως αποτέλεσμα μελέτες με το idelalisib να διακοπούν. Ως εκ τούτου, η προφυλακτική χορήγηση για πνευμονία από *pneumocystis jirovecii* επιβάλλεται, καθώς και μηνιαίο έλεγχο για πιθανή επανεργοποίηση του CMV. Παρόλο που δεν σημειώθηκε ενεργοποίηση του ιού της ηπατίτιδας στους ασθενείς που ελάμβαναν idelalisib ως μονοθεραπεία, όταν αυτό δίνεται σε συνδυασμό με μονοκλωνικά αντισώματα όπως το rituximab, απαιτείται προφυλακτική αγωγή.

## Venetoclax

Η χορήγηση του venetoclax σχετίζεται με σημαντικού βαθμού ουδετεροπενία (40-50%). Σε φάσης I μελέτη σε ασθενείς με ΧΛΛ σε υποτροπή η συχνότητα σοβαρών λοιμώξεων ανερχόταν στο 17% και εμπύρετη ουδετεροπενία στο 7%. Ανάλογα, 80% των ασθενών σε υποτροπή παρουσίασαν λοίμωξη όταν δινόταν σε συνδυασμό με rituximab, εκ των οποίων στο 16% ήταν σημαντικού βαθμού.

Συνοψίζοντας, προφύλαξη έναντι του *pneumocystis jirovecii* συνιστάται στους ασθενείς κατά τη διάρκεια θεραπείας με ανάλογα πουργινών και alemtuzumab. Λόγω της παρατεταμένης ανοσοκαταστολής που παρέχουν τα σχήματα που περιέχουν φλουνταραμπίνη, συνιστάται και η παρατεταμένη χορήγηση της προφυλακτικής αγωγής. Προφύλαξη για *pneumocystis* θα πρέπει να δίνεται και στους ασθενείς που λαμβάνουν idelalisib, λόγω της υψηλής συχνότητας κυρίως σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες. Στους ασθενείς που λαμβάνουν venetoclax όταν δεν υπάρχουν άλλοι παράγοντες κινδύνου δεν συνιστάται η προφυλακτική χορήγηση για *pneumocystis* με τα μέχρι τώρα δεδομένα. Αντιμυκητιασική προφύλαξη χρήζουν οι ασθενείς σε υποτροπή που λαμβάνουν ibrutinib μετά από φλουνταραμπίνη ή alemtuzumab. Δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα για τη χορήγησή της σε ασθενείς με ibrutinib χωρίς άλλους παράγοντες κινδύνου. Δεν πρέπει να ξεχνάμε τη συνέργεια των αζολών με τα ibrutinib, venetoclax και idelalisib λόγω της αναστολής του CYP3A4 μεταβολικού μονοπατιού. Γι αυτόν τον λόγο τακτική παρακολούθηση της τοξικότητας ή μείωση των δόσεων απαιτείται ανάλογα των οδηγιών της φαρμακοκινητικής. Ο κίνδυνος λοιμώξεων στις νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις και οι συαστάσεις συνοψίζονται στον πίνακα 10.

Πίνακας 10

Θεραπεία	Λοίμωξη	Ασθενείς	Συστάσεις
<b>ibrutinb</b>	Ασπεργίλλωση	R/R, θεραπεία συνδυασμού	Προφύλαξη λαμβάνοντας υπόψη πρόσφατες θεραπείες, ανοσοκαταστολή και προηγούμενες μυκητιασικές λοιμώξεις
	Πνευμονία από <i>Pn.jirovecii</i>	1 <sup>η</sup> γραμμή, μονοθεραπεία	Τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη
	Πνευμονία από <i>Pn.jirovecii</i>	R/R, θεραπεία συνδυασμού	Τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη
	Ηπατίτιδα Β	R/R Μονοθεραπεία/συνδυασμένη	HBV προφύλαξη σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Μηνιαίος έλεγχος σε HbsAg-, HBcAb+, προφύλαξη αν + Rituximab
<b>idelalisib</b>	Γρίππη	Όλοι	Εμβολιασμός
	<i>Pn.jirovecii</i>	R/R, συνδυασμένη θεραπεία	Τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη
	CMV	R/R, συνδυασμένη θεραπεία	Μηνιαίος έλεγχος με PCR
	Ηπατίτιδα Β	R/R, συνδυασμένη θεραπεία	Προφύλαξη σε χρόνια HBsAg+ Προφύλαξη σε HBsAg-, HBcAb+ με συγχορήγηση ή χορήγηση Rituximab το τελευταίο έτος
<b>venetoclax</b>	Ασπεργίλλωση	R/R	Προφύλαξη λαμβάνοντας υπόψη παρατεταμένη ουδετεροπενία, πρόσφατες θεραπείες, ανοσοκαταστολή και προηγούμενες μυκητιασικές λοιμώξεις
	<i>Pn. jirovecii</i>	R/R, συνδυασμού θεραπεία	Τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη σε περίπτωση προηγούμενων θεραπειών με φλουνταραμπίνη ή άλλων με παρατεταμένη ανοσοκαταστολή
	Ηπατίτιδα Β	R/R, συνδυασμού θεραπεία	Προφύλαξη σε χρόνια HBsAg+ Προφύλαξη σε HBsAg-, HBcAb+ με συγχορήγηση ή χορήγηση Rituximab το τελευταίο έτος



## 2.12 Επιπλοκές

### 2.12.1 Αυτοάνοσα φαινόμενα<sup>88,90</sup>

Πολλά κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αυτοάνοσων πενιών. Η συχνότητα των αυτοάνοσων πενιών είναι δύσκολο να εκτιμηθούν, αφού μπορεί να προηγούνται της διάγνωσης ή να παρουσιαστούν σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή της πορείας της ΧΛΛ. Σε μια μελέτη 1750 ασθενών σε παρακολούθηση 10 ετών στη Mayo Clinic, αυτοάνοσες κυτταροπενίες βρέθηκαν στο 4,3% των ασθενών με συχνότερη την AAA (2,3%). Σε μια άλλη προοπτική μελέτη 960 ασθενών αυτοάνοσες πενίες διαγνώσθηκαν στο 7% εκ των οποίων 27% στη διάγνωση, 4% προηγούνταν της διάγνωσης και 68% στην πορεία της νόσου. Εκτιμάται ότι τα ποσοστά αυτά για την AIHA, ITP, PRCA και AG είναι 4,5-11%, 2-5%, <1%, <1% αντίστοιχα. Στις περισσότερες μελέτες έχει αναφερθεί ότι ασθενείς με προχωρημένο στάδιο νόσου, έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (AIHA). Ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος και στους ηλικιωμένους ασθενείς, ανεξάρτητα το στάδιο της νόσου. Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, όπως και η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα έχουν συνδεθεί με πτωχούς προγνωστικούς παράγοντες, όπως αμετάλλακτη IGHV, έκφραση του ZAP70, και αύξηση της β2 μικροσφαιρίνης ορού.

Τα αυτοάνοσα φαινόμενα μπορούν να προηγούνται της διάγνωσης της ΧΛΛ. Αυτό ενισχύεται με την παρατήρηση ότι η MBL είχε αυξημένη επίπτωση AIHA και ITP σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.

#### **Αυτοάνοση Αιμολυτική αναιμία (AIHA)**

Επίπεδα αιμοσφαιρίνης <11g/dL, σε απουσία κυτταροτοξικής θεραπείας τον τελευταίο μήνα ή άλλης αιτιολογίας

Τουλάχιστον ένα εργαστηριακό εύρημα αιμόλυσης όπως αυξημένη έμμεση χολερυθρίνη χωρίς βλάβη του ήπατος, αύξηση της LDH, ελάττωση απποσφαιρινών, αυξημένα ΔΕΚ χωρίς εμφανή αιμορραγία.

Θετική άμεση Coombs (μη ιδιαίτερα διαγνωστική).

#### **Αυτοάνοση θρομβοπενία (ITP)**

Ανεξήγητη πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων <100x10<sup>9</sup>/L και

Απουσία υπερσπληνισμού ή σπληνομεγαλίας ή ανεπάρκειας μυελού και

Φυσιολογικός ή αυξημένος ο αριθμός των μεγακαρυοκυττάρων και

Μη κυτταροτοξική θεραπεία τον τελευταίο μήνα και

Αποκλεισμός άλλων αιτιών θρομβοπενίας ( π.χ. λοιμώξεις, ΔΕΠ, θρομβοπενία από ηπαρίνη, δυσπλασία μεγακαρυοκυττάρων)

### **Αμιγής απλασία ερυθρών (PRCA)**

Ορθόχρωμη ορθοκυτταρική αναιμία, με Hb: 11g/dL, που δεν μπορεί να αιτιολογηθεί, και

Απόλυτη δικτυοερυθροκυτταροπενία, και

Μυελόγραμμα με απουσία ή σημαντικά ελαττωμένες τις πρόδρομες μορφές της ερυθράς σειράς με φυσιολογικές την μυελική και μεγακαρυοκυτταρική.

Η PRCA μπορεί να σχετιστεί με λοιμώξεις από EBV, CMV και παρβοϊό B19.

### **Αυτοάνοση κοκκιοκυτταροπενία (NG)**

Δεν υπάρχουν διαγνωστικά κριτήρια λόγω της σπανιότητάς της. Μπορεί να την υποψιασθούμε σε αμιγή ουδετεροπενία όταν δεν υπάρχει άλλη αιτιολογία, όπως διατροφικές ανεπάρκειες, μακροχρόνια τοξικότητα από προηγούμενες θεραπείες ή 2παθή μυελοδυσπλασία.

Ασθενείς με αυτοάνοσες κυτταροπενίες είναι πιο πιθανό να αφορούν ηλικιωμένους ασθενείς με προχωρημένο στάδιο κατά Rai, με υψηλό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων, αμετάλλακτη IGHV και υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές ανωμαλίες.

Η πιθανότητα ότι η θεραπεία μπορεί να πυροδοτήσει τα αυτοάνοσα φαινόμενα σε ασθενείς με ΧΛΛ αναγνωρίστηκε από τις αρχές του 1990, όπου είχαν ενοχοποιηθεί τα ανάλογα των πουρινών και κυρίως η φλουνταραμπίνη. Υπήρχε η πεποίθηση ότι προερχόταν από την καταστολή των CD4+ T κυττάρων που προκαλεί η φλουνταραμπίνη.

Πρόσφατα, μελέτες έδειξαν ότι ο κίνδυνος για αυτοάνοσα φαινόμενα μετά από θεραπεία με ανάλογα πουρινών δεν είναι μεγαλύτερος σε σχέση με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες. Στη CLL4 μελέτη δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη συχνότητα των ασθενών που έγιναν Coombs θετικοί μετά από θεραπεία (14% χλωραμβουκίλη, 13% φλουνταραμπίνη, 10% φλουνταραμπίνη σε συνδυασμό με κυκλοφωσφαμίδη), αποδεικνύοντας έτσι ότι η κυκλοφωσφαμίδη παίζει έναν προστατευτικό ρόλο στην εμφάνιση της AIHA.

Σε μια σειρά 1203 ασθενών με ΧΛΛ, η AIHA συνδυαζόταν με ενεργό νόσο, αλλά χωρίς αρνητική έκβαση νόσου. Σε μια ομάδα 1750 ασθενών, σύγκριναν τις πενίες των ασθενών λόγω αυτοάνοσων συμβαμάτων με αυτές από μυελική ανεπάρκεια. Οι ασθενείς με μυελική ανεπάρκεια είχαν σαφώς χειρότερη πρόγνωση από αυτούς με αυτοάνοσες πενίες. Η μελέτη CLL4 αντίθετα έδειξε ότι οι ασθενείς με θετική άμεση

Coombs και AIHA, είχαν χειρότερη πρόγνωση από αυτούς τους ασθενείς με αρνητική. Πρέπει εδώ όμως να αναφέρουμε ότι οι συγκεκριμένοι ασθενείς της μελέτης έχρηζαν θεραπειάς.

Μια μέλετη με 1278 ασθενείς με ITP, έδειξε ότι η εμφάνιση ITP στη διάγνωση ή σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή της ΧΛΛ, σχετιζόταν με χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με ασθενείς που δεν είχαν ποτέ εμφανίσει, ίσως γιατί βρέθηκε συσχέτιση με ITP και αμετάλλακτης IGHV. Η PRCA και η αυτοάνοση ουδετεροπενία είναι λιγότερο συχνές και η προγνωστική τους σημασία παραμένει ασαφής.

Διαγνωστικές εξετάσεις αποτελούν η άμεση Coombs, η LDH, η χολερυθρίνη, τα δικτυοερυθροκύτταρα και οι απτοσφαιρίνες ορού. Το μυελόγραμμα και η οστεομυελική βιοψία θεωρούνται απαραίτητα για τη διαφορική διάγνωση των πενιών. Όσον αφορά στην ITP η διάγνωσή της είναι πιο δύσκολη, αφού δεν υπάρχει καμία ειδική εξέταση για τη διάγνωσή της. Ωστόσο, ταχεία πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων χωρίς σπληνομεγαλία, λοίμωξη ή χημειοθεραπεία και με πολυάριθμα μεγακαρυοκύτταρα στο μυελόγραμμα, δίνουν ισχυρή υποψία για ITP. Η θεραπεία εξαρτάται από αν ο ασθενής χρήζει θεραπειάς για τη ΧΛΛ ή όχι. Αν όχι, τότε η θεραπεία είναι ίδια με την ιδιοπαθή AIHA, αρχικά με κορτικοειδή και μετά με άλλες ανοσοκατασταλτικές επιλογές (π.χ κυκλοσπορίνη, αζαθειοπρίνη), Rituximab ή σπληνεκτομή. Ενδοφλέβια χορήγηση γ σφαιρινών χρησιμοποιούνται όταν ο ασθενής χρειάζεται ταχεία ανταπόκριση, αλλά δεν έχει μακροχρόνια αποτελέσματα. Επίσης οι αγωνιστές του υποδοχέα της θρομβοποιητίνης φάνηκε ότι είναι αποτελεσματικοί. Σε περίπτωση αποτυχίας αυτών των θεραπειών, ο ασθενής χρήζει θεραπειάς ειδικής για τη ΧΛΛ.

### **2.12.2 Νόσος ψυχροσυγκολλητινών**

Η νόσος των ψυχροσυγκολλητινών συμβαίνει όταν η κλωνική IgM συνδέεται με τα ερυθροκύτταρα σε ψυχρά περιβάλλοντα. Συχνότερα απαντάται στη μακροσφαιριναιμία Waldenstrom, αλλά έχει περιγραφεί και στη ΧΛΛ.

### **2.12.3 Παρανεοπλαστική Πέμφιγα**

Η παρανεοπλαστική πέμφιγα είναι μια αυτοάνοση νόσος του βλεννογόνου δέρματος που εκδηλώνεται στο πλαίσιο υποκείμενης νεοπλασίας. Εκτός από τη ΧΛΛ, έχουν παρατηρηθεί στο μη Hodgkin λέμφωμα, στη νόσο του Castleman και στο λέμφωμα Hodgkin.

#### **2.12.4 Νευροπάθεια**

Έχουν περιγραφεί κλινικές περιπτώσεις πολυνευροπάθειας σε ασθενείς με ΧΛΛ με μονοκλωνική γαμμαπάθεια. Η θεραπεία για τη ΧΛΛ οδηγεί σε βελτίωση των συμπτωμάτων.

#### **2.12.5 Σύνδρομο Richter (RS)**

Το σύνδρομο Richter<sup>91</sup> ορίζεται ως η εμφάνιση ενός επιθετικού λεμφώματος σε ασθενείς με προηγούμενη ή σύγχρονη διάγνωση ΧΛΛ ή SLL.

Το 1928 ο Maurice Richter ήταν ο πρώτος που περιέγραψε ένα επιθετικό, απειλητικό για τη ζωή σύνδρομο, σε έναν 46χρονο ασθενή με γνωστή ΧΛΛ, με γρήγορα επιδεινούμενη γενικευμένη λεμφαδενοπάθεια και ηπατοσπληνομεγαλία. Το περιέγραψε ως «reticular cell sarcoma» και το 1964 ο Lorthoraly το περιέγραψε ως σύνδρομο Richter αναγνωρίζοντας την κλωνική διαδικασία εκτροπής. Για δεκαετίες η εκτροπή σε RS ήταν μια λίγο κατανοητή επιπλοκή της ΧΛΛ με χειρίστη πρόγνωση. Στις περισσότερες περιπτώσεις αναφέρεται ως ιστολογική εκτροπή σε Διάχυτο λέμφωμα από Β μεγάλα κύτταρα (DLBCL) (90%) και λιγότερο συχνά σε λέμφωμα Hodgkin (HL) (10%).

#### **Επιδημιολογία**

Το RS με τη μορφή του DLBCL μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε στιγμή κατά τη πορεία της ΧΛΛ μετά τη διάγνωση. Με μέση παρακολούθηση τα 3-12 χρόνια, περίπου 1-10,7% των ασθενών με ΧΛΛ/SLL εξετράπησαν σε RS με ετήσια επίπτωση 0,5-1%. Σε παρατήρηση 69 μηνών, RS εμφάνισε το 5% 1450 ασθενών στις μελέτες CLL4, CLL5, CLL8 και CLL2m. Σε παρακολούθηση 12 ετών η επίπτωση RS ήταν 8% σε ασθενείς που είχαν λάβει FCR στο MDAnderson. Σε άλλη προσέγγιση η Mayo Clinic CLL group ερεύνησε την επίπτωση του RS σε μια ομάδα 1641 νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με μέση παρακολούθηση τα 4 έτη. 2,3% αυτών εξετράπησαν σε RS με μέσο χρόνο 1,8 έτη. 46% δεν είχαν λάβει θεραπεία. Η ετήσια επίπτωση υπολογίστηκε στο 1%.

Μεγαλύτερη προσοχή έχει επικεντρωθεί στην εκτροπή σε RS κατά τη διάρκεια θεραπειών με τους καινούριους παράγοντες<sup>92</sup> (ibrutinib, venetoclax, idelalisib). Η συχνότητα εκτροπής κατά τη διάρκεια αγωγής με Ibrutinib υπολογίζεται 0,8-8% και παρόμοια 0-7% με το idelalisib. Μεγαλύτερη συχνότητα καταγράφεται με το venetoclax ως μονοθεραπεία, της τάξεως του 16%. Αυτά τα ποσοστά βέβαια

προέρχονται από τις κλινικές μελέτες όπου περιλαμβάνουν πολυθεραπευμένους ασθενείς ή πιθανώς οι ασθενείς αυτοί να βρίσκονταν ήδη σε εκτροπή όταν ξεκίνησαν τους νέους παράγοντες. Αυτή η άποψη ενισχύεται και από το γεγονός ότι τυχαιοποιημένες μελέτες φάσης III δεν κατέγραψαν υψηλή συχνότητα εκτροπής στο σκέλος που ελάμβανε ibrutinib ή idelalisib. Μία ενδιαφέρουσα υπόθεση είναι ότι το ibrutinib περισσότερο έχει συνδυαστεί με εκτροπή σε RS-HD.

Στα νέα λοιπόν αυτά φάρμακα η επίπτωση κυμαίνεται σε 3-20% στις κλινικές μελέτες. Στη μελέτη του Ohio State University, το 6,5% από 308 ασθενείς που έλαβαν ibrutinib ανέπτυξαν RS σε 18 μήνες. Η πλειοψηφία των RS συνέβη τον πρώτο χρόνο. 0,8-8% σε άλλες, για το idelalisib 0-7% και για το venetoclax 16% όταν δινόταν ως μονοθεραπεία. Όσον αφορά το venetoclax 23% των ασθενών καταγράφονταν τον πρώτο χρόνο και σε συνδυασμό Rituximab + venetoclax 3-10%. Συμπερασματικά η αναφερόμενη επίπτωση (3-20%) στην εποχή των νέων παραγόντων δεν φαίνεται να μειώνεται σε σχέση με τις προηγούμενες θεραπείες. Επίσης ίσως αυτά τα ποσοστά να υπάρχουν λόγω των βαριά προθεραπευμένων ασθενών που εμπεριέχονται στις μελέτες. Το πότε οι καινούριες θεραπείες αλλάζουν την επίπτωση του RS μένουν ασαφείς. Θα απαντηθούν στις μελέτες φάσης 3 που συγκρίνουν την ανοσοχημειοθεραπεία με τους καινούριους αυτούς παράγοντες.

Υπάρχει η πεποίθηση ότι >20% των RS μπορεί να έχουν λανθασμένη διάγνωση. Για αυτόν τον λόγο, θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από την επιταχυνόμενη φάση της CLL/SLL από έμπειρους παθολογοανατόμους.

Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά του DLBCL-RS είναι τα ακόλουθα:

1. Το μέγεθος του πυρήνα του B λεμφοκυττάρου είναι ίσος με το μέγεθος του πυρήνα ενός μακροφάγου ή μεγαλύτερο από το διπλάσιο μέγεθος του πυρήνα ενός φυσιολογικού λεμφοκυττάρου και
2. Το διάχυτο πρότυπο ανάπτυξης των μεγάλων κυττάρων.

Περιπτώσεις με πολυάριθμα κέντρα πολλαπλασιασμού και παρουσία προλεμφοκυττάρων και ανοσοβλαστών, αλλά που δεν έχουν τα χαρακτηριστικά του DLBCL, μάλλον πρόκειται για επιταχυνόμενη ΧΛΛ.

Οι περισσότερες περιπτώσεις των DLBCL-RS αντιπροσωπεύουν μη βλαστικού κέντρου φαινότυπο (90%).

Πολλοί είναι οι κλινικοί και μοριακοί παράγοντες που ευθύνονται για την εκτροπή της CLL/SLL. Οι κλινικοί παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη Richter συνδρόμου αποτελούν το μέγεθος των λεμφαδένων  $\geq 3$ εκ, το στάδιο RAI III ή IV και οι πολλές

προηγηθείσες ΧΜΘ, κυρίως κατά πολλούς, η προηγηθείσα θεραπεία με ανάλογα πουρινών.

Η υπερέκφραση του CD38, CD49d, ZAP70, οι ελλείψεις των 11q, 9p και 17p ή η τρισωμία 12, η αμετάλλακτη IGHV (4 φορές περισσότερο να αναπτύξουν RS), το μήκος των τελομερών (<5000), το στερεότυπο BCR, VH, CDR3, εμπλέκονται στη εκτροπή της ΧΛΛ.

Οι ασθενείς που φέρουν το NOTCH1 Ligand dependent transcription factor - (συνήθως με τρισωμία 12, η αμετάλλακτη VH, το ZAP70), έχουν 20-30% μεγαλύτερο κίνδυνο για RS vs 5% χωρίς αυτά. Πρόσφατα μελετώντας αναδρομικά τα microRNA σε ασθενείς που υπέστησαν εκτροπή ή όχι, πρότειναν ότι η αύξηση της έκφρασης του miR-125a-5p ή η χαμηλή έκφραση miR-34a-5p, θα μπορούσε να προβλέψει την ανάπτυξη του RS σε >50% των ασθενών.

