

**MIELOMA MÚLTIPLE QUIESCENTE: HISTORIA NATURAL Y
CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y CITOGÉNICA DEL TIPO
PROGRESIVO.**

Tesis presentada por

Laura Rosiñol Dachs

Para optar al grado de Doctora en Medicina

Directores de la tesis: Doctor Joan Bladé Creixenti y Doctora Ana Carrió Ibáñez

Facultat de Medicina
Universitat de Barcelona

ÍNDICE

GLOSARIO DE ABREVIATURAS	5
I. INTRODUCCIÓN	6
1. GAMMAPATÍAS MONOCLONALES	7
1.1. Concepto	7
1.2. Clasificación	7
1.3. Etiopatogenia	9
2. MIELOMA MÚLTIPLE	12
2.1. Epidemiología	12
2.2. Manifestaciones clínicas	12
2.3. Datos de laboratorio	13
2.4. Diagnóstico y diagnóstico diferencial	14
2.5. Pronóstico	14
2.5.1 Factores relacionados con el paciente	15
2.5.2 Factores relacionados con la clona tumoral	15
2.5.3 Factores relacionados con la masa tumoral	16
2.6. Tratamiento	17
2.6.1 Tratamiento citostático inicial	17
2.6.2. Tratamiento de las recaídas	18
2.6.3. Tratamiento del mieloma primariamente resistente	18
2.6.4. Trasplante de progenitores hematopoyéticos	19
2.6.5. Nuevos fármacos	20
Talidomida	21
Fármacos inmunomoduladores (IMiDs)	21
Bortezomib	22
3. GAMMAPATÍAS MONOCLONALES ASINTOMÁTICAS	22
3.1. Mieloma quiescente	22
3.1.1. Criterios diagnósticos	22

3.1.2.	Factores predictivos de transformación	23
3.1.2.1.	Factores clásicos	23
3.1.2.2.	Significado pronóstico de la resonancia nuclear magnética	27
3.1.2.3.	Cinética de la población plasmocelular	29
3.1.3.	Posibilidades terapéuticas	30
3.1.3.1	Tratamiento con agentes alquilantes	30
3.1.3.2.	Tratamiento con nuevos fármacos	31
3.1.4.	Seguimiento	32
3.2.	Gammapatía monoclonal de significado incierto	33
3.2.1.	Epidemiología	33
3.2.2.	Riesgo de transformación maligna	33
3.2.3.	Factores predictivos de transformación maligna	34
	Cuantía del componente monoclonal	36
	Infiltración medular por células plasmáticas	36
	Tipo de paraproteína	37
	Cadenas ligeras libres en suero	37
4.	CITOGÉNICA EN LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES	38
4.1.	Técnicas de citogenética	38
4.1.1.	Citogenética convencional	39
4.1.2.	Hibridación in situ fluorescente (HISF)	40
4.1.3.	Hibridación genómica comparada (HGC)	41
4.2.	Anomalías citogenéticas en las gammapatías monoclonales	43
4.2.1.	Citogenética convencional	43
4.2.2.	Hibridación in situ fluorescente (HISF)	44
4.2.3.	Hibridación genómica comparada (HGC)	46
4.3.	Anomalías citogenéticas específicas	47
4.3.1.	Traslocaciones relacionadas con el locus de las inmoglobulinas	47
	Traslocaciones primarias frente a secundarias	47

t (11;14)(q13;q32)	48
t (4;14)(q16.3;q32)	49
t(14;16)(q32;q23)	50
Otras traslocaciones de IgH	50
4.3.2. Delección / monosomía del cromosoma 13	50
4.3.3. Aneuploidía	52
4.3.4. Otras anomalías citogenéticas	52
p53 (17p13)	52
Mutaciones de ras	53
II. HIPÓTESIS	54
III. OBJETIVOS	56
IV. RESULTADOS	58
4.1. Trabajo 1: Mieloma quiescente: historia natural y reconocimiento del tipo progresivo	59
4.1.1. Resumen	60
4.1.2. Trabajo 1	
4.2. Trabajo 2: La hibridación genómica comparada identifica dos variantes de mieloma quiescente	62
4.2.1. Resumen	63
4.2.2. Trabajo 2	
V. DISCUSIÓN	64
VI. CONCLUSIONES	73
VII. BIBLIOGRAFÍA	75

ABREVIATURAS

AL	Amiloidosis primaria
β2M	Beta-2-microglobulina
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EICH	Enfermedad del injerto contra el huésped
FLC	“Free light chain”; cadenas ligeras libres
GEM	Grupo Español de Mieloma
GMSI	Gammapatía monoclonal de significado incierto
HGC	Hibridación genómica comparada
HISF	Hibridación in situ fluorescente
IgH	Gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas
IgL	Gen de la cadena ligera de las inmunoglobulinas
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IMiDs	Fármacos inmunomoduladores
MM	Mieloma múltiple
MQ	Mieloma quiescente
PCR	Proteína C reactiva
PETHEMA	Programa para el Estudio de la Terapéutica de las Hemopatías Malignas
RNM	Resonancia nuclear magnética
TASP	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica
TIR	Trasplante de intensidad reducida
TNF	Factor de necrosis tumoral
VBAD	Vincristina, BCNU, adriamicina, dexametasona
VBMCP	Vincristina, BCNU, melfalán, ciclofosfamida, prednisona
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
Δ 13	Deleción / monosomía del cromosoma 13

I. INTRODUCCIÓN

1. GAMMAPATÍAS MONOCLONALES: GENERALIDADES

1.1. Concepto

Las gammapatías monoclonales constituyen un grupo de trastornos caracterizados por la proliferación clonal de células plasmáticas que producen una proteína homogénea de carácter monoclonal (componente M o paraproteína) que se detecta en suero y/o en orina.

1.2. Clasificación

La clasificación actual de las gammapatías monoclonales se detalla en la Tabla 1.

Aunque el mieloma múltiple (MM) constituye el prototipo de gammapatía monoclonal, el trastorno más frecuente es la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI). De hecho, el 60% de una serie de 1056 pacientes de la Clínica Mayo diagnosticados de una gammapatía monoclonal tenían una GMSI (Kyle *et al*, 2004a). Con el objetivo de definir las diferentes gammapatías monoclonales el Internacional Myeloma Working Group (IMWG) ha reconsiderado recientemente los criterios diagnósticos para cada una de ellas (IMWG, 2003). Así, la GMSI se define por la presencia de un componente M sérico ≤ 30 g/L y $< 10\%$ de células plasmáticas en médula ósea en ausencia de sintomatología asociada. Por el contrario, los pacientes con MM tienen un componente M sérico superior a 30 g/L o bien excretan más de 1 g de cadenas ligeras en orina de 24 horas, presentan una infiltración medular por células plasmáticas superior al 10% y se acompaña de anemia, insuficiencia renal, hipercalcemia o lesiones osteolíticas. Los valores del componente M y el grado de infiltración medular son arbitrarios, y se acepta el diagnóstico de MM con valores inferiores a los fijados siempre que exista afectación orgánica atribuible al mieloma. El mieloma quiescente (MQ) (Kyle & Greipp, 1980) constituye una situación intermedia entre la GMSI y el MM, en la que los pacientes, aun cumpliendo los criterios diagnósticos de MM (componente M > 30 g/L y $\geq 10\%$ células plasmáticas en médula ósea), se hallan asintomáticos.

Tabla 1. Clasificación de las gammopatías monoclonales.

I.	Gammopatías monoclonales malignas
A.	Mieloma múltiple
1.	Mieloma múltiple sintomático
2.	Mieloma quiescente
3.	Leucemia de células plasmáticas
4.	Mieloma no secretor
5.	POEMS: polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, componente M, alteraciones cutáneas (mieloma osteosclerótico)
B.	Plasmocitoma localizado
1.	Plasmocitoma óseo solitario
2.	Plasmocitoma extramedular
C.	Macroglobulinemia de Waldenström
D.	Enfermedades de las cadenas pesadas (α , μ , γ , δ)
E.	Amiloidosis primaria
II.	Gammopatía monoclonal de significado incierto (GMSI)
A.	Gammopatía monoclonal idiopática (significado incierto)
B.	Gammopatías monoclonales transitorias en el contexto de inmunodepresión (infecciones –en particular virus de la inmunodeficiencia humana-, trasplante de médula ósea, trasplante hepático o renal)

1.3. Etiopatogenia

Las causas de las gammopatías monoclonales no están bien establecidas. Se ha referido una mayor incidencia de MM en personas expuestas a radiaciones ionizantes, insecticidas y pesticidas (Herrington *et al*, 2004), si bien la mayoría de estos estudios no son concluyentes y, a menudo, los resultados no se reproducen en las distintas series.

La incidencia de gammopatías monoclonales aumenta con la edad. Por otra parte, hasta el 30% de los pacientes que han sido sometidos a un trasplante renal y el 50% de los receptores de un trasplante de médula ósea presentan una gammopatía monoclonal transitoria. Todo ello apoya la hipótesis de que las gammopatías monoclonales son consecuencia de un trastorno en la regulación del sistema inmunológico probablemente relacionado con la edad.

Aunque no se conoce con exactitud cuál es la célula tumoral que origina el MM, diversos estudios moleculares indican que la célula clonogénica es una célula B madura que ha pasado por el centro germinal del folículo linfoide. Estas células han sufrido el proceso de hipermutación somática y el cambio del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas que condiciona el cambio de isotipo de la cadena pesada de las inmunoglobulinas ("IgH switch"). En condiciones normales, el linfocito que ha pasado por el centro germinal migra a la médula ósea donde puede permanecer durante largo tiempo como célula plasmática.

El fenotipo de la célula plasmática mielomatosa es IgS-, IgC+, CD38+ débil, CD138+ (Syndecan-1), CD19+, CD56- (San Miguel *et al*, 1995a), a diferencia de la célula plasmática normal que es CD38+ intensa, CD19+ y CD56-. En un estudio reciente se ha referido que hay una disminución progresiva en la expresión de CD38 desde las células plasmáticas normales hasta las clonales de la GMSI, MM y leucemia de células plasmáticas (LCP) (Pérez-Andrés *et al*, 2005). La célula plasmática puede mostrar, además, una expresión variable de otros antígenos de línea B o incluso de otras líneas hematopoyéticas (CD10, CD20, CD22, CD34, CD117). La proporción de células plasmáticas con fenotipo normal (CD19+, CD56-) o patológico (CD19-, CD56+) contribuye a diferenciar el MM de la GMSI. Así, el 98% de las GMSI tienen más de un 3% de células plasmáticas normales mientras que tan sólo el 1,5% de los MM tienen valores superiores al 3% (Ocqueteau *et al*, 1998).

Una proporción no despreciable de los pacientes con MM tienen una fase preclínica de GMSI en la que la clona maligna permanece estable durante años hasta que, por causas

aún desconocidas, escapa a los mecanismos reguladores que limitaban su crecimiento, y se produce la transformación maligna. Los datos actuales sugieren que el MM aparece como consecuencia de diferentes pasos oncogénicos (Hallek *et al*, 1998). Posiblemente, el evento inicial consiste en traslocaciones del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH) situado en 14q32, que se producirían bien por errores durante el proceso de recombinación de IgH (“switch”) o bien durante la fase de hipermutación somática en el centro germinal del folículo linfoide (Bergsagel *et al*, 2004a; Fonseca *et al*, 2004a).

Estas traslocaciones pueden producir directa (11q13: ciclina D1; 6p21: ciclina D3) o indirectamente (4p16, 16q23, otras: ciclina D2) disregulación de los genes de las ciclinas D (Bergsagel *et al*, 2005). Aproximadamente una tercera parte de los pacientes con MM no tienen translocaciones de IgH o IgL. En estos casos la disregulación de los genes de ciclina se produciría por mecanismos aún no conocidos. De hecho, un modelo reciente propone dos vías diferenciadas en la patogenia del mieloma: una para los mielomas no hiperdiploides, asociados habitualmente a traslocaciones del gen IgH como un evento oncogénico inicial y otra para los mielomas hiperdiploides, asociados a trisomías de los cromosomas impares y con un mecanismo aun desconocido. De este modo, la disregulación de los genes de ciclina (bien mediado por la traslocación de IgH o por un mecanismo desconocido), sería el fenómeno oncogénico universal, de manera que la célula plasmática sería más sensible a los estímulos proliferativos, hecho que favorecería su expansión clonal (Bergsagel *et al*, 2005). Una vez se ha establecido la clona de GMSI se desconocen los mecanismos moleculares que favorecen la progresión a la fase maligna. Muchas de las alteraciones cromosómicas presentes en el MM (aneuploidía, monosomía 13 u otras) ya se detectan en la fase de GMSI, por lo que se desconoce si estas anomalías preceden o siguen a las traslocaciones de IgH (Hallek *et al*, 1998). Por el contrario, otras alteraciones, como las mutaciones de c-myc, K-ras, N-ras o delección de p53, son propias de fases avanzadas del MM, hecho que sugiere que están más relacionados con la progresión que con el origen de la enfermedad. El modelo actual de patogénesis del MM se representa en la Figura 1.

