Conoscere i test Freelite® ed Hevylite®

Una pubblicazione dell'**International Myeloma Foundation**

12650 Riverside Drive, Suite 206
North Hollywood, CA 91607 USA

Telefono:

+1 800-452-2873
(Stati Uniti e Canada)

+1 818-487-7455
(tutto il mondo)

Fax: +1 818-487-7454

TheIMF@myeloma.org

myeloma.org

©2016, International Myeloma Foundation, North Hollywood, California – u-flhl_IT_2016_k3(2)

International Myeloma Foundation®

Informazioni sulla International Myeloma Foundation

La International Myeloma Foundation (IMF), fondata nel 1990, è l'organizzazione di beneficenza più vecchia e più grande del mondo che si occupa specificamente del mieloma. L'IMF annovera oltre 350.000 membri in 140 paesi e si rivolge ai pazienti affetti da mieloma, ai loro familiari e alla comunità medica. L'IMF fornisce una vasta gamma di programmi nelle aree della Ricerca, Divulgazione, Supporto e Sensibilizzazione:

RICERCA L'IMF è leader globale nella ricerca collaborativa internazionale sul mieloma. L'IMF sostiene la ricerca effettuata in laboratorio e, fin dal 1995, ha conferito oltre 100 sovvenzioni ai principali ricercatori junior e senior. Inoltre, attraverso l'International Myeloma Working Group (IMWG), un'organizzazione che pubblica in prestigiose riviste mediche, che si sforza di tracciare la rotta verso una terapia, che è alla guida della prossima generazione di sperimentatori innovativi e che migliora le vite grazie all'ottimizzazione delle cure, l'IMF riunisce gli esperti leader, a livello internazionale, in maniera esclusiva e affermata.

DIVULGAZIONE Vengono organizzati, in tutto il mondo, seminari a carattere divulgativo per i pazienti e i loro familiari, workshop nei centri medici e workshop locali dell'IMF. Questi incontri mettono direttamente a disposizione dei pazienti e dei loro familiari informazioni aggiornate presentate da specialisti e ricercatori leader nel campo del mieloma. La nostra biblioteca, che contiene oltre 100 pubblicazioni per i pazienti, coloro che si occupano della loro assistenza e per i professionisti della sanità, viene aggiornata ogni anno ed è consultabile gratuitamente. Le pubblicazioni sono stampate in oltre 20 lingue.

SUPPORTO I coordinatori della nostra InfoLine rispondono alle domande e forniscono supporto e informazioni telefonicamente e via e-mail a migliaia di famiglie ogni anno. L'IMF sostiene una rete di oltre 150 gruppi di supporto e si occupa della formazione di centinaia di pazienti, assistenti e infermieri dedicati che svolgono attività di volontariato alla guida di questi gruppi nelle loro comunità.

SENSIBILIZZAZIONE Il programma di Sensibilizzazione IMF gestisce la formazione e il supporto dei soggetti interessati, al fine di sensibilizzare il pubblico in merito ai problemi di salute che colpiscono la comunità del mieloma. Lavorando a livello nazionale, l'IMF è alla guida di due gruppi che si occupano della sensibilizzazione sul tema della copertura assicurativa. Migliaia di sostenitori preparati dall'IMF hanno un impatto positivo ogni anno per quanto riguarda i problemi critici della comunità del mieloma.

Richiedete maggiori informazioni su come l'IMF stia attualmente facilitando il miglioramento della qualità della vita dei pazienti affetti da mieloma, sforzandosi, nel contempo, di prevenire e di giungere ad una cura. Contattateci al numero telefonico o visitate il sito web myeloma.org.

Migliorare la vita **Trovare la cura**

Tabella dei contenuti

La serie *Conoscere* e 10 passi verso il raggiungimento del benessere	4
Contenuti del presente manuale	4
Il mieloma multiplo e la proteina monoclonale	5
Cosa sono le catene leggere libere?	5
Il ruolo del dosaggio Freelite	6
Livelli normali e livelli anomali delle catene leggere	8
Il rapporto kappa/lambda	9
Qual è il ruolo svolto dal dosaggio Freelite nella diagnosi e nel monitoraggio del mieloma?	9
Livelli del test Freelite e valutazione della risposta al trattamento (inclusa la risposta stringente completa)	12
Pazienti che traggono maggior beneficio dal dosaggio Freelite	17
Cos'è il dosaggio Hevylite?	17
Cosa si intende per rapporto catene pesanti/leggere?	18
Quali sono le differenze tra il dosaggio Hevylite e la SPEP?	19
Il dosaggio Hevylite e il monitoraggio delle recidive	19
Il dosaggio Hevylite e il monitoraggio della malattia residua	19
Quali sono i valori normali di Hevylite?	19
È possibile utilizzare contemporaneamente i dosaggi Freelite e Hevylite?	20
L'assicurazione copre i costi dei dosaggi delle catene Freelite e Hevylite?	20
Conclusioni	20
Termini e definizioni	21

La serie *Conoscere* e 10 passi verso il raggiungimento del benessere

La serie di manuali *Understanding* (*Conoscere)* pubblicata dall'IMF è stata concepita allo scopo di offrire al paziente una panoramica dei trattamenti e delle terapie di supporto per il **mieloma multiplo** (che, per motivi di brevità, verrà di seguito indicato con il termine mieloma).

Per avere un quadro generale del mieloma, si consiglia innanzitutto di consultare il *Guida del paziente* pubblicato dall'IMF e solo successivamente il *Compendio sulla malattia e le opzioni di trattamento*, che contiene una sintesi più dettagliata della patologia per i professionisti del settore sanitario e i lettori più informati non appartenenti alla comunità medica. Entrambe le pubblicazioni, unitamente ai numerosi manuali appartenenti alla serie *Conoscere* dell'IMF, sono disponibili sul sito web myeloma.org, dove sarà possibile consultare altre informazioni utili. È inoltre possibile ordinare una copia dei manuali dell'IMF chiamando il numero verde +1 800-452-2873 negli Stati Uniti e in Canada o il numero +1 818-487-7455 nel resto del mondo oppure inviando un'e-mail all'indirizzo theIMF@myeloma.org.

Per una più agevole navigazione del sito web dell'IMF, le informazioni sono state organizzate in base all'impostazione della guida *10 Steps to Better Care®* (*10 passi verso il raggiungimento del benessere*) che, partendo dalla diagnosi (Fase 1), offre una panoramica delle sperimentazioni cliniche disponibili e delle modalità di reperimento delle stesse (Fase 10). Tutte le informazioni relative a ciascuna fase, comprese le linee guida in materia di test, trattamenti, trapianti, valutazione della risposta, gestione degli effetti collaterali, monitoraggio e trattamento delle recidive, sono disponibili nei paragrafi corrispondenti.

I termini in **grassetto** sono illustrati nel paragrafo "Termini e definizioni" nella sezione conclusiva del manuale. Per un compendio più completo sul lessico relativo al mieloma, consultare il *Glossario dei termini e delle definizioni del mieloma* dell'IMF disponibile alla pagina IT.glossary.myeloma.org.

Contenuti del presente manuale

La disponibilità commerciale di nuovi farmaci per il trattamento del mieloma spinge gli esperti ad acquisire sempre più informazioni sulle nuove terapie. Il manuale *Conoscere i test Freelite® ed Hevylite®* è incentrato su due test solitamente utilizzati nella diagnosi e nel monitoraggio del mieloma, il dosaggio delle catene leggere libere sieriche (Freelite®) e il dosaggio delle catene pesanti/leggere sieriche (Hevylite®). Il manuale *Conoscere*, che contiene informazioni sui test utilizzati ai fini della diagnosi e del monitoraggio del mieloma, nonché dell'individuazione delle recidive, segue l'impostazione della guida 10 passi per una cura migliore, indicata di seguito:

- Fase 1 – Elaborare una diagnosi corretta
- Fase 2 – Test effettivamente necessari
- Fase 6 – Valutazione della risposta
- Fase 8 – Monitoraggio trasparente
- Fase 9 – Recidiva: è necessario modificare il trattamento?

Nota importante: il dosaggio totale delle catene leggere, utilizzato tradizionalmente ai fini della misurazione delle catene leggere libere e legate, non è rilevante ai fini del trattamento dei pazienti affetti da mieloma. La prescrizione medica del dosaggio Freelite consentirà al paziente di beneficiare dei vantaggi offerti dalle più recenti tecnologie.

Il presente manuale è stato concepito unicamente allo scopo di fornire ai pazienti una panoramica generale da utilizzare come riferimento durante le discussioni sulla malattia con il proprio personale sanitario. Questo strumento non intende sostituirsi alle indicazioni fornite dal personale medico e infermieristico di riferimento, che forniranno al paziente risposte esaustive in merito al piano terapeutico scelto. Per ricevere informazioni di carattere generale sul mieloma e le relative opzioni di trattamento, è possibile richiedere assistenza alla InfoLine (servizio informativo) dell'IMF componendo uno dei numeri di telefono indicati in precedenza o inviando un'e-mail all'indirizzo InfoLine@myeloma.org. Il servizio di assistenza sarà lieto di rispondere a qualsiasi richiesta e a soddisfare tutte le necessità dei pazienti.