Υποψία εκτροπής θα πρέπει να έχουμε σε ταχεία επιδείνωση λεμφαδενοπάθειας >5 εκ (64%), κυρίως σε μια λεμφαδενική περιοχή, αύξηση της LDH (50-80%) ή και του ασβεστίου, κυτταροπενίες, Hb: 11 (50%), PLTs: <100.000 (43%) με συνοδά Β συμπτώματα (59%). Εξωλεμφαδενικές εντοπίσεις παρατηρούνται στο 40%, με πιο συχνές το γαστρεντερολογικό, τους όρχεις, τους πνεύμονες, το κεντρικό νευρικό σύστημα και το δέρμα.

Είναι δύσκολο να προταθεί μια τυποποιημένη προσέγγιση για ασθενείς με RS τύπου DLBCL, ωστόσο, μπορούν να γίνουν κάποιες προτάσεις:

1. Σε κλινική υποψία εκτροπής θα πρέπει να διενεργείται PET CT. Αν η SUV  $\geq$  5, τότε θα πρέπει να γίνει βιοψία του λεμφαδένα με το μέγιστο SUV.
2. Αν η βιοψία δείξει επιθετικό λέμφωμα, θα πρέπει να διερευνηθεί η κλωνική σχέση με την CLL/SLL, συγκρίνοντας την αναδιάταξη του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης στη φάση της CLL με την αναδιάταξη της ανοσοσφαιρίνης στην παρούσα RS φάση. Αν η CLL και DLBCL αποδειχθούν μη σχετιζόμενα, η θεραπεία θα δίνεται ως πρωτοπαθές, διότι το DLBCL αποτελεί 2<sup>η</sup> κακοήθεια
3. Αν σχετίζονται κλωνικά λόγω ομοιότητας της Ig, τότε αποτελεί πραγματική εκτροπή και η έκβαση είναι δυσοίωνη.

Με την εισαγωγή των αναστολέων κινάσης και των αντιBcl-2 παραγόντων, το PET-CT κέρδισε έναν σημαντικό ρόλο στην παρακολούθηση ασθενών.

Η προγνωστική αξία του PET είναι αρνητική (97%). Ο Falchi, το 2014, διαπίστωσε ότι SUV<sub>max</sub>  $\geq$  10 διαμηνύει αυξημένη θνητότητα σε σχέση με SUV<10 (56,7μήνες σε ασθενείς με ΧΛΛ επιθετική).

Στην μεγαλύτερη σειρά για το PET CT που διενεργήθηκε από τον Mato και συνεργάτες σε ασθενείς που είχαν διακόψει τον αναστολέα της κινάσης (ibrutinib, idelalisib) που ελάμβαναν, ένα διαφορετικό SUVmax εκτιμήθηκε (από το >10). Το PET CT με SUVmax  $\geq 10$  δεν αποδείχθηκε να αποτελεί μια χρήσιμη μη επεμβατική μέθοδο για τη διάγνωση ή τον αποκλεισμό του RS. Στην ίδια μελέτη 5 από τις 8 βιοψίες επιβεβαιωμένα RS είχαν SUV 5-9, ενώ μόνο 3 από τα 8 είχαν SUV>10, ενισχύοντας περαιτέρω την άποψη ότι ένα χαμηλότερο όριο (π.χ >5) θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τους αναστολείς της κινάσης και το RS. Αυτή η έλλειψη ακρίβειας οφείλεται στο γεγονός ότι η πρόοδος της ΧΛΛ σε ασθενείς υπό θεραπεία με ibrutinib ή idelalisib φαίνεται να είναι πιο μεταβολικά ενεργή από αυτή που ακολουθεί θεραπεία με ανοσοχημειοθεραπεία με Rituximab. Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται προκειμένου να διακρίνουμε την εκτροπή υπό θεραπεία με αναστολείς του BCR χρησιμοποιώντας μόνο απεικονιστικές μεθόδους.

Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι παρόλο που το 1παθές DLBCL και το DLBCL-RS παρουσιάζουν παρόμοια μορφολογία στην ιστοπαθολογική εκτίμηση, εντούτοις σημαντικές γενετικές διαφορές έχουν σημειωθεί. Οι περισσότερες από αυτές οδηγούν σε απορρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, σε βλάβες στους ρυθμιστές απόπτωσης και πολλαπλασιασμού καθώς και σε διαταραχές της επιδιόρθωσης του DNA.

Οι μεταλλάξεις του TP53 (60-80%, vs 10-20% de novo) πιο συχνά απαντώνται στους σχετιζόμενους, κυρίως πριν την εκτροπή, το CDKN2A Cyclin dependent kinase inhibitor 2A (30%) κυρίως στην εκτροπή, το οποίο μπορεί να συνυπάρχει με p53 ή μεταλλάξεις του NOTCH1, myc (30%) ή επιδρώντας στις λειτουργίες ελέγχου π.χ. NOTCH1 (30%)<sup>93</sup> συχνά με συνύπαρξη τρισωμίας 12.

Το RS αντιπροσωπεύει μια μοναδική βιολογική οντότητα με καθορισμένες μεταλλάξεις, τα οποία υπήρχαν και στη ΧΛΛ/SLL του ιστορικού τους (NOTCH1, TP53), ή αποκτώνται στην εκτροπή (απώλεια CDKN2A/B, ενεργοποίηση του MYC). Παρόλο που το PD-1 (programmed cell death) σπάνια εκφράζεται στη ΧΛΛ και στο πρωτογενές DLBCL, στο RS εκφράζεται στο 80%.

Αριθμητικές αλλαγές επίσης συμβαίνουν με συχνότερες τις del7q31, 8p, 14q, tris12, ampl 8q21, 13q και 18q.

Φαινοτυπικά, οι ασθενείς με DLBCL-RS χάνουν συνήθως το CD5 και CD23. Η παρουσία τετραπλοειδίας ή σύνθετου καρυότυπου ευνοούν την ανάπτυξη του συνδρόμου σε ασθενείς που λαμβάνουν ibrutinib. Επιπλέον το RS στερείται βλαβών που υπάρχουν στα πρωτοπαθή DLBCL, όπως αδρανοποίηση των γονιδίων της ακετυλοτρανσφεράσης CREBBP/EP300, όπως αυτά των μη βλαστικών (BCL6) ή των βλαστικών κέντρων (BCL2).

Στο RS λείπουν οι τυπικές μεταλλάξεις του πρωτοπαθούς DLBCL που επιδρούν στον Nuclear Factor-kB (NF-KB) όπως CARD11, TNFAIP/A20, CD79A, CD79B, EZH2, BCL6, BCL2, PRDM1 ή γονίδια που παίζουν ρόλο στην χημειοανθεκτικότητα ή πρόοδο νόσου π.χ BIRC3, MYD88, SF3B1, RPS15. Επίσης σωματικές υπερμεταλλάξεις που συμβαίνουν στο PAX5, PIM1, RhoH/TTF, σπάνια παρατηρούνται στο DLBCL-RS, ενώ >50% στις περιπτώσεις των πρωτοπαθών DLBCL.

Η ανάλυση των γενετικών ανωμαλιών μεταξύ CLL και DLBCL-RS έχουν οδηγήσει στην υπόθεση δύο κύριων γενετικών μονοπατιών υπεύθυνων για τη μετατροπή. Το 1<sup>ο</sup>, >50% των περιπτώσεων, βρέθηκε ότι σχετίζεται με τις μεταλλάξεις του TP53 και του CDKNA2. Το 2<sup>ο</sup> θεωρείται ότι σχετίζεται με την τρισωμία 12 και τις μεταλλάξεις του NOTCH1 στο 1/3 των περιπτώσεων περίπου. Για τις υπόλοιπες περιπτώσεις δεν έχει διευκρινιστεί το γενετικό προφίλ.

>70% ασθενών που εξετράπησαν μετά από ibrutinib είχαν μεταλλάξεις p53, σύνθετο καρυότυπο, tr12. Οι Davids et al παρουσίασαν τη μεγαλύτερη ομάδα ασθενών (71 ασθενών) στην εποχή των καινούριων παραγόντων εμπεριέχοντας 59 ασθενείς που ελάμβαναν ibrutinib και 6 ασθενείς μετά από θεραπεία με Venetoclax ή Idelalisib. 50% παρουσίαζαν 17pdel, 75% σύνθετο καρυότυπο και 25% τρισωμία 12. Μεταλλάξεις των TP53, NOTCH1, SF3B1 εμφανίζονταν στο 80% των ασθενών.

Έχουν προταθεί προγνωστικά μοντέλα, όπως της Tsimberidou et al το 2006 που όμως δεν λαμβάνει υπόψη τις γενετικές διαταραχές, τα καινούρια φάρμακα και το σπουδαιότερο τη κλωνική συσχέτιση.

Richter score ( 2006, Tsimberidou et al)<sup>94</sup>

Κλινική κατάσταση >1

LDH >1.5 την ανώτερη φυσιολογική τιμή

PLT<100.000/μL

Μέγεθος όγκου >5cm

>1 προηγηθείσες θεραπείες

- 0 – 1 Χαμηλού κινδύνου 13-45 μήνες
- 2 Χαμηλού ενδιάμεσου 11-32 μήνες
- 3 Υψηλού κινδύνου 4 μήνες
- 4 - 5 Πολύ υψηλού 1-4 μήνες



Το 2011 στο Blood Journal αναπτύχθηκε ένα νέο προγνωστικό μοντέλο για την επιβίωση στο RS υποκατηγοριοποιώντας τους ασθενείς σε 3 ομάδες (Rossi, Stamatopoulos). Μελετήθηκαν 86 ασθενείς και έδειξαν ότι

1. Οι μεταλλάξεις στο TP53 αποτελούν έναν από τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς δείκτες που επηρεάζουν την επιβίωση και

2. Οι κλωνικά σχετιζόμενοι διαφοροποιούνται από τους μη και έχουν έκβαση παρόμοια του πρωτοπαθούς DLBCL.

Υψηλού κινδύνου: κακή κλινική κατάσταση PS>1, ανεξάρτητα του p53, ανταπόκριση στη θεραπεία, με συνολική επιβίωση 7,8 μήνες.

Ενδιάμεσου κινδύνου PS<1, TP53+, χωρίς ύφεση μετά από θεραπεία 24,6 μήνες

Χαμηλού κινδύνου: PS<1, TP53 (-), CR μετά τη θεραπεία, 5ετή επιβίωση 70%.

Πίνακας 11

Προγνωστικό μοντέλο	Κατηγορία κινδύνου	Μέση ολική επιβίωση (μήνες)
Tsimberidou et al, 2006	Χαμηλού (0-1 παράγοντες)	13
	Χαμηλού ενδιάμεσου (2 παράγοντες)	11
	Υψηλού ενδιάμεσου (3 παράγοντες)	4
	Υψηλού (4-5 παράγοντες)	1
Rossi et al, 2011 <sup>95</sup>	Χαμηλού (ECOG PS >1)	8
	Ενδιάμεσου (ECOG PS 0-1, TP53, ECOG PS 0-1, no TP53, no CR)	25
	Υψηλού (ECOG PS 0-1, no TP53, CR)	Δεν έχει επιτευχθεί

Ένα μελλοντικό μοντέλο θα πρέπει να περιέχει τη σχετιζόμενη ή μη κατάσταση μαζί με τους κλινικούς και γενετικούς παράγοντες κινδύνου.

## Αντιμετώπιση

Η κλινική συσχέτιση μεταξύ DLBCL και της υποκείμενης ΧΛΛ αποτελεί και τον πιο σημαντικό προγνωστικό παράγοντα για τους ασθενείς με RS, με χειρότερη πρόγνωση στους σχετιζόμενους κλινικά σε αντίθεση με τους μη σχετιζόμενους δίνοντας μέση συνολική επιβίωση 14,2 έναντι 62,5 μήνες αντίστοιχα.

Για τους κλινικά σχετιζόμενους ασθενείς αν δεν υπάρχει διαθέσιμη μελέτη, η πιο κατάλληλη θεραπεία φαίνεται να είναι η ανοσοχημειοθεραπεία που θα ακολουθηθεί από αλλογενή ή αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.

Σε μια αναδρομική ανάλυση του European Group for Blood and Marrow Transplantation, η μέση συνολική επιβίωση, η επιβίωση ελεύθερης υποτροπής και η θνησιμότητα λόγω υποτροπής και μη υποτροπή στην 3ετία για ασθενείς με RS που υποβλήθηκαν σε αλλογενή μεταμόσχευση, ήταν 36%, 27%, 47% και 26% αντίστοιχα, ενώ για την αυτόλογη μεταμόσχευση τα ποσοστά αυτά ήταν 59%, 45%, 43% και 12%. Το κυριότερο πρόβλημα παρουσιάζεται στους ασθενείς που εξετράπησαν υπό θεραπεία με Ibrutinib. Η μέση επιβίωση για αυτούς υπολογίζεται μόνο στους 2 μήνες. Η προοπτική έγκειται μόνο στις κλινικές μελέτες με αναστολείς όπως το pembrolizumab και στον αναστολέα του PI3K, idelalisib, όπως και στην αλλογενή μεταμόσχευση.

Η θεραπεία εκλογής για τους ασθενείς με πρωτοπαθές DLBCL παραμένει το σχήμα R-CHOP, που όμως δεν είναι το ίδιο δραστικό στους ασθενείς με DLBCL-RS. Από τη Γερμανική ομάδα σε 15 ασθενείς το ORR ήταν 67% με μόνο έναν ασθενή (7%) να πετυχαίνει πλήρη ανταπόκριση. Το PFS ήταν 10 μήνες και η επιβίωση 21 μήνες. Πρόσφατα ο Rogers et al (2018), δοκίμασε το πιο εντατικοποιημένο σχήμα Rituximab, cyclophosphamide, etoposide, doxorubicin, vincristine και prednisone (R-EPOCH). Οι 17 από τους 46 ασθενείς κατάφεραν PR. Η μέση PFS και OS ήταν 3,5 και 5,9 μήνες αντίστοιχα, ενώ η θνητότητα ανερχόταν στο 30% χωρίς επιβεβαιωμένη πρόοδο νόσου. Ασθενείς με σύνθετο καρυότυπο είχαν αξιοσημείωτη πτωχή πρόγνωση με PFS και OS στο έτος 11% και 18% αντίστοιχα, σε αντίθεση με 57% και 71% για αυτούς χωρίς σύνθετο καρυότυπο.

Σε μελέτη φάσης II από το MD Anderson Cancer Center, 30 ασθενείς έλαβαν κλασματοποιημένη cyclophosphamide, vincristine, λιποσωμική daunorubicin και δεξαμεθαζόνη σε συνδυασμό με rituximab εναλλασσόμενο με μεθοτρεξάτη και αρασιτίνη με rituximab (R-hyper-CVXD/R-MA). Πλήρης ανταπόκριση επιτεύχθηκε στο 27% των ασθενών και η ORR ήταν 43%. Η επιβίωση στο έτος 28%. 20% των ασθενών απεβίωσαν κατά τη διάρκεια των 2 πρώτων κύκλων.

Σχήματα εμπριέχοντα πλατίνα δοκιμάστηκαν επίσης σε ασθενείς με RS στην 1<sup>η</sup> γραμμή θεραπείας. Το σχήμα OFAR (Oxaliplatin, fludarabine, cytarabine και rituximab), CR πέτυχε το 6-20% των ασθενών και η μέση συνολική επιβίωση ήταν μόνο 6-8 μήνες. Βαθμού 3 ή 4 ουδετεροπενία και θρομβοπενία συνέβη στο εντυπωσιακό 90% και 80% αντίστοιχα και ένας στους 5 ασθενείς εμφάνισε εμπύρετη ουδετεροπενία. Παρόμοια αποτελέσματα έδωσε και το σχήμα dexamethasone, cytarabine και cisplatin (DHAP) και etoposide, methylprednisolone, cytarabine και cisplatin σε συνδυασμό με rituximab.

Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, τα σχήματα R-CHOP και R-EPOCH χρησιμοποιούνται περισσότερο ως 1<sup>η</sup> γραμμής θεραπείας για τη θεραπεία του DLBCL-RS, επειδή παρέχει μια ισορροπία μεταξύ της δραστηριότητάς του και της τοξικότητας σε σχέση με άλλες επιλογές.

Νέοι παράγοντες, τα ibrutinib, idelalisib venetoclax ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό, όπως και τα selinexor, pembrolizumab, nivolumab, blinatumumab δίνονται σε μελέτες και τα αποτελέσματά τους αναμένονται.

Το ibrutinib έχει αποδειχθεί δραστική θεραπεία σε ανθεκτική ή σε υποτροπή ΧΛΛ. Όπως προαναφέρθηκε, περίπου 5% των ασθενών εκτρέπονται σε RS υπό αγωγή. Ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μεθυλπρεδνιζολόνη μελετήθηκε στην MayoClinic σε μια σειρά 4 ασθενών. Η μέση διάρκεια θεραπείας με ibrutinib ήταν μόνο 6,1 μήνες. Ένας μόνο ασθενής κατάφερε πλήρη ανταπόκριση, 2 μερική ύφεση, ενώ ο 4<sup>ος</sup> ασθενής επιβίωσε λόγω λοίμωξης.

Όσον αφορά στο venetoclax, 3 στους 7 ασθενείς κατάφεραν μερική ύφεση. Η NCT02378038 μελέτη σε ασθενείς με venetoclax ως μονοθεραπεία διακόπηκε πρόωρα και η NCT03054896 πρόκειται να αρχίσει με venetoclax σε συνδυασμό με R-EPOCH.

### *Μεταμόσχευση*

Η ανταπόκριση των ασθενών με χημειοθεραπεία είναι βραχεία και γι αυτό προτείνεται η αλλογενής ή η αυτόλογη μεταμόσχευση στους ασθενείς με DLBCL-RS μετά την ύφεση. Παρόλα αυτά οι περισσότεροι ασθενείς κρίνονται ακατάλληλοι γι αυτήν την προσέγγιση. Η ευρωπαϊκή ομάδα (EBMT) σε ανάλυσή της έδειξε ότι η επιβίωση ελεύθερης υποτροπής στην 3ετία ήταν 27% μετά την αλλογενή και 45% μετά την αυτόλογη. Η θνητότητα στην 3ετία 26% μετά την αλλογενή και 12% μετά την αυτόλογη, ενώ η επιβίωση 36 και 59% αντίστοιχα.

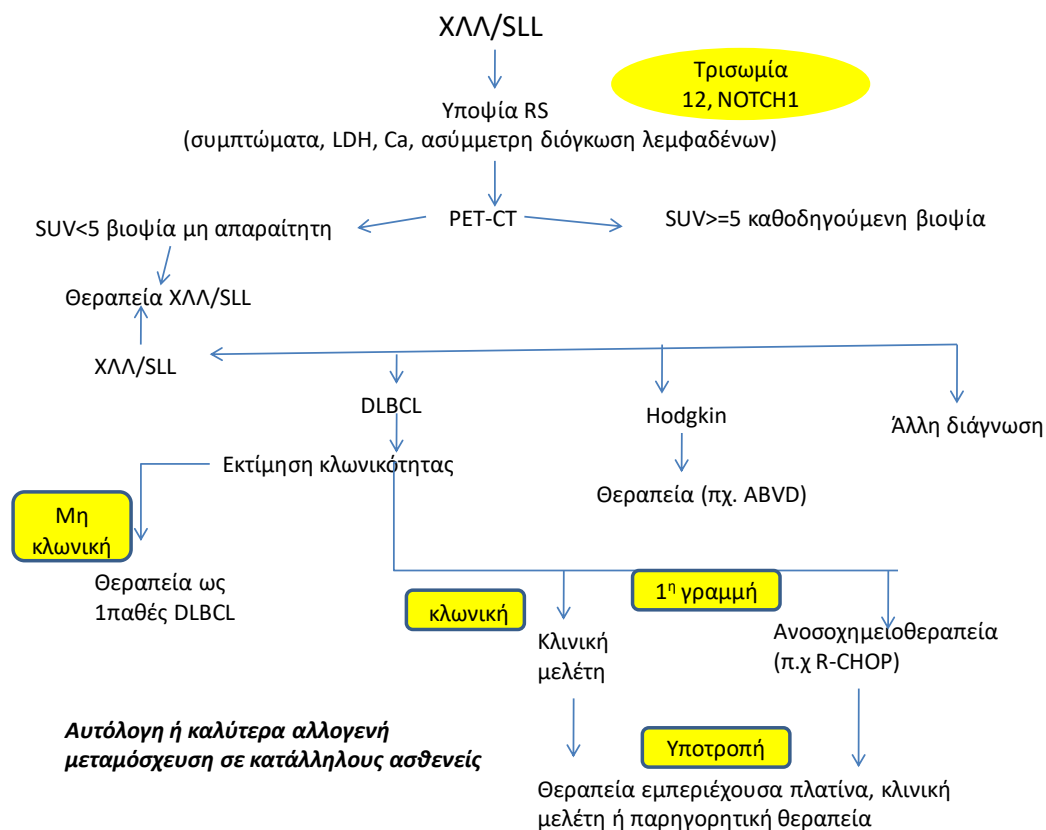
## **HL-RS<sup>96</sup>**

Το HL-RS αποτελεί πιο σπάνιο υπότυπο του RS με συχνότητα 5-15% των περιπτώσεων. Βάσει των διαθέσιμων δεδομένων από τη Mayo Clinic η συχνότητα στην 5ετία και 10ετία ήταν 0,25 και 0,5%. Ο μέσος χρόνος εκτροπής υπολογίζονται τα 6 χρόνια περίπου από τη διάγνωση της ΧΛΛ αντί για τα 2 χρόνια του DLBCL-RS. Στο HL-RS συνήθως φαίνεται μικτή κυτταροβρίθεια στα ιστολογικά παρασκευάσματα και Reed – Sternberg κύτταρα, όπως και αυξημένη έκφραση του CD20.

Όταν συγκρίνεται με το πιο συχνό DLBCL-RS, παρατηρήθηκε ότι απαντάται πιο συχνά σε ασθενείς με ΧΛΛ με μεταλλαγμένη IgVH, καθώς και ότι οι κλωνική σχέση των κυττάρων σε εκτροπή με τα κύτταρα της ΧΛΛ δεν παρατηρείται συχνά (40-50% vs 80-90%). Αυτά δίνουν μια σχετικά καλύτερη πρόγνωση από το πλέον συχνό DLBCL-RS. Η μέση επιβίωση ποικίλλει από 0,8 έως 3,9 έτη σε δημοσιευμένες αναφορές, υποστηρίζοντας έτσι μια πιο επιθετική κλινική πορεία από αυτή που παρατηρείται στα πρωτοπαθή Hodgkin.