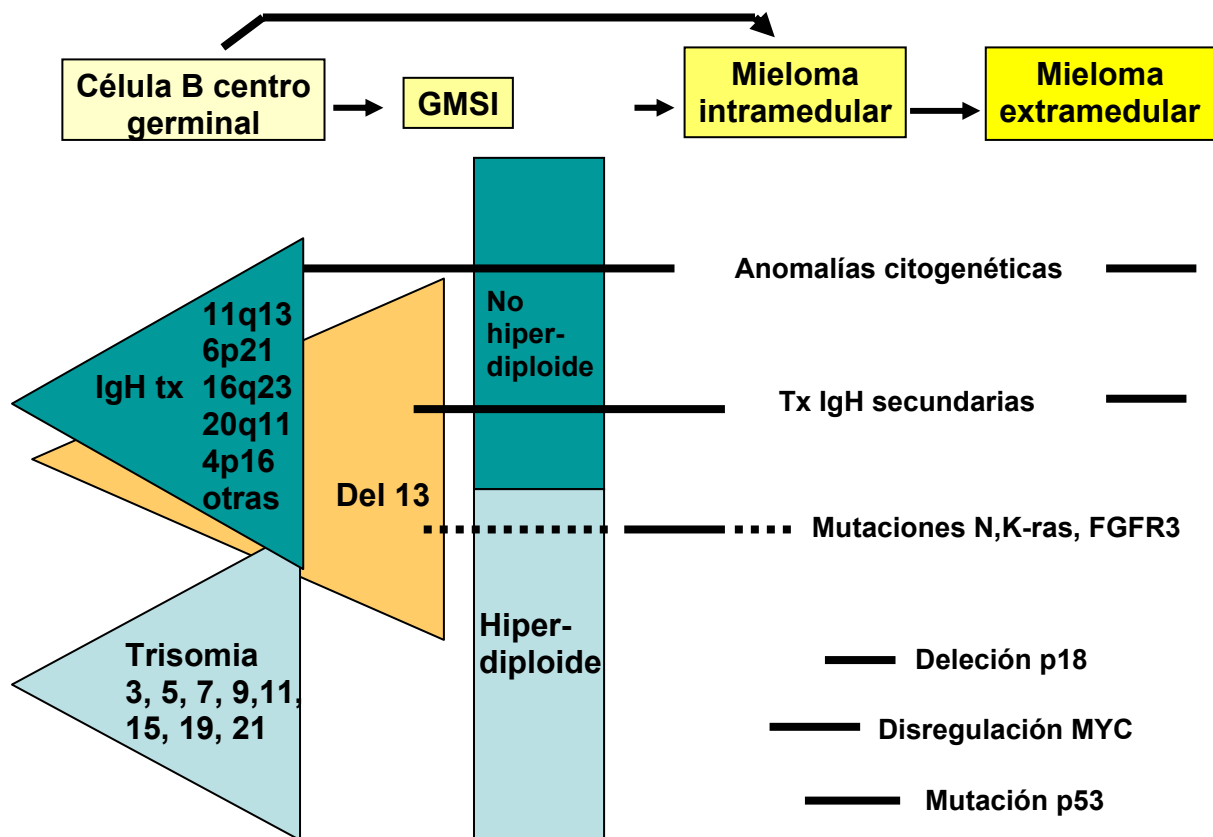


Figura 1. Representación esquemática de la patogénesis de las gammapatías monoclonales

Por otra parte, la célula mielomatosa y las células del estroma medular se interrelacionan entre sí mediante una serie de citocinas y factores de crecimiento que regulan la proliferación y diferenciación celular (microambiente). Así, se ha identificado a la interleucina-6 (IL-6) como el factor crucial para la proliferación de las células del mieloma, tanto “in vitro” como “in vivo” (Klein *et al*, 1998). De hecho, los anticuerpos anti IL-6 bloquean el crecimiento de las células plasmáticas “in vitro” y la proliferación tumoral, tanto en líneas celulares mielomatosas como en pacientes que reciben tratamiento con dichos anticuerpos (Bataille *et al*, 1995). La IL-1-beta, por su parte, además de ser un factor regulador de IL-6, es un potente factor activador de los osteoclastos, contribuyendo a la aparición de las lesiones osteolíticas propias del MM (Lacy *et al*, 1999).

Otras citocinas implicadas en la patogénesis del MM son el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) (Börset *et al*, 1994), la IL-10, el factor de crecimiento de la insulina-1 (IGF-1) o el factor estimulante de colonias granulocítica-monocítica (GM-SCF). El factor de crecimiento

vascular endotelial (VEGF) es un potente factor angiogénico responsable, al menos en parte, del importante incremento de la angiogénesis o formación de nuevos vasos observado en el MM.

2. MIELOMA MÚLTIPLE

2.1. Epidemiología

El MM representa el 1% de todas las neoplasias y el 10% de las hemopatías malignas. La incidencia anual es de 4 casos nuevos por 100.000 habitantes. La edad mediana de presentación se sitúa alrededor de los 65 años, siendo excepcional en individuos menores de 30 años (0,3% de todos los casos) (Bladé *et al*, 1996a). Únicamente el 12% y el 2% de los pacientes tienen menos de 50 y 40 años, respectivamente (Bladé *et al*, 1996b).

2.2. Manifestaciones clínicas

El dolor óseo constituye la manifestación inicial en el 70% de los casos (Kyle *et al*, 2003a). Generalmente se localiza en columna vertebral y parrilla costal y es de características mecánicas. El 80% de los pacientes tienen alteraciones radiológicas en forma de osteoporosis, lesiones osteolíticas y/o fracturas patológicas. Típicamente las lesiones son puramente osteolíticas, con reacción esclerótica circundante escasa o nula, dando el aspecto de lesiones "en sacabocado". Las lesiones osteoscleróticas se dan únicamente en el 1% de los casos. Un tercio de los pacientes presentan anemia. La fiebre debida al propio mieloma es excepcional (1% de los casos). Las infecciones constituyen una complicación frecuente, en particular las pulmonares y las urinarias. El neumococo suele ser el agente causal más frecuente de las infecciones pulmonares, mientras que los bacilos gram negativos lo son de las urinarias. Aproximadamente un 20% de los enfermos tienen una cifra de creatinina superior a 2 mg/dL en el momento del diagnóstico. Alrededor del 10% de los pacientes que se diagnostican de MM en un hospital general presentan una insuficiencia renal que requiere tratamiento sustitutivo con diálisis. Las principales causas de insuficiencia renal son la hipercalcemia y el llamado "riñón del mieloma". El "riñón del mieloma" se caracteriza por el depósito de cilindros compuestos por cadenas ligeras en los túbulos distales y colectores. La deshidratación y la hipercalcemia son los factores que con mayor frecuencia desencadenan

una insuficiencia renal. Cuando la insuficiencia renal es moderada (creatinina < 4 mg/dL) es reversible en la mitad de los casos. Por el contrario, cuando la creatinina es > 4 mg/dL, la función renal se normaliza únicamente en el 10% de los casos. Los factores que predicen la reversibilidad son: creatinina < 4 mg/dL, calcio sérico \geq 11,5 mg/dL y proteinuria < 1g/24h (Bladé *et al*, 1998)

En alrededor del 10% de los casos se constatan plasmocitomas extramedulares en el momento del diagnóstico. La manifestación más grave de un plasmocitoma extramedular es la compresión de la médula espinal que puede dar lugar a paraparesia o paraplegía que requieran un tratamiento urgente. El 20% de los pacientes presentan hepatomegalia y menos del 5% esplenomegalia. Alrededor del 5% de los pacientes con MM tienen amiloidosis asociada, que puede manifestarse en forma de síndrome nefrótico, insuficiencia cardíaca congestiva, síndrome del túnel carpiano, polineuropatía periférica o hipotensión ortostática.

2.3. Datos de laboratorio

Una tercera parte de los pacientes presentan una cifra de hemoglobina inferior a 9 g/dL, mientras que las cifras de leucocitos y plaquetas acostumbran a ser normales. Una quinta parte presentan hipercalcemia. En el aspirado de médula ósea suele encontrarse una infiltración medular por células plasmáticas superior al 20%. El proteinograma electroforético revela una banda homogénea en el 85% de los casos. En el 15% restante, la electroforesis sérica es normal o muestra sólo una pequeña banda (mielomas de cadenas ligeras, algunos casos de mieloma IgG o IgA con escaso componente M y los raros casos de mieloma IgD o no secretor). En la mitad de los casos se encuentra proteinuria de cadenas ligeras. El estudio cualitativo de las inmunoglobulinas por inmunofijación resulta imprescindible para identificar la clase de inmunoglobulina que se produce en exceso y confirmar su carácter monoclonal. La distribución del MM según el tipo de inmunoglobulina es la siguiente: IgG (50-60%), IgA (20-30%), cadenas ligeras -Bence Jones puro- (15%), IgD (2%), no secretor (1-2%); los tipos IgE e IgM son excepcionales. La relación de cadenas ligeras kappa:lambda es de 2:1. Las manifestaciones clínicas del mieloma IgG e IgA son muy similares. Sin embargo, los mielomas de cadenas ligeras e IgD son muy similares entre sí, tanto desde un punto de vista clínico como biológico, y presentan con mayor frecuencia insuficiencia renal, hipercalcemia y amiloidosis, a la vez que una mayor cuantía en la proteinuria de cadenas ligeras que los tipos IgG e IgA (Bladé *et al*, 1994).

2.4. Diagnóstico y diagnóstico diferencial

El diagnóstico de MM no acostumbra a ofrecer dificultades ya que la mayoría de los pacientes presentan síntomas propios de la enfermedad y anomalías de laboratorio que incluyen la siguiente tríada: 1) componente M sérico y/o urinario, 2) proporción de células plasmáticas superior al 10% y 3) lesiones osteolíticas. El diagnóstico diferencial se plantea con la GMSI, el mieloma quiescente (MQ), la amiloidosis primaria (AL) y el carcinoma metastásico. Los pacientes con un componente M sérico inferior a 30 g/L y una proporción de células plasmáticas en médula ósea inferior al 10%, sin lesiones osteolíticas, anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, plasmocitomas extramedulares ni síntomas atribuibles a la gammapatía monoclonal tienen una GMSI. Los pacientes asintomáticos con un componente M superior a 30 g/dL y más de un 10% de células plasmáticas cumplen los criterios diagnósticos de mieloma quiescente (Kyle & Greipp, 1980). No existe ningún parámetro clínico ni analítico que permita diferenciar con seguridad una GMSI de un MM en fase inicial. Los límites entre la AL y el MM son arbitrarios, ya que ambos procesos son trastornos plasmoproliferativos con distintas manifestaciones clínico-biológicas. En la amiloidosis primaria, la proporción de células plasmáticas en médula ósea suele ser inferior al 20%, no existen lesiones osteolíticas y la proteinuria de cadenas ligeras no acostumbra a ser masiva. No obstante, cuando las manifestaciones clínicas son las propias de la amiloidosis primaria y no existen osteólisis, hay que considerar que un paciente tiene una amiloidosis primaria y tratarlo como tal, aunque la proporción de células plasmáticas en médula ósea sea superior al 20% y exista una considerable eliminación de cadenas ligeras por orina. En los pacientes que presentan múltiples lesiones líticas y que no tienen componente monoclonal sérico ni urinario, se debe efectuar un exhaustivo estudio inmunohistoquímico de las supuestas células plasmáticas, al objeto de excluir la existencia de un carcinoma metastásico, antes de aceptar el diagnóstico de mieloma no secretor.

2.5. Pronóstico

La supervivencia mediana de los pacientes con MM es de alrededor de 3 años. Sin embargo la supervivencia es muy variable de unos pacientes a otros, y mientras unos sobreviven unos pocos meses desde el momento del diagnóstico otros alcanzan supervivencias superiores a los 10 años. Es por ello que resulta de gran utilidad disponer, ya en el momento del diagnóstico, de factores pronósticos que permitan predecir la evolución de los enfermos al objeto de poder efectuar una mejor aproximación terapéutica. Estos factores se pueden

agrupar del siguiente modo: dependientes del enfermo, intrínsecos a la clona tumoral y aquellos que son consecuencia de la carga tumoral.

2.5.1. Factores relacionados con el paciente

La edad y el estado general del paciente son dos factores con valor pronóstico independiente. Así, los enfermos menores de 40 años, con función renal normal y beta-2-microglobulina (β 2M) baja tienen una supervivencia mediana de ocho años (Bladé *et al*, 1996). El estado inmunológico del paciente es un factor importante en el control de la enfermedad. De hecho, se ha observado que las diferentes subpoblaciones de linfocitos NK varían a lo largo de la evolución del MM. Por otra parte, un nivel bajo de células CD4+ o alto de células CD19+ se correlaciona con una menor o mayor supervivencia, respectivamente (San Miguel *et al*, 2005).

2.5.2. Factores relacionados con la clona tumoral

De los parámetros relacionados con la clona tumoral que tienen valor pronóstico cabe destacar: la morfología, el inmunofenotipo, la citogenética, la expresión de determinados oncogenes y la actividad proliferativa.

A diferencia de lo que ocurre en otras hemopatías, como las leucemias o los linfomas en que la morfología es muy importante para el diagnóstico y clasificación, en el MM no se ha prestado mucha atención a la morfología de la célula plasmática. Con todo, la morfología inmadura o plasmablástica se asocia a peor evolución y tiene valor pronóstico independiente (San Miguel *et al*, 2005).

La expresión de determinados antígenos como CD20 e IgS (asociados a célula inmadura), CD11a y CD44 (asociados a diseminación extramedular) y CD28 (asociado a proliferación celular) se han correlacionado con un pronóstico adverso. Sin embargo, estos factores no tienen valor pronóstico independiente, por lo que el inmunofenotipo no se considera un parámetro pronóstico fundamental (San Miguel *et al*, 2005).