Il mieloma multiplo e la proteina monoclonale

Il mieloma è un tumore a carico delle **plasmacellule** presenti nel **midollo osseo**, caratterizzato da un'eccessiva proliferazione di una specifica plasmacellula (o clone) che causa una produzione incontrollata di un particolare tipo di **immunoglobulina**. Quest'ultima viene indicata con varie denominazioni, tra cui **proteina monoclonale (componente monoclonale)**, **proteina M**, proteina mielomatosa, paraproteina o *M-spike*. L'identificazione della proteina M è importante ai fini della diagnosi della malattia e la misurazione dei suoi livelli è uno strumento utile non solo per il monitoraggio dell'efficacia del trattamento, ma anche per l'identificazione delle recidive.

Cosa sono le catene leggere libere?

A livello strutturale, le immunoglobuline normali (abbreviate con "Ig") sono composte da unità più piccole denominate "catene pesanti" e "catene leggere" le quali, una volta assemblate, formano un grande complesso (*v. Figura 1*). Esistono cinque tipi di catene pesanti (dette isotipi) e, ad ognuno di esse, sono state assegnate lettere specifiche, ovvero per dare i seguenti tipi di immunoglobulina: IgG, IgA, IgD, IgE, ed IgM.

Esistono due tipi di catene leggere che prendono il nome di kappa o κ e lambda o λ. Ciascuna plasmacellula produce solo un tipo di catena pesante e un tipo

Figura 1. **Struttura dell'immunoglobulina (anticorpo)**

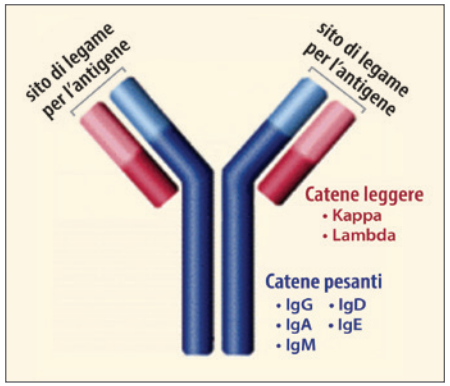


Tabella 1.
Sottotipi di immunoglobuline.

IgG kappa	IgG lambda
IgA kappa	IgA lambda
IgM kappa	IgM lambda
IgD kappa	IgD lambda
IgE kappa	IgE lambda

di catena leggera. Complessivamente, esistono 10 sottotipi di immunoglobuline normali *(v. Tabella 1)*.

Le catene pesanti e le catene leggere vengono prodotte separatamente all'interno delle plasmacellule e assemblate per formare un'immunoglobulina completa (o "intatta"). Le catene leggere che si legano alle catene pesanti prendono il nome di "catene leggere legate", mentre, nel caso contrario, sono dette "catene leggere libere".

Per motivi ancora non noti, le plasmacellule producono solitamente un numero maggiore di catene leggere rispetto a quello necessario ai fini della creazione di immunoglobuline complete o proteine monoclonali. Le catene leggere in eccesso penetrano nel sistema circolatorio come catene leggere libere (vale a dire non legate alle catene pesanti). Di conseguenza, tale fenomeno si verifica sia in individui sani sia in soggetti affetti da mieloma o da patologie correlate, come ad esempio la **gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS)**. Nei pazienti affetti da mieloma, la quantità di catene leggere libere prodotte è strettamente correlata ai tassi di crescita delle cellule mielomatose: la produzione di proteine monoclonali è difatti direttamente proporzionale al numero di cellule mielomatose.

Il ruolo del dosaggio Freelite

Come vengono individuate e misurate le proteine monoclonali?

Le proteine monoclonali possono essere individuate e misurate nel sangue e/o nelle urine. Nel primo caso, le cellule vengono completamente rimosse dal campione di sangue, lasciando solo la componente ematica liquida di colore giallo chiamata "siero". Ai fini del rilevamento della proteina M, è possibile eseguire vari test, tra cui l'elettroforesi delle sieroproteine (SPEP), l'elettroforesi delle proteine urinarie (UPEP) e il dosaggio delle catene leggere libere sieriche (SFLCA o Freelite). Una produzione eccessiva di un solo tipo di catena leggera (kappa O lambda e non kappa E lambda) è indice della secrezione di proteine monoclonali da parte delle cellule mielomatose. La SPEP misura la quantità di proteine monoclonali presenti nel sangue, mentre la UPEP consente di calcolare il numero di catene leggere monoclonali nelle urine. Tuttavia, in nessuno dei due casi, è possibile identificare il tipo di proteina monoclonale. Per lo studio di tale aspetto si ricorre alla cosiddetta elettroforesi per **immunofissazione (IFE)** che, a sua volta, è in grado di determinare esclusivamente la presenza di un particolare tipo di proteina monoclonale senza, però, riuscire a quantificarla.

Solitamente, nel caso di pazienti che presentano livelli elevati di catene leggere libere, la diagnosi ed il monitoraggio vengono effettuati mediante UPEP. Quest'ultimo è parte del pannello di esami richiesti in tutti i trials clinici per quanto concerne il mieloma. Tuttavvia, un recente lavoro pubblicato sulla rivista *Haematologica*, a cura del gruppo di studio francese per il mieloma, ha confrontato i risultati ottenuti mediante test Freelite, con la UPEP su urine delle 24 ore, in pazienti arruolati nello studio IFM2007-02 e sottoposti al 2° o 4° ciclo di terapia ed in seguito a trapianto di cellule staminali. Gli autori hanno riscontrato una "buona concordanza tra i metodi impiegati nella determinazione della risposta (dopo 2 cicli di terapia) sebbene, la quantificazione delle catene leggere libere forniva una maggiore sensibilità rispetto all'elettroforesi urinaria per quanto riguardava il monitoraggio". Poiché una volta prodotte, le catene leggere rilasciate in circolo, vengono successivamente filtrate dai reni,

per poi raggiungere l'ultrafiltrato ed infine andare a costituire le urine, ne consegue che la tecnica UPEP non è sufficientemente sensibile per effettuare la rilevazione di questo analita. Il test Freelite, invece, è un'analisi del sangue che consente di quantificare il livello di catene leggere presenti nel sistema circolatorio prima che queste vengano filtrate dai reni. Inoltre, la raccolta delle urine delle 24 ore risulta alquanto tediosa per il paziente; ne consegue una compliance bassa, a tal punto da rendere difficile la definizione della risposta, compromettendo i risultati dei trials clinici. In risposta alla pubblicazione del lavoro su *Haematologica*, si prevede che l'IMWG modificherà le sue linee guida per quanto concerne la quantificazione delle catene leggere libere sieriche, sostituendo così la raccolta delle urine delle 24 ore o l'ettroforesi urinaria con il test Freelite. Il rilascio di queste nuove linee guida è prevista per i primi mesi del 2016.

Il dosaggio Freelite

Freelite consente di rilevare livelli normali (non elevati) di catene leggere libere nel sangue, nonché livelli inferiori rispetto alla normale concentrazione (allo scopo, ad esempio, di rilevare una possibile soppressione). Fondamentalmente, questa metodologia consente di individuare aumenti moderati dei livelli di catene leggere libere non rilevabili dalla SPEP e dalla IFE e, di conseguenza, di diagnosticare il mieloma multiplo più precocemente rispetto alle altre due tecniche. Inoltre, il dosaggio Freelite si rivela particolarmente utile nei casi in cui il mieloma sia caratterizzato esclusivamente la produzione di piccole quantità di catene leggere.

I risultati dei dosaggi delle catene leggere libere si rivelano più efficaci sul siero anziché sulle urine, a causa degli effetti della filtrazione renale che, in condizioni di funzionamento normale, consente, tra le altre cose, di prevenire la perdita di proteine nelle urine. Di conseguenza, questi test consentono di rilevare prima livelli elevati di proteine M nel sangue che non nelle urine. Gli studi sulle urine rappresentano tuttavia una tecnica di rilevamento importante nella diagnosi iniziale e nel successivo monitoraggio dell'amiloidosi AL. In virtù della loro capacità di individuare altri aspetti del mieloma, come ad esempio il danno renale, è importante includere i test delle urine negli stadi di avanzamento della malattia.