Η πιο δραστική θεραπεία φαίνεται να είναι το ABVD (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastine, Dacarbazine) σχήμα όπως και στο πρωτοπαθές Hodgkin με ποσοστά ανταπόκρισης 40-60% και μέση επιβίωση τα 4 χρόνια. Καινούριες ανοσοθεραπείες που δίνονται στα ανθεκτικά ή σε υποτροπή πρωτοπαθή HL, όπως το Brentuximab και τα antiPD-L1 αντισώματα, ίσως μπορέσουν μελλοντικά να βελτιώσουν την έκβαση των ασθενών με HL-RS.

Σχήμα 4



Σχήμα 4: Θεραπευτικός αλγόριθμος για ασθενείς με κλινική υποψία συνδρόμου Richter

Οι ασθενείς φέροντες τρισωμία 12 ή μεταλλάξεις του NOTCH1 και κυρίως αυτοί με παρουσία συμπτωμάτων ή ασύμμετρη διόγκωση λεμφαδένα συνιστάται διερεύνηση για πιθανή εκτροπή σε RS. Διενέργεια PET-CT και οι ασθενείς με περιοχές με SUV>5, υποβάλλονται σε βιοψία. Αν η βιοψία δεν αναδείξει εκτροπή, θα εφαρμοσθεί θεραπεία για XLL. Σε περίπτωση ισχυρής υποψίας, 2<sup>η</sup> βιοψία πρέπει να διενεργηθεί. Αν η ιστοπαθολογική διάγνωση τεκμηριωθεί ως DLBCL-RS, θα πρέπει να διερευνηθεί η κλωνική συσχέτιση. Αν δεν υπάρχει κλωνική συσχέτιση, θα πρέπει να αντιμετωπισθεί ως 1παθές DLBCL. Αντίθετα, αν τεκμηριωθεί κλωνική συσχέτιση, η συμμετοχή σε κλινική μελέτη προτείνεται λόγω της πτωχής πρόγνωσης με την ανοσοχημειοθεραπεία. Η καταλληλότερη θεραπεία παραμένει η αλλογενής μεταμόσχευση στους κατάλληλους για αυτήν ασθενείς ή αυτόλογη σε μη. Σε περίπτωση υποτροπής, προτείνεται η θεραπεία διάσωσης με σχήματα που περιέχουν πλατίνα ή συμμετοχή σε κλινικές μελέτες. Στους ασθενείς σε εκτροπή σε HL-RS θα χορηγηθεί θεραπεία ως 1παθές HL (ABVD).

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### 3.1 Σκοπός

1. Η μελέτη των κυτταρογενετικών μεταβολών που σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου και με την θεραπεία στο ΠΜ και στη ΧΛΛ.
2. Εστιάσαμε στη θεραπεία με λεναλιδομίδη (ασθενείς με ΠΜ), διότι οι δύο θεραπείες της εποχής ήταν το Bortezomib που ήταν γνωστό ότι είχε θεραπευτική δράση στους ασθενείς με τις αντιμεταθέσεις κακής πρόγνωσης, ενώ δεν ήταν γνωστή η δράση της λεναλιδομίδης στους ασθενείς αυτούς.
3. Η αντοχή των ασθενών στη Λεναλιδομίδη συνιστά παράγοντα δυσμενούς πρόγνωσης και προκαλεί και σήμερα θεραπευτικό πρόβλημα.
4. Εστιάσαμε στους ασθενείς με ΧΛΛ στη θεραπεία με Ibrutinib, κυρίως λόγω της μεγαλύτερης χρονικής διάρκειας παρακολούθησης των ασθενών που το ελάμβαναν.

### 3.2 Ασθενείς και μέθοδοι

Μελετήθηκαν αρχικά περισσότεροι από 600 ασθενείς με ΠΜ, ΧΛΛ και SLL στη διάγνωση για την αντιμετάθεση t(4;14) και έλλειψη του 13q για τους ασθενείς με ΠΜ και για τις ελλείψεις 17p και 11q στους ασθενείς με ΧΛΛ / SLL.

Στα πλαίσια της διαγνωστικής προσπέλασης των ασθενών με ΠΜ ή MGUS εκτελείται σε όλους τους ασθενείς αναρρόφηση μυελού των οστών και οστεομυελική βιοψία. Από τους ασθενείς με ΧΛΛ/SLL μπορεί να διενεργηθεί η FISH από το αίμα.

Από το υλικό της αναρρόφησης μυελού επιστρώνονται πολλαπλά πλακίδια μέρος των οποίων χρησιμοποιείται για τη βαφή MayGrunwald – Giemsa. Τα υπόλοιπα πλακίδια χρησιμοποιούνται για την ανάλυση FISH όπως αναφέρεται παρακάτω.

Υλικό μυελού το οποίο συλλέγεται σε αντιπηκτικό (EDTA) χρησιμοποιείται

α. για την ανάλυση καρυότυπου του μυελού

β. για την Παρασκευή DNA

γ. Παρασκευή RNA

Έπειτα, στους ασθενείς με συμπτωματικό ΠΜ και με ΧΛΛ/SLL μελετήθηκαν στην διάγνωση, ύφεση, υποτροπή και πριν και μετά την χορήγηση νέων φαρμάκων

- Καρυότυπος
- Μελέτη FISH
  - t(11;14)(q13;q32) στην ΧΛΛ και ΠΜ,
  - t(4;14)(p16;q32) ΠΜ, t(14;16)(q32;q23) ΠΜ, t(14;20)(q32;q11) ΠΜ, ampl 1q21 στους ασθενείς με ΠΜ.
  - del17p ΧΛΛ και ΠΜ ,del13q στην ΧΛΛ και ΠΜ
  - τρισωμία 12 και 11qdel στους ασθενείς με ΧΛΛ
- PCR για αναζήτηση μεταλλάξεων στο γονίδιο P53 στους ασθενείς με ΧΛΛ
- Ανάλυση υπερμεταλλάξεων των γονιδίων της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών στους ασθενείς με ΧΛΛ

Συγκρίναμε με παραμέτρους νόσου τόσο εργαστηριακές όσο και κλινικές σε όλους τους ασθενείς.

Σημειώνεται ξανά ότι η εκτέλεση μυελού των οστών ως ιατρική πράξη είναι υποχρεωτική για τη διάγνωση αλλά και την παρακολούθηση των ΠΜ.

Καμία ιατρική πράξη δεν έγινε επιπλέον για την πραγμάτωση αυτού του πρωτοκόλλου-μελέτης που περιγράφεται στην διδακτορική διατριβή.

Καμία οικονομική επιβάρυνση δεν υπήρξε τόσο για τους ίδιους τους ασθενείς όσο και για τα ασφαλιστικά τους ταμεία.



### 3.2.1 Χαρακτηριστικά Ασθενών

Συνοπτικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΜ φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 12

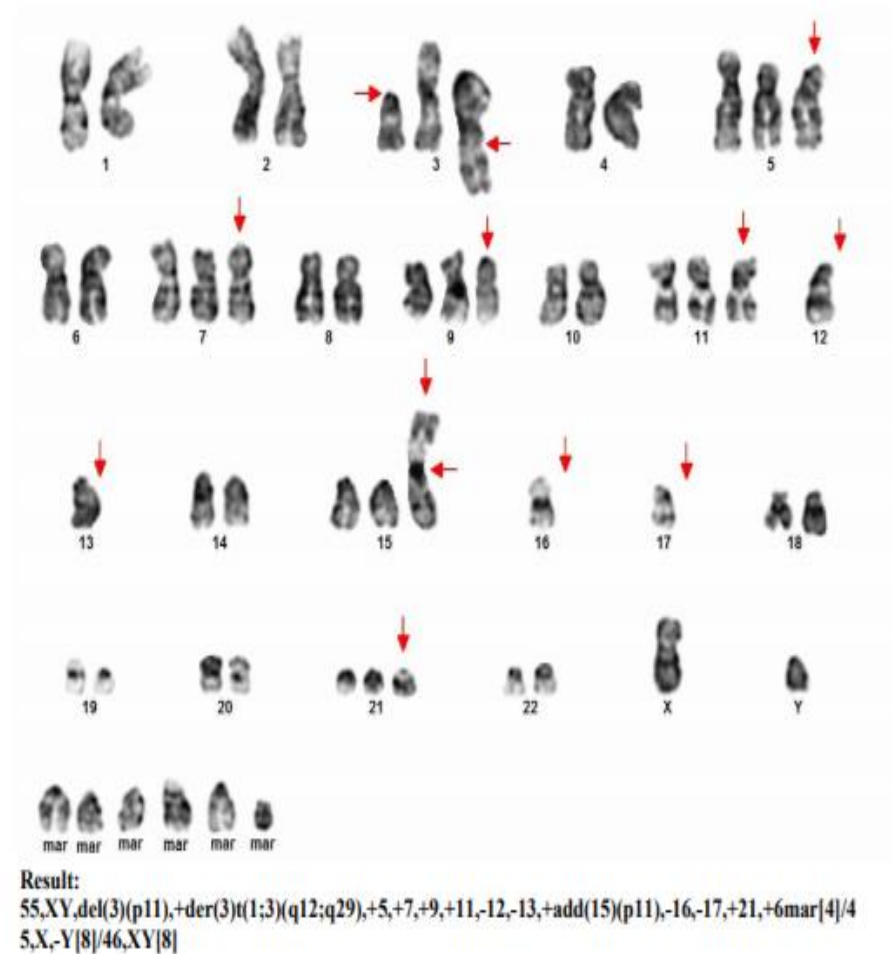
	%
Τύπος ΠΜ	
IgG	58
IgA	17
Ελαφρών αλυσίδων	17
IgD	8
Στάδιο	
ISS 1	21
ISS 2	21
ISS 3	58
Ασυμπτωματικοί	6
Συμπτωματικοί	94
Έλαβαν Νέους θεραπευτικούς παράγοντες*	
Thalidomide	58
Bortezomib	62
Lenalidomide	48

*\*Μπορεί ο ίδιος ασθενείς να έλαβε διαδοχικά και τους 3 νέους παράγοντες*

### 3.2.2 Μεθοδολογία – Καρυότυπος, FISH, PCR, Ανάλυση Μεταλλάξεων VH

Συγκεντρώσαμε την **καρυοτυπική μελέτη** των ασθενών που μελετήθηκαν.  
Παρακάτω φαίνεται η καρυοτυπική μελέτη ασθενούς με ΠΜ με υπερδιπλοειδία

Εικόνα 3



## Μέθοδος FISH

### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

#### 20xSSC, pH 7

175.3gNaCl

88.2gSodiumCitrate

Διάλυση σε 800ml απεσταγμένουH<sub>2</sub>O (dH<sub>2</sub>O)

Ρύθμιση του pH στο 7 με HCL 1N

Προσθήκη απεσταγμένου H<sub>2</sub>O μέχρι τελικού όγκου 1000ml

Αποστείρωση στους 121°C για 15min, στη συνέχεια φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου

#### 2x SSC, 0.1% Igepal, pH 7

900ml dH<sub>2</sub>O

100ml 20x SSC

1ml NP-40 (Igepal CA-630 SIGMA I8896)

Ανάδευση για 3ώρες τουλάχιστον και ρύθμιση του pH στο 7 με HCL 1N και φύλαξη σε θερμοκρασία δωματίου

#### 0.5x SSC, 0.1% Igepal, pH 7

975ml dH<sub>2</sub>O

25ml 20x SSC

1ml NP-40 (Igepal CA-630 SIGMA I8896)

Ανάδευση για 3ώρες τουλάχιστον και ρύθμιση του pH στο 7 με HCL 1N και φύλαξη σε θερμοκρασία δωματίου

#### ΠΕΨΙΝΗ

Pepsin (SIGMAP6887) – σε κρυσταλλική μορφή, φυλάσσεται στους -20°C

Αραίωση 0,083gr πεψίνης σε 50ml dH<sub>2</sub>O, τελική συγκέντρωση 1.66mg/ml

Aliquots 2ml σε Eppendorf στους -20°C

#### ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΕΨΙΝΗΣ

32ml dH<sub>2</sub>O, 4ml HCL 0.1N, 2ml (1 aliquot από τους -20°C) πεψίνη

Παρασκευή ακριβώς πριν τη χρήση

#### PBS- EDTA

1000ml PBS

4ml EDTA 0.5M, pH 8

#### ΔΙΑΛΥΜΑ CARNOY

1:3 οξικό οξύ/ μεθανόλη

Π.χ. 10ml οξικό οξύ (acetic acid) και 30ml μεθανόλη (methanol).

Το διάλυμα παρασκευάζεται ακριβώς πριν τη χρήση και διατηρείται για 1 ημέρα στους 4°C.

#### DAPI

DAPI dilactate (D3571, Molecular Probes, Invitrogen) – φωτοευαίσθητο.

Συνίσταται Παρασκευή stocksolution 5mg/ml σε H<sub>2</sub>O, φυλάσσεται στους -20°C

Working solution 125ng/ml σε PBS, φυλάσσεται στους -20°C, σε μικρά aliquots ~100μl για να αποφεύγεται η πολλαπλή ψύξη- απόψυξη

### **ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΚΑΙ ΜΥΕΛΟ ΜΕ ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΣΕ FICOLL-HISTORAUQUE**

ΥΛΙΚΑ: PANCOLL, PAN BIOTECH, P04-60500, CHEMBIOTIN

Ή Ficoll-Paque Plus, Stemcell, 7957, ANTISSEL

1. Μοιράζουμε 15ml ficoll σε falcon 50ml
2. Σε ένα δεύτερο falcon αραιώνουμε με PBS-EDTA το αίμα ή το μυελό σε τελικό όγκο 35ml. Ελάχιστη αραιώση 1:2
3. Επιστρώνουμε με προσοχή, έτσι ώστε να μην αναμειχθούν οι 2 φάσεις, τα 35ml αραιωμένου δείγματος στα 15ml ficoll.

4. Φυγοκέντρηση 400G για 35min στους 25°C
5. Λήψη της στοιβάδας των λεμφοκυττάρων - μονοπύρηνων με προσοχή, σε όσο το δυνατόν μικρότερο όγκο και με ελάχιστη πρόσμιξη φικόλης
6. Τοποθέτηση σε νέο falcon 50ml και γέμισμα μέχρι 50ml με PBS-EDTA.
7. Φυγοκέντρηση 240g 10min στους 25°C.
8. Απόρριψη του υπερκείμενου με προσοχή ώστε να μην απορριφθεί και το ίζημα και επανάληψη των βημάτων 6-7.
9. Συνέχεια με τη μονιμοποίηση σε διάλυμα Carnoy

### **ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ CARNOY**

1. Ανασύσταση του ιζήματος των κυττάρων απομονωμένων με φικόλη σε 10ml Carnoy.
- \* Η διαδικασία μπορεί να συνεχιστεί την επόμενη μέρα αν το ίζημα ανασυσταθεί σε 5ml carnoy και φυλαχθεί στους 4°C.*
2. Φυγοκέντρηση 1500rpm για 10min στους 25°C.
  3. Απόρριψη του υπερκείμενου με προσοχή γιατί το ίζημα δεν είναι σταθερό και ανασύσταση του ιζήματος σε 10ml Carnoy.
  4. Φυγοκέντρηση 1500rpm για 10min στους 25°C.
  5. Επανάληψη των βημάτων 3 και 4.
  6. Απόρριψη περίπου 5ml υπερκείμενου, ανασύσταση σε 5ml Carnoy και φύλαξη στους -20°C.

### **ΚΥΤΤΑΡΟΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΜΑ (CYTOSPIN)**

1. Σε περιπτώσεις ελάχιστου αριθμού κυττάρων μετά την απομόνωση με φικόλη, ή όταν είναι αναγκαία η διαξαγωγή FISH σε δείγματα με περιορισμένο αριθμό κυττάρων, πχ ασκικό υγρό ή πλευριτικό υγρό, συνίσταται η παρασκευή κυτταροφυγοκεντρήματος
2. Με χρήση κατάλληλου μηχανήματος (π.χ. Cyto pro Cyto centrifuge, Wescor) τα κύτταρα του δείγματος συμπυκνώνονται σε μια οριοθετημένη μικρή επιφάνεια του πλακιδίου.

3. Σε κάθε πλακίδιο συνίσταται να επιστρώνονται 20.000- 50.000 κύτταρα και ο μέγιστος αρχικός όγκος για κάθε πλακίδιο είναι 200μl (ή ανάλογα με τη συσκευή)
4. Εάν το δείγμα είναι πολύ αραιό συνίσταται να συμπυκνώνεται με διαδοχικές φυγοκεντρήσεις στις 6000rpm 1min σε 1.5ml Eppendorf. Αφαίρεση του υπερκείμενου με πιπέτα P1000
4. Στέγνωμα του cytospin σε οριζόντια θέση στον πάγκο για 24h τουλάχιστον

### **ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΕΣ ΠΛΑΚΕΣ**

1. Προθέρμανση υδατόλουτρου στους 68°C και τοποθέτηση στατώ ώστε να εξέχει 1-2cm από την επιφάνεια του νερού
2. Βύθιση αντικειμενοφόρου σε διάλυμα Carnoy και τοποθέτηση σε οριζόντια θέση πάνω στο στατώ, στο υδατόλουτρο
3. Ρίψη 2 σταγόνων (20μl με P20) μονιμοποιημένων κυττάρων, από απόσταση περίπου 20εκ., μία στο πάνω και 1 στο κάτω μέρος της αντικειμενοφόρου και όσο το δυνατόν στο κέντρο
4. Μπορούν να επιστρωθούν ταυτόχρονα έως και 4 αντικειμενοφόροι, αλλά πάντα του ίδιου ασθενή
5. Επώαση 8min
6. Αξιολόγηση της αντικειμενοφόρου (αριθμός κυττάρων, πυκνότητα, θέση) σε οπτικό μικροσκόπιο – φακός 20x.
7. Στέγνωμα σε οριζόντια θέση στον πάγκο για 24h τουλάχιστον

\* Συνίσταται η προσαρμογή της αρχικής πυκνότητας του διαλύματος μονιμοποιημένων κυττάρων ανάλογα με τον αριθμό τους με προσθήκη ή αφαίρεση ποσότητας Carnoy.

**ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΦΥΛΛΑΓΜΕΝΩΝ ΣΤΟΥΣ -80°C ΣΕ  
ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΕΣ ΠΛΑΚΕΣ**

1. Προθέρμανση υδατόλουτρου στους 68°C και τοποθέτηση στατώ ώστε να εξέχει 1-2cm από την επιφάνεια του νερού
2. Ξεπάγωμα του νιαί των κυττάρων σε υδατόλουτρο στους 37°C
3. Βύθιση αντικειμενοφόρου σε διάλυμα Carnoy και τοποθέτηση σε οριζόντια θέση πάνω στο στατώ, στο υδατόλουτρο
4. Απόθεση 20μl κυττάρων στο κέντρο της αντικειμενοφόρου και άπλωμά τους με ένα tip σε πλάγια θέση
5. Μπορούν να επιστρωθούν ταυτόχρονα έως και 4 αντικειμενοφόροι, αλλά πάντα του ίδιου ασθενή
6. Επώαση 8min
7. Αξιολόγηση της αντικειμενοφόρου (αριθμός κυττάρων, πυκνότητα, θέση) σε οπτικό μικροσκόπιο – φακός 20x.
8. Στέγνωμα σε οριζόντια θέση στον πάγκο για 24h τουλάχιστον

\* Συνίσταται η προσαρμογή της αρχικής πυκνότητας των κυττάρων. Εάν είναι χαμηλός ο αριθμός των κυττάρων (~500.000) γίνεται συμπύκνωση με φυγοκέντρηση και ανασύσταση σε κατάλληλη ποσότητα PBS

**ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΛΑΚΙΔΙΩΝ ΕΠΙΧΡΙΣΜΑΤΟΣ ΜΥΕΛΟΥ**

1. Τοποθέτηση πλακιδίου σε falcon με διάλυμα οξικού οξέος 70% για 1min με ανακίνηση για τα πρώτα 3sec
2. Μεταφορά πλακιδίου σε falcon με dH<sub>2</sub>O για 5sec με ανακίνηση
3. Μεταφορά πλακιδίου σε νέο falcon με dH<sub>2</sub>O για 10sec με ανακίνηση
4. Πλύσεις σε διαλύματα 70%, 85% και 100% αιθανόλης για 2min στο καθένα

5. Μεταφορά σε falcon με 100% ακετόνη στους -20°C για 2min
6. Στέγνωμα σε οριζόντια θέση στον πάγκο για 24h τουλάχιστον

\* το falcon με την ακετόνη πρέπει να βρίσκεται ήδη τους -20°C

\* τα πλακίδια με το επίχρισμα μυελού πρέπει να είναι τουλάχιστον της προηγούμενης ημέρας

## **ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΑΙΜΑ (1/3)**

### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Προθέρμανση διαλυμάτων στο υδατόλουτρο στους 37°C
- Τοποθέτηση κουτιού με βρεγμένο χαρτί στον επωαστικό θάλαμο 37°C
- Παρασκευή φρέσκων διαλυμάτων αιθανόλης 70%, 85% και 100%
- Σημείωση της κατάλληλης περιοχής με κύτταρα με ανεξίτηλο μαρκαδόρο στο πίσω μέρος της αντικειμενοφόρου (μικροσκόπιο)

### 1<sup>η</sup>μερα:

1. Επώαση της αντικειμενοφόρου για 30min σε "διάλυμα 2xSSC" (2xSSC, 0,1% NP-40, pH7) στους 37°C- *έως 4 αντικειμενοφόροι σε ένα corlinjar*
2. Σε προθερμασμένο (37°C) falcon με 32ml H<sub>2</sub>O και 4ml HCL 0.1N προστίθενται 2ml πεψίνης, ακριβώς πριν τη χρήση- *έως 2 αντικειμενοφόροι σε ένα falcon*
3. Επώαση της αντικειμενοφόρου σε falcon με "διάλυμα πεψίνης" για 30min στους 37°C
4. Πλύσεις 2 x 2min σε διάλυμα PBS
5. Πλύσεις σε διαλύματα αιθανόλης με συγκεντρώσεις 70%, 85% και 100% για 2min στο καθένα
6. Στέγνωμα σε κατακόρυφη θέση στον πάγκο για 10min



## ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

### ΑΠΟ ΑΙΜΑ (2/3)

7. Προετοιμασία του μίγματος των ιχνηθετών (Vysis Probes, Abbott Molecular)
  - Κάνουμε spin down όλους τους ιχνηθέτες και το buffer
  - Για κάθε δείγμα αναμιγνύουμε σε 0.5ml Eppendorf:
    - 3.5μl LSI buffer
    - 0.5μl probe
    - 0.5μl control (αν χρειάζεται)
    - dH<sub>2</sub>O μέχρι τελικού όγκου 5μl
  - Vortex και spin 2 φορές
8. Μετά την πάροδο των 10min - τοποθέτηση των 5μl του μίγματος στη σημασμένη περιοχή στην αντικειμενοφόρο και προσθήκη καλυπτρίδας 22x22
9. Αφαίρεση των φυσαλίδων αέρα από την καλυπτρίδα με ελαφριά πίεση και σφράγισμα με κόλλα περιμετρικά
10. Τοποθέτηση αντικειμενοφόρου στο μηχάνημα υβριδισμού (Thermobrite- StatSpin) και ταυτόχρονη αποδιάταξη του ιχνηθέτη και του δείγματος στους 75°C για 3min –
11. Μόλις κατέβει η θερμοκρασία στους 37°C μεταφορά στο κουτί και επώαση όλη τη νύχτα στους 37°C.

## ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

### ΑΠΟ ΑΙΜΑ (3/3)

#### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Προθέρμανση “διαλύματος 0.5xSSC” στο υδατόλουτρο στους 73°C

#### 2<sup>η</sup>μερα:

1. Πλύση σε “διάλυμα 2xSSC” για 2min
2. Αφαίρεση κόλλας και καλυπτρίδας
3. Επώαση σε διάλυμα “0.5xSSC” στους 73°C για 2min
4. Πλύση σε “διάλυμα 2xSSC” για 1min

5. Πλύσεις σε διαλύματα αιθανόλης με συγκεντρώσεις 70%, 85% και 100% για 2min στο καθένα
6. Στέγνωμα σε κατακόρυφη θέση στο ντουλάπι για 10min
7. Ανάμειξη ακριβώς πριν τη χρήση με αναλογία 1:1 ενισχυτικό σήματος “Prolong Gold Antifade Reagent” (P36930, MolecularProbes, Invitrogen) και DAPI (working solution 125ng/ ml)
8. Τοποθέτηση 8μl μίγματος Antifade και DAPI στην προσημασμένη περιοχή στην αντικειμενοφόρο και επικάλυψη με καλυπτρίδα 22x22
9. Απομάκρυνση των φυσαλίδων αέρα με πίεση και στερεοποίηση της καλυπτρίδας με βερνίκι νυχιών.
10. Φύλαξη του πλακιδίου σε κουτί στους -20°C.

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΜΥΕΛΟ,  
ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΜΥΕΛΟΥ, ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΛΛΑΓΜΕΝΑ ΣΤΟΥΣ -80°C Ή CYTOSPIN  
(1/3)**

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Προθέρμανση διαλυμάτων στο υδατόλουτρο στους 37°C
- Τοποθέτηση κουτιού με βρεγμένο χαρτί στον επωαστικό θάλαμο στους 37°C
- Παρασκευή φρέσκων διαλυμάτων αιθανόλης 70%, 85% και 100%
- Σημείωση της κατάλληλης περιοχής με κύτταρα με ανεξίτηλο μαρκαδόρο στο πίσω μέρος της αντικειμενοφόρου (μικροσκόπιο)

1<sup>η</sup>μερα:

1. Επώαση της αντικειμενοφόρου για 30min σε “διάλυμα 2xSSC” (2xSSC, 0,1% NP-40, pH7) στους 37°C -έως 4 αντικειμενοφόροι σε ένα *corlinjar*
2. Σε προθερμασμένο (37°C) falcon με 32mlH<sub>2</sub>O και 4mlHCL 0.1N προστίθενται 2ml πεψίνης, ακριβώς πριν τη χρήση -έως 2 αντικειμενοφόροι σε ένα falcon
3. Επώαση της αντικειμενοφόρου σε falcon με “διάλυμα πεψίνης” για 60min στους 37°C
4. Πλύσεις 2x 2min σε διάλυμα PBS

5. Πλύσεις σε διαλύματα αιθανόλης με συγκεντρώσεις 70%, 85% και 100% για 2min στο καθένα
6. Στέγνωμα σε κατακόρυφη θέση στον πάγκο για 12min

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΜΥΕΛΟ,  
ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΜΥΕΛΟΥ, ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΛΛΑΓΜΕΝΑ ΣΤΟΥΣ -80°C Ή CYTOSPIN  
(1/3)**

7. Προετοιμασία του μίγματος των ιχνηθετών (Vysis Probes, Abbott Molecular)
  - Κάνουμε spindown όλους τους probes και το buffer
  - Για κάθε δείγμα αναμιγνύουμε σε 0.5ml Eppendorf:
    - 3.5μl LSI buffer (παχύρευστο)
    - 0.5μl probe
    - 0.5μl control (αν χρειάζεται)
    - dH<sub>2</sub>O μέχρι τελικού όγκου 5μl
  - Vortex και spin 2 φορές
8. Μετά την πάροδο των 12min- τοποθέτηση των 5μl του μίγματος στη σημασμένη περιοχή στην αντικειμενοφόρο και προσθήκη καλυπτρίδας 22x22
9. Αφαίρεση των φυσαλίδων αέρα από την καλυπτρίδα με πίεση και σφράγισμα με κόλα περιμετρικά
10. Τοποθέτηση αντικειμενοφόρου στο μηχάνημα υβριδισμού (Thermobrite-StatSpin) και ταυτόχρονη αποδιάταξη του ιχνηθέτη και του δείγματος στους 75°C για 5min
11. Όταν κατέβει η θερμοκρασία στους 37°C, επώαση για τουλάχιστον 30min στο μηχάνημα υβριδισμού και στη συνέχεια μεταφορά στο κουτί και επώαση όλη τη νύχτα στους 37°C.

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH ΓΙΑ ΜΟΝΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΜΥΕΛΟ,  
ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΜΥΕΛΟΥ, ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΛΛΑΓΜΕΝΑ ΣΤΟΥΣ -80°C Ή CYTOSPIN  
(1/3)**

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

- Προθέρμανση “διάλυμα 0.5xSSC” στο υδατόλουτρο στους 71°C
- Όλες οι διαδικασίες εκτελούνται στο σκοτάδι

2<sup>η</sup>μερα:

1. Πλύση σε “διάλυμα 2xSSC” για 2min
2. Αφαίρεση κόλλας και καλυπτρίδας
3. Επώαση σε διάλυμα “0.5xSSC” στους 71°C για 2min
4. Πλύση σε “διάλυμα 2xSSC” για 1min
6. Στέγνωμα σε κατακόρυφη θέση στο ντουλάπι για 10min
7. Ανάμειξη ακριβώς πριν τη χρήση, 1:1 “Prolong Gold Antifade Reagent” (ενισχυτικό σήματος, Invitrogen) και DAPI (125ng/ ml)
8. Τοποθέτηση 8μl μίγματος Antifade και DAPI στην προσημασμένη περιοχή στην αντικειμενοφόρο και επικάλυψη με καλυπτρίδα 22x22.
9. Απομάκρυνση των φυσαλίδων αέρα με πίεση και μονιμοποίηση της καλυπτρίδας με βερνίκι νυχιών.
10. Φύλαξη του πλακιδίου στους -20°C.

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΛΑΚΙΔΙΩΝ FISH**

- Παρατήρηση των πλακιδίων σε μικροσκόπιο φθορισμού με ένα φίλτρο για τον ιχνηθέτη με πορτοκαλί φθοριόχρωμα, ένα φίλτρο για τον ιχνηθέτη με πράσινο φθοριόχρωμα, ένα φίλτρο για τη χρωστική DAPI και ένα σύνθετο φίλτρο για το πορτοκαλί και το πράσινο φθοριόχρωμα

Πίνακας 13

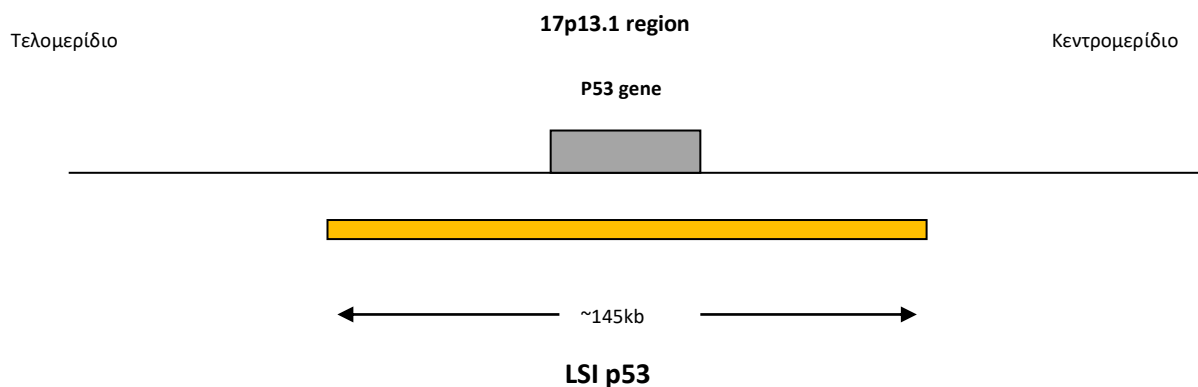
Probes	Excitation		Emission	
	Peak	FWHM	Peak	FWHM
SpectrumOrange™ Probes	559nm	38nm	588nm	48nm
SpectrumGreen™1 Probes	497nm	30nm	524nm	56nm

- Αξιολόγηση τουλάχιστον 200 μεσοφασικών πυρήνων για δείγματα στη διάγνωση της νόσου και τουλάχιστον 500 πυρήνων για δείγματα μετά από θεραπεία
- Το ποσοστό υβριδισμού πρέπει να είναι  $\geq 90\%$
- Για τους ιχνηθέτες ελλείψεων και προσθηκών (πχ. p53del, τρισωμίας 12) πρέπει να καθοριστεί το κατώτερο όριο θετικότητας σε κάθε εργαστήριο, μετά από δοκιμή τους σε δείγματα υγιών μαρτύρων (50 δείγματα)
- Αξιολόγηση του κάθε δείγματος σύμφωνα με το αναμενόμενο πρότυπο σημάτων που περιγράφεται στο εσώκλειστο φυλλάδιο οδηγιών.

### Ιχνηθέτες

Ο ιχνηθέτης της Vysis για την έλλειψη p53 φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:

Σχήμα 5



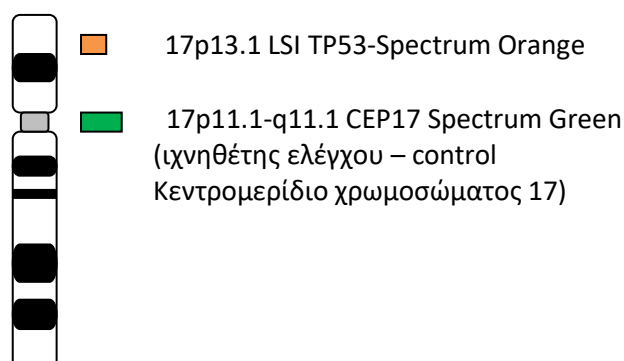
Οι ελλείψεις στο γονίδιο p53 δεν είναι σταθερού μεγέθους, γι αυτό ο ανιχνευτής καλύπτει όλο το μήκος του γονιδίου.

Ποιοτικός έλεγχος της μεθόδου

Ιχνηθέτης ελέγχου – Κεντρομερίδιο χρωμοσώματος 17

Σχήμα 6

χρ. 17



Αξιολογήθηκαν τουλάχιστον 200 μεσοφασικοί πυρήνες για δείγματα στη διάγνωση της νόσου και τουλάχιστον 500 πυρήνες για δείγματα μετά από θεραπεία. Το ποσοστό υβριδισμού ήταν >90%.

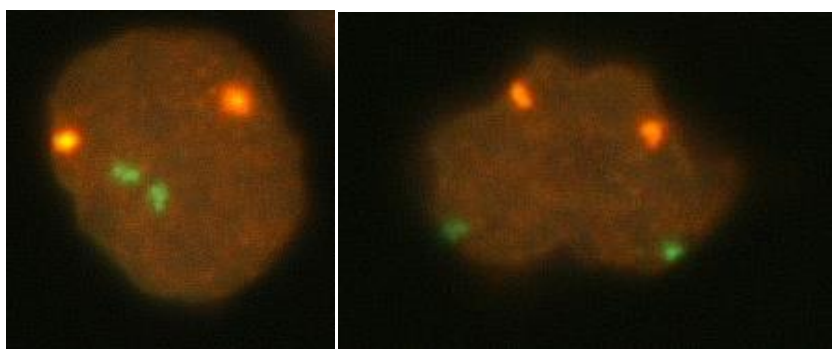
Για τους ιχνηθέτες ελλείψεων (p53del, 13qdel) καθορίστηκε κατώτερο όριο θετικότητας, μετά από δοκιμή τους σε δείγματα υγιών μαρτύρων (50 δείγματα). Αξιολογήθηκε το κάθε δείγμα σύμφωνα με το αναμενόμενο πρότυπο σημάτων που περιγράφεται από τον κατασκευαστή.

Το γονίδιο TP53 κωδικοποιεί την ογκοσταλτική πρωτεΐνη p53, η οποία είναι σημαντικός ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου. Το p53 μπορεί να ενεργοποιήσει πρωτεΐνες επιδιόρθωσης του DNA, όταν αυτό υποστεί βλάβη. Μπορεί επίσης να προκαλέσει παύση του κυτταρικού κύκλου στο σημείο ρύθμισης G1/S σε περίπτωση αναγνώρισης βλάβης του DNA έτσι ώστε οι πρωτεΐνες επιδιόρθωσης του DNA να έχουν χρόνο για επιδιόρθωση. Επίσης μπορεί να επάγει την απόπτωση αν η βλάβη του DNA αποδειχθεί ότι είναι ανεπανόρθωτη. Το p53 συμμετέχει σε πολλούς αντικαρκινικούς μηχανισμούς, και παίζει ρόλο στην απόπτωση, τη γενετική σταθερότητα και στην αναστολή της αγγειογένεσης. Η έλλειψη του TP53 συνδέεται με

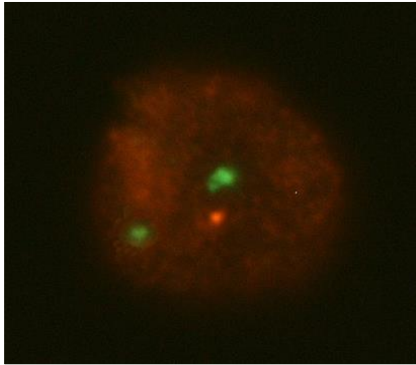
κακή πρόγνωση και μικρότερη επιβίωση. Στην πραγματικότητα, οι αλλαγές στο TP53 είναι από τους χειρότερους προγνωστικούς δείκτες για το Πολλαπλό Μυέλωμα.

Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν οι ιχνηθέτες Vysis LSI TP53 Spectrum Orange/CEP 17 Spectrum Green Probe, 20μL (Abbot). Οι ιχνηθέτες CEP (chromosomeEnumerationProbe) αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA ειδικές για κάθε χρωμόσωμα (alpha satellite, satellite II, satellite III DNA) και άμεσα σημασμένοι. Ο ιχνηθέτης Vysis LSI TP53 είναι σημασμένος με Spectrum Orange , έχει μέγεθος 170kb, υβριδίζεται στην περιοχή 17p13.1 του χρωμοσώματος 17 και καλύπτει όλο το TP53 γονίδιο. Ο ιχνηθέτης ελέγχου CEP17 είναι σημασμένος με Spectrum Green και υβριδίζεται στην περιοχή 17p11.1-q11.1 του χρωμοσώματος 17. Ο υβριδισμός των ιχνηθετών αυτών σε μεταφασικούς πυρήνες φυσιολογικών κυττάρων θα έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία δύο πορτοκαλί και δύο πράσινων σημάτων και την παρατήρηση σε μικροσκόπιο φθορισμού. Σε κύτταρα με έλλειψη p53 θα φαίνονται ένα κόκκινο και δύο πράσινα σήματα.

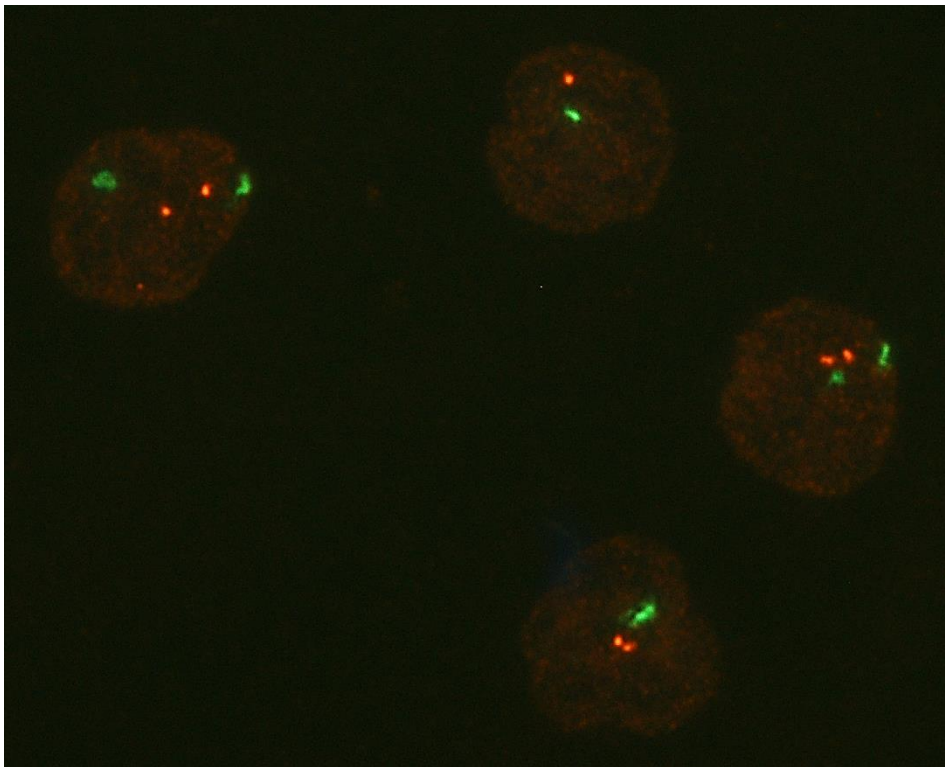
Εικόνα 4: Φυσιολογικού πυρήνες με 2 πράσινα και 2 πορτοκαλί σήματα – πυρήνες με 2 αντίγραφα του 17p



Εικόνα 5: Πυρήνες με 2 πράσινα σήματα και 1 πορτοκαλί – Πυρήνες με 1 αντίγραφο του 17p–έλλειψη του 17p.



Εικόνα 6 : Μονοσωμία p53: 1 πράσινο και 1 πορτοκαλί σήμα – Πυρήνες με 1 χρωμόσωμα



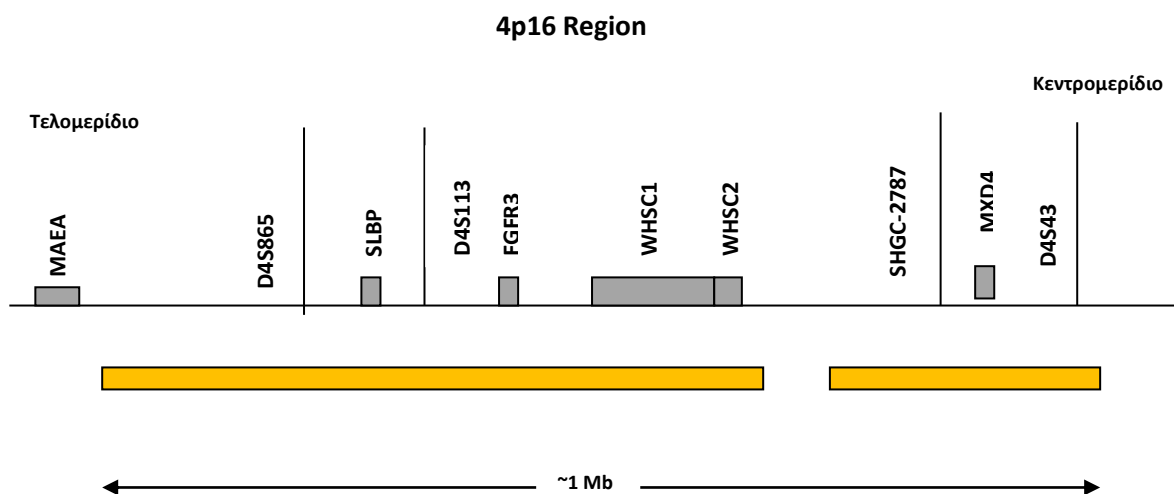


Ο ιχνηθέτης IGH/FGFR3 DF FISH ProbeKit ανιχνεύει την αντιμετάθεση t(4;14)(p16;q32) και εμπλέκει τις γονιδιακές περιοχές FGFR3 και IGH.

Η t(4;14)(p16;q32) αποτελεί μια συχνή αντιμετάθεση στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα και συχνά διαλάθει από κυτταρογενετικές μεθόδους λόγω της τελομερικήςχρωμοσωμικής εντόπισης των εμπλεκόμενων περιοχών. Η IFM99 μελέτη έδειξε ότι η t(4;14) επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση ελεύθερης συμβαμάτων και την ολική επιβίωση σε νεοδιαγνωσθέντες συμπτωματικούς ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. FISH για την συγκεκριμένη αντιμετάθεση θεωρείται ως μία από τις δοκιμασίες που πρέπει να γίνονται στη διάγνωση και στην επιλογή της θεραπευτικής αντιμετώπισης.

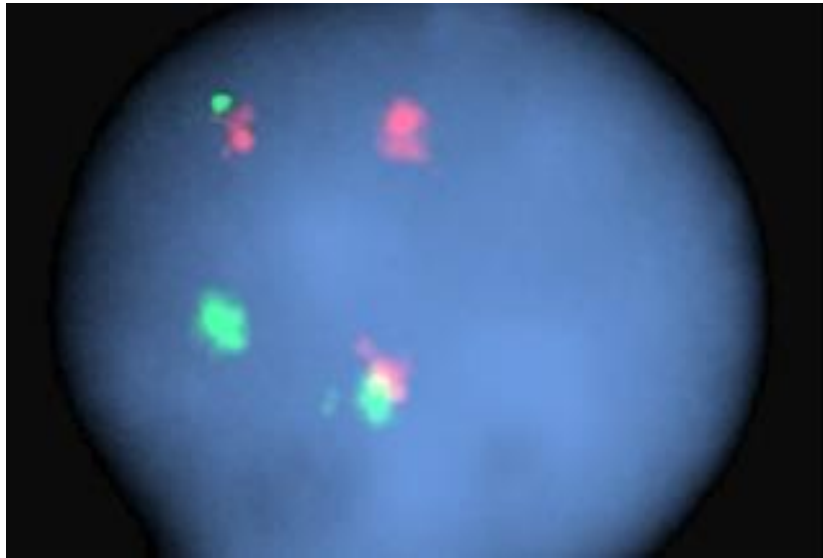
Σε φυσιολογικούς πυρήνες παρατηρούνται 2 πορτοκαλί και 2 πράσινα σήματα που αντανακλούν αντίστοιχα στα FGFR3 και IGH περιοχές. Σε δείγμα θετικό στην αντιμετάθεση παρατηρείται 1 πορτοκαλί (FGFR3), 1 πράσινο (IGH) και 2 σύνθετα σήματα (der(4) και der(14)).