Todo lo contrario sucede con la citogenética, que al igual que ocurre en otras hemopatías se considera hoy en día como uno de los principales factores pronósticos. Así, serían pacientes de alto riesgo los que presentan la t (4;14)(p16;q32), t (14;16)(q32;q23) y la delección de 17p13, mientras que la presencia de la t (11;14)(q13;q32) comportaría buen pronóstico. Los pacientes con la delección total o parcial del cromosoma 13 constituirían el grupo de riesgo intermedio. Otras alteraciones citogenéticas asociadas a mal pronóstico son las alteraciones del cromosoma 1, la delección del cromosoma 22 o la hipodiploidia. Por el contrario, las

trisomías de los cromosomas 9, 11 y 17 se asocian a buen pronóstico (San Miguel *et al*, 2004a).

Las alteraciones de determinados oncogenes o genes supresores de tumores implicados en la patogenia del MM también tienen influencia pronóstica. Entre ellos destacan las mutaciones o deleciones de p53, Rb o K-ras. Asimismo, la metilación del gen supresor p16 también se asocia a un pronóstico adverso (San Miguel *et al*, 2005).

Uno de los factores pronósticos más importantes es la actividad proliferativa de las células plasmáticas definida por la cantidad de células plasmáticas que se encuentran en fase S, tanto si se utiliza la técnica de "labeling index" (LI) con bromodeoxiuridina como si se emplea la citometría de flujo con yoduro de propidio (fase S). De este modo, el número de células en fase S, junto a los hallazgos citogenéticos, la β 2M, el estado general (ECOG) y la edad constituyen un buen modelo para predecir la supervivencia (San Miguel *et al*, 2005).

Una noción clásica es la de que una respuesta rápida al tratamiento se asocia a una recaída precoz y a una corta supervivencia. Hoy sabemos que los enfermos que, teniendo un índice de proliferación tumoral bajo, responden con rapidez al tratamiento cistostático tienen muy buen pronóstico, ya que en estos casos la respuesta rápida se debe exclusivamente a la exquisita sensibilidad de la clona mielomatosa a los citostáticos. Por el contrario, si el índice de proliferación celular es alto, una respuesta rápida se asocia recaída temprana y a mal pronóstico (San Miguel *et al*, 2005).

2.5.3. Factores relacionados con la masa tumoral

En 1975 se publicó la clasificación de Durie y Salmon, en la que se establecía una relación entre la masa tumoral y el componente M a través de modelos matemáticos. Sin embargo, su validez pronóstica no se ha podido reproducir por completo. De mayor utilidad son algunos marcadores bioquímicos como la β 2M y la proteína C reactiva (PCR). La β 2M aumenta con la masa tumoral y el deterioro de la función renal. De hecho, constituye un indicador muy sensible del filtrado glomerular y su aumento se correlaciona con una menor supervivencia. Los niveles séricos de PCR se consideran un fiel reflejo de la concentración de IL-6. La determinación de la β 2M y PCR constituye una combinación útil para predecir la supervivencia de los pacientes con MM (Bataille *et al*, 1992).

Por último, con los datos de 11.171 pacientes de América, Asia y Europa se ha establecido un Índice Pronóstico Internacional basado en la determinación de los niveles de β -2-microglobulina y albúmina (Tabla 2). Este sistema permite discriminar tres grupos pronósticos independientemente de la edad, región geográfica o tipo de tratamiento (quimioterapia

convencional o trasplante), con la ventaja de que se basa en parámetros fácilmente cuantificables y reproducibles en cualquier laboratorio (Greipp *et al*, 2005).

Tabla 2. Índice pronóstico internacional (IPI)

Estadio		Supervivencia mediana (meses)
I	β -2M < 3,5 mg/dL y albúmina \geq 3,5 g/dL	62
II	β -2-m < 3,5 mg/dL y albúmina < 3,5 g/dL o β -2-m 3,5 – 5,5 mg/dl	44
III	β -2-m > 5,5 mg/dl	29

2.6. Tratamiento

2.6.1. Tratamiento citostático inicial.

Antes de disponer de los agentes alquilantes, la mediana de supervivencia de los pacientes con MM era inferior a un año. La introducción del melfalán representó el primer avance en el tratamiento de esta enfermedad. La proporción de respuestas se sitúa alrededor del 50% y la mediana de supervivencia desde el inicio del tratamiento oscila entre 2 y 3 años (Alexanian *et al*, 1969). Estos resultados, altamente insatisfactorios, se han intentado mejorar empleando pautas poliquimioterápicas en las que se combinan los agentes alquilantes con vincristina y prednisona, con o sin adriamicina. Con estas pautas se consigue un incremento en la tasa de respuestas, pero en general no se logra una prolongación significativa de la supervivencia en comparación con el tratamiento con melfalán y prednisona (Bladé *et al*, 1992; Myeloma Trialist's Collaborative Group, 1998).

La mayoría de pacientes con MM que responden al tratamiento inicial alcanzan la denominada fase de meseta, caracterizada por un periodo de estabilidad clínica y biológica

en el que la masa tumoral permanece estable a pesar de la persistencia del componente monoclonal y de una proporción variable de células plasmáticas mielomatosas en la medula ósea. Una vez se ha alcanzado esta fase, el tratamiento de mantenimiento con quimioterapia no es útil. El fármaco más prometedor en el tratamiento de mantenimiento del MM ha sido el interferón aunque los resultados en cuanto a prolongación de la duración de la respuesta y la supervivencia global son modestos (Myeloma Trialist's Collaborative Group, 2001).

2.6.2. Tratamiento de las recaídas

En los pacientes que recaen una vez que se ha suspendido el tratamiento, la tasa de respuestas cuando se vuelve a administrar el tratamiento inicial se sitúa entre el 50 y el 70% (Paccagnela *et al*, 1991). Sin embargo, la duración de las mismas disminuye con las recaídas sucesivas. Así, en la serie de Paccagnela *et al* (1991) las medianas de duración de las primeras, segundas y terceras respuestas fueron de 22, 11 y 6 meses, respectivamente. La mediana de supervivencia desde la recaída es de alrededor de un año. En pacientes con mieloma en recaída sensible a la quimioterapia, la intensificación con autotrasplante constituye la mejor opción terapéutica siempre que la edad y las condiciones del paciente lo permitan. Los resultados del tratamiento en los pacientes con MM que presentan una recaída resistente a los agentes alquilantes son malos. El tratamiento con VBAP o VBAD produce un 25% y un 35% de respuestas, respectivamente (Bladé *et al*, 1986; 1992).

En la última década hemos asistido a la introducción de nuevos fármacos con mecanismos de acción diferentes a los de la quimioterapia convencional. Entre los más prometedores se encuentran la talidomida y sus derivados IMiDs (fármacos inmunomoduladores) y el bortezomib. En los pacientes con MM resistente a las estrategias terapéuticas actualmente existentes (agentes alquilantes, regímenes basados en dexametasona - VAD o VBAD -, quimioterapia a dosis elevadas/rescate con progenitores hematopoyéticos, nuevos fármacos) así como aquéllos en los que estos tratamientos no son factibles (edad muy avanzada, afección grave del estado general, pancitopenia) es recomendable efectuar un tratamiento conservador a base de dosis intermitentes de ciclofosfamida e.v. y prednisona a días alternos.

2.6.3. Tratamiento del mieloma primariamente resistente

La mediana de supervivencia de los pacientes con MM primariamente resistente a la quimioterapia es de 15 meses (Bladé *et al*, 2001). Se ha sugerido que en esta situación el tratamiento de rescate más eficaz es el autotrasplante (Alexanian *et al*, 1994; Vesole *et al*,

1994). Sin embargo, para interpretar correctamente estos datos deben analizarse por separado los dos grupos de pacientes considerados como primariamente refractarios, es decir, los pacientes refractarios con enfermedad estable y los pacientes refractarios con enfermedad progresiva. Los resultados preliminares del grupo español PETHEMA/GEM en 49 pacientes refractarios a la quimioterapia inicial y que posteriormente fueron intensificados con autotrasplante muestran que los 20 pacientes refractarios con enfermedad progresiva presentan una supervivencia significativamente más corta que los 29 pacientes refractarios estables. De hecho, este último subgrupo de pacientes tienen una supervivencia global similar a la de los pacientes quimiosensibles (Rosiñol *et al*, 2005a). Cuando el autotrasplante no es factible, el tratamiento con VAD o con dosis elevadas de dexametasona produce una tasa de respuestas de alrededor del 25% (Barlogie *et al*, 1984, Richardson *et al*, 2005).

2.6.4. Trasplante de progenitores hematopoyéticos

La limitada eficacia del tratamiento convencional ha propiciado el empleo de tratamientos más intensivos que incluyen quimioterapia a dosis elevadas, seguida de rescate con progenitores hematopoyéticos. Con el trasplante autólogo a partir de progenitores de sangre periférica (TASP) se logran tasas de respuesta de hasta el 80%, con un 25-40% de respuestas completas por inmunofijación (Vesole *et al*, 1996), y con una mortalidad asociada al procedimiento inferior al 5%. A pesar de estos resultados tan satisfactorios en términos de respuesta no se ha podido demostrar que el TASP sea superior a la quimioterapia convencional en cuanto a la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. Así, en los estudios del intergrupo francés (IFM) (Attal *et al*, 1996) y el Medical Research Council (MRC) del Reino Unido (Child *et al*, 2003) el autotrasplante fue superior a la quimioterapia en cuanto a supervivencia libre de progresión y supervivencia global, mientras que los estudios del grupo español (PETHEMA) (Bladé *et al*, 2005), francés (MAG) (Fermand *et al*, 2005) e Intergroup Americano (Barlogie *et al*, 2006) no encuentran diferencias significativas entre el autotrasplante y la quimioterapia convencional. Un aspecto en el que el TASP es superior a la quimioterapia convencional es en la obtención de una mayor tasa de RC por inmunofijación (40% frente a 10%) (Alexanian *et al*, 2001; Bladé *et al*, 2005). Se ha sugerido que solo aquellos pacientes que obtienen una RC se benefician del autotrasplante (Bladé *et al*, 2000; Alexanian *et al*, 2001). Por lo tanto, identificar al subgrupo de pacientes que tienen una elevada probabilidad de obtener una RC con el autotrasplante es de gran interés. En este sentido, existen dos estudios que señalan la quimiosensibilidad al tratamiento quimioterápico previo como el factor determinante para obtener una RC postrasplante. (Alexanian *et al*, 2001; Nadal *et al*, 2004). A pesar de que los resultados de los diferentes estudios no son

concluyentes, hoy en día se considera el autotrasplante como el tratamiento estándar del MM en primera línea. De hecho, con la finalidad de mejorar los resultados, algunos grupos han propuesto la realización de dos autotrasplantes consecutivos (trasplante en tandem). Según un estudio aleatorizado del IFM, el trasplante en tandem incrementa la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global cuando se compara con los pacientes que reciben un solo trasplante (Attal *et al*, 2003). Según este estudio, los pacientes que se benefician de un segundo autotrasplante son los que no alcanzan una disminución del componente M superior al 90% con el primer procedimiento.

En cuanto al trasplante alogénico convencional, las limitaciones de edad y de disponibilidad de donante hacen que este tipo de trasplante sólo sea aplicable a una minoría de enfermos. La proporción de remisiones completas se sitúa entre el 40 y el 60%. Sin embargo, la elevada mortalidad durante el primer año postrasplante (entre el 30 y el 50%) y la baja tasa de largos supervivientes (10-20%) hace que este procedimiento se practique únicamente en casos muy seleccionados (Gahrton *et al*, 2001).

Estos resultados se están intentando mejorar con el denominado "mini-alotrasplante" o trasplante con acondicionamiento de intensidad reducida (TIR). El régimen de acondicionamiento más empleado consiste en fludarabina y melfalán. La tasa de respuestas completas obtenidas se sitúa entre el 22% y el 44% con una mortalidad asociada al procedimiento del 20% (Giralt *et al*, 1999; Peggs *et al*, 2000; Badros *et al*, 2001). Una estrategia utilizada por varios grupos (Bruno *et al*, 2002; Kroger *et al*, 2002; Maloney *et al*, 2001) consiste en disminuir la carga tumoral con un autotrasplante y posteriormente realizar un TIR. Con ello se obtiene una elevada tasa de remisiones completas (73%) y una mortalidad asociada al procedimiento inferior al 20%. La principal complicación de este tipo de trasplantes es la EICH aguda o crónica que afecta al 45% y 55% de pacientes, respectivamente (Maloney *et al*, 2001; Pérez-Simón *et al*, 2003; Pérez-Simón *et al*, 2006), así como una elevada tasa de infecciones fúngicas y reactivación de infecciones víricas.

2.6.5. Nuevos fármacos

A pesar del tratamiento quimioterápico y la intensificación con trasplante de progenitores hemopoyéticos el MM continúa siendo una enfermedad incurable. La introducción de nuevos agentes que actúan no sólo sobre la célula plasmática sino también sobre el microambiente medular a través de mecanismos de acción diferentes a los de la quimioterapia convencional ha significado un importante paso adelante en el tratamiento del MM.