Come accade nel caso di altri test per il rilevamento delle proteine M, il dosaggio Freelite presenta alcuni vantaggi, senza però essere esente da difetti. Come indicato in precedenza, uno dei punti di forza di questa tecnica consiste in un livello di sensibilità maggiore rispetto a quello offerto dalle tecniche SPEP, UPEP e IFE. Inoltre, in virtù della sua natura automatizzata, il dosaggio Freelite richiede tempi di esecuzione ridotti rispetto alle altre tecniche esistenti. Tuttavia, sebbene rappresenti una metodologia estremamente funzionale ai fini dell'individuazione delle catene leggere libere, il dosaggio Freelite non è in grado di rilevare le immunoglobuline complete che, nel caso di alcuni tipi di mieloma, rappresentano la sola tipologia di immunoglobuline secreta. Di recente, è stato ideato un nuovo test di laboratorio chiamato Hevylite in grado di misurare le coppie di catene pesanti/leggere delle immunoglobuline intatte. Come accade per il dosaggio Freelite, il test Hevylite, può essere impiegato nella valutazione del siero normale, e risulta più sensibile rispetto alla SPEP. Per ulteriori informazioni sul dosaggio Hevylite, si rimanda ai paragrafi successivi del presente manuale.

Livelli normali e livelli anomali delle catene leggere

I livelli normali delle catene leggere libere sieriche sono*:

- Kappa: 3,3–19,4 mg/L oppure 0,33–1,94 mg/dL
- Lambda: 5,71–26,3 mg/L oppure 0,57–2,63 mg/dL
- Rapporto kappa/lambda: 0,26–1,65*

*Nota aggiuntiva: ai fini dell'interpretazione dei risultati del rapporto kappa/lambda nei pazienti affetti da insufficienza renale, si consiglia di adottare un intervallo di riferimento modificato compreso tra 0,37 e 3,1.

Nella maggior parte dei casi, le catene leggere prodotte dalle cellule mielomatose saranno esclusivamente di tipo kappa o lambda, in base al tipo di mieloma. Di conseguenza, se le cellule mielomatose producono catene leggere di tipo kappa, il livello di queste immunoglobuline nel sangue sarà destinato ad aumentare. Allo stesso modo, in caso di produzione di catene leggere di tipo lambda da parte delle cellule mielomatose, l'aumento interesserà i livelli di questa tipologia di immunoglobuline. Per un'interpretazione definitiva dei risultati, lo specialista dovrà tenere conto sia dei valori ottenuti dal dosaggio Freelite, sia di qualsiasi altra informazione clinica disponibile.

Il rapporto kappa/lambda

- Il rapporto kappa/lambda Freelite rappresenta uno strumento importante ai fini della diagnosi e del monitoraggio del mieloma, così come i livelli dei due tipi di catene leggere.
- Se il valore delle kappa o delle lambda è eccessivamente elevato mentre il valore dell'altra catena è nella norma o basso, il rapporto risulta alterato, ed è quindi indice della presenza di mieloma.
- Se i livelli di entrambe le catene leggere (kappa e lambda) registrano un aumento, il rapporto potrebbe rientrare nell'intervallo normale. Tuttavia, tale condizione indica generalmente una patologia diversa dal mieloma, come ad esempio una disfunzione renale. In caso di funzionamento anomalo dei reni, entrambi i tipi di catene leggere vengono trattenuti nel sangue senza essere, di conseguenza, rimossi dai reni.
- Talvolta, il rapporto kappa/lambda può risultare alterato anche nel caso in cui i singoli livelli di kappa e lambda rientrano entrambi nell'intervallo normale. Ciò potrebbe essere indice di bassi livelli di mieloma attivo e persistente.
- Un rapporto kappa/lambda normale successivo a un trattamento è indice di una risposta particolarmente efficace alla terapia. Tale fenomeno rientra nella definizione di **risposta completa stringente (sCR)** che richiede, a sua volta, una IFE urinaria/sierica negativa e l'assenza di cellule clonali nel midollo osseo. La normalizzazione del rapporto kappa/lambda è correlata a possibili periodi di remissione più lunghi.

Qual è il ruolo svolto dal dosaggio Freelite nella diagnosi e nel monitoraggio del mieloma?

Le variazioni dei livelli di catene leggere libere si rivelano utili ai fini del monitoraggio dello stato della malattia nella maggior parte dei pazienti affetti da mieloma e non solo in coloro che presentano la variante a catene leggere (Bence-Jones) o che sono affetti da mieloma non secernente. Il dosaggio Freelite svolge un ruolo importante nell'ambito del rilevamento e del monitoraggio del mieloma attraverso la quantificazione della proteina monoclonale nelle varie fasi della malattia.

Mieloma multiplo a immunoglobuline intatte (IIMM)

Nell'IIMM, che rappresenta oltre l'80% dei casi di mieloma, le plasmacellule tumorali producono un tipo di immunoglobulina intatta e, nella maggior parte dei casi, vengono prodotte anche catene leggere libere di tipo kappa o lambda. Dal

momento che le catene leggere libere vengono filtrate piuttosto rapidamente (nel giro di poche ore) dai reni, altrettanto rapidamente si verificano le variazioni dei loro livelli nel sangue in risposta al trattamento. Di conseguenza, nel caso dell'IIMM, la riduzione dei livelli di catene leggere libere può essere considerata un indicatore estremamente sensibile di una risposta precoce al trattamento.

Mieloma multiplo a catene leggere (LCMM)

Nell'LCMM, che comprende il 15%–20% dei mielomi attualmente conosciuti, le plasmacellule mielomatose producono esclusivamente catene leggere. Il dosaggio Freelite presenta un livello di sensibilità comprovata del 100% nel rilevamento di questa tipologia di immunoglobuline nei pazienti affetti da tale patologia. La tecnica rappresenta inoltre un indicatore più efficace della malattia minima residua e delle variazioni che caratterizzano la patologia rispetto alle analisi delle urine che, come si è visto, possono essere influenzate dalle funzionalità renali. Il test Freelite si rivela, inoltre, più sensibile nell'ambito del monitoraggio di pazienti affetti da LCMM, caratterizzati da livelli di secrezione proteica talmente bassi da renderne impossibile il rilevamento nel siero o nelle urine mediante l'uso di altre tecniche.

Mieloma non secernente o oligosecernente

Alcune plasmacellule mielomatose producono livelli estremamente bassi di proteina M o addirittura pari a zero. In quest'ultimo caso, si parla di mieloma non secernente, mentre, nel primo, di mieloma oligosecernente. Questi due tipi di mieloma rappresentano solo una piccolissima percentuale della totalità di mielomi attualmente conosciuti. All'incirca il 70%–80% dei pazienti con livelli di secrezione di proteina M troppo bassi per poter essere rilevati dai metodi di misurazione tradizionali, viene sottoposto ai dosaggi Freelite, che garantiscono prestazioni ottimali.

I dosaggi Freelite nei casi recidivanti

In caso di recidiva, il livello di sensibilità dei dosaggi delle catene leggere libere rappresenta un altro fattore cruciale. Il test Freelite consente solitamente di misurare i livelli di catene leggere libere persino in presenza di quantità minime di mieloma che iniziano ad aumentare in corso di recidiva. In base al tipo di mieloma, i livelli di catene leggere libere sieriche (kappa o lambda) potrebbero subire un aumento ancor prima dell'aumento dei livelli di IgG e IgA e del rilevamento di altre immunoglobuline mediante la tecnica SPEP o IFE. Altri test, quali la biopsia del midollo osseo e gli esami di diagnostica per immagini, come la PET con FDG o la PET con CT, potrebbero rivelarsi utili ai fini della valutazione di quantità minime della malattia.

Escrezione di catene leggere (LCE)

In caso di recidiva, il quadro clinico della produzione di immunoglobuline mielomatose è soggetto a variazioni. Ad esempio, le plasmacellule che producono sia immunoglobuline intatte sia catene leggere libere possono subire delle variazioni che comportano la produzione delle sole catene leggere libere oppure un clone di plasmacellule che produce immunoglobuline intatte potrebbe essere eradicato dalla terapia, mentre un piccolo subclone che produce solo catene leggere libere potrebbe sopravvivere ed espandersi. Queste condizioni determinano la cosiddetta escrezione di catene leggere (LCE), la cui diagnosi precoce in corso di recidiva è affidata a un esame del sangue mediante dosaggio Freelite, che garantisce un livello di sensibilità ottimale.

Gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS)

I pazienti affetti da MGUS presentano alcune caratteristiche ematiche tipiche del mieloma ma non uno stadio attivo della malattia. Di conseguenza, questi soggetti non necessitano di una terapia. In questi casi si potrebbero, ad esempio, evidenziare livelli elevati di immunoglobuline e/o catene leggere libere e/o plasmacellule. Un'altra condizione tipica dei pazienti affetti da MGUS è la cosiddetta "stratificazione del rischio", ovvero un processo di valutazione dell'effettiva possibilità di sviluppare la malattia attiva. Da uno studio condotto dalla Mayo Clinic è emerso che i pazienti affetti da MGUS, che presentano anche un rapporto anomalo delle catene leggere libere, tendono a sviluppare un mieloma attivo o una condizione maligna correlata.