Σχήμα 7



Ιχνηθέτης LSIFGFR3 SpectrumOrange για την ανίχνευση της αντιμετάθεσης t(4;14)(p16.3;q32.3)

Εικόνα 7: Πυρήνας με την αντιμετάθεση t(4;14). Παρατηρούνται 2 σύνθετα σήματα, 1 πράσινο και 1 πορτοκαλί σήμα.

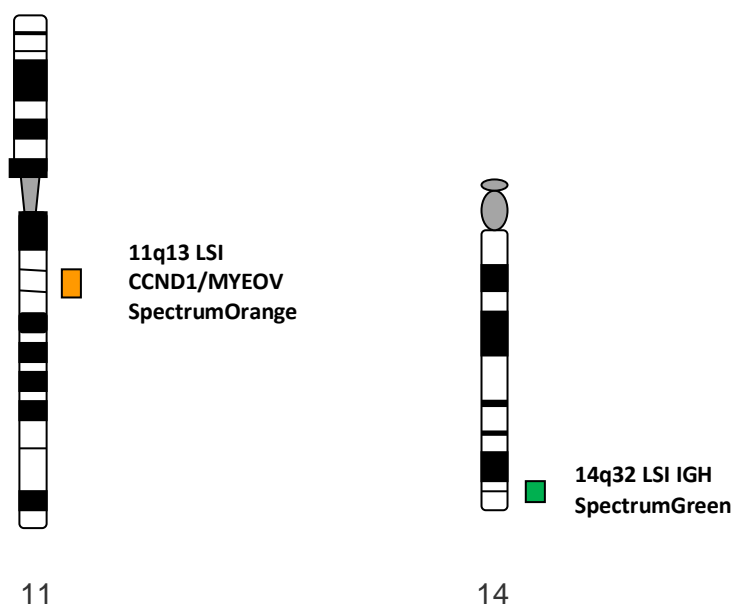


Για την αντιμετάθεση t(11;14) χρησιμοποιήσαμε τον ιχνηθέτη Vysis LSI/CCND1 XT Dual Color Dual Fusion Probe.

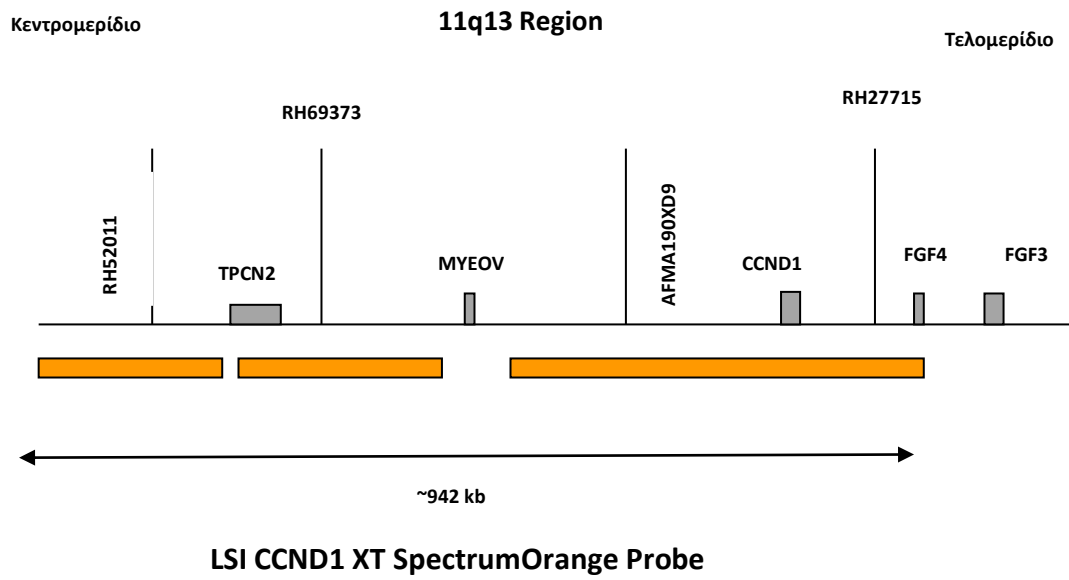
Τα σημεία θραύσης εντοπίζονται σε μια περιοχή >350 kb, όμως το 41% αυτών συγκεντρώνονται σε μια μικρή περιοχή BCL1 MTC (Major Translocation Cluster region) περιοχή μεγέθους 85bp. Μόνο αυτά ανιχνεύονται με PCR.

Η t(11;14)(q13;q32) αντιμετάθεση εμπλέκει τις γονιδιακές περιοχές IGH και CCND1. Θεωρείται η πιο συχνή αντιμετάθεση σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα και φαίνεται ότι έχουν καλύτερη πρόγνωση και ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε και για τη διαφορική διάγνωση της ΧΛΛ και λεμφώματος μανδύα.

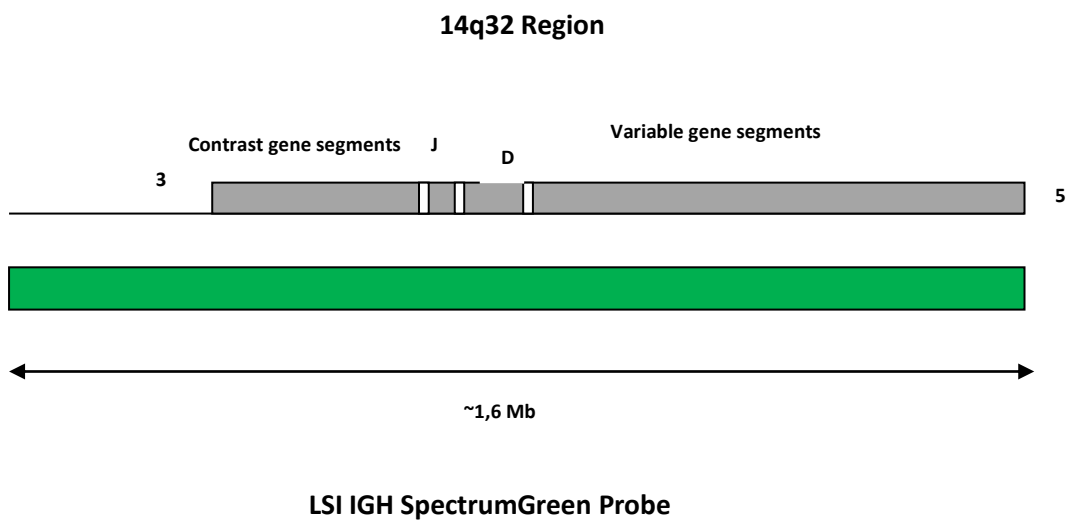
Σχήμα 8



Σχήμα 9



Σχήμα 10

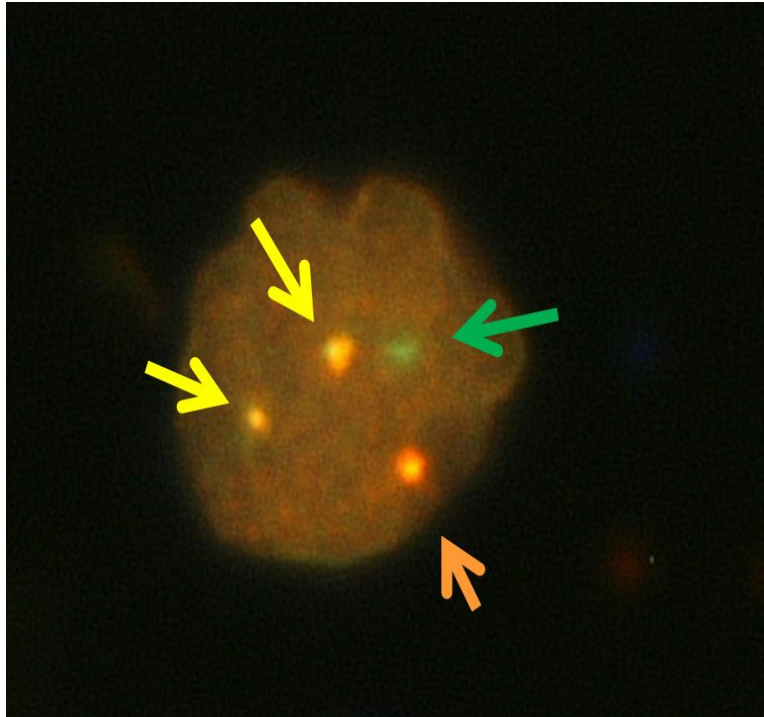


Σε φυσιολογικούς πυρήνες παρατηρούνται 2 πορτοκαλί και 2 πράσινα σήματα (CCND1 και IGH αντίστοιχα). Σε παθολογικούς πυρήνες παρατηρούνται 1 πορτοκαλί, 1 πράσινο και 2 σύνθετα σήματα (der(11) και der(14)).

Εικόνα 8: Φυσιολογικός πυρήνας χωρίς την αντιμετάθεση με 2 πράσινα και 2 πορτοκαλί σήματα.

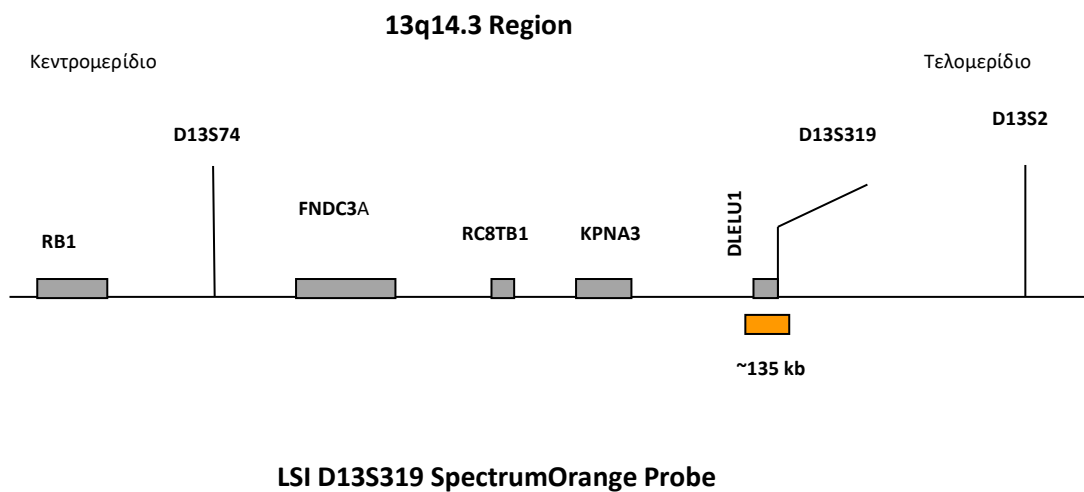


Εικόνα 9 : Πυρήνας με την αντιμετάθεση t(11;14). Παρατηρούνται δύο κίτρινα σήματα (fusion: σύντηξη), 1 πράσινο και 1 πορτοκαλί.



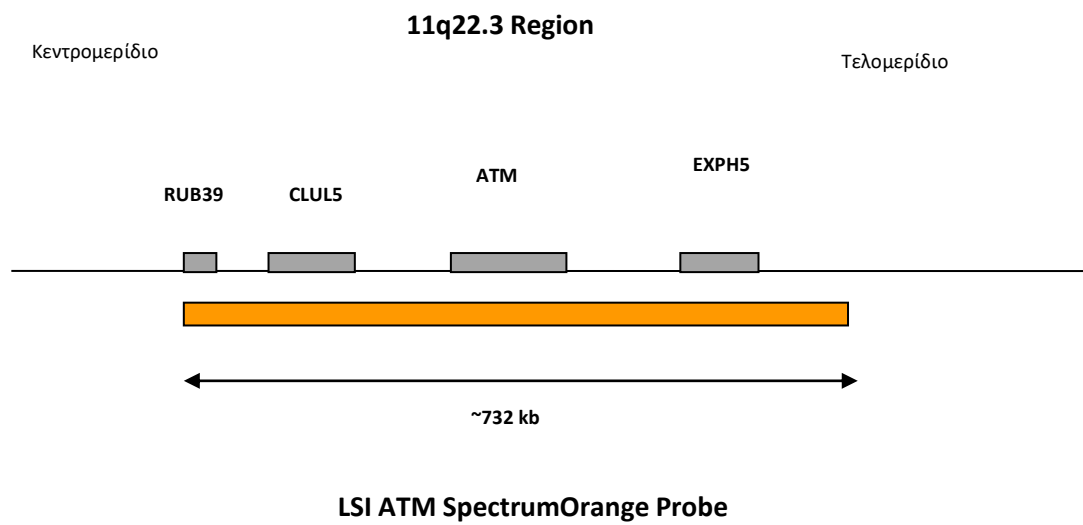
Ο ιχνηθέτης D13S319/LSI 13q34 ανιχνεύει την έλλειψη της χρωμοσωμικής περιοχής 13q14 και 13q34. Έλλειψη του 13q ή ολόκληρου του χρωμοσώματος 13 παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. Ο Avet-Loiseau και συν. χρησιμοποίησε τον ιχνηθέτη VysisD13S319 σε μια μεγάλη μελέτη για να αποδείξει τις αρνητικές επιδράσεις της έλλειψης του χρ.13q στην ολική επιβίωση ασθενών με πολλαπλό μυέλωμα. Στην ΧΛΛ θεωρείται καλής πρόγνωσης. Τα αποτελέσματα είναι ανάλογα με αποτελέσματα όπως των ιχνηθετών αριθμητικών διαταραχών.

Σχήμα 11



Για την ανίχνευση της έλλειψης του ATM γονιδίου χρησιμοποιήθηκε ο ιχνηθέτης LSI ATM (11q22.3) SpectrumOrange, καθώς και ο αντίστοιχος ιχνηθέτης του κεντρομεριδίου του χρωμοσώματος 11.

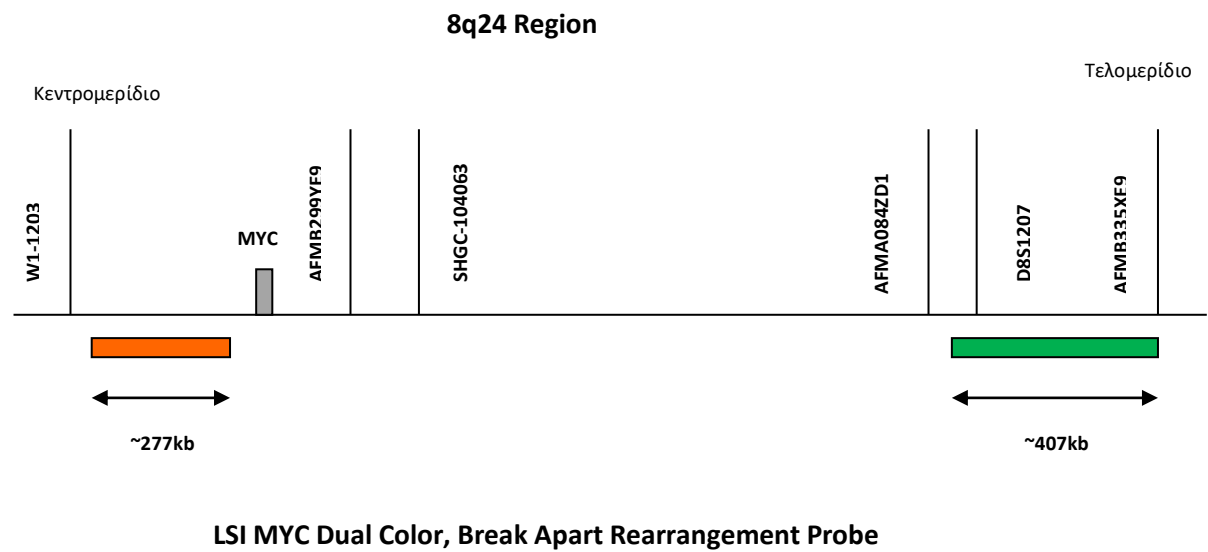
Σχήμα 12



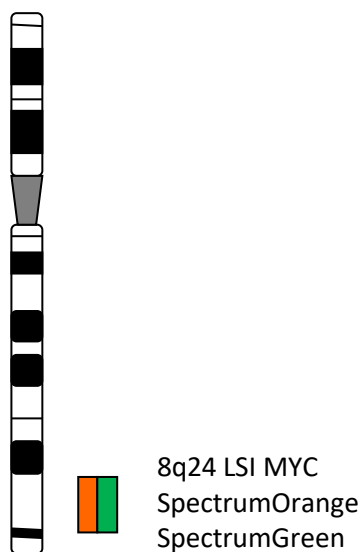


Διενεργήθηκε FISH επίσης για την ανίχνευση myc με τον ιχνηθέτη LSI MYC Dual Color, Break Apart rearrangement.

Σχήμα 13



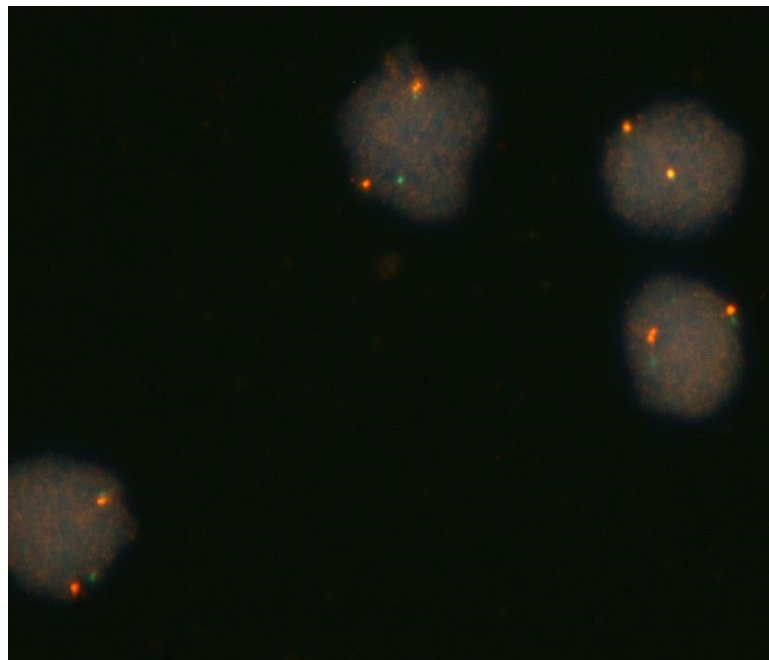
Σχήμα 14



Με τον συγκεκριμένο ιχνηθέτη αναγνωρίζονται οι αντιμεταθέσεις

- t(8;14) IGH-MYC στο 75 – 80% των περιπτώσεων
- t(8;22) IGL – MYC
- t(2;8) IGK - MYC

Οι φυσιολογικοί πυρήνες στα Break Apart Rearrangement probes απεικονίζονται με 2 σύνθετα κίτρινα σήματα, ενώ οι παθολογικοί, στη συγκεκριμένη περίπτωση με την αναδιάταξη του myc φαίνονται με 1 σύνθετο κίτρινο σήμα, 1 πράσινο και 1 πορτοκαλί, όπως φαίνεται και στη φωτογραφία πυρήνων ασθενούς μας με την αναδιάταξη.



Εικόνα 10: Πυρήνες με την αναδιάταξη myc

## PCR για την ανίχνευση μεταλλάξεων TP53 στους ασθενείς με ΧΛΛ.

Οι PCR διενεργήθηκαν στη Μονάδα Μοριακής Διαγνωστικής στην Αιματολογία του ΕΚΠΑ.

Εικόνα 11

### Μεθοδολογία ανίχνευσης μεταλλάξεων στα εξόνια 4 έως 10 του γονιδίου TP53

- Απομόνωση DNA (**Nucleospin Blood, Macherey Nagel**)
- Ενίσχυση των εξωνίων 4 έως 10 του γονιδίου TP53 με 5 διαφορετικές PCR με τους κατάλληλους εκκινητές (**IARC protocol**) και ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντος σε γέλη αгарόζης 1,5%
- Ανάγνωση αλληλουχίας βάσεων των PCR προϊόντων με direct sequencing και από τις δύο κατευθύνσεις και όπου είναι απαραίτητο κλωνοποίηση του PCR προϊόντος σε TA-vector και ανάγνωση τουλάχιστον 8 αποικιών
- Σύγκριση των αλληλουχιών βάσεων με τη γενωμική αλληλουχία του γονιδίου TP53 GenBank NC\_000017.11 (hg38) (DNA), NM\_000546.4 (cDNA), UniProt P04637 (protein) (<http://p53.iarc.fr>)
- Αξιολόγηση του αποτελέσματος σύμφωνα με τη βάση δεδομένων IARC TP53 (<http://p53.iarc.fr>) και UMD TP53 mutation (<http://p53.fr/>)
- Η ευαισθησία της μεθόδου είναι της τάξης του 20%
- Τα αποτελέσματα εξετάσεων που πραγματοποιούνται με μοριακές τεχνικές εμπεριέχουν πιθανότητα σφάλματος <1%

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Δεν ανιχνεύθηκαν παθολογικές μεταλλάξεις στα εξόνια 4 έως 10 του γονιδίου TP53.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Οι πολυμορφισμοί και οι μη παθολογικές μεταλλάξεις δεν αναφέρονται στην απάντηση και μπορούν να δοθούν ύστερα από αίτημα.

*Το εργαστήριο συμμετέχει στο πρόγραμμα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας του **European Research Initiative on CLL (ERIC)** για την ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο TP53 με αλληλούχιση κατά Sanger.*

## Αναλύσεις υπερμεταλλάξεων της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών

Οι αναλύσεις των υπερμεταλλάξεων της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών των ασθενών με ΧΛΛ διενεργήθηκαν στη Μονάδα Μοριακής Διαγνωστικής στην Αιματολογία του ΕΚΠΑ.

Εικόνα 12

### Μεθοδολογία ανάλυσης υπερμεταλλάξεων των γονιδίων της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών:

- Απομόνωση γενωμικού DNA: **Nucleospin Blood kit (Macherey-Nagel)**
- Ενίσχυση βαριών αλυσίδων ανοσοσφαιρινών με PCR ( **Εκκινητές VH1-7 – JH consensus BIOMED-2**)
- Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων σε γέλη αгарόζης 1,5%
- Τεκμηρίωση μονοκλωνικότητας στην οικογένεια **VH2**
- Ανάγνωση αλληλουχίας βάσεων του μονοκλωνικού προϊόντος με direct sequencing (4 φορές)
- Σύγκριση των 4 αλληλουχιών βάσεων μεταξύ τους
- Ανάλυση μονοκλωνικής αλληλουχίας με τη βάση δεδομένων **IMGT**
- Ανάλυση στεροτυπικών υποσυνόλων της μονοκλωνικής αλληλουχίας με τη βάση δεδομένων **ARResT/AssignSubsets tool**
- Τα αποτελέσματα εξετάσεων που πραγματοποιούνται με μοριακές τεχνικές εμπεριέχουν πιθανότητα σφάλματος <1%

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Τεκμηριώθηκε μονοκλωνικότητα στη **VH2** οικογένεια. Από την ανάλυση αλληλουχίας βάσεων προέκυψε ότι η **VH2-70\*01** αλληλουχία του ασθενούς φέρει μεταλλάξεις σε **0,36%** σε σύγκριση με τη γενωμική αλληλουχία.