Talidomida

La talidomida es un fármaco antiangiogénico e inmunomodulador con actividad antimielomatosa, si bien su mecanismo de acción no se conoce con exactitud. Cuando se utiliza como agente único en pacientes con MM resistente o en recaída se obtiene una tasa de respuestas del 40% (Dimopoulos *et al*, 2003) mientras que asociada a dexametasona u otros fármacos citotóxicos se obtienen entre el 50% y el 60% de respuestas (Dimopoulos *et al*, 2003). En nuestra experiencia, la talidomida no es eficaz en los pacientes con plasmocitomas extramedulares. De hecho, ninguno de los 11 pacientes con plasmocitomas extramedulares de nuestra serie respondieron a la talidomida frente al 60% de respuestas en los 27 pacientes sin plasmocitomas (Rosñol *et al*, 2004). La combinación de dexametasona y talidomida como tratamiento de primera línea ha dado resultados muy esperanzadores con una tasa de respuestas de entre el 64% (Rajkumar *et al*, 2002) y el 72% (Weber *et al*, 2003), incluyendo un 16% de respuestas completas (Weber *et al*, 2003). Con la combinación de melfalán, prednisona y talidomida se ha referido un 90% de respuestas con un 22% de remisiones completas (Palumbo *et al*, 2006). Los efectos secundarios más frecuentes son sedación, constipación y astenia que se presentan en el 60% de los pacientes. Un 30% de enfermos presentan neuropatía periférica que puede ser irreversible. Por este motivo, se debe efectuar un riguroso control clínico y suspender el tratamiento cuando se presenten los primeros síntomas. Los pacientes con MM inicial tratados con talidomida asociada a dexametasona, adriamicina o melfalán presentan una elevada frecuencia de trombosis venosa profunda (10-28%) , por lo que se recomienda anticoagulación profiláctica con heparina de bajo peso molecular (Rajkumar *et al*, 2002).

Fármacos inmunomoduladores (IMiDs)

Los IMiDs (del inglés, immunomodulatory drugs) son derivados de la talidomida con mayor potencia pero con menos efectos secundarios (Richardson *et al*, 2004a). En estos momentos se están utilizando en la práctica clínica dos fármacos: el Revlimid (CC-5013) y el Actimid (CC-4047). En estudios fase I/II en pacientes con MM avanzado se ha obtenido una tasa de respuestas del 38% con un 6% de respuestas completas con Revlimid (Richardson *et al*, 2003a) y del 54% con un 17% de respuestas completas con Actimid (Schey *et al*, 2004), respectivamente. La asociación Revlimid / dexametasona es superior a la dexametasona en pacientes con MM refractario o en recaída (Dimopoulos *et al*, 2005)

Bortezomib

El bortezomib (Velcade ®) ha sido aprobado recientemente por la FDA y la EMEA para su uso en el MM resistente a una línea de tratamiento quimioterápico. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición selectiva y reversible del proteosoma. Recientemente ha concluido un estudio fase III (estudio APEX) aleatorizado de bortezomib frente a dexametasona en 669 pacientes con MM resistente o en recaída. Los pacientes tratados con bortezomib obtienen una supervivencia libre de progresión y supervivencia global significativamente superior a los pacientes tratados con dexametasona (Richardson *et al*, 2005). Estos resultados han propiciado la puesta en marcha de numerosos ensayos clínicos en los que se investiga la eficacia del bortezomib como tratamiento de primera línea, bien sólo o en combinación con otros fármacos. Los efectos secundarios más frecuentes incluyen náuseas, vómitos, diarreas y astenia (40-50%), trombocitopenia (35%), fiebre (35%) y neuropatía periférica o dolor neuropático (36%) que, a diferencia de la que produce la talidomida, es reversible en el 70% de los casos (Richardson *et al*, 2003b, 2005).

3. GAMMAPATÍAS MONOCLONALES ASINTOMÁTICAS

3. 1. MIELOMA QUIESCENTE

3.1.1. Criterios diagnósticos

El término mieloma quiescente (MQ) se aplica a los pacientes que cumpliendo los criterios diagnósticos de MM (componente M sérico ≥ 30 g/L y $>10\%$ de células plasmáticas en médula ósea) no presentan ninguna de las complicaciones propias de la enfermedad, como son anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, lesiones osteolíticas, infecciones bacterianas de repetición o plasmocitomas extramedulares. Esta entidad fue descrita por primera vez por Kyle y Greipp (1980) cuando hace 25 años refirieron seis pacientes que, cumpliendo los criterios diagnósticos mencionados, permanecieron estables y asintomáticos durante más de cinco años sin precisar tratamiento.

Con posterioridad, se han publicado diversas series en las que se ha tratado de identificar los factores predictivos de evolución a MM sintomático. Sin embargo, los pacientes incluidos en estas series, si bien cumplen criterios de mieloma asintomático o en estadio I de Durie y Salmon (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Dimopoulos *et al*, 1993; Facon *et al*, 1995; Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002), no cumplen los criterios definidos por Kyle y Greipp (1980). De hecho, algunos de los casos presentan lesiones osteolíticas. A mayor abundamiento, el criterio cuantitativo del componente M sérico y de la proporción de células plasmáticas en médula ósea es variable. Así, en la serie de Alexanian *et al* (1988) se requiere un componente M > 20 g/L, mientras que en la de Wisloff *et al* (1991) se exige un mínimo de 15 g/L cuando la paraproteína es de tipo IgA y > 30g/L cuando la paraproteína es de tipo IgG. Por su parte, Facon *et al* (1995) exigen la presencia de >15% de células plasmáticas en médula ósea junto a la presencia de un componente M sérico y/o urinario, independientemente de su cuantía. Weber *et al* (1997) incluyen pacientes con componente M > 25 g/L. Los criterios utilizados por Cesana *et al*, (2002) son aún más laxos, y consideran que se trata de un mieloma quiescente cuando la cuantía del componente M de tipo IgG se sitúa entre 36 y 69 g/L, el de tipo IgA entre 21 y 49 g/L, existe proteinuria de Bence-Jones >1g/24 horas o bien cuando la proporción de células plasmáticas en médula ósea supere el 10%, siempre y cuando el paciente permanezca estable durante al menos un año. Los diferentes criterios empleados en las referidas series se resumen en la tabla 3. Por último, el International Myeloma Working Group ha definido al MQ como la presencia de un componente M > 30 g/L y/o más de un 10% de células plasmáticas en médula ósea (Tabla 3).

3.1. 2 Factores predictivos de transformación

3.1.2.1 Factores clásicos

A diferencia de lo que ocurre con la GMSI, todos los pacientes con MQ o mieloma de baja carga tumoral (estadio I de Durie y Salmon) acaban evolucionando a MM sintomático y requieren tratamiento. La mediana de progresión en las diferentes series se sitúa entre 2 y 3 años. No obstante, el intervalo entre el diagnóstico y la progresión es muy variable de un paciente a otro. Así, mientras unos no evolucionan a MM sintomático hasta transcurridos más de cinco, e incluso más de diez años, otros lo hacen al poco tiempo del diagnóstico. Por este motivo, la identificación de los factores que permitan predecir la probabilidad de progresión resulta de gran interés.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de mieloma asintomático

	Componente M (g/L)	Células plasmáticas (%)	
Alexanian <i>et al</i> , 1988	> 20	-	
Wisloff <i>et al</i> , 1991	IgA > 15 IgG > 30	-	
Facon <i>et al</i> , 95	-	>15	
Weber <i>et al</i> , 1997	> 25	-	
Cesana <i>et al</i> , 2002	IgA 21-49 IgG 36-69 Proteinuria BJ >1 g/24h	ó	> 10
IMWG, 2003*	> 30	y/o	> 10

*International Myeloma Working Group

Los factores pronósticos adversos que se han identificado en los diferentes estudios se detallan en la tabla 4. La masa tumoral, tanto si se mide por la cuantía del componente M como por el grado de infiltración medular por células plasmáticas, constituye el factor predictivo de progresión precoz de mayor importancia en la mayoría de las series (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Dimopoulos *et al*, 1993; Facon *et al*, 1995; Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002). Otras variables con valor pronóstico adverso independiente son la presencia de proteinuria de cadenas ligeras > 50 mg/24h (Dimopoulos *et al*, 1993; Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002), hemoglobina < 12 g/dL (Facon *et al*, 1995) o paraproteína de tipo IgA (Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002). Como ya se ha mencionado, algunos de estos estudios incluyen pacientes con lesiones osteolíticas, siendo éste un factor de especial mal pronóstico, con medianas de progresión inferiores al año (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Dimopoulos *et al*, 1993). Por este motivo, la mayoría de autores excluyen a los pacientes con osteólisis de sus series de MQ (Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002). De hecho, los 4 pacientes de la serie de

Facon *et al* (1995) que presentaban una única lesión osteolítica evolucionaron a MM sintomático al cabo de 1, 3, 4 y 27 meses del diagnóstico, respectivamente. Estos factores permiten identificar distintos grupos de riesgo, con diferentes medianas de progresión. Así, si bien globalmente la mediana de progresión a MM sintomático se sitúa entre los 2 y 3 años, los pacientes incluidos en los grupos de bajo riesgo tienen medianas de progresión que oscilan entre los 3 y los 8 años, mientras que los pacientes de alto riesgo evolucionan a MM sintomático en menos de un año. Las medianas de progresión observadas en las diferentes series se detallan en la Tabla 5. Kyle *et al* (2005) han analizado la evolución natural de una serie de 301 pacientes con MQ diagnosticados en la Clínica Mayo entre 1970 y 1995 (al objeto de garantizar un potencial seguimiento mínimo de 10 años) según los nuevos criterios diagnósticos propuestos por el International Myeloma Working Group (2003). Cabe destacar que en este estudio se efectuó un cuidadoso análisis de las células plasmáticas de la médula ósea. La mediana del componente M sérico fue de 25 g/L y la mediana de infiltración medular por células plasmáticas de 15-20% con un 10% de los pacientes con una infiltración inferior al 10% y otro 10% con más del 50%. Los pacientes se clasificaron en tres grupos: 1) componente M > 30 g/L y > 10% de células plasmáticas, 2) infiltración medular superior al 10% y componente M < 30 g/L y 3) componente M > 30 g/L y < 10% de células plasmáticas en médula ósea. La tasa de progresión a los 10 años fue del 62% con una mediana hasta la progresión de 5,5 años. Las medianas hasta la progresión para los grupos 1,2 y 3 fueron de 2.4, 9.2 y 19.2 años, respectivamente. En el análisis multivariante la única variable con valor pronóstico independiente fue el grado de infiltración medular por células plasmáticas. Cabe destacar que la mediana hasta la transformación en los 113 pacientes que cumplían los criterios estrictos definidos en la serie original de Kyle y Greipp (1980) (componente M > 30 g/L y > 10% de células plasmáticas) fue de 2,4 años, siendo la probabilidad actuarial de progresión a los 20 años de prácticamente el 100% (Kyle *et al*,2005a)

Tabla 4. factores asociados a progresión a MM sintomático y grupos de riesgo.

Autor, año	Factores de riesgo	Grupo de riesgo		
		Bajo	Intermedio	Alto
Alexanian <i>et al</i> , 1988	- Lesiones osteolíticas - CM > 30 g/L	0 factores	-	1-2 factores
Wisloff <i>et al</i> , 1991	- Lesiones osteolíticas - Células plasmáticas > 20%	0 factores	-	1-2 factores
Dimopoulos <i>et al</i> , 1993	- Lesiones osteolíticas - CM > 30 g/L - Proteinuria > 50 mg/24h	No osteolisis + 0 factores	No osteolisis + 1 factor	Osteolisis + 2 factores
Facon <i>et al</i> , 1995	- Hb < 12 g/L - Células plasmáticas > 20% - CM > 30 g/L (IgG) - CM > 25 G/L (IgA)	0 factores	1 factor	2-3 factores
Weber <i>et al</i> , 1997	- CM > 30 g/L - CM tipo IgA - Proteinuria > 50 mg/24h	0 factores	1 factor	2-3 factores
Cesana <i>et al</i> , 2002	- Células plasmáticas > 10% - CM tipo IgA - Proteinuria	0 factores	-	1-3 factores

Tabla 5. Tiempo* hasta la progresión a MM sintomático según el grupo de riesgo de MQ

	N° Pac	Serie global	Grupo de riesgo		
			Bajo	Intermedio	Alto
Alexanian <i>et al</i> , 1988	35	19	37	-	12
Wisloff <i>et al</i> , 1991	71	26	39	-	10
Dimopoulos <i>et al</i> , 1993	95	26	61	25	10
Facon <i>et al</i> , 1995	91	91	>50	26	6
Weber <i>et al</i> , 1997	101	36	95	39	17
Cesana <i>et al</i> , 2002	127				

*Mediana en meses

3.1.2.2. Significado pronóstico de la resonancia nuclear magnética (RNM)

El papel de la RNM como factor pronóstico en pacientes con MM asintomático ha sido analizado en diversos estudios (Moulopoulos *et al*, 1995; Vande Berg *et al*, 1996; Mariette *et al*, 1999). El interés se ha centrado especialmente en los pacientes que no tienen lesiones osteolíticas en la seriada esquelética, ya que la presencia de osteólisis se asocia invariablemente a una rápida progresión.

La RNM se suele realizar sobre la columna dorso-lumbar, identificándose una alteración de la señal, en forma de aumento de la señal o hiperseñal, que traduce un aumento de la celularidad de la médula ósea. En el MQ se han identificado tres patrones radiológicos (Moulopoulos *et al*, 1995):

- a) Patrón focal, constituido por grandes agregados focales de células plasmáticas.
- b) Patrón difuso, que corresponde a una infiltración difusa.
- c) Patrón mixto, en el que hay innumerables focos de células plasmáticas sobre un fondo de médula ósea normal.