Mieloma multiplo smoldering (SMM) o mieloma multiplo asintomatico

I pazienti affetti da SMM presentano concentrazioni sieriche di immunoglobuline e/o catene leggere libere e/o plasmacellule più elevate rispetto ad individui con MGUS. In questa fase, lo sviluppo della forma attiva della patologia non è ancora avvenuto, e pertanto non sussistono danni a carico del sistema osseo, dei reni o dei globuli rossi. Tuttavia, le possibilità di sviluppare in futuro la malattia attiva sono di gran lunga superiori rispetto a quelle dei pazienti affetti da MGUS. In questi casi, è consigliabile che il paziente esegua un monitoraggio ad intervalli regolari, valutando assieme al proprio specialista la frequenza con cui è necessario sottoporsi ai controlli per determinare lo stato della malattia attiva. Una piccola percentuale di pazienti affetti da SMM sono considerati ad alto rischio di progressione a Mieloma Multiplo attivo. Questa categoria di pazienti, presentano valori del rapporto kappa/lambda > 100 o < 0.01, una presenza superiore al 60% di plasmacellule midollari, oppure più di una lesione focale (rilevabile mediante

RMN), rientrano nella definizione di pazienti affetti da mieloma attivo (secondo i cirteri dettati dall'International Myeloma Working Group – IMWG) in quanto possiedono oltre l'80% di rischio di progredire verso la forma attiva della malattia nei successivi 2 anni dalla diagnosi (Rajkumar et al., *The Lancet*, vol. 15 no. 12, November 2014). Nel corso degli anni, sono state avviate sperimentazioni cliniche tese a determinare eventuali benefici apportati dalle terapie nel caso di pazienti affetti da SMM "ad alto rischio" prima della comparsa dei sintomi della malattia attiva.

Amiloidosi AL

L'amiloidosi da catena leggera dell'amiloide (AL) è una patologia che si manifesta nel momento in cui le catene leggere subiscono un'alterazione morfologica assumendo il caratteristico pattern a "foglietto beta-ripiegato", che consiste nel deposito di fibrille di amiloide in alcuni organi, tra cui reni, cuore, fegato, lingua e nervi periferici. Sin dal 2004, gli esperti consigliano la misurazione delle catene leggere libere sieriche per la diagnosi e il monitoraggio dell'amiloidosi AL.

Arruolamento nelle sperimentazioni cliniche

Le sperimentazioni cliniche rappresentano l'unica strada da percorrere per la commercializzazione di nuovi farmaci e la scoperta di possibili cure. I pazienti affetti da mieloma possono partecipare a sperimentazioni cliniche in grado di provare la sicurezza e l'efficacia dei nuovi trattamenti. Per far si che un paziente affetto da mieloma sia idoneo a partecipare a una sperimentazione, occorre monitorare i livelli di proteine M nel sangue o nelle urine. Fino a poco tempo fa, i pazienti affetti da un mieloma di tipo **iposecernente** venivano solitamente esclusi dalle sperimentazioni cliniche a causa della mancata disponibilità di metodi di monitoraggio dei livelli di proteina M. Questo ostacolo è stato superato grazie alla commercializzazione del dosaggio Freelite, che consente di quantificare questo parametro nel sangue nella maggior parte dei soggetti colpiti da questa forma tumorale. Ciò ha fatto sì che la maggior parte dei pazienti affetti da mieloma iposecernente venisse dichiarata idonea all'arruolamento di studi cliniche.

Livelli del test Freelite e valutazione della risposta al trattamento (inclusa la risposta stringente completa)

Uno degli obbiettivi del trattamento del mieloma è quello di ridurre il più possibile l'entità della proteina monoclonale, se non quello di eradicarla totalmente. Analogamente alle determinazioni quantitative dell'entità delle proteine monoclonali, i livelli di catene leggere libere sieriche, misurati mediante test Freelite, possono essere impiegati nella valutazione della risposta al trattamento. Inoltre, queste indagini possono essere utilizzate con maggiore frequenza già a partire dalle prime settimane dall'inizio del trattamento terapeutico.

L'avvento di nuove tecnologie per la diagnostica di laboratorio (come la citofluorimetria ed il sequenziamento genico) in grado di fornire maggiore sensibilità, consentono di rilevare anche piccolissime quantità di cellule mielomatose presenti nelle biopsie midollari. Questa ridotta quantità di malattia prende il nome di **Malattia Minima Residua o MDR (Minimal Residual Disease)**; la ricerca della MDR dovrebbe essere eseguita solo nel caso in cui gli altri test per la ricerca della proteina M (i.e., SPEP, Freelite, Hevylite) hanno dato esito negativo di malattia rilevabile. Nella tabella 2 sono riportati i criteri per la determinazione della risposta al trattamento, inclusa la risposta completa stringente e la misura della malattia minima residua.

Se il rapporto delle catene leggere libere si normalizza in seguito al trattamento, si ha una buona e sensibile indicazione dell'efficacia della terapia, nonché un segnale della riduzione al minimo dei livelli di paraproteine a catena leggera.

La normalizzazione del rapporto Freelite rappresenta una componente importante della risposta completa stringente (sCR). Nell'aggiornamento del documento di consenso delle linee guida, stilate dell'IMWG, riguardanti la definizione di malattia minima residua (MDR), si definisce la sCR secondo i seguenti termini:

- IFE sierica e urinaria negativa,
- scomparsa di qualsiasi **plasmocitoma** dei tessuti molli,
- < 5% di plasmacellule negli aspirati midollari,
- assenza di cloni pasmacellulari rilevabilli mediante immunoistochimica (rapporto $\kappa/\lambda \leq 4:1$ oppure $\geq 1:2$ rispettivamente in pazienti con catena k o catena λ coinvolte, in seguito alla conta ≥ 100 plasmacellule) oppure mediante tecnica citofluorimentrica a 2- o 4-colori, effettuata su aspirato midollare e
- rapporto delle catene leggere libere normale.

Riassumendo, il dosaggio Freelite offre numerosi vantaggi in termini di diagnosi e monitoraggio del trattamento:

- Il ricorso al dosaggio Freelite consente di potenziare la sensibilità dei protocolli di screening finalizzati al rilevamento e alla diagnosi del mieloma.
- Il dosaggio Freelite, unitamente ad altri test, offre informazioni preziose per i pazienti affetti da MGUS e SMM.
- L'utilizzo del dosaggio Freelite ai fini del monitoraggio del trattamento offre risposte più immediate rispetto ad altri test di laboratorio come la SPEP.
- I maggiori livelli di sensibilità del dosaggio Freelite rispetto alla tecnica IFE garantiscono un rilevamento precoce dei casi di recidiva del mieloma.
- Di conseguenza, le linee guida pubblicate dall'IMWG consigliano l'utilizzo di questa tecnica nelle fasi di diagnosi, prognosi e monitoraggio.

Tabella 2. Criteri dell'IMWG per la definizione della risposta alla terapia

Sottocategoria di risposta	*Criteri di risposta*[1]
Criteri IMWG di negatività per MDR (Richiede una CR definita come segue)	
Assenza di MRD stabile	Assenza di MDR valutata mediante test effettuati su midollo (mediante tecniche di Citofluorimetria Next-Generation o Next-Generation Sequencing) e mediante tecniche di imaging (segue), confermate a distanza di un anno[2]. Ulteriori valutazioni possono essere usate per specificare la durata della risposta negativa (es: negativo per MDR a distanza di 5 anni).
Assenza di MDR valutata mediante citofluorimetria	Assenza di cloni plasmacellulari aberranti rilevabili mediante tecnica di Citofluorimetria Next-Generation su aspirati midollari utilizzando gli standard operativi dettati dalle direttive EuroFlow per la determinazione della MDR nel MM (o validati mediante metodo equivalente) con un limite di sensibilità superiore o pari ad 1 su 10^5 cellule nucleate.
Assenza di MDR valutata mediante sequenziamento	Assenza di cloni plasmacellulari aberranti rilevabili mediante tecnica di Next-Generation Sequencing in cui la presenza di un clone viene confermata da un minimo di 2 letture di sequenziamento equivalenti eseguite su DNA estratto da aspirati midollari utilizzando la piattaforma Lymphosight® (oppure una equivalente metodica validata) con un limite di sensibilità superiore o pari ad 1 su 10^5 cellule nucleate
Assenza di MDR	• Assenza di MDR definita mediante tecniche di Citofluorimetria Next-Generation oppure mediante Next-Generation Sequencing **PIÚ** • Assenza di aumentato uptake del tracciante riscontrato al momento della diagnosi o in una indagine PET/TAC[3] precedentemente eseguita
Criteri standard dell'IMWG per la definizione della risposta[6]	
sCR (risposta completa stringente)	• CR in base alla definizione fornita in seguito PIÙ • Rapporto[10] FLC normale E • Assenza di cloni plasmacellulari in biopsie midollari rilevabili mediante tecniche di immunoistochimica (rapporto κ/λ ≤ 4:1 oppure ≥ 1:2 rispettivamente per pazienti con componente monoclonale κ o λ, se questi presentano ≥ 100 cloni plasmacellulari)[7] oppure mediante citofluorimetria a 2- o 4-colori effettuata su aspirati midollari.
CR (risposta completa)	• Immunofissazione sierica e urinaria negativa E • Scomparsa di qualsiasi plasmocitoma dei tessuti molli E • presenza di < 5% plasmacellule negli aspirati midollari (per la stima della MRD a livello cellulare, occorre sottoporre il primo aspirato midollare ad indagine per la determinazione della MRD, mentre non si rende necessaria la valutazione morfologica)
VGPR (risposta parziale molto buona)	• Componente monoclonale sierica e urinaria rilevabile mediante immunofissazione ma non mediante elettroforesi OPPURE • Riduzione ≥ 90% della componente monoclonale sierica PIÚ • Concentrazione della componente monoclonale urinaria < 100 mg/24 ore.