**Σημείωση:** Υπερμεταλλαγμένη θεωρείται η αλληλουχία που φέρει μεταλλάξεις >2% σε σύγκριση με τη γενωμική αλληλουχία

**Οι αμετάλλακτες Vh αλληλουχίες έχουν συσχετιστεί με χειρότερη κλινική πρόγνωση στην ΧΛΛ.**

Sequence compared with the [human IG set](#) from the [IMGT reference directory](#)

```
>1
gtctggctcctacgctggtgaaacccacacagacctcacactgacctgcacctctctgg
gtctcactcagcactagtggaatctgtctgactgactccgtcagccccagggaaagc
cctggagtgcttgaactcctgactggatgataaatacctcagccactctgaa
gaccagctcaccatctccaaggacacctccaaaaccagtggtccttacaatgaccaa
catggacctgtggacacagccacgtattactgtgacggggagatgggtacaattcctg
gtgggactactggggccagggaacctggctaccctctcctcaggtaaag
```

Result summary:	Productive IGH rearranged sequence (no stop codon and in-frame junction)		
V-GENE and allele	Homsap IGHV2-70*01 F	score = 1356	identity = 99.64% (273/274 nt)
J-GENE and allele	Homsap IGHJ4*02 F	score = 195	identity = 89.58% (43/48 nt)
D-GENE and allele by IMGT/JunctionAnalysis	Homsap IGHJ5-24*01 ORF	D-REGION is in reading frame 3	
FR-IMGT lengths, CDR-IMGT lengths and AA JUNCTION	[19.17.38.11]	[10.7.12]	CARGDGYNSWWDYW

- V-REGION partial 5' missing nt nb: 17

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### 4.1 Παραδείγματα ΠΜ ασθενών ως προς συγκεκριμένες κυτταρογενετικές ανωμαλίες

#### Παραδείγματα ασθενών με ΠΜ ως προς την έλλειψη p53

*Ασθενής #1*, άνδρας 75 ετών, με ΠΜ IgGκ, σταδίου 3 ISS, παρουσίασε απόλυτη πλήρη ύφεση (sCR) στην αρχική θεραπεία περιέχουσα Bortezomib, η επακόλουθη επιβίωση χωρίς υποτροπή ήταν 13 μήνες. Έλαβε στη συνέχεια λεναλιδομίδη, ανταποκρίθηκε αρχικά με πλήρη ύφεση (CR) αλλά υποτροπίασε σε λιγότερο από 12 μήνες και απεβίωσε. Συνολική επιβίωση 34 μήνες.

*Ασθενής #2*, γυναίκα 64 ετών, με ΠΜ IgGλ, σταδίου 3 ISS, παρουσίασε απόλυτη πλήρη ύφεση (sCR) στην αρχική θεραπεία περιέχουσα θαλιδομίδη. Αν και η θεραπεία διήρκεσε μόνο 4 μήνες λόγω εμφάνιση παρενεργειών, η επακόλουθη επιβίωση χωρίς υποτροπή και χωρίς αγωγή είναι 20 μήνες. Η συνολική επιβίωση χωρίς συμβάντα είναι 24 μήνες.

*Ασθενής #3*, [έχει εκτός από την έλλειψη p53, αντιμετάθεση t(4;14) και έλλειψη 13q, σύγχρονα]. Άνδρας 59 ετών, με ΠΜ IgAκ, σταδίου 3 ISS, παρουσίασε μερική ύφεση (PR) στην αρχική θεραπεία περιέχουσα Bortezomib που διεκόπη μετά από 3 κύκλους λόγω παρενεργειών. Έλαβε στη συνέχεια λεναλιδομίδη, ανταποκρίθηκε με μερική ύφεση (PR) και υποβλήθηκε στη συνέχεια σε μυελοαφανιστική θεραπεία και αυτόλογη μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων αίματος, είναι έκτοτε σε πολύ καλή μερική ύφεση (VGPR). Συνολική επιβίωση 12 μήνες.

#### Παραδείγματα ασθενών με ΠΜ ως προς την αντιμετάθεση t(4;14)

*Ο Ασθενής #1 είναι ο Ασθενής #3 της προηγούμενης παραγράφου,*

*Ασθενής #2*. Άνδρας 64 ετών, με ΠΜ IgAκ, σταδίου 3 ISS, παρουσίασε μερική ύφεση (PR) στην αρχική θεραπεία με VAD αλλά υποτροπίασε πολύ γρήγορα και έλαβε θεραπεία περιέχουσα Bortezomib που τον οδήγησε σε πολύ καλή μερική ύφεση (VGPR). Υποβλήθηκε στη συνέχεια σε μυελοαφανιστική θεραπεία και αυτόλογη μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων αίματος. Υποτροπίασε σε λιγότερο

από 12 μήνες και έλαβε αγωγή με λεναλιδομίδη (CR). Η διάρκεια ύφεσης δεν ξεπέρασε το 12μηνο και έλαβε διάφορες θεραπείες διάσωσης. Απεβίωσε με συνολική επιβίωση 38 μήνες.

#### **Ως προς τους ασθενείς με αντιμετάθεση t(11;14)**

Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα περίπτωση ανδρός 54 ετών, με ΠΜ κ ελαφρών αλύσεων, σταδίου 3 ISS, που έλαβε συνολικά 11 θεραπευτικές γραμμές (όπου συμπεριλαμβάνονται διαδοχικά και οι 3 νέους παράγοντες), υπήρξε ανθεκτικός σε όλες αλλά έζησε 9 χρόνια με ενεργό νόσο.

#### **Ως προς τους ασθενείς με έλλειψη 13q**

Η μέση επιβίωση τους ήταν περίπου 30 μήνες.

#### **4.2 Ασθενείς υπό Λεναλιδομίδη και υπερδιπλοειδή καρυότυπο**

Μελετήσαμε έπειτα τα κυτταρογενετικά δεδομένα 204 ασθενών με συμπτωματικό Πολλαπλό Μυέλωμα που η διάγνωση και η θεραπεία διετελέσθηκαν στο Τμήμα μας και είχαν λάβει λεναλιδομίδη ως θεραπευτική γραμμή κατά τη διάρκεια της παρακολούθησής τους. Από αυτούς μελετήθηκαν περαιτέρω οι ασθενείς που είχαν ένδειξη υπερδιπλοειδίας στον καρυότυπο. Κλινικοπαθολογικά, εργαστηριακά και απεικονιστικά δεδομένα επίσης αναθεωρήθηκαν.

Ως υπερδιπλοειδής καρυότυπος ορίστηκε αυτός που ανέδειξε 48 – 65 χρωμοσώματα με προσθήκες σε τουλάχιστον δύο χρωμοσώματα και επιπλέον, πιθανές δομικές ανωμαλίες όπως αντιμεταθέσεις, ελλείψεις, προσθήκες, διπλασιασμοί κλπ.

FISH σε μεσοφασικούς πυρήνες διενεργήθηκε με τους κατάλληλους ιχνηθέτες σύμφωνα με τα ανάλογα πρωτόκολλα στο μυελό των ασθενών και τις κατάλληλες εργαστηριακές διαδικασίες. Αναλύθηκαν για τον καθέναν ιχνηθέτη τουλάχιστον 200 πυρήνες.

Από τους 204 ασθενείς οι μισοί περίπου είχαν επαρκή δεδομένα για την ανάλυσή τους. Οι 81 ασθενείς (39,7%) είχαν παθολογικό καρυότυπο και οι 123 φυσιολογικό. Από τους ασθενείς με παθολογικό καρυότυπο το 56,6% εμφάνιζαν υπερδιπλοειδία, ενώ υποδιπλοειδικούς καρυότυπους παρατηρήσαμε στο 13,4% των ασθενών.

Από τους ασθενείς με υπερδιπλοειδία στο 76,5% συμμετείχαν και άλλες δομικές μεταβολές, αριθμητικές, ελλείψεις και αντιμεταθέσεις. Δεν αξιολογήθηκαν περαιτέρω οι ασθενείς μόνο με τρισωμίες.

Η μέση ηλικία αυτών ήταν τα 67,2 έτη (εύρος 48 – 83).

Η πιο συχνή παραπρωτεΐνη ήταν η IgGκ 61,5% και ακολουθούσαν η IgGλ και η IgAκ με 15,4% έκαστη και η λ ελαφρών αλύσεων 7,7%.

38,4% ήταν σταδίου I κατά ISS, ενώ σταδίου II και III, ίδιος αριθμός ασθενών από 30,8%.

Αξιοσημείωτο είναι ότι η πλειοψηφία αυτών των ασθενών, το 69,2% παρουσίαζε οστική νόσο, 46,1% αναιμία με Hb<11g/dl, μόλις το 7,7% υπερασβεστιαμία, ενώ δεν υπήρξε ασθενής με GFR<30, ίσως επειδή η επιλογή της λεναλιδομίδης αφορούσε τους ασθενούς αυτούς χωρίς ιδιαίτερη επηρεασμένη νεφρική λειτουργία.

Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι το 13% των ασθενών αυτών παρουσίαζαν πλασματοκύττωμα.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά των τελευταίων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 14: Χαρακτηριστικά ασθενών

Ασθενείς	(%)
Ηλικία ≥ 65	69,2
Τύπος IgGκ	61,5
IgGλ	15,4
IgA	15,4
Ελαφρών αλύσεων	7,7
Στάδιο κατά ISS I	38,4
II	30,8
III	30,8
Αναιμία	46,1
Οστική νόσος	69,2
Υπερασβεστιαμία	7,7
Πλασματοκύττωμα	13

Η πιο συχνή τρισωμία στη δική μας σειρά ήταν του χρωμοσώματος 19 (42%) και ακολουθούσαν το 11 (33,3%), το 5 (25%), το 3 (25%) και το 21 (25%).

Διαταραχές του χρωμοσώματος 1, gain ή del, παρατηρήθηκε στο 25% των ασθενών με υπερδιπλοειδία και επιβεβαιώθηκε με την τεχνική της SureFISH.

39,5% των ασθενών παρουσίαζαν χρωμοσωμικές ανωμαλίες με την τεχνική της FISH. 15,7% είχαν έλλειψη του 17p, εκ των οποίων μία ασθενής εμφάνιζε μονοσωμία, όπως και του t(4;14), 5,26% t(11;14) και μόλις 2,6% t(14;16). Δεν υπήρξε ασθενής με την αντιμετάθεση t(14;20).

Θα πρέπει ίσως να τονίσουμε ότι στους μισούς ασθενείς με del 17p, το ποσοστό θετικότητας ήταν περισσότερο του 60% των μεσοφασικών πυρήνων.

Θα ήταν χρήσιμο σε αυτό το σημείο να περιγράψουμε την έκβαση τριών ασθενών με κυτταρογενετικές ανωμαλίες και την έκβασή τους μετά από θεραπεία με λεναλιδομίδη.

#### Ασθενής #1

Πρόκειται για γυναίκα 64 ετών με διάγνωση IgGκ Πολλαπλού Μυελώματος, ISSI και R-ISSII, τον 7<sup>ο</sup>/2018. Στη διάγνωση διαπιστώθηκε η αντιμετάθεση t(4;14) σε ποσοστό 91% και 17pdel 86% στη FISH. Ο καρυότυπος ήταν 46,XX,del(16)(q23)[7]/46,XX[12]. Έλαβε θεραπεία με το σχήμα Bortezomib – Cyclophosphamide – Dexamethasone, λόγω οστικής νόσου και 75% πλασματοκυτταρικής διήθησης στον μυελό. Μετά από τέσσερις κύκλους θεραπείας, η ασθενής υποβλήθηκε σε αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Δύο μήνες μετά η ασθενής υποτροπίασε. Ο καρυότυπος ανεδείχθη χωρίς κυτταρογενετικές διαταραχές, η FISH απέβη αρνητική για την αντιμετάθεση t(4;14), ενώ για την έλλειψη του 17p ήταν θετική σε ποσοστό 92%. Έλαβε θεραπεία βασισμένη στη λεναλιδομίδη με σταδιακή πτώση της IgGκ και ελεύθερων αλύσεων. Μετά από τρεις κύκλους υπήρξε και πάλι υποτροπή με παρουσία πλασματοκυττώματος κλειδας AP, με την επανεμφάνιση της αντιμετάθεσης t(4;14), η έλλειψη 17p παρέμεινε στην πλειονότητα των πλασματοκυττάρων και ο καρυότυπος 46,XX. Η ασθενής έλαβε συνδυασμούς νεώτερων σκευασμάτων, υποβλήθηκε σε 2<sup>η</sup> αυτόλογη μεταμόσχευση και τελικά απεβίωσε 28 μήνες μετά τη διάγνωση. Κατά τη διάρκεια της νόσου της και στις επανειλημμένες επανεκτιμήσεις που υπέστη, η FISH ήταν πάντα θετική για την έλλειψη του 17p. Η αντιμετάθεση t(4;14) εξαλείφθηκε μόνο με τη θεραπεία με την Μπορτεζομίπη.



## Ασθενής #2

Πρόκειται για άντρα 74 ετών με διάγνωση IgGκ Πολλαπλού Μυελώματος σταδίου I κατά ISS το 2008. Στη διάγνωση ο καρυότυπος ήταν με φυσιολογικές μεταφάσεις. Ο ασθενής εμφάνιζε αναιμία και πολλαπλές οστεολύσεις στη χαμηλής έντασης αξονική τομογραφία. Ως εκ τούτου, έλαβε αρχικά θεραπεία με το σχήμα MPT με πολύ καλή μερική ανταπόκριση. Δύο χρόνια αργότερα ο ασθενής υποτροπίασε με επανεμφάνιση της αναιμίας και μεγάλη πλασματοκυτταρική διήθηση στον μυελό. Ο καρυότυπος ανέδειξε υπερδιπλοειδία με 52,X,-Y,add(2)(q34),+del(2)(q12q14),+add(3)(p21),-4,add(6)(q27),-7,-8,+del(11)(p11),+15,add(17)(q25),+19,+21,+4mar[4]/46,XY[16]. Έλαβε λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη και κατάφερε sCR. Σε πάροδο δεκαετίας ελάμβανε σχήματα βασισόμενα στη λεναλιδομίδη, όποτε έχρηζε με πολύ καλές ανταποκρίσεις και φυσιολογικό καρυότυπο, ενώ η FISH ήταν αρνητική τόσο για τις αντιμεταθέσεις, όσο και για την έλλειψη του 17p. Απεβίωσε 12 χρόνια μετά τη διάγνωση από σηψαιμία.

## Ασθενής #3

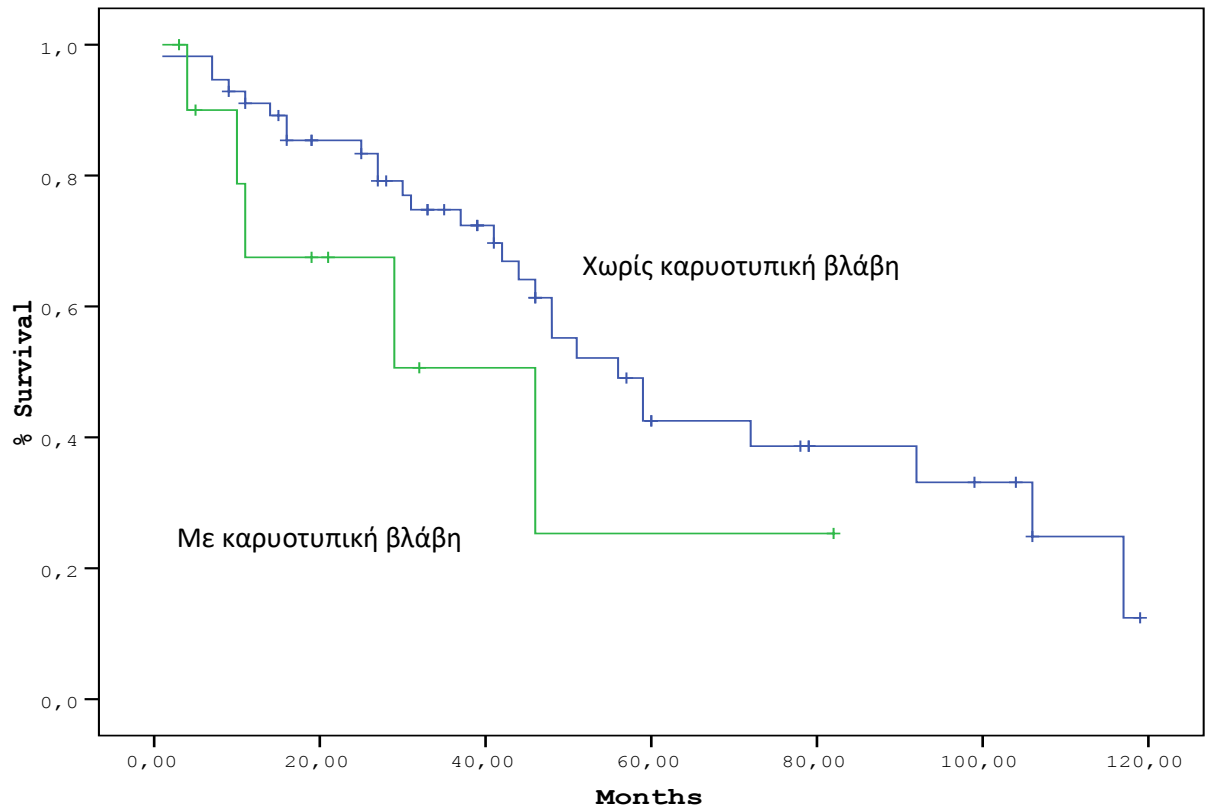
Γυναίκα 80 ετών με IgGκ συμπτωματικό Πολλαπλό Μυέλωμα. Παρουσίαζε αναιμία και 80% πλασματοκυτταρική διήθηση κατά τη διενέργεια οστεομυελικής βιοψίας στη διάγνωση. Ο καρυότυπος ανέδειξε τετραπλοειδικό καρυότυπο 84-87,XXXX,del -4,-5,-6,-13,-14,-15,-17,-18,der(19)t(1;19)(q21;q13)x2,+3,-6mar[4]. Η θεραπεία που έλαβε ήταν λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη. Η ασθενής παρόλο το πολύ κακής πρόγνωσης καρυότυπο, απεβίωσε 12 έτη μετά τη διάγνωσή της.

Η ανάλυση των ασθενών με κυτταρογενετικές ανωμαλίες που έλαβαν θεραπεία με λεναλιδομίδη, έδειξε ότι η επιβίωσή τους ήταν χειρότερη από αυτούς τους ασθενείς χωρίς.

Μελετώντας την έκβαση των ασθενών με υπερδιπλοειδία σε σχέση με τη θεραπεία με τη λεναλιδομίδη, παρατηρήσαμε ότι οι ασθενείς που έφεραν υπερδιπλοειδικό καρυότυπο με όχι μόνο τρισωμίες, αλλά και σε συνδυασμό με άλλες δομικές μεταβολές, είχαν χειρότερη πρόγνωση όσον αφορά στην ολική επιβίωση, σε σύγκριση με τους ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο. Το τελευταίο εύρημα ήταν στατιστικά σημαντικό ( $p < 0,0001$ ).

### 4.3 Επιβίωση μετά τη θεραπεία με λεναλιδομίδη σε σχέση με την παρουσία ή μη οποιασδήποτε καρυοτυπικής βλάβης.

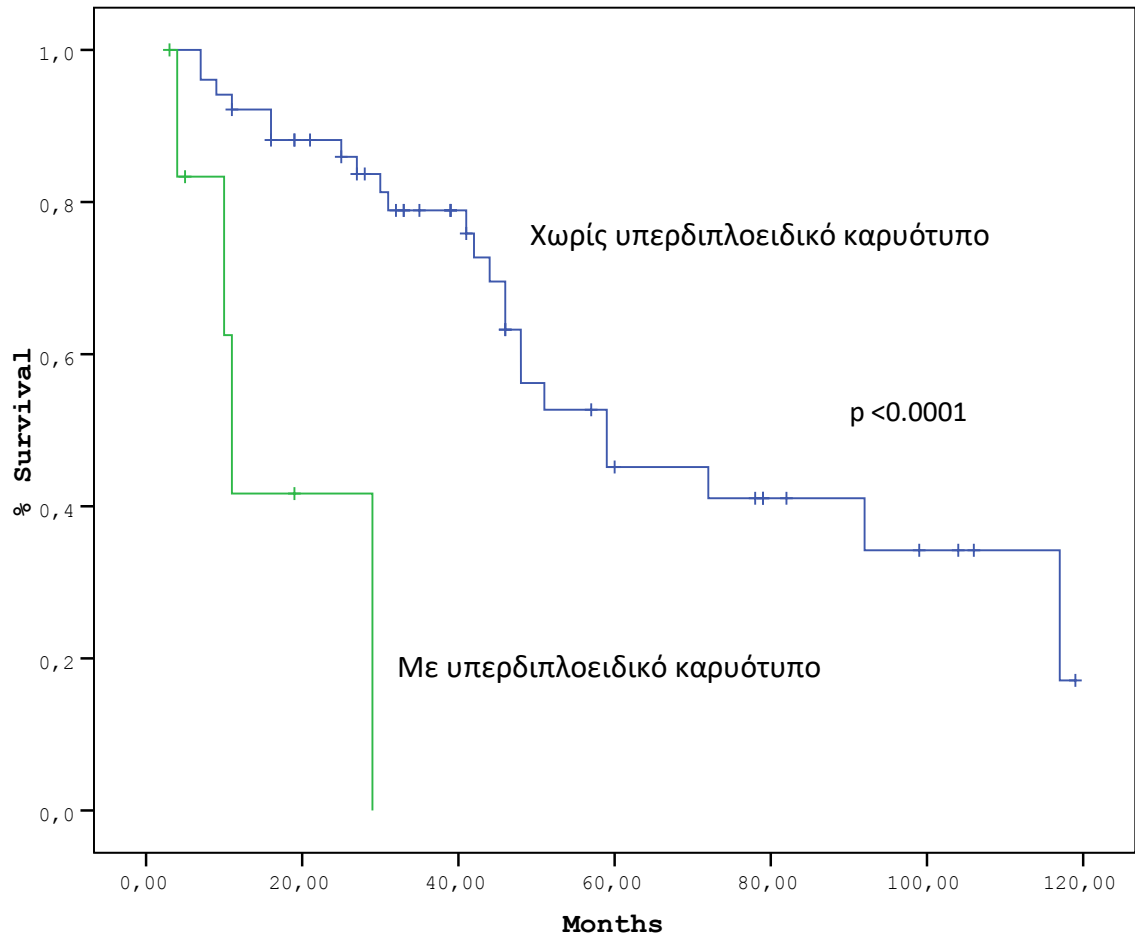
Διάγραμμα 1



Οι ασθενείς με καρυοτυπική βλάβη τείνουν να έχουν χειρότερη επιβίωση ( $p=0,1$ )

#### 4.4 Επιβίωση μετά τη θεραπεία με λεναλιδομίδη σε σχέση με την παρουσία ή μη υπερδιπλοειδικόκαρυότυπου.

Διάγραμμα 2



Οι ασθενείς με υπερδιπλοειδικόκαρυότυπο έχουν στατιστικά σημαντική χειρότερη επιβίωση ( $p < 0,0001$ )

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### 5.1 Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία – Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα

Η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία χαρακτηρίζεται από έναν σημαντικό βαθμό μοριακής ετερογένειας που επιδρά στην ποικίλη κλινική συμπεριφορά της νόσου. Ειδικότερα, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του 2018, θα πρέπει να αξιολογούνται πριν την έναρξη θεραπείας

1. Οι μεταλλάξεις του TP53 και η έλλειψη του 17p
2. Οι ελλείψεις των 11q, 13q και η τρισωμία 12
3. Οι μεταλλάξεις της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών.

