

PROGETTO DI RICERCA

Titolo: "Ricerca del clone EPN eritrocitario nei pazienti con gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS), e correlazione con la evoluzione in mieloma conclamato".

Introduzione

L'emoglobinuria parossistica notturna (EPN) è un disordine acquisito clonale, non neoplastico, della cellula staminale, caratterizzata da emolisi intravascolare, fenomeni trombotici e insufficienza midollare. La patogenesi coinvolge la mutazione del gene PIG-A con successiva maggiore sensibilità cellulare alla lisi da complemento. Ci sono diverse evidenze sul fatto che piccoli cloni EPN possano essere presenti sia in soggetti sani che affetti da diverse emopatie, tra cui sindromi mielodisplastiche e anemie aplastiche. Recenti lavori hanno anche descritto la presenza di tale clone EPN in pazienti affetti da mieloma multiplo (MM) in cui la presenza pare possa contribuire al danno osseo mediante una modulazione dell'attività osteoclastica.

Poichè nella storia naturale del mieloma multiplo(MM) frquente è l'evoluzione da quella che si definisce "gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS)", è possibile che il clone EPN sia presente anche in questa discrasia plasmacellulare e che possa comportare dei rischi clinici per i soggetti portatori (soprattutto eventi tromboembolici e stati severi di anemia non spiegabili da altre cause) e influenzare non solo l'evoluzione in mieloma conclamato quanto determinare uno stadio più avanzato alla diagnosi. La presenza del clone EPN nei soggetti con MGUS diventerebbe quindi un marker aggiuntivo per identificare i pazienti più a rischio di evoluzione in MM e pertanto meritevoli di stretti follow-up.

Lo studio proposto, descritto nel dettaglio di seguito, sarà prospettico e finalizzato a verificare se la presenza del clone EPN nella fase pre-tumorale di MGUS possa rendere più rapida l'evoluzione in mieloma multiplo conclamato e soprattutto possa correlare con stadi più elevati di malattia alla diagnosi

DISEGNO DELLO STUDIO

Obiettivi dello studio

Obiettivo primario:

Ricerca la presenza e calcolare la frequenza del clone EPN eritrocitario in soggetti con diagnosi di MGUS

Obiettivi secondari:

1. Valutazione delle caratteristiche cliniche dei pazienti con MGUS e clone EPN eritrocitario in termini di incidenza di eventi tromboembolici e/o forme di anemia (Hb <8 gr/dl) non spiegabili da altre cause;
2. Analizzare il rapporto temporale tra MGUS con clone EPN ed eventuale evoluzione in mieloma multiplo conclamato;
3. Valutare se il mieloma multiplo evoluto da MGUS con clone EPN positivo si presenti alla diagnosi in stadi più avanzati (secondo Durie & Salmon e sec ISS).

Popolazione

Sarà identificata la popolazione da analizzare nei pazienti in cui è stata individuata una gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS) sulla scorta di un'elettroforesi sieroproteica corredata da immuno-fissazione sierica, dosaggio delle catene leggere κ e λ sieriche e loro rapporto (κ/λ).

I pazienti sono selezionati con riferimento ai **criteri di eleggibilità che sono i seguenti:**

Criteri di inclusione

- soggetti di entrambi i sessi con età ≥ 18 anni;
- tutti i pazienti con riscontro di componente monoclonale sierica (IgA e IgG, **non IgM**) di dimensione < 3 gr/dl;
- Soggetti che non abbiano avuto malignità per almeno tre anni o che abbiano un carcinoma in situ sottoposto a trattamento con eradicazione della neoplasia con successo;
- firma del modulo di consenso informato, che indichi la capacità di comprendere lo scopo e le procedure richieste dallo studio e la disponibilità a partecipare allo studio.

Criteri di esclusione:

- pazienti con patologia plasmacellulare-IgM;
- pazienti con cirrosi epatica a diversa eziologia;
- Pazienti con altro tipo di malignità concomitante o passata.

- condizioni mediche significative non controllate che a giudizio dello sperimentatore potrebbero rappresentare fattori confondenti per l'analisi di alcuni parametri;
- diagnosi di patologia autoimmune nei sei mesi precedenti l'arruolamento.