PR (risposta parziale)	• Riduzione ≥ 50% della componente monoclonale sierica e riduzione ≥ 90% o fino ad una concentrazione < 200 mg/24 ore della componente monoclonale urinaria su urine delle 24 ore.
	  • Se le componenti monoclonali sieriche e urinarie non sono quantificabili, è necessaria una riduzione ≥ 50% della differenza tra i livelli delle FLC coinvolte e i livelli delle FLC non coinvolte al posto dei criteri di misurazione della componente monoclonale.
	  • Se non è possibile quantificare le componenti monoclonali sieriche e urinarie, né tantomeno effettuare il dosaggio delle catene leggere libere sieriche, è necessaria una riduzione ≥ 50% delle plasmacellule in luogo della valutazione della componente monoclonale, a condizione che la percentuale iniziale di plasmacellule midollari sia ≥ 30%.
	• Oltre ai criteri menzionati, si rivela altresì necessaria una riduzione ≥ 50% delle dimensioni dei plasmocitomi dei tessuti molli, qualora essi siano presenti in fase iniziale.

MR (risposta minima)	• Riduzione della componente monoclonale sierica ≥ 25% ma ≤ 49% ed una riduzione della componente proteica urinaria pari a circa 50%–89% • Oltre ai criteri, qualora siano presenti in fase iniziale si rivela altresì necessaria una riduzione ≥ 50% delle dimensioni dei plasmocitomi dei tessuti molli

(Tabella 2 continua alla pagina seguente)

Sottocategoria di risposta	*Criteri di risposta*[1]
Criteri standard dell'IMWG per la definizione della risposta[6]	
SD (malattia stabile)	• (se ne sconsiglia l'utilizzo come indicatore di risposta; la descrizione ideale della stabilità della patologia viene fornita dalla stima del tempo alla progressione). • Non conforme ai criteri relativi a CR, VGPR, PR, MR o progressione della malattia (PD)

PD (progressione di malattia)[8,9]	Valgono una o più delle seguenti considerazioni:
	• Aumento del 25% (rispetto a valori ottenuti in occasione del raggiungimento della risposta più bassa) in uno o più dei seguenti parametri:
	  • Concentrazione della componente monoclonale sierica (incremento assoluto ≥ 0.5 g/dl)
	  • Aumento della concentrazione della componente monoclonale sierica ≥ 1 g/dl, qualora il valore più basso della sua concentrazione era ≥ 5 g/dl
	  • Aumento della concentrazione della componente monoclonale nelle urine ≥ 200 mg/24 h
	  • Aumento assoluto del valore ottenuto mediante calcolo delle FLC coinvolte meno le FLC non-coinvolte > 10 mg/dl nei casi in cui la componente sierica o uinaria non è quantificabile.
	  • Aumento assoluto % di plasmacellule midollari ≥ 10% (a prescindere dal valore iniziale) in casi in cui la concentrazione della componente monoconale sierica o urinraia non è quantificabile, o qualora non sia possibile quantificarla mediante FLC coinvolte.
	• Comparsa di nuove lesioni, aumento ≥ 50% della SPD (sum of perpendicular diameters: somma dei diametri perpendicolari) misurata a partire dal nadir di più di una lesione, oppure aumento ≥ 50% nel diametro maggiore di una lesione precedentemente osservata con asse minore avente dimensione > 1 cm
	• Aumento di plasmacellule circolanti ≥ 50% (da un minimo di 200/mcl)

Relapse Clinico (recidiva)	Il relapse clinico (recidiva) richiede uno o più dei seguenti fattori: Indicatori diretti dell'avanzameno della patologia e/o malfunzionamento di organi (sintomatologia CRAB) in relazione al disordine linfoproliferativo. Non viene impiegato nel calcolo per quanto concerne la stima del tempo di sopravvivenza senza progressione. Tuttavvia, viene elencato nella lista di caratteristiche da riportare in più o da impiegare nella pratica clinica. • Sviluppo di nuovi plasmocitomi dei tessuti molli o di nuove lesioni osteolitiche • Aumento definito nella dimensione di preesistenti plasmocitomi o lesioni osteolitiche. Un aumento definito è determinato da un aumento pari al 50% (e di almeno 1 cm) nelle misure seriali delle somme dei prodotti dei diametri delle lesioni misurabili • Ipercalcemia (≥ 11.5 mg/dl) • Diminuzione dei livelli di emoglobina pari a valori ≥ 2 g/dl non rapportabili a schemi terapeutici • Aumento della creatinina pari o oltre i 2 mg/dl • Iperviscosità relativa alla presenza di paraproteine sieriche
Recidiva da CR **(da utililzzare solo in caso in cui l'end-point stabilito è sopravvivenza libera da malattia [DFS, disease-free survival])**	Qualunque delle seguenti: • Ricomparsa della componente monoclonale sierica o urinaria rilevabile mediante immunofissazione o elettroforesi • Sviluppo di plasmacellule midollari di entità ≥ 5% • Comparsa di qualunque altro segnale di progressione (ad es. nuovi plasmocitomi, nuove lesioni osteolitiche o ipercalcemia, come descritto in seguito)
Recidiva da MRD (da utilizzare solo nel caso in cui l'end-point è la DFS)	Qualunque delle seguenti: • Perdita dello stato di assenza di MRD (dato dalla presenza di cloni plasmacellulari rilevabili mediante Citoflluorimentria Next-Generation o mediante diagnostica per immagini effettuate per determinare la ricorrenza del mieloma. • Ricomparsa della componente monoclonale sierica o urinaria rilevabile mediante immunofissazione o elettroforesi • Sviluppo di ≥ 5% cloni plasmacellulari nel midollo • Comparsa di qualsiasi altro segno di progressione (ad es, nuovi plasmocitomi, nuove lesioni osteolitiche o ipercalcemia)

Abbreviazioni: MRD: malattia minima residua; CR: risposta completa; FLC: catena leggera libera; PR: risposta parziale; SD: malattia stabile; sCR: risposta stringente completa; VGPR: risposta parziale molto buona

Le note alla Tabella 2.