Entre el 29 y el 50% de los pacientes con MQ presentan una RNM anormal. La presencia de alteraciones en la RNM constituye un factor predictivo de evolución a MM sintomático. (Moulopoulos *et al*, 1995; Vande Berg *et al*, 1996; Mariette *et al*, 1999) (Tabla 6). Así, los pacientes con una RNM anormal tienen una mediana hasta la progresión de alrededor de

un año mientras que en los que tienen una RNM normal la mediana de progresión es de alrededor de tres años.

En dos estudios en los que se empleó una metodología estadística multivariante (Vande Berg *et al*, 1996; Mariette *et al*, 1999) el grado de infiltración medular por células plasmáticas y la existencia de una RNM anormal fueron los únicos factores con valor pronóstico independiente.

Tabla 6. Importancia pronóstica de la RNM en el mieloma asintomático

	Nº pacientes (%)	Mediana hasta la progresión (meses)	p
<i>Moulopoulos et al</i> , 1995			
• RNM normal	19 (50)	43	< 0,1
• RNM anormal	19 (50)	16	
<i>Vande Berg et al</i> , 1996			
• RNM normal	17 (71)	32	<0,0001
• RNM anormal	7 (29)	10	
<i>Mariette et al</i> , 1999			
• RNM normal	38 (69)	No alcanzada	<0,0001
• RNM anormal	17 (31)	No alcanzada	

Un estudio llevado a cabo por Weber *et al* (1997) identificó tres factores predictivos de progresión precoz: un componente M sérico superior a 30 g/L, tipo de inmunoglobulina IgA y proteinuria de cadenas ligeras > 50 mg/día. La presencia de dos factores pronósticos identificaba pacientes de alto riesgo con una mediana de progresión de tan solo 17 meses. La ausencia de estos factores se asociaba a una estabilidad prolongada con medianas de progresión de hasta 95 meses. Los pacientes con un único factor de riesgo constituían el grupo de riesgo intermedio, con una mediana hasta la progresión de 39 meses. En este último grupo fue en el que la RNM tuvo un papel más determinante, ya que los pacientes

con RNM anormal tuvieron un riesgo de progresión significativamente mayor que los pacientes con RNM normal (21 vs 57 meses). Cabe destacar que todos los pacientes del grupo de bajo riesgo tenían una RNM normal, mientras que la mitad de los pacientes de alto riesgo tenían una RNM anormal. De hecho, en este grupo, el tiempo hasta la progresión fue tan corto que la RNM no aportó valor pronóstico adicional.

El patrón radiológico también tiene significado pronóstico. Así, en la serie de Mouloupoulos *et al* (1995), el patrón focal se asociaba a una rápida progresión con una mediana hasta la progresión de tan solo 6 meses frente a 16 meses para el patrón difuso y 22 meses para el mixto. Cabe señalar, además, que tres de los cinco pacientes con un patrón focal presentaron fracturas por compresión debido a destrucción de las trabéculas óseas. El patrón focal, por lo tanto, tendría un significado equivalente a la presencia de osteólisis en la seriada ósea.

3.1.2.3. Cinética de la población plasmocelular

Las células plasmáticas y las células B de médula ósea y/o de sangre periférica de los pacientes con MQ tienen un índice proliferativo bajo, tanto si se cuantifica por la técnica de "labeling index" con timidina tritiada (Durie *et al*, 1980) como por la de la bromodeoxiridina (Greipp *et al*, 1987) y constituye una medida muy útil para diferenciar las gammapatías monoclonales asintomáticas (GMSI / MQ) del MM sintomático (Greipp *et al*, 1987; Witzig *et al*, 1988). Un estudio de la Clínica Mayo mostró que los pacientes con GMSI o MQ tenían un índice proliferativo mediano en sangre periférica de 0,2%, frente al 0,4% de los pacientes con un MM de nuevo diagnóstico y el 1,7% para los enfermos con un MM en recaída (Witzig *et al*, 1988). De hecho, tres pacientes con MQ y un paciente con GMSI que tenían un índice proliferativo elevado evolucionaron a MM sintomático en los seis meses que siguieron al diagnóstico. (Witzig *et al*, 1988). Un estudio ulterior de la misma institución evaluó el número de las células plasmáticas circulantes en sangre periférica así como su índice proliferativo ("labelling index") en una serie de 57 pacientes con MQ. La conclusión de este estudio fue que los pacientes que presentaban un aumento en el número o en la actividad proliferativa de las células plasmáticas circulantes tenían una mediana de progresión significativamente más corta que el resto (0,75 frente a 2,5 años, respectivamente (Witzig *et al*, 1994). De hecho, el 63% de los pacientes en los que la enfermedad evolucionó durante el primer año tenían células plasmáticas circulantes mientras que tan sólo en el 10% de los que permanecieron estables uno o más años se observaron células plasmáticas en sangre periférica.

3.1.3. Posibilidades terapéuticas

3.1.3.1. Tratamiento con agentes alquilantes

Hjorth *et al* (1993) llevaron a cabo un estudio aleatorizado en el que se comparó el tratamiento inicial frente a tratamiento diferido en una serie de 50 pacientes con mieloma asintomático. En este estudio, 25 pacientes fueron aleatorizados a recibir melfalán y prednisona (MP) desde el momento del diagnóstico mientras en los 25 restantes se diferió el tratamiento hasta que existió evidencia de progresión. La mediana de seguimiento de la serie global fue de 5 años. En el brazo de tratamiento diferido la mediana desde la aleatorización hasta la progresión fue de 12 meses. Las causas que motivaron el inicio del tratamiento fueron: a) aumento del componente M sin otras manifestaciones clínicas ni biológicas (8 pacientes), b) aparición de dolor óseo, osteoporosis severa u osteólisis (9 casos) y c) disminución de la cifra de hemoglobina por debajo de 10 g/dL (5 casos). En 7 de los 14 pacientes que presentaron afección esquelética o anemia el componente M permaneció estable. Cabe destacar que ninguno de los pacientes aleatorizados a tratamiento diferido presentó insuficiencia renal, fracturas o compresión medular durante el período de observación. La tasa de respuestas al tratamiento con MP del grupo de tratamiento inicial frente al de tratamiento diferido fue del 52% y 55%, respectivamente. La mediana hasta la respuesta fue de 5 meses en ambos grupos. En el grupo de tratamiento diferido los pacientes en los que el componente M se incrementó durante el período de observación alcanzaron una mayor tasa de respuestas (9/11 frente a 3/11; $p < 0,01$). También se observó una tendencia hacia una menor tasa de respuestas en los pacientes en los que el motivo del tratamiento fue la afección ósea (2/9 frente a 10/13; $p = 0,07$). No se observaron diferencias significativas en la duración de las respuestas entre los pacientes que recibieron el tratamiento inicial o diferido (mediana de 21 meses frente a 31 meses). La supervivencia mediana de la serie global fue de 52 meses. Cabe señalar que en el grupo de tratamiento diferido la menor tasa de respuesta (pacientes con componente M estable, afección ósea al inicio del tratamiento) no se tradujo en una supervivencia más corta (mediana, 45 frente a 43 meses).

En el estudio de Grignani *et al* (1996) que incluía 44 pacientes con mieloma asintomático, la mediana de supervivencia de los pacientes aleatorizados a tratamiento desde el diagnóstico fue de 54 meses frente a 58 meses para los enfermos aleatorizados a tratamiento diferido hasta la progresión.

Se ha referido que los resultados del tratamiento del mieloma quiescente una vez ha evolucionado a mieloma sintomático son similares a los que se alcanzan con el MM “de novo”. Así, Dimopoulos *et al* (1993) han referido tasas de respuestas entre el 50 y el 61% dependiendo del grupo de riesgo.

3.1.3.2. Tratamiento con nuevos fármacos

Existe una evidencia creciente de que el microambiente medular juega un papel importante en la progresión de las gammapatías monoclonales. Así, la angiogénesis de la médula ósea se incrementa desde la situación de GMSI a MM sintomático y, de hecho, se ha considerado la GMSI como la fase avascular del mieloma y que un incremento de la angiogénesis podría ser la causa de la progresión de las gammapatías monoclonales asintomáticas. En base al aumento de la actividad angiogénica observado en el MM se han empezado a utilizar con éxito fármacos antiangiogénicos, como la talidomida, en el tratamiento del MM. Por otra parte, parece que para que la talidomida pueda ejercer su máximo efecto antimieloma las células plasmáticas deben estar en íntimo contacto con el microambiente de la médula ósea. Prueba de ello es que los plasmocitomas extramedulares no responden al tratamiento con talidomida (Rosñol *et al*, 2004). Con las consideraciones anteriores, parece que los pacientes con mayor probabilidad de responder a la talidomida serían los que tienen una infiltración medular por células plasmáticas considerable y gran componente M sin afección ósea ni plasmocitomas extramedulares, es decir, con una enfermedad más “acumulativa” que “proliferativa”. Este perfil es precisamente el característico del mieloma quiescente y ello ha motivado el empleo de la talidomida en esta enfermedad. El grupo de la Clínica Mayo ha referido los resultados del tratamiento con talidomida en 29 pacientes con MQ (Rajkumar *et al*, 2002). La tasa de respuestas fue del 66% (34% respuesta parcial, 32% respuesta mínima). La supervivencia libre de progresión a 1 y 2 años desde el inicio de la talidomida fue del 80% y 63%, respectivamente. La mediana hasta la respuesta fue de 5 meses. Casi todos los pacientes presentaron efectos adversos moderados en forma de neuropatía sensitiva, astenia, estreñimiento o somnolencia y 8 enfermos presentaron toxicidad de grado 3 ó 4 que consistió en somnolencia (2 casos), neuropatía, trombosis venosa profunda, sordera, debilidad generalizada, bradicardia y edema. Por otra parte, Weber *et al* (2003) refirieron resultados similares en otro estudio fase II en el que se incluyeron 28 pacientes con MQ. La tasa de respuestas parciales fue del 36% con una mediana hasta la respuesta de 4,2 meses. Los autores de estos dos estudios destacan que aunque la talidomida puede constituir un tratamiento que, en los pacientes con MQ, prolongue el tiempo hasta la

progresión no se puede recomendar hasta que el posible beneficio se demuestre en estudios aleatorizados. En este sentido, en la Clínica Mayo se está llevando a cabo un estudio aleatorizado fase III en el que se pretenden incluir 140 pacientes con MQ en el que se compara la administración de talidomida y zolendronato frente a zolendronato sólo (Rajkumar, comunicación personal).

Niveles séricos elevados de interleucina-1 beta (IL-1 beta) constituyen un marcador de progresión de gammapatías monoclonales asintomáticas a MM activo. Ello ha motivado la puesta en marcha de un ensayo clínico en el que se emplea el antagonista de receptor de IL-1 beta Anakinra, al objeto de determinar la actividad biológica del fármaco, el tiempo hasta la progresión y el perfil de toxicidad en una serie de pacientes con MQ (Lust *et al*, 2005). Hasta la fecha se han incluido 36 enfermos en este ensayo, 29 de los cuales tenían niveles elevados de IL-1 beta. La mediana hasta la progresión de los 18 pacientes en los que se logró una disminución significativa de la proteína C reactiva (PCR) fue de 2 años mientras que fue de tan sólo 6 meses en los 18 pacientes en los que la PCR no disminuyó ($p < 0,0001$). Estos resultados sugieren que el antagonista de la IL-1 beta puede prolongar el tiempo hasta la progresión del MQ a través de la inhibición de la interleucina 6 (IL-6). Existe otro estudio multicéntrico en el que se investiga la actividad biológica y la eficacia clínica del inhibidor de COX 2 celecoxib en el MQ (Rajkumar, comunicación personal).

3.1.4. Seguimiento

Desde la observación de Kyle y Greipp (1980) la práctica aconsejada en los pacientes con MQ ha sido la de observación de cerca y abstención terapéutica hasta que exista evidencia de progresión. Por otro lado, los estudios que se acaban de referir tampoco demuestran que el tratamiento inicial ofrezca beneficios sobre e inicio del tratamiento en el momento de la progresión. Ante la ausencia de un claro beneficio terapéutico siempre se deben considerar los posibles efectos secundarios, en particular el potencial leucemógeno de los agentes alquilantes y la neuropatía periférica de la talidomida. Así, la práctica habitual consiste en una visita cada 4 meses que debe incluir una analítica completa con determinación del componente M sérico (proteínas totales y proteinograma) y urinario (proteinuria de 24 horas, uroproteinograma), hemograma, creatinina y calcio. No es necesario repetir estudios radiológicos ni aspirado de médula ósea a no ser que existan datos sugestivos de progresión.

3.2. GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO

3.2.1. Epidemiología

La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) es un trastorno relacionado con la edad y que tiene una elevada incidencia. Así, durante años se ha considerado que la frecuencia de la GMSI era del 1% al 3% en las personas mayores de 50 y 70 años, respectivamente. Sin embargo, en un estudio realizado recientemente en la comunidad de Olmsted County (Minnesota), Kyle et al han referido una incidencia mayor de la que hasta la fecha se ha venido considerando: 3% y 6% de las personas mayores de 50 y 70 años, respectivamente (Kyle *et al*, 2006). Cabe destacar que únicamente el 2% de los pacientes con GMSI tienen menos de 40 años (Kyle et al, 2002).