Durata dello studio:

I pazienti verranno arruolati e lo studio verrà condotto a partire dal 1 Dicembre 2016 fino al 1 Settembre 2019, in assenza di limite relativamente alla dimensione del campione. I dati che vengono raccolti per la selezione dei pazienti corrispondono a quelli che sono richiesti nel normale percorso diagnostico finalizzato all'inquadramento di una MGUS. Gli stessi vengono organizzati all'interno di un database, mantenendo l'anonimato dei pazienti, e analizzati con test statistici.

Sarà raccolto, anzitutto, il dato che si riferisce alla classe immunoglobulinica clonale e al livello sierico della paraproteina al momento della diagnosi in ciascun paziente così da confermare la MGUS ed escludere un mieloma multiplo già conclamato. Sarà poi eseguita, su campioni di sangue periferico, la ricerca del clone EPN a livello della popolazione eritrocitaria mediante citometria a flusso. Nello specifico verrà utilizzata la combinazione di Glicoforina A, CD55, CD59 e FLAER.

Infine, saranno raccolti e organizzati in un database dati anagrafici, clinici e di laboratorio al fine di valutare, avvalendoci di test statistici, l'incidenza del clone EPN nei pazienti con MGUS, la frequenza di eventi tromboembolici e/o severi stati anemici non spiegati da altre cause nella popolazione in studio, l'associazione tra la presenza del clone EPN e il tempo di evoluzione in mieloma multiplo conclamato e lo stadio del mieloma multiplo all'eventuale diagnosi. Per esprimere una valutazione in merito al decorso clinico della patologia,

Attualmente non si hanno dati circa l'incidenza di cloni EPN eritrocitari nella gammopatia di significato indeterminato (MGUS), né se tale stato possa aumentare in questi pazienti il rischio di eventi trombo-embolici e/o di severi stati anemici rispetto ai pazienti con MGUS e assenza del clone EPN. Inoltre non si ci sono dati né sulla correlazione temporale tra MGUS EPN+ e tempo di evoluzione in mieloma multiplo, né sullo stadio di quest'ultimo quando evoluto da gammopatia EPN+. La valutazione di tali dati potrebbe permettere di individuare un sottogruppo di pazienti a più alto rischio clinico e di evoluzione neoplastica in MM, meritevoli pertanto di un follow-up più ravvicinato.

Raccolta dati

Verranno raccolti i seguenti dati demografici, clinici e biologici dei pazienti: sesso, data di nascita, età alla diagnosi, BMI, comorbidità, terapie concomitanti, valori di β 2microglobulina, valori di

albumina, stadio sec. ISS, calcemia, Hb, proteinuria di Bence Jones, lesioni osteolitiche e loro sede, stadio sec. Durie-Salmon, valori della conta piastrinica, valori di LDH, azotemia, creatininemia.

Analisi statistica

I dati verranno analizzati con software dedicato e con l'ausilio di test e strumenti statistici mirati a studiare tali relazioni rilevando il livello di significatività osservato o *p-value*.

BIBLIOGRAFIA

1. Charles Parker et al. *Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Blood 2005 106: 3699-3709.
2. Stephen J. Richards et al. *Application of Flow Cytometry to the Diagnosis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria*. Cytometry 42:223–233 (2000);
3. Vasileios Chatziantoniou et al. *Significance of the detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation*. Hematol Oncol Stem Cell 2015; 8(4): 150–159;
4. Terpos E et al. *Unusual association between increased bone resorption and presence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria phenotype in multiple myeloma*. Int J Hematol. 2003 Nov;78(4):344-8.
5. Varma S et al. *Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-phenotype in patients with chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma*. Indian J Pathol Microbiol. 2012 Apr-Jun;55(2):206-10.
6. Nakao S et al. *Clinical significance of a small population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in the management of bone marrow failure*. Int J Hematol. 2006 Aug;84(2):118-22;
7. Meletis J, et al. *Detection of CD55- and/or CD59-deficient red cell populations in patients with plasma cell dyscrasias*. Int J Hematol. 2002 Jan;75(1):40-4.
8. Neha Korde et al. Blood 2011 117:5573-5581.
9. Van de Donk NW et al. *Diagnosis, risk stratification and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma*. Int J Lab Hematol. 2016 May 9.
10. Ola Landgren et al. *Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study*. Blood 2009 113:5412-5417