1. Tutte le categorie di risposta richiedono due valutazioni consecutive eseguite in qualsiasi momento antecedente l'istituzione di un nuovo regime terapeutico; per quanto concerne la MRD, non occorre effettuare due accertamenti consecutivi, sebbene l'informazione riguardo la MRD ad ogni livello di trattamento è consigliata (ad es, in seguito all'induzione, dopo HDT/ASCT, dopo terapia di consolidamento o di mantenimento). I test per la determinazione della MRD vanno eseguiti solo in caso di sospetta CR. Secondo recenti indicazioni pervenute da studi, si suggerisce di eseguire indagini citofluorimetriche su aspirati midollari per la definizione della MRD solo in concomitanza di una normalizzazione dei valori dei parametri ottenuti con test Freelite ed Hevylite. Il campione di midollo deve essere prelevato solo a distanza di due mesi dalla determinazione della CR per assicurarsi che quest'ultimo abbia avuto il tempo necessario per il raggiungimento dello status di negatività. Tutte le categorie di risposta e di MRD richiedono altresì l'assenza di segni di progessione o di nuove lesioni osteolitiche rilevabili mediante diagnostica per immagini. Questi ultimi non sono necessari ai fini della conformità ai requisiti di risposta summenzionati, fatta eccezione per il requisito della PET con FDG per la MRD.
2. Una MRD stabile, se riportata, deve specificare la metodica impiegata per la sua valutazione (ad es,sostenuta MDR-negativa valutata mediante tecnica citofluorimetrica, sostenuta MRD-negativa valutata mediante tecnica di sequenziamento).
3. I criteri utilizzati da Zamagni et al., ad oggi sono gli unici che mostrano il valore prognostico della PET/TAC nel setting della MRD.[106] La diagnostica per immagini deve essere impiegata solo al momento della determinazione della assenza di MRD mediante MFC o NGS.
4. La citofluorimetria a flusso del midollo osseo deve essere eseguita conformemente alle linee guida.[29] La metodica di riferimento, per quanto concerne la citofluorimetria, prevede l'impiego (secondo un approccio ben validato) di 8 colori e due provette. La doppia provetta aumenta l'affidabilità, la consistenza e la sensibilità del dato grazie all'acquisizione di un maggior numero di cellule. Questa tecnologia ad 8 colori è disponibile globalmente ed il sistema NGF è già stato adottato da un elevato numero di laboratori nel mondo. La metodica ad 8 colori più completa, che prevede l'impiego di provette precostituite con liofilizzati di anticorpi, è ritenua la più efficiente, assicurando al contempo un abbattimento degli errori, dei costi e dei tempi. Si raccomanda la valutazione di almeno 5 milioni di cellule. La tecnica citofluorimetrica impiegata deve presentare un valore minimo di sensibilità pari a 1 su10^5.
5. Il sequenziamento del DNA derivato da aspirato midollare prevede l'uso di test quali Lymphosight® (Sequenta), l'unico metodo validato ad oggi.
6. Estratto dall'"International uniform response criteria for multiple myeloma." Durie BG, et al. *Leukemia*. 2006 Sep;20(9):1467-73. Definizione di risposta minore e chiarimenti estratti dal seguente lavoro di Rajkumar SV et al. "Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood*". 2011 Mag 5;117(18):4691-5. La derminazione della CR e della VGPR nei pazienti in cui la malattia è misurabile solo mediante test FLC viene definita dai seguenti parametri: CR definita dal raggiungimento di un normale rapporto FLC (incluso tra 0.26 e 1.65) oltre ai succitati criteri per il raggiungimento della CR. La definizione di VGPR in questa categoria di pazienti richiede che vengano soddisfatti i seguenti criteri: una diminuzione ≥ 90% nella differenza tra i valori di FLC coinvolte ed FLC non-coinvolte. Tutte le categorie di risposta richiedono l'esecuzione di due determinazioni consecutive, effettuate in qualunque momento prima dell'istituzione di un nuovo regime terapeutico. Inoltre, tutte le categorie richiedono, altresì, l'assenza di lesioni ossee progressive o rilevabili ex-novo, così come l'assenza di nuovi plasmocitomi extramidollari, rilevabili mediante tecniche radiografiche. Le indagini di radiodiagnostica non devono necessariamente soddisfare questi criteri di risposta. Valutazioni eseguite su campioni di midollo osseo non richiedono alcuna successiva riprova per la conferma del risultato. Ogni categoria, ad eccezion fatta per la malattia stabile, è da considerarsi non confermata fino all'esecuzione del test di conferma. La data dell'esecuzione del primo test è da considerare come data di riferimento per la valutazione dei risultati dipendenti dal tempo, come avviene nel caso della durata della risposta.
7. La presenza/assenza di cellule clonali rilevabili mediante tecnica immunoistochimica è basata sul risultato del rapporto κ/λ. Un rapporto κ/λ anomalo rilevabile mediante immunoistochimica richiede un minimo di 100 plasmacellule al fine di stabilire una corretta indagine. Un rapporto anomalo che indica la presenza di un clone anomalo corrisponde a un κ/λ > 4:1 o < 1:2.
8. Una immunofissazione positiva in un paziente precedentemente classificato in CR non verrà considerata come una progressione della malattia. Ai fini del calcolo del tempo di progressione e di progression-free survival, i pazienti con CR e pazienti con negatività alla MRD devono essere valutati secondo i criteri sopracitati per quanto concerne la malattia progressiva (PD). I criteri per la valutazione del relapse dalla CR o dalla MRD devono essere impiegati per la valutazione della DFS.
9. Nel caso in cui il valore è da considerarsi come un risultato spurio a discrezione del clinico (ad esempio, a causa di un possibile errore di laboratorio) quel dato valore non verrà considerato per la determinazione del valore più basso.
10. Tutte le raccomandazioni riguardanti l'utilità clinica relativa ai livelli di catene leggere libere sieriche o del rapporto FLC si basa sui risultati ottenuti mediante il test Freelite. Una maggiore sensibilità del test Freelite rispetto all'UPEP nel monitoraggio della risposta al trattamento è stata dimostrata dal recente lavoro pubblicato da Dejoie et al. (*Haematologica*, published ahead of print December 3, 2015) in cui hanno confrontato i risultati ottenuti mediante test Freelite con UPEP per la rilevazione delle componenti monoclonali in pazienti affetti da mieloma ad immunoglobuline intatte e mieloma micromolecolare.

Le attuali *Clinical Practice Guidelines in Oncology* (Linee Guida Oncologiche nella pratica clinica) redatte dalla National Comprehensive Cancer Network (NCCN) consigliano il ricorso ai dosaggi delle catene leggere libere policlonali sieriche (Freelite) ai fini della diagnosi, della prognosi e del monitoraggio del mieloma multiplo.

Pazienti che traggono maggior beneficio dal dosaggio Freelite

- Pazienti affetti da mieloma che presentano valori anomali delle catene leggere libere sieriche all'inizio del trattamento. Il monitoraggio mediante dosaggio delle catene leggere libere sieriche garantisce solitamente una rapida valutazione dell'efficacia del trattamento.
- Pazienti che evidenziano livelli estremamente bassi di catene leggere non rilevabili mediante altri test quali SPEP, UPEP e IFE e che sono generalmente affetti da mieloma non secernente (anche detto iposecernente, oligosecernente o paucisecernente). Il dosaggio Freelite si rivela utile per il monitoraggio del mieloma non secernente in circa il 70% dei casi.
- Soggetti che presentano depositi di catene leggere sotto forma di amiloidosi AL. Non tutti i soggetti affetti da amiloidosi AL sviluppano un mieloma attivo. Di conseguenza, il monitoraggio dei livelli delle catene leggere rappresenta un metodo estremamente utile ai fini della valutazione dello stato della malattia.
- Pazienti affetti da mieloma a catene leggere (Bence Jones). I principali vantaggi offerti dal dosaggio Freelite per questi soggetti sono:
  - Maggiore praticità degli esami del sangue rispetto alla raccolta delle urine nelle 24 ore (si tenga presente che l'esame periodico delle urine nelle 24 ore è *tuttora raccomandato* e necessario ai fini sia di un duplice controllo del livello di escrezione delle catene leggere sia del monitoraggio delle evidenze di danno renale).
  - Maggiore sensibilità degli esami del sangue (gli aumenti moderati di questi livelli potrebbero essere rilevabili nel sangue ma non nelle urine).

Cos'è il dosaggio Hevylite?

Il dosaggio delle catene pesanti/leggere sieriche, o test Hevylite, è un nuovo esame del sangue utilizzato per la misurazione delle immunoglobuline intatte e rappresenta l'unico **dosaggio immunologico** automatizzato approvato dalla FDA (US Food and Drug Administration) statunitense per il monitoraggio del mieloma IgG e IgA. La FDA sancisce la possibilità di utilizzare il test Hevylite in seguito a una precedente diagnosi di mieloma multiplo unitamente ad altri esami clinici e di laboratorio.

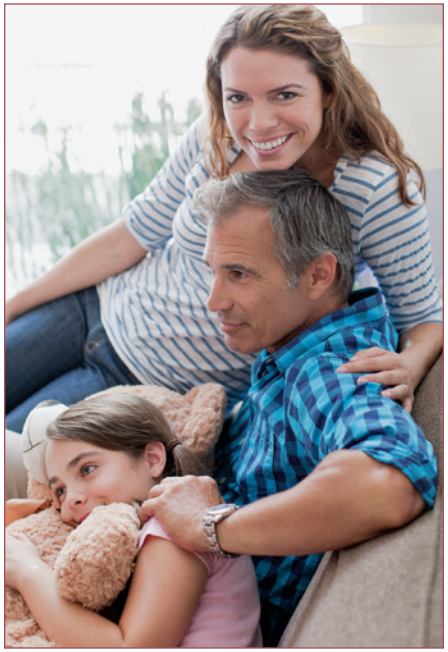
La proteina M può essere costituita da un'unica catena pesante di immunoglobulina (IgG, IgA, IgD, IgE, o IgM), da un'unica catena leggera libera (kappa o lambda libera) oppure, nella maggior parte dei casi, da una catena pesante a cui è legata una catena leggera libera (IgG kappa, IgG lambda; IgA kappa,

IgA lambda, ecc.), come illustrato nella Tabella 1. Mentre il test Freelite consente di quantificare le catene leggere libere e si rivela estremamente utile nel caso di pazienti affetti da mieloma a catene leggere, mieloma iposecernente e amiloidosi, il test Hevylite consente di misurare le catene pesanti e leggere di immunoglobulina intatta (o completa) nei soggetti affetti da mieloma (ad esempio, IgG kappa o IgA lambda).

Cosa si intende per rapporto catene pesanti/leggere?

Il dosaggio delle catene pesanti/leggere sieriche consente di capire se una specifica catena pesante è legata o meno a una specifica catena leggera, nonché di effettuare una distinzione tra proteine "coinvolte", ovvero la catena pesante e leggera coinvolta nello sviluppo del mieloma (detta iHLC), e "non coinvolte" (le componenti normali o policlonali – non monoclonali, dette uHLC), ovvero la proteina normale o policlonale e non monoclonale. Un tipico esempio potrebbe essere quello di un paziente che evidenzia una proteina monoclonale IgG lambda (la catena pesante e leggera "coinvolta") e una proteina normale o "non coinvolta" accoppiata IgG kappa. In questo caso, sarebbe quindi appropriato richiedere il dosaggio delle IgG lambda (la iHLC) e delle IgG kappa (le uHLC). Analogamente, in un paziente affetto da mieloma di tipo IgA lambda, si richiederebbe pertanto il dosaggio delle Hevylite di tipo IgA lambda ed IgA kappa.