3.2.2. Riesgo de transformación maligna

La historia natural de los pacientes con GMSI ha sido cuidadosamente analizada y periódicamente actualizada en la serie original de la Clínica Mayo (Kyle 1978, 1984, 1993, 2004b). Esta serie, en la que se incluyeron 241 pacientes (140 hombres y 101 mujeres, edad mediana 64 años) diagnosticados de GMSI entre 1956 y 1970, tiene una mediana de seguimiento de 13,7 años (rango, 0-39). En la última actualización, en la que todos excepto 16 pacientes habían fallecido, la probabilidad actuarial de transformación maligna fue del 17%, 34% y 39% a los 10, 20 y 25 años de seguimiento, respectivamente. La tasa anual de transformación fue del 1,5% (Kyle *et al*, 2004b). El 27% de los pacientes de la serie evolucionaron a una gammapatía monoclonal maligna durante el seguimiento. De estos, el 69% lo hicieron a MM, mientras que el 11% y 12% evolucionaron a macroglobulinemia de Waldenström o amiloidosis primaria, respectivamente. El resto de pacientes (8%) presentaron un síndrome linfoproliferativo. La mediana desde el diagnóstico de GMSI hasta la transformación maligna fue de 10 años.

En otros estudios con seguimiento prolongado, la probabilidad de transformación maligna oscila entre el 12% y el 17% a los 10 años, y entre el 25% y el 34% a los 20 años. En nuestra serie de 434 pacientes (Montoto *et al*, 2002), con un seguimiento mediano de 5,4 años, el riesgo de transformación a los 10 y 20 años fue del 15% y 34%, respectivamente. Estos hallazgos han sido plenamente confirmados en un amplio estudio llevado a cabo en la Clínica Mayo sobre 1384 pacientes diagnosticados de GMSI en el sudeste de Minnesota entre 1960 y 1994 (Kyle *et al*, 2002). La edad mediana en el momento del diagnóstico era

de 72 años. En esta serie, con una mediana de seguimiento de 15 años, el riesgo de transformación maligna fue del 10% a los 10 años, 21% a los 20 años y 26% a los 30 años respectivamente, con una tasa anual de transformación del 1%. El riesgo de presentar un MM fue 25 veces superior al de la población general (Kyle *et al*, 2002). En la Tabla 7 se resume la tasa de transformación maligna de la GMSI en las series con mayor seguimiento.

Tabla 7. Probabilidad actuarial de evolución maligna en la gammapatía monoclonal de significado incierto.

Autor (año)	Nº pacientes	probabilidad (%)		
		10 años	20 años	25 años
Pasqualetti <i>et al</i> , 1997	263	15	31	-
Cesana <i>et al</i> , 2002	1104	14	-	-
Kyle <i>et al</i> , 2002	1384	12	25	30
Montoto <i>et al</i> , 2002	434	15	34	-
Kyle <i>et al</i> , 2004b	241	17	34	39

3.2.3. Factores predictivos de transformación maligna

Como se ha mencionado anteriormente, la GMSI es una entidad que se presenta con una elevada prevalencia entre la población general y con una tasa anual de transformación maligna del 1%. Ello obliga a realizar un seguimiento clínico periódico a todos estos pacientes, a pesar de que la mayoría de ellos van a permanecer estables y nunca van a presentar una gammapatía monoclonal maligna. Dada la prevalencia de la GMSI y su riesgo de transformación, identificar los factores que pudieran predecir la estabilidad o la progresión de la GMSI resulta de gran interés clínico. En estudios con un número pequeño de pacientes no se han identificado factores predictivos de transformación, tal y como se detalla en la Tabla 8 (Pasqualetti *et al*, 1997; Kyle *et al*, 2004b). Sin embargo, en las series con mayor número de casos, la cuantía del componente M, el grado de infiltración medular por células plasmáticas y el tipo IgA de paraproteína emergen como importantes factores predictivos de transformación (Tabla 8).

Tabla 8. Factores predictivos de transformación maligna en la GMSI

Autor (año)	Nº pacientes	Cuantía M-sérico	Células plasmáticas (%)	Tipo paraproteína	Otros
Kyle <i>et al</i> , 2004b*	241	--	--**	--	--
Bladé <i>et al</i> , 1992	128	--	--	IgA>IgG,IgM	--
Baldini <i>et al</i> , 1996	386	+	+	--	↓ Igs policlonales
Pasqualetti <i>et al</i> , 1997	263	--	--	--	--
Gregersen <i>et al</i> , 2001	1247	+	NR	IgA>IgG,IgM	Mujer
Cesana <i>et al</i> , 2002	1104	+	+	IgA, IgM>IgG	Proteinuria cadenas ligeras, ↑VSG, ↓Igs policlonales
Kyle <i>et al</i> , 2002	1384	+	--**	IgA, IgM>IgG	--
Montoto <i>et al</i> , 2002	434	+	+	IgA>IgG, IgM	Cadena ligera κ

* Publicado previamente en 1978, 1984 y 1993

** Aspirado medular realizado en una minoría de pacientes

NR: no realizado (estudio de registro); Igs: inmunoglobulinas; VSG: velocidad de sedimentación globular

Cuantía del componente monoclonal

En un estudio reciente de la Clínica Mayo sobre 1384 pacientes (Kyle *et al*, 2002), la cuantía inicial del componente M fue el factor de riesgo de progresión más importante. Así, el riesgo de transformación a los 10 años del diagnóstico de GMSI en los pacientes con un componente M inicial inferior a 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L, 20 g/L y 25 g/L fue del 6%, 7%, 11%, 20%, 24% y 34%, respectivamente. A los 20 años, las tasas de transformación eran del 14%, 16%, 25%, 41%, 49% y 64%, respectivamente. En esta serie, ni la edad, sexo, presencia de hepatoesplenomegalia, valor de hemoglobina, creatinina, albúmina, tipo de paraproteína, presencia, tipo y cantidad de proteinuria de cadenas ligeras, grado de infiltración medular por células plasmáticas y disminución de las inmunoglobulinas policlonales tuvieron valor pronóstico. No obstante, cabe señalar que el aspirado medular se realizó únicamente en el 12% de los pacientes.

En la serie de Cesana *et al* (2002) que incluyó 1104 pacientes, así como en nuestra serie de 434 pacientes (Montoto *et al*, 2002) la cuantía del componente M también constituyó un factor pronóstico independiente para la transformación maligna.

Infiltración medular por células plasmáticas

Baldini *et al* (1996) publicaron una serie de 386 pacientes, de los cuales 335 tenían una GMSI típica, mientras que los 51 pacientes restantes cumplían todos los criterios de GMSI excepto que la proporción de células plasmáticas en médula ósea oscilaba entre el 10-30%. En este último grupo de pacientes, que Baldini *et al* definieron como gammapatía monoclonal de significado limítrofe o “borderline”, la frecuencia de transformación maligna fue del 37% (con una mediana de seguimiento de 53 meses) frente al 6,8% (mediana de seguimiento de 70 meses) para el resto de pacientes. Un hecho interesante de este estudio es que identifica un subgrupo de pacientes con muy baja probabilidad de transformación maligna: tipo IgG, componente M sérico inferior a 15 g/L, menos del 5% de células plasmáticas, ausencia de proteinuria de cadenas ligeras y niveles normales de las inmunoglobulinas policlonales.

En la serie de Cesana *et al* (2002), y en nuestra propia experiencia (Montoto *et al*, 2002), la infiltración medular por células plasmáticas superior al 5% constituyó un factor de riesgo de transformación maligna.

Tipo de paraproteína

La paraproteína de tipo IgA constituye un factor de riesgo en la mayoría de las series publicadas (Bladé *et al*, 1992; Gregensen *et al*, 2001; Cesana *et al*, 2002; Kyle *et al*, 2002; Montoto *et al*, 2002). El mecanismo por el cual los pacientes con GMSI de tipo IgA progresan antes se desconoce. En las series de Cesana *et al* (2002) y Kyle *et al* (2002) la paraproteína de tipo IgM también constituyó un factor de riesgo de transformación.

Cadenas ligeras libres en suero

Recientemente se ha introducido en la práctica clínica una prueba altamente sensible para determinar las cadenas ligeras en suero (free light chain assay –FLC-) (Drayson *et al*, 2001). Esta prueba cuantifica las cadenas ligeras (kappa o lambda) libres, es decir, no unidas a una inmunoglobulina intacta en suero. Un cociente kappa/lambda anormal indica un exceso de un tipo de cadena ligera frente al otro y permite establecer la clonalidad. La relación kappa/lambda normal para las inmunoglobulinas intactas es 2, sin embargo, para la prueba de las cadenas ligeras –FLC- el cociente de referencia oscila de 0,26 – 1,65. Este dato refleja la mayor excreción renal de cadena ligera libre kappa, ya que habitualmente se excreta en suero en estado monomérico, mientras que la cadena lambda libre suele encontrarse en estado dimérico. Los pacientes con un cociente kappa/lambda <0,26 tienen una monoclonalidad lambda, mientras que una relación >1,65 indica una monoclonalidad kappa.

Rajkumar *et al* (2005) determinaron el cociente kappa/lambda sérico en 1148 pacientes diagnosticados de GMSI en la Clínica Mayo entre 1960 y 1994. Tras una mediana de seguimiento de 15 años, el 7,6% de los pacientes habían presentado una transformación maligna. El riesgo relativo de progresión de los pacientes con una relación kappa/lambda anormal era 3,5 veces mayor comparado con los pacientes con un cociente normal, con una diferencia estadísticamente significativa. A los 10 años el riesgo de transformación para los pacientes con una relación kappa/lambda anormal o normal fue del 17% frente al 5%, respectivamente. A los 20 años de seguimiento el riesgo de transformación para ambos grupos fue del 35% frente al 13%, respectivamente. El riesgo de transformación fue independiente del tipo y la cuantía el componente monoclonal sérico.

La combinación de la relación kappa/lambda junto al tipo y cuantía del componente M permitió establecer grupos con evolución muy distinta. Así, los pacientes con un cociente kappa/lambda anormal, una inmunoglobulina de tipo no IgG y un componente M sérico >15

g/L constituyeron un grupo de alto riesgo con una probabilidad de transformación a los 20 años del 58%. Por el contrario, los pacientes que no presentaban ninguno de estos factores tuvieron un riesgo de transformación a los 20 años de tan solo el 5% (GMSI de bajo riesgo) (Tabla 9).

Tabla 9. Riesgo de transformación de la GMSI según tres factores pronósticos (cociente kappa/lambda, el tipo y la cuantía de paraproteína) (Rajkumar 2005).

Grupo de riesgo*	Nº pacientes	Riesgo relativo IC 95%	Riesgo absoluto de progresión a los 20 años (%)
Bajo riesgo CM < 15 g/L, subtipo IgG, κ/λ normal	449	1	5
Riesgo intermedio bajo (1 factor anormal)	420	5'4	21
Riesgo intermedio alto (2 factores anormales)	226	10'1	37
Alto riesgo (3 factores anormales)	53	20'8	58

4. CITOGENÉTICA EN LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

4.1. TÉCNICAS DE CITOGENÉTICA

El estudio del MM mediante citogenética convencional es difícil debido a la baja capacidad proliferativa de la célula plasmática. Cuando se consiguen mitosis adecuadas la frecuencia de alteraciones citogenéticas se cifra en un 30-50%, proporción que varía entre el 18-35% en los pacientes de nuevo diagnóstico y entre el 35-60% en los pacientes en fases más avanzadas de la enfermedad (Sawyer *et al*, 1995). Probablemente los cariotipos normales se deban a la ventaja proliferativa de la hematopoyesis normal. Esta baja proporción de cariotipos anómalos contrasta con los resultados obtenidos mediante

citometría de flujo, técnica con la que detecta hasta un 80% de aneuploidía del ADN (Tabernero *et al*, 1996; Latreille *et al*, 1982), con un predominio de hiperdiploidías sobre hipodiploidías. Las nuevas técnicas de citogenética molecular, como la hibridación in situ fluorescente (HISF) y la hibridación genómica comparada (HGC) han permitido subsanar estas discrepancias. Así, estudios de HISF utilizando sondas centroméricas en núcleos en interfase logran detectar aneuploidías en el 50% de pacientes con GMSI (Drach *et al*, 1995) y en el 67% de los pacientes con MM, frecuencia que aumenta hasta el 80% cuando se analizan siete o más cromosomas (Tabernero *et al*, 1995). Por último, mediante HGC se detectan alteraciones en el 70% de los pacientes con MM (Cigudosa *et al*, 1998; Avet-Loiseau *et al*, 1997a; Gutiérrez *et al*, 2004).

4.1.1. Citogenética convencional

El estudio citogenético precisa de un cultivo de médula ósea que favorezca la división de la célula plasmática. Dado que la célula plasmática es una célula madura debe ser cultivada durante 72 horas. Transcurrido este tiempo el cultivo debe exponerse a la acción de la colchicina para conseguir un mayor número de células con parada del ciclo celular en mitosis. A continuación se procede a la rotura de las membranas celulares mediante un choque hipotónico con cloruro potásico y posteriormente las células son fijadas y lavadas con fijador Carnoy (metanol:acético 3:1). Posteriormente se procede a la realización de las extensiones para su ulterior tratamiento de bandeado (bandas G) y observación y análisis mediante microscopio de campo claro.