Επιπλέον, ο σύνθετος καρυότυπος που ορίζεται ως η παρουσία τουλάχιστον τριών χρωμοσωμικών βλαβών, έχει σχετιστεί με βραχύτερη επιβίωση στους ασθενείς με ΧΛΛ.

Ο όρος «υψηλού κινδύνου» ΧΛΛ, μόλις δέκα χρόνια πριν αναφερόταν στους ασθενείς αυτούς που είτε ήταν ανθεκτικοί στην χημειοθεραπεία, είτε σε αυτούς που έφεραν βλάβη του TP53 που αντιπροσωπεύει τον σημαντικότερο ίσως προγνωστικό παράγοντα χημειοανθεκτικότητας.

Η καρυοτυπική ανάλυση αξιολογήθηκε όταν είχαν μελετηθεί  $\geq 10$  μεταφάσεις σε παρουσία κλωνικών ανωμαλιών ή  $\geq 15$  χωρίς.

Κλωνικέςκυτταρογενετικές ανωμαλίες θεωρήθηκαν ότι είναι παρούσες όταν τουλάχιστον 2 μεταφάσεις έδειξαν πανομοιότυπες χρωμοσωμικές προσθήκες ή δομικές ανωμαλίες ή τουλάχιστον τρεις μεταφάσεις που έδειχναν πανομοιότυπες χρωμοσωμικές ελλείψεις.

Η στατιστική ανάλυση έγινε χρησιμοποιώντας το SPSSversion 25. Για τις καμπύλες επιβίωσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kaplan and Meier.

Συγκεντρώσαμε συνολικά τα χαρακτηριστικά 120 ασθενών με Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία και Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα.

## 5.2 Ανθεκτικοί ή σε υποτροπή ασθενείς (R/R) υπό Ibrutinib

Αναλύσαμε περαιτέρω τους 63 R/R ασθενείς που είχαν επαρκείς μεταφάσεις και στοιχεία για να αξιολογηθούν. Τα βασικά τους χαρακτηριστικά φαίνονται στον πίνακα. Ανάμεσά τους έμφάνιζαν έλλειψη του 17p 22%. 36% είχαν αμετάλλακτη IGHV και 45% είχαν  $\geq 2$  χρωμοσωμικές ανωμαλίες, αριθμητικές ή και δομικές.

Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε ως προς την ανταπόκριση και επιβίωση στους ασθενείς με και χωρίς την έλλειψη 17p.

Η μονοθεραπεία με το Ibrutinib αποτελούσε τη 2<sup>η</sup>, 3<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 5<sup>η</sup> και  $\geq 6^{\eta}$  γραμμή θεραπείας στο 28,6%, 30,6%, 18,4%, 8,2% και 14,2% αντίστοιχα.

Μελετήσαμε την καλύτερη ανταπόκριση των ασθενών στο Ibrutinib και παρατηρήσαμε ότι 12,8% είχαν πετύχει πλήρη ανταπόκριση, 78,7% μερική, ελάχιστη οι 4,25%, όπως και οι ασθενείς με σταθερή νόσο.

Ο μέσος χρόνος έναρξης του Ibrutinib από τη διάγνωση της νόσου ήταν οι 78 μήνες και ο μέσος χρόνος θεραπείας οι 29,5 μήνες.

Η θεραπεία διεκόπηκε λόγω ανεπιθύμητων παρενεργειών στο 13,6% των ασθενών, προόδου νόσου 27,8% ή θανάτου 11,7%. Τα πιο συχνά ανεπιθύμητα συμβάματα ήταν 4<sup>ου</sup> βαθμού (40,7%), μη αιματολογικά και αφορούσαν κυρίως στις λοιμώξεις.

Εξετράπησαν σε σύνδρομο Richter, ενώ βρίσκονταν υπό θεραπεία το 10% των ασθενών.

Συνεχίζουν τη θεραπεία με Ibrutinib 46,9%.

Ο μέσος χρόνος από την έναρξη της θεραπείας στη τελευταία παρακολούθηση ή θάνατο ήταν οι 34 μήνες.

### 5.3 Ανθεκτικοί ή σε υποτροπή ασθενείς (R/R) υπό Venetoclax

Από τους 32 ασθενείς που έλαβαν Venetoclax, μόνο 3 ασθενείς είχαν στο ιστορικό τους περισσότερες των τριών θεραπειών (40,62%:1, 31,25%:2, 18,75%:3, 6,25%:4, 3%:5 προηγούμενες θεραπείες).

Ανεπιθύμητα συμβάματα βαθμού 3,4 εμφανίστηκαν στο 50% των ασθενών στην πλειονότητά τους αιματολογικά (ουδετεροπενία, θρομβοπενία).

Από τους ασθενείς που έλαβαν Venetoclax 63,3% παρουσίαζαν παθολογικό καρυότυπο.

Το 25% αυτών παρουσίαζαν έλλειψη 17p και 20% τρισωμία 12. Το 35,5% των ασθενών είχαν λάβει σε προηγούμενες θεραπευτικές γραμμές Ibrutinib και Ofatumumab.

Ένα ποσοστό 19,35% των ασθενών διέκοψαν την αγωγή τους με το Venetoclax λόγω δυσανεξίας, ενώ ένα ποσοστό 13% λόγω αποτυχίας.

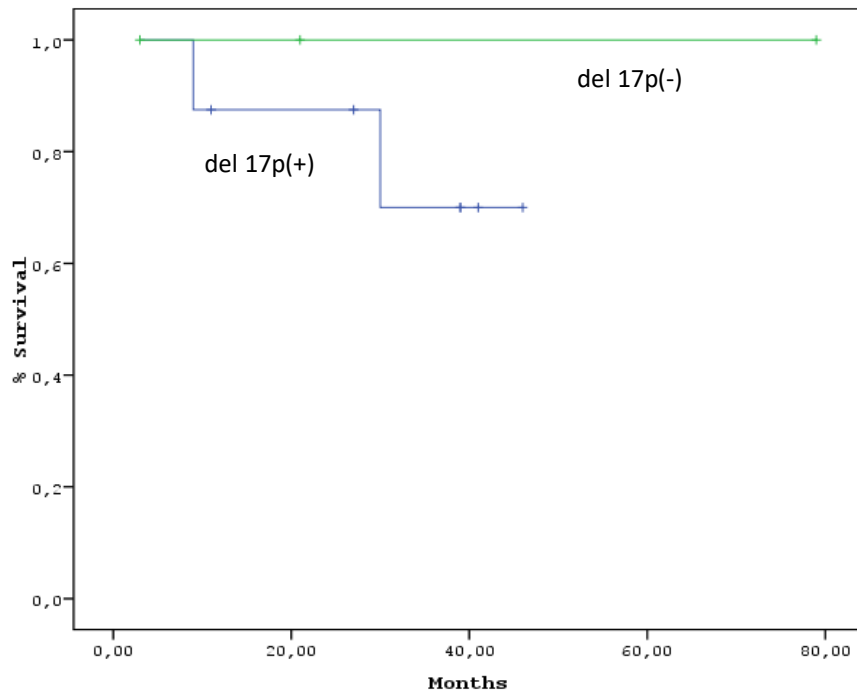
Όπως και στο Ibrutinib η καλύτερη ανταπόκριση που πέτυχαν οι ασθενείς ήταν η μερική ύφεση.

Οι δύο από τους πέντε θανάτους οφειλόταν στο σύνδρομο Richter. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών συνοψίζονται στον πίνακα 15.

Πίνακας 15

	Ασθενείς (n)
<b>Γραμμή θεραπείας</b>	
≤3	29
>3	3
<b>Συνεχίζουνηθεραπεία</b>	26
<b>Grade 3,4 ΑΕ</b>	16
<b>Ανταπόκριση</b>	
CR	10
PR	21
<b>Παθολογικός καρυότυπος</b>	19
<b>IGHVH unmutated</b>	6
<b>TP53</b>	9
<b>Richter syndrome</b>	2
<b>Θάνατοι</b>	5

Διάγραμμα 3

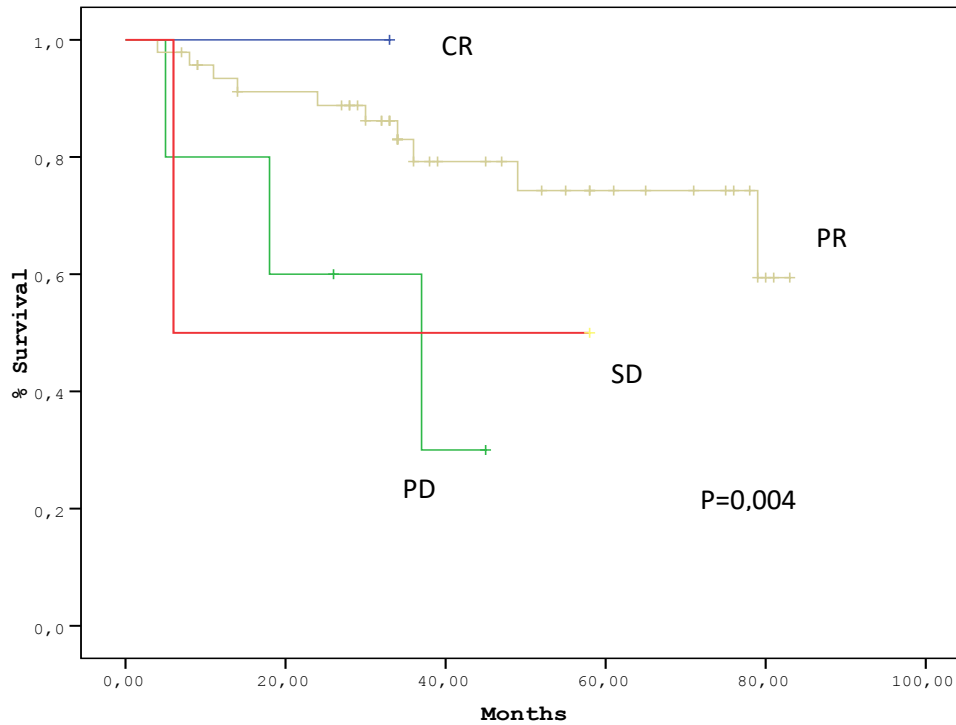


Μόνο ένα μικρό ποσοστό ασθενών έφερε και έλλειψη του 17p και αυτό δεν επηρέαζε περαιτέρω ίσως την ήδη δυσμενή πρόγνωση τους.



## 5.4 Επιβίωση ασθενών ανάλογη της ανταπόκρισης στο Ibrutinib.

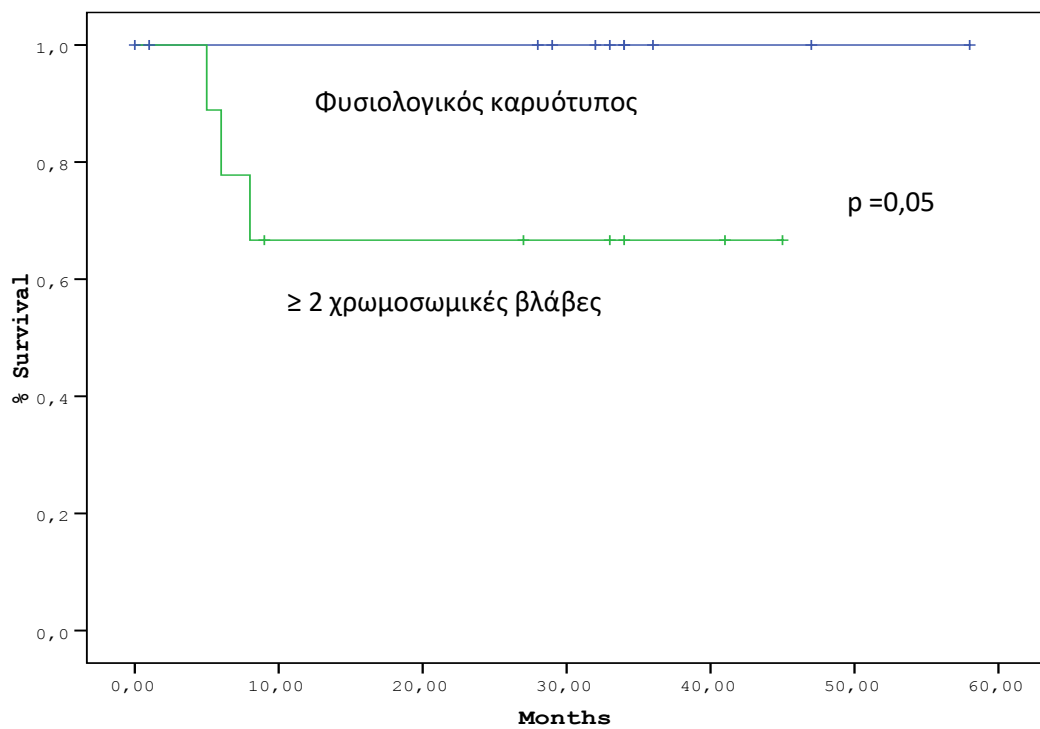
Διάγραμμα 4



Η επίτευξη CR, PR, SD, PD μετά την έναρξη του Ibrutinib ( $p=0,004$ ) σχετιζόταν με την επιβίωση των ασθενών.

## Επιβίωση ασθενών υπό Ibrutinib σε σχέση με περισσότερες των δύο χρωμοσωματικών ανωμαλιών.

Διάγραμμα 5



Ο καρυότυπος με  $\geq 2$  χρωμοσωμικές βλάβες μπορεί να αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για τη δράση του Ibrutinib.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το Πολλαπλό μύελωμα χαρακτηρίζεται από σημαντική ετερογένεια στα κλινικά χαρακτηριστικά, στις γενετικές ανωμαλίες και τις εκβάσεις μετά από τη θεραπεία. Η FISH, έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τον συμβατικό καρυότυπο στην ανίχνευση κυτταρογενετικών ανωμαλιών στην πλειοψηφία των ασθενών. Οι ασθενείς επί του παρόντος ταξινομούνται στους κυτταρογενετικά standard και υψηλού κινδύνου, ανάλογα με την παρουσία ή όχι του del 17p, t(4;14), t(14;16), t(14;20) σύμφωνα με το Revised International Staging System. Στην παρούσα διατριβή μελετήσαμε περαιτέρω τους ασθενείς που εμφανίζουν υπερδιπλοειδία στον καρυότυπο και κυρίως αυτούς που συμμετείχαν και άλλες δομικές μεταβολές. Υπερδιπλοειδής καρυότυπος χαρακτηρίζεται κυρίως από gains πιο συχνά των χρωμοσωμάτων 3,5,9,11, 15, 19 και 21. Η συχνότητα υπερδιπλοειδίας υπολογίστηκε στο 56,6%, πολύ κοντά στο ποσοστό 55% που αναφέρεται στη μεγάλη Γαλλική μελέτη που χρησιμοποίησε και αυτή τον συμβατικό καρυότυπο για την ανάδειξή της, και μόνο 23,5% των ασθενών είχαν απλή υπερδιπλοειδία χωρίς επιπρόσθετες δομικές διαταραχές. Υποδιπλοειδή καρυότυπο στη δική μας μελέτη έφεραν 13,4% των ασθενών. Οι περισσότεροι ασθενείς είχαν IgGκ Πολλαπλό Μύελωμα και ήταν σταδίου I κατά ISS. Αξιοσημείωτο ήταν ότι ένα μεγάλο ποσοστό παρουσιαζόταν με οστική νόσο (69,2%), ενώ σημαντική νεφρική ανεπάρκεια δεν παρατηρήθηκε σε αυτή την ομάδα των ασθενών. Η παρουσία της οστικής νόσου στους ασθενείς με υπερδιπλοειδία έχει περιγραφεί κυρίως σε ασθενείς με τρισωμίες. Αντίθετα 13% έφεραν μονήρη ή πολλαπλά πλασματοκυττώματα. Το πιο συχνό χρωμόσωμα σε τρισωμία ήταν το 19 και έπειτα το 11, 5 και 21 που πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι χαρακτηρίζεται ως κακής πρόγνωσης. 25% των ασθενών είχαν ανωμαλίες του χρωμοσώματος 1 είτε ως gain, είτε ως έλλειψη. Επιπλέον, τα δεδομένα μας έδειξαν ότι ασθενείς με υπερδιπλοειδία και πάνω από δύο επιπρόσθετες κυτταρογενετικές ανωμαλίες είχαν αξιοσημείωτη φτωχή πρόγνωση όταν ελάμβαναν θεραπεία με λεναλιδομίδη ( $p < 0,0001$ ). Δεν σημειώθηκαν διαφορές σε κλινικό ή εργαστηριακό επίπεδο ανάμεσα στους ασθενείς, υποδηλώνοντας ότι οι ασθενείς με υπερδιπλοειδία σε συνδυασμό με άλλες κυτταρογενετικές ανωμαλίες δεν αντιπροσωπεύουν μια ομοιόμορφη κλινικοπαθολογική υποομάδα. Κάποιες ομάδες έχουν αναλύσει την προγνωστική σημασία του υπερδιπλοειδικού καρυότυπου ή των τρισωμιών στους ασθενείς με επιπρόσθετες κυτταρογενετικές ανωμαλίες και τα αποτελέσματα είναι

αντικρουόμενα. Οι Kumar et al ανέφεραν ότι οι τρισωμίες μπορούν να υπερισχύσουν της δυσμενούς πρόγνωσης αντιμεταθέσεων όπως των t(4;14), (14;16), t(14;20) ή της έλλειψης του 17p, ενώ οι Pawlyn et al έφτασαν στο αντίθετο αποτέλεσμα, όπως και εμείς, ίσως γιατί συμπεριλάβαμε τις ανωμαλίες του χρωμοσώματος 1 που δεν είχαν συμπεριλάβει άλλες μελέτες.

Μια άλλη παρατήρηση που κάναμε ήταν ότι η διαφορά στην επιβίωση μεταξύ των ασθενών με απλό υπερδιπλοειδή και αυτών με μη-υπερδιπλοειδή καρυότυπο δεν συσχετιζόταν με κλινικούς προγνωστικούς παράγοντες όπως η τιμή της αλβουμίνης ή της β2 μικροσφαιρίνης, αφού όταν ταξινομήσαμε τους ασθενείς κατά ISS τα στάδια ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες.

Η έλλειψη του 17p, είναι πια εδραιωμένο, ότι αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα στους ασθενείς με Πολλαπλό Μυέλωμα. Στους ασθενείς με υπερδιπλοειδία που εξετάσαμε μόνο ένα μικρό ποσοστό έφερε και έλλειψη του 17p και αυτό δεν επηρέαζε περαιτέρω ίσως την ήδη κακή πρόγνωση τους. Χρησιμοποιήσαμε στη FISH το δικό μας κατώτερο όριο που ανερχόταν στο 20% για την διαπίστωση 17p del. Διαφορετικά κέντρα έχουν διαφορετικά όρια για την ανάδειξη της έλλειψης που κυμαίνονται από 10 – 60%. Είναι κοινά αποδεκτό όμως ότι οι ασθενείς με έλλειψη του 17p πρέπει να αντιμετωπίζονται ως υψηλού κινδύνου ανεξάρτητα του κλωνικού μεγέθους.

Όσον αφορά στην αντιμετάθεση t(4;14) και στη δική μας σειρά ασθενών φάνηκε καλύτερη ανταπόκριση με σχήματα βασιζόμενα στη μπορτεζομίμη.

Συνοψίζοντας, οι ασθενείς με υπερδιπλοειδή καρυότυπο στο Πολλαπλό Μυέλωμα αποτελεί μία κυτταρογενετικά ετερογενή ομάδα που τις περισσότερες φορές συνοδεύεται με επιπρόσθετες κυτταρογενετικές ανωμαλίες. Όταν αυτές είναι περισσότερες των δύο, τότε αποτελεί μια σημαντική κακής πρόγνωσης παράμετρο που θα πρέπει να αξιολογείται. Η θεραπεία με λεναλιδομίδη που όπως έχει αναφερθεί σε μελέτες προσφέρει καλές ανταποκρίσεις διάρκειας στους ασθενείς με απλή υπερδιπλοειδία, δεν δείχνει την ίδια δραστικότητα σε αυτούς με σύνθετο καρυότυπο.

Στους ασθενείς με Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία και Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα, ως αναμενόταν, το ποσοστό ανταπόκρισης συσχετιζόταν με την επιβίωση μετά την έναρξη του Ibrutinib (p=0,004) και δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με τις μεταλλάξεις της IGHV ή την έλλειψη του 17p.

Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός, ότι ασθενείς με  $\geq 2$  χρωμοσωμικές ανωμαλίες στον καρυότυπο είχαν πιο χαμηλή επιβίωση (p=0,05) συγκρίνομενο με άλλα.

Σε μερικές περιπτώσεις όπου υπήρξε εκτροπή σε σύνδρομο Richter και συνυπήρχε σύνθετος καρυότυπος, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση, αλλά το δείγμα

ασθενών ήταν αρκετά χαμηλό για να φτάσουμε σε ασφαλή στατιστικά συμπεράσματα.

Ιστολογικά βεβαιωμένο σύνδρομο Richter διαπιστώθηκε στο 6,25% των ασθενών με Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία. Το ποσοστό αυτό ανερχόταν στο 16,67% στους ασθενείς με Λέμφωμα από μικρά Λεμφοκύτταρα.

## ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Πολλαπλό Μυέλωμα (ΠΜ) και η Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ), αποτελούν λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές που χαρακτηρίζονται από σημαντική κλινική ετερογένεια.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης, η οποία άρχισε να εκπονείται το 2010, ήταν να αξιολογήσει την επίπτωση των κυτταρογενετικών ανωμαλιών στην πορεία του κάθε νοσήματος και στην πρόγνυσή τους. Εκείνη την εποχή, η δυσμενής σημασία ειδικών ανωμαλιών, όπως ο παθολογικός καρυότυπος ή η ανίχνευση των αντιμεταθέσεων t(4;14), t(14;16), t(14;20) και η έλλειψη 17p με τη μέθοδο της FISH στο συμπτωματικό ΠΜ στη διάγνωση, μόλις είχαν προβληθεί και δεν συμπεριλαμβάνονταν στη διαγνωστική πρακτική, ενώ η ανίχνευση της έλλειψης του 13q χρησιμοποιούνταν ευρέως. Στη Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία μελέτη του καρυοτύπου δεν πραγματοποιούνταν ευρέως, ενώ πραγματοποιούνταν οι μεταλλάξεις VH και οι ελλείψεις 17p και 11q ως προγνωστικούς παράγοντες.

Περισσότεροι από 600 ασθενείς με διάγνωση ΧΛΛ και ΠΜ μελετήθηκαν με τη μέθοδο της FISH για τις ελλείψεις 17p και 11q στους ασθενείς με διάγνωση ΧΛΛ και σε αυτούς με ΠΜ η έλλειψη του 13q και της αντιμετάθεσης t(4;14). Για εξωτερικούς λόγους, η μελέτη έμεινε σε αναμονή για κάποιο χρονικό διάστημα και όταν επανήλθαμε, η κλινική πρακτική σχετικά με την κυτταρογενετική αξιολόγηση και στα δύο νοσήματα είχε εξελιχθεί. Η προγνωστική αξία του καρυοτύπου είχε ήδη αποδειχθεί, οι αντιμεταθέσεις t(4;14), t(14;16) και η έλλειψη του 17p με τη μέθοδο της FISH είναι πλέον υποχρεωτικές για την σταδιοποίηση της νόσου στη διάγνωση λόγω του R-ISS, ενώ στη ΧΛΛ η ανίχνευση της 17p έλλειψης καθορίζει τις θεραπευτικές επιλογές.

Δεδομένου ότι το αρχικό πρωτόκολλο της μελέτης είχε καταστεί παρωχημένο, εστίασαμε σε 204 ασθενείς με ΠΜ και 120 ασθενείς με ΧΛΛ/SLL με υποτροπή νόσου ή ανθεκτικούς και αξιολογήσαμε την προγνωστική σημασία κυτταρογενετικών διαταραχών στην υποτροπή, προ θεραπείας στους ασθενείς με ΠΜ που ελάμβαναν Λεναλιδομίδη – Δεξαμεθαζόνη και στους ασθενείς με ΧΛΛ/SLL υπό θεραπεία με Ibrutinib.

Δείξαμε ότι ο υπερδιπλοειδής καρυότυπος αποτελούσε δυσμενή παράγοντα για τους ασθενείς με ΠΜ σε υποτροπή με Rd, είτε παρουσίαζαν επιπρόσθετες κυτταρογενετικές διαταραχές είτε όχι. Η παρουσία της έλλειψης του 17p σε μεγάλο ποσοστό επιδείνωνε την πρόγνωση, ενώ η τιμή της αλβουμίνης ορού, της β2

μικροσφαιρίνης και της LDH δεν είχαν ιδιαίτερη κλινική προγνωστική αξία στην παρούσα μελέτη.

Στη ΧΛ/SLL η ανταπόκριση πράγματι σχετίστηκε με τη διάρκεια της θεραπείας και την επιβίωση. Ιδιαίτερου ενδιαφέροντος ήταν το εύρημα ότι οι ασθενείς με τουλάχιστον δύο διαταραχές στον καρυότυπο είχαν στατιστικά σημαντική χειρότερη έκβαση από αυτούς με καμία, όταν βρίσκονταν σε θεραπεία με Ibrutinib. Στην παρούσα μελέτη οι μεταλλάξεις της VH και η έλλειψη 17p δεν είχαν επίπτωση.

Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα ευρήματά μας, παρόλο που ήδη, λίγο μετά από εμάς αποδείχθηκε η προγνωστική σημασία του καρυότυπου στη διάγνωση σε ασθενείς με ΧΛ που έλαβαν Ibrutinib στην πρώτη γραμμή.

## ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Multiple myeloma (MM) and chronic lymphocytic leukemia (CLL) are very different lymphoproliferative disorders that however share considerable clinical heterogeneity. The purpose of the present study that started in 2010, was to evaluate the impact of cytogenetic abnormalities in disease course and prognosis. At that time the adverse significance of specific alterations such as abnormal karyotype or the presence of t(4;14), t(14;16), t(14;20), and deletion 17p by FISH in symptomatic MM at diagnosis had just been shown and were not included in the routine diagnostic workout; del13q was more widely tested. In CLL karyotypic studies were not performed, while the significance of mutational status, deletion p53 and 11q were used as prognostic markers.

More than 600 patients with CLL and MM at diagnosis were initially tested by FISH for del 17p and 11q in CLL and for del 13 and t(4;14) in MM. However, because of external reasons the study became on hold for a period of time and when it resumed, clinical practice regarding cytogenetic evaluation in both diseases had evolved; the prognostic significance of the former was proved, t(4;14), t(14;16), and del17p by FISH was mandatory for MM patients' staging at diagnosis (RISS), while in CLL del 17p guided treatment choices.

Given that the initial study protocol had become out of date, we focused on 204 MM patients and 120 CLL and SLL relapsed/refractory patients and evaluated the prognostic significance of cytogenetic abnormalities evaluated at relapse, before treatment in MM patients receiving lenalidomide-dexamethasone (RD) and CLL/SLL patients under ibrutinib.

We showed that hyperdiploid karyotype was an adverse marker for relapsed MM patients treated with RD either they presented additional abnormalities or not. The presence of del 17p at a high percentage always deteriorated prognosis, while serum albumin, beta2-microglobulin LDH had no impact on prognosis in the present analysis.

In CLL/SLL, response indeed correlated with the longevity of treatment and survival. Of special interest was the finding that patients with at least two chromosomal alterations on karyotype had a statistically significant worse outcome than the others when treated with ibrutinib. In the present analysis, mutational status and del 17p had no impact.

Further studies are needed to confirm our results, although already, shortly after us, the importance of karyotype at diagnosis in CLL patients treated at first line with ibrutinib, was shown.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Foerster J, Paraskevas F. Multiple myeloma. In: Lee RL, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. Wintrobe's clinical hematology, Vol 2. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins. 1999; p. 2631–80.
2. Multiple Myeloma: Statistics. Cancer. Net. ASCO, Approved by the Cancer.Net Editorial Board, 02/2022.
3. Zingone A, Kuehl WM. Pathogenesis of monoclonal gammopathy of undetermined significance and progression to multiple myeloma. *Semin Hematol*. 2011;48:4–12.
4. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):e538-e548.
5. Shaji K. Kumar, Natalie S. Callander, Kehinde Adekola, et al. Multiple Myeloma, Versio 3.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl ComprCancNetw* 2020;18(12):1685–1717.
6. Ludwig H, Pohl G, Osterborg A. Anemia in multiple myeloma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2004; (4):233-41.
7. Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, Fidler ME, Cornell LD, Gertz MA, Lacy M, Dispenzieri A, Rajkumar SV, Kyle RA, Leung N. Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *Am J Kidney Dis* 2012; 59:786.
8. Oranger A, Carbone C, Izzo M, Grano M. Cellular Mechanisms of Multiple Myeloma Bone Disease, *Clinical and Developmental Immunology*, 2013; Article ID 289458.
9. Babatunde O Oyajobi. Multiple myeloma/hypercalcemia. *Arthritis Research & Therapy* 2007, 9(Suppl 1):S4.
10. CecilieBlimark, Erik Holmberg, Ulf-Henrik Mellqvist, et al. Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients. *haematologica* | 2015; 100(1).

11. B. M. Augustson, G. Begum, J.A. Dunn, et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002-Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *Clin Oncol*. 2005 20;23(36):9219-26.
12. A. Palumbo, T. Facon, P. Sonneveld, et al. Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later. *Blood* 2008;111(8): 3968-3977.
13. A. Chanan-Khan, P. Sonneveld, M. W. Schuster, et al. Analysis of herpes zoster events among bortezomib-treated patients in the phase III APEX study. *Clin Oncol*. 2008;10;26(29):4784-90.
14. Joan Bladé, Carlos Fernández de Larrea, and Laura Rosiñol. Extramedullary involvement in multiple myeloma. *haematologica* | 2012; 97(11).
15. Carlos Fernandez de Larrea, Robert Kyle, et al. Primary plasma cell leukemia: consensus definition by the International Myeloma Working Group according to peripheral blood plasma percentage. *Blood Cancer J* (2021)11:192.
16. Durie BGM, Salmon SE. *Recent Advances in Haematology*. Edinburgh, United Kingdom, Churchill Livingstone, 1977.
17. Philip R. Greipp, Jesus San Miguel, et al. International Staging System for Multiple Myeloma. 2005 *J Clin Oncol* 23:3412-3420.
18. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, et al. Revised International Staging System for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;33:2863–2869.
19. Marie-Christine Kyrtsolis, Vassiliki Bartzis, Xenophon Papanikolaou, Efstathiou Koulieriw, George Georgiou, Maria Dimou, Tatiana Tzenou, Panayiotis Panayiotidis. Genetic and molecular mechanisms in multiple myeloma: a route to better understand disease pathogenesis and heterogeneity. *The Application of Clinical Genetics* 2010;3 41-51.
20. Sawyer JR. The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 2011;204:3–12.

21. Hebraud B, Magrangeas F, Cleynen A, et al. Role of additional chromosomal changes in the prognostic value of t(4;14) and del(17p) in multiple myeloma: the IFM experience. *Blood*. 2015; 125(13):2095-2100.
22. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*. 2007;109(8):3489-3495.
23. Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun* 2014;5:2997.
24. Marie-Lorraine Chretien, Jill Corre, Valerie Lauwers-Cances, et al. Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis: which trisomies really matter? *Blood*. 2015;126(25):2713-2719.
25. Pawlyn, C. et al. Coexistent hyperdiploidy does not abrogate poor prognosis in myeloma with adverse cytogenetics and may precede IGH translocations. 2015 *Blood* 125, 831–840.
26. Gregorio Barilà, Laura Bonaldi, Angela Grassi, et al. Identification of the true hyperdiploid multiple myeloma subset by combining conventional karyotyping and FISH analysis. *Blood Cancer Journal* (2020) 10:18.
27. Maximilian Merz, Thomas Hielscher, Anja Seckinger, et al. Baseline characteristics, chromosomal alterations, and treatment affecting prognosis of deletion 17p in newly diagnosed myeloma. *American Journal of Hematology*, Vol. 91, No. 11, 2016.
28. An G, Li Z, Tai YT, et al. The impact of clone size on the prognostic value of chromosome aberrations by fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 2015;21(9): 2148-2156.
29. Arjun Lakshman, Utkarsh Painuly, S. Vincent Rajkumar, et al. Impact of acquired del(17p) in multiple myeloma. *Blood Adv* 2019;3(13):1930-1938.
30. Avet-Loiseau, Paul G. Richardson, Alessandra di Bacco. Optimizing therapy for del(17p) multiple myeloma. *Oncotarget*, 2017;8(66):109859-109860.
31. Wu KL, Beverloo B, Lokhorst HM, et al. Abnormalities of chromosome 1p/q are highly associated with chromosome 13/13q deletions and are an adverse prognostic factor for the

outcome of high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2007;136:615–623.

32. Kevin D Boyd, Fiona M Ross, Laura Chiecchio, et al. A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. *Leukemia*. 2012; 26(2): 349–355.

33. M. Engelhardt, S.M. Dold, G. Ihorst, et al. Geriatric assessment in multiple myeloma patients: validation of the International Myeloma Working Group (IMWG) score and comparison with other common comorbidity scores. *Haematologica*. 2016;101(9):1110-1119.

34. M-L Chretien, B. Hebraud, V. Cances-Lauwers, et al. Age is a prognostic factor even among patients with multiple myeloma younger than 66 years treated with high-dose melphalan: the IFM experience on 2316 patients. *Haematologica*. 2014;99(7):1236-8.

35. P. Sonneveld, I. Schmidt-Wolf, B. van der Holt, et al. HOVON-65/GMMG-HD4 Randomized Phase III Trial Comparing Bortezomib, Doxorubicin, Dexamethasone (PAD) Vs VAD Followed by High Dose Melphalan (HDM) and Maintenance with Bortezomib or Thalidomide in patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma (MM). *Blood*. 2010;116(21):40.

36. R. Bansal, S. Rakshit, S. Kumar. Extramedullary disease in multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2021;11(9):161.

37. S. Kumar, B. Paiva, K. C. Anderson, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2016;17(8):e328-e346.

38. Dispenzieri et al. *Mayo Clin Proc* SMART 3.0. 2007;82:323-341; Kumar et al. *Mayo Clin Proc* 2009 84:1095-1110; Mikhael et al. *Mayo Clin Proc* 2013;88:360-376. //last reviewed March 2022

39. T. Zhang, S. Wang, T. Lin, et al. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of novel monoclonal antibodies for treatment of relapse/refractory multiple myeloma. *Oncotarget*. 2017;8(20):34001-34017.

40. F.van Rhee, J. Szymonifka, E. Anaissie, et al. Total Therapy 3 for multiple myeloma: prognostic implications of cumulative dosing and premature discontinuation of VTD maintenance components, bortezomib, thalidomide, and dexamethasone, relevant to all phases of therapy. *Blood*. 2010;116(8): 1220-1227.
41. S. Jagannath, B. Barlogie, J. Berenson, et al. A phase 2 study of two doses of bortezomib in relapsed or refractory myeloma. *British Journal of Haematology*. 2004, 127, 165–172.
42. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H, et al. Bortezomib plus dexamethasone is superior to vincristine plus doxorubicin plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: results of the IFM 2005-01 phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4621–4629.
43. M. Cavo, L. Pantani, M.T. Petrucci, et al. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone is superior to thalidomide-dexamethasone as consolidation therapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 2012;120(1):9-19.
44. P. Tacchetti, L. Pantani, F. Patriarca, et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone followed by double autologous haematopoietic stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (GINEMA-MMY-3006): long term follow-up analysis of a randomized phase 3, open label study. *Lancet*, 2020, Vol7, is12, E861-873.
45. Jesús F. San Miguel, Rudolf Schlag, Nuriet K. Khuageva, et al. Bortezomib plus Melphalan and Prednisone for Initial Treatment of Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2008;359:906-17.
46. M.V. Mateos, A. Oriol, J.M. Lopez, et al. GEM2005 trial update comparing VMP/VTP as induction in elderly multiple myeloma patients: do we still need alkylators? *Blood*. 2014, 18;124(12):1887-93.
47. D. Siegel, T. Martin, M. Wang, et al. A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapse and refractory multiple myeloma. *Blood* 2012, 120(14): 2817-2825.
48. M. Dimopoulos, H. Goldschmidt, R. Niesvizky, et al. Carfilzomib or bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): an interim overall survival analysis of an open-label, randomized, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;Vol18, issue 10, p1327-1337.

49. M. Dimopoulos, K. Stewart, T. Masszi, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone in patients with relapse multiple myeloma categorized by age: secondary analysis from the phase 3 ASPIRE study. *Br J Haematol.* 2017;177(3):404-413.
50. P. Moreau, T. Masszi, N. Grzasko, et al. Oral ixazomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2016; 374:1621-1634.
51. T. Facon, M. Dimopoulos, A. Dispenzieri, et al. Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of up-front treatment for multiple myeloma. *Blood* 2018;131(3):301-310.
52. M. Dimopoulos, S. Lonial, D. White, et al. Elotuzumab, lenalidomide, and dexamethasone in RRMM: final overall survival results from the phase 3 randomized ELOQUENT-2 study. *Blood Cancer Journal.* 2020;No91.
53. Donna Reece, Kevin W. Song, Tommy Fu, et al. Influence of cytogenetics in patients with relapsed or refractory multiple myeloma treated with lenalidomide plus dexamethasone: adverse effect of deletion 17p13. *Blood*, 2009; Vol 114, No 3.
54. Morgan G, Palumbo A, Dhanasiri S, et al. Overall survival of relapsed and refractory multiple myeloma patients after adjusting for crossover in the MM-003 trial for pomalidomide plus low-dose dexamethasone. *Br J Haematol.* 2015;168(6): 820-823.
55. A. K. Nooka, JL Kaufman, S. Muppidi, et al. Consolidation and maintenance therapy with lenalidomide, bortezomib and dexamethasone (RVD) in high-risk myeloma patients. *Leukemia.* 2014;28(3):690-3.
56. S. kumar, I. Flinn, P.G. Richardson, et al. Randomize, multicenter, phase 2 study (EVOLUTION) of combinations of bortezomib, dexamethasone, cyclophosphamide, and lenalidomide in previously untreated multiple myeloma. *Blood.* 2012;119(19):4375-82.
57. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am JHematol.* 2020;95(5):548–67.
58. Kumar S, Kaufman JL, Gasparetto C, et al. Efficacy of venetoclax as targeted therapy for relapsed / refractory t(11;14) multiple myeloma. *Blood* 2017; 130 (22): 2401-2409.
59. Murielle Roussel, Philippe Moreau, Benjamin Hebraud, et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab for transplantation-eligible patients with

newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): health-related quality of life outcomes of a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Haematol* 2020; 7: e874–83.

60. Palumbo A, Chanan-Khan A, Weisel K, et al; CASTOR Investigators. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2016;375(8):754-766

61. Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, et al; POLLUX Investigators. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2016;375(14):1319-1331.

62. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2017;92:946–65

63. V. Quesada, L. Conde, N. Villamor, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet*.2011;44:47-52.

64. Cancer Stat Facts: Leukemia – Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). National Cancer Institute. 2022.

64. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46:219-34

65. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, *et al*. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981;48:198-206.

66. T.J Hamblin, Z. Davis, A. Gardiner, et al. Unmutated IgVH Genes are associated with a more aggressive form of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*, 1999; Vol 94, No 6: pp 1848-1854.

67. RN Damle, T. Wasil, F Fais, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94:1840-1847.

68. H. Dohner, S. Stilgenbauer, A. Benner, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*,2020; 343, 1910–1916.

69. The International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. The International CLL-IPI working group. 2016.
70. J. Chen. The Cell-Cycle Arrest and Apoptotic Functions of p53 in Tumor Initiation and Progression. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016;6:a026104.
71. D. Oscier, R. Wale, Z. Davis, et al. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica*, 2010; 95(10).
72. J. Delgado, B. Espinet, A.C. Oliveira, et al. Chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion: a retrospective analysis of prognostic factors and therapy results. *BJH*; 2012, Vol157, Issue ; p67-74.
73. Y Jiang , H-C Chen, X Su, et al. ATM function and its relationship with ATM gene mutations in chronic lymphocytic leukemia with the recurrent deletion (11q22.3-23.2). *Blood Cancer Journal* 2016, 6, e465.
74. Keating M, Montserrat E, Chiorazzi N, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131:2745–60.
75. G. Kovacs, S. Robrecht, AM Fink, et al. Minimal Residual Disease assessment improves prediction of outcome in patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) who achieve partial response: Comprehensive analysis of two phase III studies of the Germal CLL Study Group. *Clin Oncol*. 2016; 1;34(31):3758-3765.
76. J R Brown, J C Byrd, S E Coutre, et al. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110 $\delta$ , for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(22): 3390-3397.
77. J.C. Byrd, J.R. Brown, S.O'Brien, et al. Ibrutinib versus Ofatumumab in previously treated Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2014;171(3): 231-223.
78. T.D Shanafelt, X.V. Wang, N. E. Kay, et al. Ibrutinib-Rituximab or Chemoimmunotherapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2019;381:432-443.



79. B. George, SM Chowdhury, A Hart, et al. Ibrutinib resistance mechanisms and treatment strategies for B-cell lymphomas. *Cancer (basel)*, 2020;12(5):1328.
80. Wendtner CM, Roberts AW, Jurczak W, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2016;17:768–78.
81. Carmen D. Herling, NimaAbedpour, Jonathan Weiss, et al. Clonal dynamics towards the development of venetoclax resistance in chronic lymphocytic leukemia. *Nature Communications.* 2018 9-727.
82. Mato AR, Nabhan C, Thompson MC, Lamanna N, Brander DM, Hill B, Howlett C, Skarbnik A, Cheson BD, Zent C, et al. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica.* 2018;103:874–9.
83. K. Fischer, J. Bahlo, AM Fink, et al. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood* 2016;127(2):208-15.
84. B. Eichhorst, AM Fink, J Bahlo, et al. First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomized, phase 3, non-inferiority trial. *The Lancet*, Vol17, issue 7,p928-942.
85. V. Goede, K. Fischer, F. Bosch, et al. Obinutuzumab plus Chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370:1101-1110.
86. Barr PM, Robak T, Owen CJ, et al. Updated efficacy and safety from the phase 3 Resonate-2 study: Ibrutinib as first-line treatment option in patients 65 years and older with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic leukemia. *Blood.* 2016;128(22). Abstract 234.
87. J. F. Seymour, T. J. Kripps, B. Eichhorst, et al. Venetoclax-Rituximab in relapse or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378:1107-1120.

88. Talal Hilala, Juan C. Gea Banaclocheb , Jose F. Leis. Chronic lymphocytic leukemia and infection risk in the era of targeted therapies: Linking mechanisms with infections. 2018, Article in press.
89. Kate Hodgson, Gerardo Ferrer, Emili Montserrat, and Carol Moreno. Chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity: a systematic review. *haematologica* | 2011; 96(5).
90. Giovanni D’Arena, Roberto Guariglia, Francesco La Rocca, et al. Autoimmune Cytopenias in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clinical and Developmental Immunology* Volume 2013, Article ID 730131.
91. Rossi D, Spina V, Gaidano G. Biology and treatment of Richter syndrome. *Blood*. 2018;131(25):2761-2772.
92. Khan M, Siddiqi R, Thompson PA. Approach to Richter transformation of chronic lymphocytic leukemia in the era of novel therapies. *Ann Hematol*. 2018;97(1):1-15.
93. O. Fabbri G, Holmes AB, Viganotti M, et al. Common nonmutational NOTCH1 activation in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114(14):E2911-E2919.
94. Tsimberidou AM, O’Brien S, Khouri I, et al. Clinical outcomes and prognostic factors in patients with Richter’s syndrome treated with chemotherapy or chemoimmunotherapy with or without stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2343-2351.
95. D. Rossi, V. Spina, C. Deambrogi, et al. The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood*. 2011;117(12):3391-401.
96. Parikh SA, Habermann TM, Chaffee KG, et al. Hodgkin transformation of chronic lymphocytic leukemia: Incidence, outcomes, and comparison to de novo Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol*. 2015; 90(4):334-338.