Il test Hevylite non consente solo di calcolare le coppie di proteine coinvolte (iHLC) e non coinvolte (uHLC), ma, come accade anche nel caso del test Freelite, di misurare anche il rapporto tra le stesse (rapporto HLC o HLC ratio) mettendo a confronto i risultati ottenuti con i normali intervalli di queste proteine ematiche. Anche il test Hevylite è una tecnica automatizzata che presenta un elevato livello di sensibilità e garantisce pertanto un rilevamento accurato delle immunoglobuline monoclonali a livelli estremamente bassi nel sangue. I valori ottenuti mediante il dosaggio Hevylite rappresentano strumenti importanti per la valutazione dell'attività mielomatosa, in virtù della loro capacità di individuare in modo accurato non solo la quantità di proteine monoclonali (iHLC), ma anche il numero di immunoglobuline normali non-coinvolte (uHLC). Se quest'ultimo valore risulta inferiore alla norma, il test permette di individuare il livello di soppressione della uHLC indotta dal mieloma stesso.



Quali sono le differenze tra il dosaggio Hevylite e la SPEP?

Nei pazienti affetti da mieloma IgA kappa o IgA lambda, l'elettroforesi delle sieroproteine standard non rappresenta un esame particolarmente attendibile. Il dosaggio Hevylite rappresenta un'alternativa valida ai fini della quantificazione delle proteine M nei pazienti affetti da mieloma IgA.

Il dosaggio Hevylite e il monitoraggio delle recidive

Il test Hevylite garantisce il rilevamento di recidive più immediato rispetto agli altri metodi attualmente disponibili. Se il risultato del test Hevylite indica un rapporto HLC anomalo, ciò è indice di un ritorno alla produzione di proteine monoclonali da parte delle cellule mielomatose. L'estrema sensibilità del test HLC consente di rilevare eventuali recidive in modo più immediato rispetto alle tecniche SPEP o IFE.

Il dosaggio Hevylite e il monitoraggio della malattia residua

L'estrema sensibilità del dosaggio del test Hevylite si rivela altresì utile ai fini della diagnosi della malattia minima residua (MRD) anche in pazienti in cui è stata rilevata una risposta completa (CR) o una risposta completa stringente (sCR) mediante altri metodi.

Un livello di HLC non coinvolte inferiore ai livelli normali sono indice di una presenza di malattia mielomatosa sufficiente ad indurre la soppressione delle cellule del sistema immunitario, anche nel caso in cui i liveli di proteina anormale (monoclonale) coinvolta (o iHLC) non è quantificabile. Studi recenti suggeriscono che i pazienti arruolati in trials clinici ed il cui stato soddisfa i criteri di CR o di sCR, sottoposti a prelievo di midollo per la valutazione della MRD, dovrebbero sottoporsi ad iniziale screening mediante test Freelite ed Hevylite. Qualora i risultati ottenuti mediante questi test ad elevata sensibilità dovessero riportare valori anomali per quanto riguarda i rapporti Freelite e/o Hevylite, il paziente non sarà pertanto pronto per ulteriore indagine per la definizione della MRD. In questo caso, si consiglia di rimandare le indagini bioptiche del midollo osseo fino alla normalizzazione dei rapporti. Si sconsiglia l'esecuzione della biopsia midollare prima di due mesi in seguito al conseguimento della CR, in modo tale da consentire l'assestamento del midollo osseo allo status di negatività della MRD.

Quali sono i valori normali di Hevylite?

Ciascun laboratorio può stabilire i propri intervalli di normalità. Tuttavia, a titolo di riferimento, gli intervalli di normalità relativi ai valori delle HLC sono illustrati nella Tabella 3 sottostante:

Tabella 3. **Intervalli di normalità relativi ai valori delle HLC**

HLC	*Intervallo*
IgG kappa (g/L)	4,03–9,78
IgG lambda (g/L)	1,97–5,71
Rapporto IgG kappa/IgG lambda	0,98–2,75
IgA kappa (g/L)	0,48–2,82
IgA lambda (g/L)	0,36–1,98
Rapporto IgA kappa/IgA lambda	0,80–2,04

È possibile utilizzare contemporaneamente i dosaggi Freelite e Hevylite?

Le cellule mielomatose di un singolo paziente producono cloni multipli che, a loro volta, potrebbero produrre immunoglobuline intatte, catene leggere libere o entrambe. Dal momento che il dosaggio delle catene leggere libere ed il dosaggio degli isotipi di catene pesanti + leggere rappresentano biomarcatori indipendenti dell'attività della malattia, è importante eseguire il monitoraggio dei pazienti mediante l'utilizzo di entrambe le tipologie di test. Dato il carattere estremamente eterogeneo dei cloni prodotti dai vari tipi di mieloma che colpiscono ciascun paziente, se utilizzati in modo congiunto, questi due dosaggi tendono a complementarsi a vicenda.

L'assicurazione copre i costi dei dosaggi delle catene Freelite e Hevylite?

Negli Stati Uniti, per i dosaggi delle catene leggere libere sieriche è previsto un rimborso emesso dalla maggior parte delle assicurazioni private, tra cui anche Medicare. Il dosaggio Hevylite è coperto dal rimborso CPT, analogamente al test Freelite; tuttavvia, il costo del test può variare a seconda del laboratorio che esegue l'indagine.

Conclusioni

Mentre una diagnosi di cancro è qualcosa impossibile da controllare, acquisire consapevolezza e conoscenza per arrivare a un miglioramento dell'interazione con il personale medico e infermieristico è, invece, un aspetto che è possibile controllare e che avrà un impatto significativo sulle reazioni del paziente durante l'intero corso della malattia.

Questo manuale non intende sostituirsi alle indicazioni fornite dal personale medico e da quello infermieristico di riferimento, che daranno al paziente risposte esaustive in merito al piano terapeutico specifico. L'IMF intende fornire unicamente ai pazienti una serie di informazioni da utilizzare come riferimento durante le discussioni sulla malattia con il proprio personale sanitario. Per contribuire ad assicurare un trattamento efficace con una buona qualità di vita, è necessario svolgere un ruolo attivo nelle proprie cure mediche.

Consigliamo, quindi, di visitare il sito web myeloma.org per avere informazioni aggiornate sul mieloma e di contattare la InfoLine dell'IMF con domande e dubbi relativi a tale malattia. La InfoLine dell'IMF fornisce in maniera coerente le migliori informazioni sul mieloma in modo attento e delicato. È possibile contattare gli specialisti dell'InfoLine dell'IMF all'indirizzo e-mail InfoLine@myeloma.org oppure ai numeri +1 800-452-2873 o +1 818-487-7455.

Termini e definizioni

Citometria a flusso: Tecnologia utilizzata nella conta delle cellule, nell'ordinamento cellulare e nell'individuazione dei biomarcatori, che prevede la sospensione delle cellule in un fluido e il loro passaggio attraverso un laser.

Dosaggio immunologico: Test condotto ai fini dello studio dei sistemi biologici e incentrato sul monitoraggio di proteine, ormoni e anticorpi diversi. Questa tecnica si basa sulla capacità insita negli anticorpi di legarsi alla struttura specifica di una molecola. Dal momento che gli anticorpi si sviluppano in base alla struttura tridimensionale specifica di ciascun antigene, queste proteine presentano un elevato livello di specificità che le spinge a legarsi esclusivamente a quella specifica struttura. Il test ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ovvero "saggio basato sull'assorbimento del complesso immunitario a cui è legato un enzima") rappresenta un metodo comunemente utilizzato per il rilevamento degli anticorpi nel sangue.

Elettroforesi: Test di laboratorio in cui il siero del paziente (sangue) o le molecole presenti nell'urina vengono separate in base alle dimensioni e alla carica elettrica. Per i pazienti affetti da mieloma, l'elettroforesi del sangue o delle urine permette sia di quantificare le proteine del mieloma (proteina M), sia di identificare il tipico picco monoclonale caratteristico di ogni paziente. L'elettroforesi è utilizzata sia per la diagnosi che per il monitoraggio.

Elettroforesi con immunofissazione (IFE): Test immunologico del siero o delle urine impiegato ai fini dell'identificazione delle proteine. Per i pazienti affetti da mieloma, consente al medico di identificare il tipo di proteina M (IgG, IgA, kappa o lambda). La tecnica di "immunostaining" (immunoistochimica) più sensibile e più comunemente utilizzata consente di identificare il tipo esatto di catene pesanti e leggere della proteina M.