Ventajas

- a) Técnica sencilla y de bajo coste económico
- b) Permite el análisis numérico y estructural de los cromosomas en metafase, dando una idea global del estado del genoma.

Limitaciones

- a) Bajo rendimiento diagnóstico debido a la escasa capacidad proliferativa de la célula plasmática.
- b) El rendimiento puede ser nulo en infiltraciones inferiores al 20%.

4.1.2. Hibridación in situ fluorescente (HISF)

La técnica de HISF utiliza sondas (fragmentos de ADN) con un marcado fluorescente que se hibridan a cromosomas en metafase o núcleos interfásicos y se visualizan posteriormente mediante un microscopio de fluorescencia. Cada sonda se une de manera específica a la región cromosómica complementaria, por lo que sólo detectaremos aquellas anomalías para las que se ha aplicado la sonda. Esta técnica requiere la desnaturalización del ADN de los cromosomas y de la sonda mediante una solución de formamida para que se abran las cadenas de ADN de ambas y se produzca la unión específica. La hibridación se realiza en cámara oscura y húmeda a 37° C. Una vez se ha producido la hibridación, se procede al lavado de la muestra para eliminar los restos de sonda y se aplica una solución de contratinción. Finalmente, se visualiza mediante un microscopio de fluorescencia.

Actualmente disponemos de tres tipos de sondas:

- a) Sondas centroméricas (secuencias de ADN satélite de los centrómeros cromosómicos) que permiten la detección de aneuploidias en interfase, hecho por el cual son idóneas en muestras sin cultivar o con bajo índice mitótico.
- b) Sondas de secuencia única (específicas de locus) que permiten detectar microdeleciones cromosómicas que escapan a la citogenética convencional y duplicaciones o ganancias de regiones específicas. El análisis puede realizarse tanto en metafase como en interfase.
- c) Sondas de pintado cromosómico (librerías de ADN que pintan de manera uniforme un determinado cromosoma) se aplican para la identificación de desequilibrios cromosómicos, cromosomas marcadores, reordenamientos crípticos y reordenamientos complejos. Los estudios efectuados con este tipo de sondas sólo pueden analizarse en metafase.

Ventajas

- a) es una técnica sencilla y rápida
- b) alta sensibilidad y especificidad
- c) se puede realizar en distintos tipos de tejidos y en muestras almacenadas
- d) permite el análisis de núcleos en interfase

Limitaciones

- a) no permite un análisis global del genoma
- b) la señal se desvanece con el tiempo
- c) costo elevado

4.1.3. Hibridación genómica comparada (HGC)

La HGC es una técnica que permite realizar un análisis global de las ganancias y pérdidas cromosómicas sin la necesidad de cultivos celulares. Es, por lo tanto, una técnica de cribado para la identificación de aneuploidías de regiones cromosómicas específicas que puedan jugar un papel en la patogenia y/o progresión tumoral. Los resultados de la HGC deben ser confirmados mediante técnicas de citogenética molecular (como el HISC) y sirven de base para posteriores investigaciones con técnicas de biología molecular que permiten la identificación de nuevos oncogenes o genes supresores de tumores en esas regiones (Weiss *et al*, 1997).

De manera esquemática, el ADN tumoral (test) se marca con fluorescencia verde y se mezcla en una proporción 1:1 con ADN normal (referencia) marcado con fluorescencia roja, y se hibridan sobre metafases normales en presencia de un exceso de Cot-1 humano para evitar las hibridaciones inespecíficas (Kallioniemi *et al*, 1992; du Manoir *et al*, 1993). Tanto el ADN de referencia como las metafases se obtienen de donantes sanos. El ADN tumoral de las regiones cromosómicas que tienen aumentado el número de copias (ganancias y amplificaciones) se une a las metafases en proporción superior que el ADN normal (relación >1), mientras que el ADN de las regiones que están presentes en un menor número de copias (pérdidas) se une en menor proporción a los cromosomas normales (relación <1). El análisis de los resultados se efectúa mediante un programa de ordenador con un software específico (Figura 2).

Ventajas

- a) Requiere una pequeña cantidad de ADN tumoral para realizar el análisis, hecho que la convierte en una técnica especialmente útil en el estudio de neoplasias con bajo índice proliferativo (Bentz *et al*, 1995).
- b) Permite el estudio de material archivado (células congeladas, tejidos conservados en parafina).

c) Proporciona una visión global del genoma (Kallionemi *et al*, 1992).

Limitaciones

- a) No detecta anomalías cromosómicas estructurales sin cambios en el número de copias, como las traslocaciones equilibradas, inversiones o cromosomas en anillo.
- b) Detecta cambios numéricos en relación al nivel de ploidía, pero no permite distinguir los tumores triploides o tetraploides de los diploides, ya que en una población triploide o tetraploide la proporción entre la intensidad de la fluorescencia verde y roja para cada uno de los cromosomas es idéntica a la de una población diploide (du Manoir *et al*, 1993).
- c) La sensibilidad de la técnica puede verse disminuída si la infiltración tumoral de la muestra es baja. Se ha establecido que el mínimo de células tumorales necesario para detectar anomalías se sitúa entre el 30 y el 50% (du Manoir *et al*, 1993; Avet-Loiseau *et al*, 1998a). Este inconveniente se solventa concentrando las células tumorales antes de proceder a la extracción del ADN.
- d) La resolución máxima de la HGC es de 4-5 Mb de ADN. Los cambios que afectan a regiones más pequeñas sólo pueden ser detectados en el caso de que exista un elevado número de copias, aun así, el límite de detección se sitúa en 2 Mb (Gutiérrez *et al*, 2001).

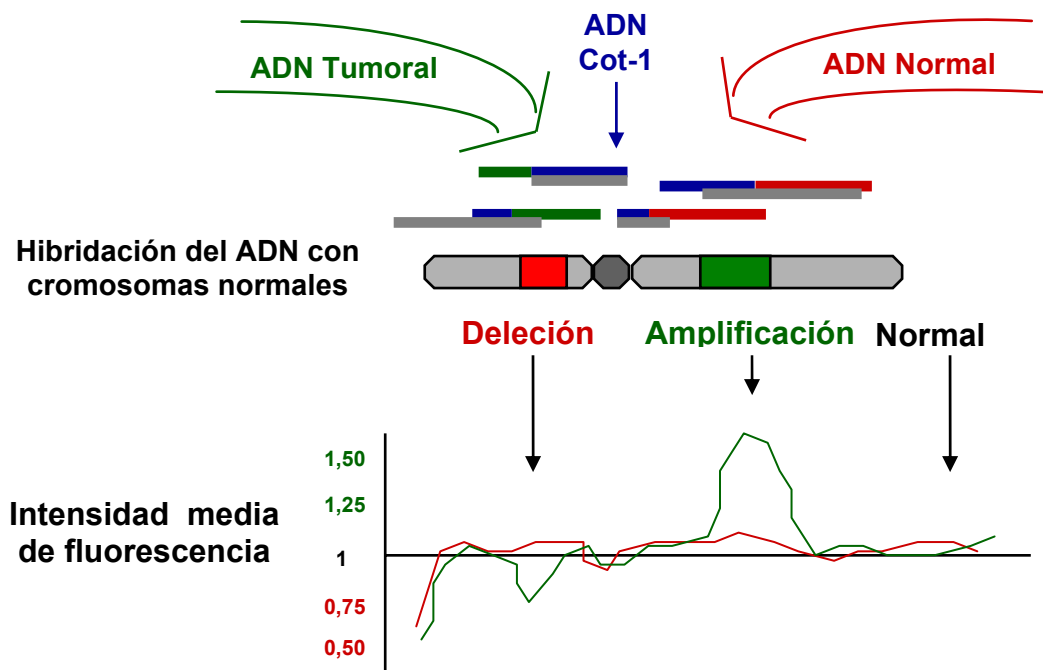


Figura 2. Representación esquemática de la técnica de hibridación genómica comparada.

4.2. ANOMALÍAS CITOGENÉTICAS EN LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

4.2.1. Citogenética convencional

El hallazgo de anomalías citogenéticas específicas ha sido un factor fundamental para el conocimiento de la patogenia y el pronóstico de las hemopatías malignas, especialmente en las leucemias agudas. Sin embargo, el bajo índice proliferativo de la célula plasmática dificulta en gran medida la obtención de cariotipos informativos en el MM (Lai *et al*, 1995; Debes-Marun *et al*, 2002; Sawyer *et al*, 1995; Smadja *et al*, 2001, Zandecki *et al*, 1996). Para mejorar estos resultados se ha intentado estimular los cultivos citogenéticos con interleucinas, sin demasiado éxito (Lai *et al*, 1995). La detección de un cariotipo anormal en el MM se correlaciona con un elevado índice proliferativo (“labeling index”) que refleja la

agresividad de la clona y una elevada infiltración plasmocelular de la médula ósea (Rajkumar *et al*, 1999). Por este motivo, los cariotipos anómalos son infrecuentes en la GMSI, mientras que se obtienen en el 30-40% de los MM diagnosticados “de novo”, en cerca del 60% de los MM en recaída y hasta en el 80% de las leucemias de células plasmáticas (Dewald *et al*, 1985; Sawyer *et al*, 1995; Lai *et al*, 1995; Calasanz *et al*, 1997; Avet-Loiseau *et al*, 2001). Generalmente, los cariotipos son complejos con anomalías numéricas y estructurales. Sin embargo, no se ha llegado a identificar una anomalía específica de la enfermedad. Un problema adicional radica en que algunas de las alteraciones cromosómicas más importantes pueden ser crípticas, como por ejemplo la t(4;14)(p16.3;q32) y la t(14;16)(q32;q23) (Chesi *et al*, 1997, 1998; Sawyer *et al*, 1998). A pesar de estas limitaciones, la citogenética convencional resulta muy útil para la detección de anomalías numéricas (Dewald *et al*, 1985; Lai *et al*, 1995; Sawyer *et al*, 1995; Zandecki *et al*, 1996; Smadja *et al*, 1998, 2001; Debes-Marun *et al*, 2003-02?) y nos permite clasificar a los pacientes con MM en dos grandes subgrupos: hiperdiploides y no hiperdiploides.

Las principales anomalías cromosómicas recurrentes numéricas y estructurales descritas en el MM se detallan en la Tabla 10.

4.2.2. Hibridación in situ fluorescente (HISF)

La dificultad para obtener metafases en el MM se puede subsanar mediante el empleo de HISF, técnica que permite el estudio de núcleos en interfase. Con esta técnica se han podido demostrar anomalías cromosómicas numéricas hasta en el 90% de los MM (Drach *et al*, 1995b; Tabernero *et al*, 1996; Pérez-Simón *et al*, 1998). La HISF también se ha utilizado en el estudio de las traslocaciones del gen de la cadena pesada de las Ig (IgH), demostrando una incidencia superior al 50%, tanto en pacientes con MM como en sujetos con GMSI (Bergsagel *et al*, 1996, 1997; Nishida *et al*, 1997; Avet-Liseau *et al*, 1999, 2002; Fonseca *et al*, 2002a, 2003b; Smadja *et al*, 2003; Pantou *et al*, 2005).

Igualmente se ha observado una elevada incidencia de alteraciones del cromosoma 13 ($\Delta 13$) (monosomías y deleciones intersticiales) (Avet-Loiseau *et al*, 2002; Fonseca *et al*, 2004; Pantou *et al*, 2005) así como deleciones de 17p13 (Drach *et al*, 1998; Fonseca *et al*, 2003a; Ortega *et al*, 2003). Los principales hallazgos de la HISF se detallan en la Tabla 11.

Tabla 10. Principales cambios recurrentes numéricos y estructurales en el MM

Cambios numéricos	
Ganancias: 3, 5, 7, 9, 11, 15, 18, 19, 21	
Pérdidas: 8, 13 (total o parcial), 14, 16, 22, X, Y	
Cambios estructurales	
1q	Trisomías parciales
1p	Deleciones
14q	t(11;14)(q13;q32)
8q	t(8;14)(q24;q32)
	t(8;22)(q24;q11)
	t(2;8)(p12;q24)
11q	t(11;14)(q13;q32)
	ganancias
6q	Deleciones
16p ó 16q	t(1;16)(q11;q11)
22q11	Deleciones
19q y 19p	traslocaciones

Tabla 11. Frecuencia de las alteraciones citogenéticas detectadas por HISF en el MM

Alteración	Genes involucrados	Frecuencia
Traslocaciones de IgH		50-73%
t(11;14)(q13;q32)	CCND1/IgH	15%
t(4;14)(p16;q32)	FGFR3-MMSET/IgH	15%
t(14;16)(q32;q23)	IgH/c-MAF	5%
t(6;14)(p21;q32)	CCND3/IgH	3%
t(14;20)(q32;q11)	IgH/MAFB	2%
Monosomía/Delección 13	RB1	30-55%
Delección 17p13	P53	10%

4.2.3. Hibridación genómica comparada (HGC)

La HGC es otra técnica de citogenética molecular que no requiere metafases para su aplicación. Permite estudiar todo el genoma y detectar ganancias y pérdidas netas de ADN. Sin embargo, no permite la detección de traslocaciones equilibradas. Usando esta técnica se han identificado áreas de aneuploidía recurrentes (Avet-Loiseau *et al*, 1997,1998; Cigudosa *et al*, 1998; Gutiérrez *et al*, 2001, 2004). Las ganancias más frecuentes son las que afectan a 9q, 11q, 15q y 19, mientras que las pérdidas más comunes son las de 13q, 16q y 22q. Los resultados referidos en las diferentes series se detallan en la Tabla 12.