Elettroforesi delle proteine: Test di laboratorio in cui il siero del paziente (sangue) o le proteine presenti nell'urina vengono separate in base alle dimensioni e alla carica elettrica. L'elettroforesi consente il calcolo della quantità di proteina monoclonale ed è utilizzata sia per la diagnosi che per il monitoraggio.

Gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance): Tipo di disturbo delle plasmacellule caratterizzato da livelli relativamente bassi di proteina monoclonale nel sangue e/o nelle urine. I livelli di plasmacellule nel midollo osseo sono bassi (< 10%). I sintomi correlati al mieloma (ad es. anemia, insufficienza renale, ipercalcemia e lesioni litiche) sono assenti.

Immunofluorescenza: Test che sfrutta la specificità degli anticorpi rispetto ai relativi antigeni allo scopo di individuare pigmenti fluorescenti su specifici bersagli all'interno di una cellula e di rendere in tal modo possibile la visualizzazione della distribuzione della molecola bersaglio attraverso il campione. Ai fini della visualizzazione della posizione degli anticorpi, l'immunofluorescenza utilizza fluorocromi, ovvero composti chimici fluorescenti in grado di riemettere la luce assorbita se sottoposti a eccitazione luminosa. Questi strumenti vengono utilizzati come sonde o indicatori.

Immunoglobulina (Ig): Proteina prodotta dalle plasmacellule; parte essenziale del sistema immunitario dell'organismo. Le immunoglobuline si legano alle sostanze estranee (antigeni) e collaborano alla loro distruzione. Le classi (chiamate anche isotipi) di immunoglobuline sono IgG, IgA, IgD, IgE e IgM. Il termine non medico per immunoglobulina è "anticorpo".

Immunoistochimica (IHC): Processo di rilevamento degli antigeni (ad es. proteine) all'interno delle cellule di una sezione di tessuto basato sul principio del legame specifico anticorpi-antigeni nei tessuti biologici. La colorazione immunoistochimica viene comunemente utilizzata nella diagnosi di cellule anomale presenti, ad esempio, nei tumori maligni.

Insufficienza cardiaca congestizia: Condizione che si verifica quando la funzione di pompaggio del cuore risulta indebolita, causando una serie di eventi che provocano ritenzione idrosalina del corpo. Se i liquidi si accumulano nelle braccia, nelle gambe, nei piedi, nelle caviglie, nei polmoni o in altri organi, l'organismo risulta congestionato.

Iposecernente: patologia caratterizzata da un'assenza o da bassi livelli di secrezione.

Malattia residua minima (MRD, minimal residual disease): Presenza di cellule tumorali residue al termine del trattamento e al raggiungimento della remissione completa

(CR). Persino i pazienti che hanno conseguito una risposta completa stringente (sCR) possono avere la MRD. Nuovi metodi di indagine molto sensibili sono oggi in grado di rilevare 1 cellula mielomatosa tra 1.000.000 di cellule campione nel sangue o nel midollo osseo.

Midollo osseo: Tessuto molle e spugnoso situato all'interno delle ossa che produce globuli bianchi, globuli rossi e piastrine e all'interno del quale si assiste alla crescita di plasmacellule anomale che causano il mieloma.

Mieloma multiplo: neoplasia causata dalla presenza di plasmacellule nel midollo osseo Le plasmacellule neoplastiche prendono il nome di cellule mielomatose.

Monoclonale: Clone o duplicato di una singola cellula. Il mieloma deriva dallo sviluppo di una singola plasmacellula maligna (monoclone). Anche la proteina prodotta dal mieloma è di tipo monoclonale ed è caratterizzata da una forma singola piuttosto che da diverse forme (policlonale). Un importante aspetto pratico della proteina monoclonale è il tipico picco M che viene rilevato con l'elettroforesi sierica.

Plasmacellule: Particolari globuli bianchi che producono anticorpi (immunoglobuline). Il mieloma è un tumore delle plasmacellule. Le plasmacellule maligne prendono il nome di cellule mielomatose. Nel mieloma, le plasmacellule maligne producono una grande quantità di anticorpi anomali che non sono in grado di combattere le infezioni. Tali anticorpi anomali sono rappresentati dalla proteina monoclonale, o proteina M, che funziona da marker tumorale per il mieloma. Le plasmacellule producono anche altre sostanze chimiche che possono causare danno d'organo o di tessuto (anemia, danno renale, e danneggiamento del nervo).

Plasmocitoma extramidollare: Tumore formato da plasmacellule monoclonali che si trova nei tessuti molli al di fuori del midollo osseo ed è separato dall'osso.

Plasmocitoma solitario dell'osso (SPB): Massa singola di plasmacellule monoclonali in un osso. La diagnosi di SPB prevede la presenza di una lesione solitaria dell'osso, la cui biopsia mostra un'infiltrazione da parte delle plasmacellule; assenza di evidenza radiologica di lesioni ossee; assenza di plasmacellule clonali in un campione casuale di midollo osseo; e nessuna traccia di anemia, ipercalcemia o di coinvolgimento dei reni che suggeriscano un mieloma sistemico.

Plasmocitoma: Vedi "**Plasmocitoma extramidollare**" e "**Plasmocitoma solitario dell'osso (SPB)**".

Proteina monoclonale (proteina M): Proteina anomala prodotta dalle cellule del mieloma che si accumula e danneggia l'osso e il midollo osseo. Un elevato livello di proteina M indica che le cellule del mieloma sono presenti in grande quantità.

Proteine M (picco M): Anticorpi o parti di anticorpi presenti in quantità insolitamente grandi nel sangue o nelle urine in pazienti affetti da mieloma multiplo. Il picco M si riferisce al tipico tracciato elettroforetico che si ottiene quando è presente una proteina monoclonale. Sinonimo di proteina monoclonale e di proteina del mieloma Vedi "**Monoclonale**".

Remissione o risposta: Scomparsa completa o parziale dei segni o sintomi del cancro. Remissione e risposta sono termini utilizzati indistintamente.

- ***Remissione completa (CR)*** – Immunofissazione negativa nel siero e nelle urine, scomparsa di plasmocitomi dei tessuti molli e percentuale minore o uguale al 5% di plasmacellule nel midollo osseo. La CR non è sinonimo di cura.
- ***Risposta completa stringente (sCR)*** – Una sCR consiste in una risposta completa (CR), come definito nel paragrafo successivo, accompagnata da un rapporto FLC normale e dall'assenza di cellule clonali nel midollo osseo attraverso esami di immunoistochimica o immunofluorescenza.
- ***Remissione Parziale (PR)*** – La PR è un livello di risposta in cui si verifica una riduzione di almeno il 50% della proteina M e una riduzione della proteina M urinaria con urine delle 24 ore di almeno il 90% (o inferiore a 200 mg/24 ore).
- ***Remissione parziale molto buona (VGPR)*** – La VGPR è inferiore alla CR. La VGPR corrisponde alla proteina M sierica e urinaria rilevabile mediante immunofissazione ma non con elettroforesi, oppure a una riduzione minima del 90% della proteina M sierica accompagnata da livelli di proteina M urinaria <100 mg/24 ore.

La stampa del presente manuale informativo per il paziente è stata resa possibile grazie a una sovvenzione concessa da The Binding Site.

10 STEPS TO BETTER CARE®

UNO STRAORDINARIO STRUMENTO DI INFORMAZIONE SU DIAGNOSI E TRATTAMENTO

Uno degli aspetti più scoraggianti per i pazienti a cui viene diagnosticato un mieloma multiplo (MM) è imparare – e comprendere – una malattia rara e abbastanza complicata. Dalla diagnosi alla sopravvivenza a lungo termine, *10 Steps to Better Care®* (10 passi verso il raggiungimento del benessere) sarà la vostra guida nell'affrontare il mieloma:

1. **Sapere con cosa hai a che fare. Elaborare una diagnosi corretta.**
2. **Esami che dovete eseguire.**
3. **Opzioni di trattamento iniziale.**
4. **Terapia di supporto.**
5. **Trapianto: è necessario?**
6. **Valutazione della risposta: il trattamento funziona?**
7. **Consolidamento e/o mantenimento.**
8. **Seguire il mieloma: un monitoraggio trasparente.**
9. **Recidiva: è necessario modificare il trattamento?**
10. **Nuove sperimentazioni cliniche: come trovarle.**

Visitate **10steps.myeloma.org** per conoscere meglio questa malattia e la sua diagnosi e scoprire un passo alla volta quali sono i test, i trattamenti, le terapie di supporto e le sperimentazioni cliniche più efficaci.

L'International Myeloma Foundation (IMF) vi invita a esplorare a fondo con il vostro specialista le problematiche mediche di questa malattia. L'IMF è qui per mettere a vostra disposizione gli strumenti necessari per comprendere e affrontare al meglio il mieloma. Visitate la pagina web dell'IMF www.myeloma.org oppure contattate la InfoLine dell'IMF +1 818-487-7455, per ricevere dai nostri esperti le risposte ai vostri dubbi e domande. L'IMF è qui per aiutarti.

International Myeloma Foundation®