Tabla 12. Prevalencia de ganancias y pérdidas cromosómicas determinadas por HGC.

	Ganancias	Pérdidas
Avet-Loiseau <i>et al</i> , 1997	1q, 3q, 7p, 7q, 8q, 11q (40-50%)	13 (40%) 4, 6q, 10, 14q (30%)
Cigudosa <i>et al</i> , 1998	19, 19p (30%) 11q (20%) 9q, 12q, 15q, 17q, 22q (10%)	13 (30%) 16 (17%) 6q (13%)
Gutiérrez <i>et al</i> , 2001	15q, 11q (45-50%) 1q, 3q, 9q (30-40%)	13q (28%) 16 (12%)
Liebisch <i>et al</i> , 2003	1q (26%) 9q, 11q (15%) 9p, 5p, 5q, 6p, 15, 18q (11%)	13q (37%) 6q, 8p, Xp, Xq, 1p (13%)
Gutiérrez <i>et al</i> , 2004	1q (45%) 5q, 9q, 11q, 15q (20-30%) 3q, 7q (10-20%)	13 (39%) 16q (18%) 8p (10%)

4.3. ANOMALÍAS CITOGENÉTICAS ESPECÍFICAS

4.3.1. Traslocaciones relacionadas con el locus de las inmunoglobulinas

Se cree que las traslocaciones que involucran a la cadena pesada (IgH) o a la cadena ligera (IgL) de las inmunoglobulinas son eventos primarios en la patogénesis de muchas proliferaciones de linfocitos B. Estas traslocaciones parecen estar mediadas por errores en uno de los tres mecanismos específicos de modificación del ADN durante el proceso de maduración de los linfocitos B en el centro germinal: a) la recombinación del fragmento V(D)J, b) el cambio de isotipo de IgH y c) la hipermutación somática (Kuppers *et al*, 2001; Dalla-Favera *et al*, 2001). La consecuencia de las traslocaciones es la disregulación o aumento de expresión de determinados oncogenes. La prevalencia de las traslocaciones de IgH en las gammapatías monoclonales varía según el estado de la enfermedad: aproximadamente el 50% de las GMSI o MQ, el 55-70% de los MM que cursan con afección básicamente medular, el 80% de leucemias de células plasmáticas y más del 90% de las líneas celulares de MM (Nishida *et al*, 1997; Avet-Loiseau *et al*, 2002a; Fonseca *et al*, 2003a).

Aproximadamente en el 10% de los individuos con GMSI y en un 20% de los pacientes con MM avanzado se producen traslocaciones de IgL. Cabe destacar que dichas traslocaciones involucran en general a IgL-lambda, mientras que las traslocaciones de IgL-kappa son excepcionales.

Traslocaciones primarias frente a secundarias

Las traslocaciones de IgH pueden ser fenómenos primarios en la génesis de las gammapatías monoclonales o pueden ser fenómenos tardíos asociados a la progresión (traslocaciones secundarias)(Kuehl *et al*, 2002). En el MM, la mayoría de traslocaciones se producen por errores durante el cambio de isotipo de IgH o menos frecuentemente por errores durante el proceso de hipermutación somática (Bergsagel *et al*, 2001). Las traslocaciones primarias se detectan en aproximadamente el 40% de los pacientes con MM y pueden involucrar a cinco regiones cromosómicas recurrentes: 4p16 (FGFR3 y MMSET), 15%; 11q13 (Ciclina D1), 15%; 16q23 (c-maf), 6%; 6p21 (ciclina D3), 4%; 20q11 (maf-B) 2% (Avet-Loiseau *et al*, 2002a; Fonseca *et al*, 2003a).

Por el contrario, las traslocaciones secundarias son eventos tardíos que no involucran al proceso específico de modificación del ADN de la célula B. En contraste con las traslocaciones primarias, estas traslocaciones pueden ser alteraciones citogenéticas complejas que incluyen traslocaciones desequilibradas o inserciones que involucran a tres o más cromosomas, a veces con amplificaciones, duplicaciones, inversiones o deleciones en los puntos de rotura. El paradigma de las traslocaciones secundarias son las que afectan a c-myc (8q24)(Shou *et al*, 2000; Avet-Loiseau *et al*, 2001a). Las traslocaciones de myc son raras en la GMSI, sin embargo están presentes en el 15% de los MM, el 45% de los MM avanzados y el 90% de las líneas celulares de MM.

t (11;14)(q13;q32)

En la t(11;14)(q13;q32) se produce un aumento en la expresión de la ciclina D1 (Chesi *et al*, 1996). Mediante estudios de HISF en interfase se ha establecido que la prevalencia de dicha translocación en el MM es del 15% (Avet-Loiseau *et al*, 2002a; Fonseca *et al*, 2002a). Se detecta, además, en un 15-30% de las GMSI y en casi el 50% de los pacientes con amiloidosis primaria (AL) (Harrison *et al*, 2001; Hayman *et al*, 2001; Fonseca *et al*, 2002b). La mayor prevalencia de esta alteración cromosómica en las fases precoces de las gammapatías monoclonales detectada en algunos estudios sugiere que podría ser un factor “protector” para la progresión a MM sintomático. Sin embargo, este hecho no ha sido corroborado en otros estudios (Avet-Loiseau *et al*, 1999a).

Inicialmente se había sugerido que la t(11;14)(q13;q32) confería mal pronóstico y una corta supervivencia (Tricot *et al*, 1995; Fonseca *et al*, 1998a; Konigsberg *et al*, 2000). No obstante, en los últimos años se ha demostrado que esta anomalía cromosómica se asocia a una supervivencia prolongada, especialmente en el grupo de pacientes tratados con trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (Fonseca *et al*, 2002a; Moureau *et al*, 2002).

La t(11;14)(q13;q32) se asocia con una variante de MM oligosecretor y morfología plasmocítica. Por otra parte, las células plasmáticas expresan CD20 en dos tercios de los pacientes (Fonseca *et al*, 2002; Moreau *et al*, 2002).

t (4;14)(q16.3;q32)

Aunque la t (4;14)(p16.3;q32) no se detecta mediante citogenética convencional, dicha alteración se halla en aproximadamente el 15% de los MM cuando se utilizan técnicas de HISF (Chesi *et al*, 1997; Avet-Loiseau *et al*, 2002a). Algunos autores han referido que hasta el 10% de las GMSI tienen esta traslocación (Malgeri *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2002b) aunque esto no ha sido demostrado en otros estudios (Avet-Loiseau *et al*, 2002a). Cuando esta traslocación está presente en la GMSI, se cree que no constituye un factor de riesgo para la transformación a MM, ya que estos pacientes pueden permanecer durante años en la fase de GMSI (Malgeri *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2002b). En la mayor parte de los pacientes con GMSI o MM la t(4;14)(p16.3;q32) coexiste con $\Delta 13$, (Fonseca *et al*, 2001a; Avet-Loiseau *et al*, 2002a), hecho que sugiere que en algunos casos las $\Delta 13$ pueden preceder a la traslocación.

La t (4;14)(p16.3;q32) fue la primera traslocación humana asociada a la disregulación de dos oncogenes, FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3) y MMSET (multiple myeloma SET domain). Se sabe que la expresión de FGFR3 promueve la proliferación de la célula mielomatososa y tiene efecto antiapoptótico (Chesi *et al*, 2001). FGFR3 es, por lo tanto, una potencial diana terapéutica para los pacientes con la t (4;14). Por otra parte, la presencia de la t (4;14) puede condicionar la elección de los agentes citotóxicos, puesto que en líneas celulares de mieloma de origen murino las células con sobreexpresión de FGFR3 son resistentes a la dexametasona, pero no a los agentes alquilantes o a los antraciclínicos (Pollet *et al*, 2002). Al menos una tercera parte de los pacientes con la t (4;14)(p16.3;q32) expresan MMSET con pérdida de expresión de FGFR3 (Santra *et al*, 2003). Esto sugiere que la activación de MMSET puede ser el paso crítico para la transformación al menos en una parte de los mielomas con la t(4;14), aunque se desconoce el posible mecanismo patogenético.

La t (4;14) se asocia a un pronóstico desfavorable, tanto en los pacientes tratados con quimioterapia convencional como en los que reciben altas dosis de quimioterapia seguido de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

Existe una asociación entre la t (4;14) y un curso clínico agresivo, el isotipo IgA y la cadena ligera lambda (Moreau *et al*, 2002; Fonseca *et al*, 2003a), mientras que es extremadamente infrecuente en el MM de cadenas ligeras (Avet-Loiseau *et al*, 2002).

t(14;16)(q32;q23)

La t(14;16)(q32;q23) se detecta en un 5-10% de pacientes con MM. Como resultado de esta traslocación se produce una sobreexpresión de c-maf (Chesi *et al*, 1998). Al igual que sucede con la t(4;14) existen resultados discrepantes acerca de la presencia o no de la t(14;16) en la GMSI. Generalmente se asocia a alteraciones del cromosoma 13 (Avet-Loiseau *et al*, 1999a; Fonseca *et al*, 2002b).

La t(14;16) también se asocia a corta supervivencia en los pacientes tratados con quimioterapia convencional (Fonseca *et al*, 2003a).

Otras traslocaciones de IgH

Tanto la t(14;20)(q32;q11) como la t(6;14)(p21;q32) se descubrieron inicialmente en líneas celulares y posteriormente se detectaron en pacientes con MM (Shaughnessy *et al*, 2001; Boersma-Vreugdenhil *et al*, 2004.). Como resultado de estas traslocaciones se produce la expresión ectópica del factor de transcripción MAFB (Boersma-Vreugdenhil *et al*, 2004) y la sobreexpresión de la ciclina D3 (Shaughnessy *et al*, 2001), respectivamente. En ambos casos se desconoce su valor pronóstico.

4.3.2. Delección / monosomía del cromosoma 13 (Δ 13)

Las Δ 13 son altamente prevalentes en las gammopatías monoclonales (Avet-Loiseau *et al*, 1999a; Drach *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2002b). Mediante citogenética convencional se detecta en aproximadamente el 15% de los pacientes con MM (Sawyer *et al*, 1995, 1998, 2001), mientras que por técnicas de HSF en interfase la proporción aumenta al 30-55% (Avet-Loiseau *et al*, 1999a; Zojer *et al*, 2000; Facon *et al*, 2001; Fonseca *et al*, 2002b). Respecto a la prevalencia de las Δ 13 en la GMSI los resultados son discordantes en las diferentes series. Así, algunos autores encuentran una incidencia muy inferior a la del MM (25%) (Avet-Loiseau *et al*, 1999a) mientras que en otras series la prevalencia es similar a la del MM (Königsberg *et al*, 2000b; Fonseca *et al*, 2002b). Del primer supuesto se podría inferir que las Δ 13 estarían involucradas en la progresión de GMSI a MM mientras que en el segundo caso las Δ 13 constituirían fenómenos iniciales pero no de progresión. Los estudios de HSF en interfase han mostrado que el 80-90% de las Δ 13 corresponden a monosomías, mientras que el 15% restante corresponde a deleciones intersticiales

(Sawyer *et al*, 1995, 2001; Saughnessy *et al*, 2000; Avet-Loiseau *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2001b) que involucran a la región 13q14 donde se encuentra el gen supresor tumoral Rb (Shaugnessy *et al*, 2000; Avet-Loiseau *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2001b). Las $\Delta 13$ se detectan en el 90% de GMSI o MM que tienen la traslocación t(4;14) o t(14;16), mientras que tan solo la presentan el 25% de los mielomas que tienen otras traslocaciones de IgH, (incluyendo la t(11;14)), o en los que no tienen traslocaciones de IgH. (Sawyer *et al*, 2001; Avet-Loiseau *et al*, 2002a; Fonseca *et al*, 2003a).

Las $\Delta 13$ se asocian a una corta supervivencia y una mala respuesta al tratamiento, independientemente del modo de detección de la anomalía (citogenética convencional o HISF) o del tipo de tratamiento (quimioterapia convencional o dosis elevadas de quimioterapia seguidas de autotrasplante) (Seong *et al*, 1998; Zojer *et al*, 2000; Facon *et al*, 2001; Desikan *et al*, 2000; Fonseca *et al*, 2002c; Shaugnessy *et al*, 2003). No obstante, la influencia pronóstica de las $\Delta 13$ es mayor cuando se detectan por citogenética convencional que por HISF, probablemente porque refleja una mayor masa tumoral y capacidad proliferativa de la clona (Rajkumar *et al*, 1999; Dewald *et al*, 2005).

La combinación de las $\Delta 13$ y otros factores pronósticos como la beta-2-microglobulina sérica permite establecer tres grupos pronósticos de acuerdo en función del numero de variables desfavorables (Tabla 13).

Tabla 13. Modelo pronóstico basado en las anomalías del cromosoma 13 y la $\beta 2M$

Autor, año	Riesgo	Características	Supervivencia mediana (meses)
Königsberg <i>et al</i> , 2000	Bajo	13q normal y $\beta 2M < 4$ mg/dl	102
	Intermedio	Del (13q) o $\beta 2M > 4$ mg/dl	46
	Alto	Del (13q) y $\beta 2M > 4$ mg/dl	11
Facon <i>et al</i> , 2001	Bajo	13q normal y $\beta 2M < 2,5$ mg/dl	111+
	Intermedio	Del (13q) o $\beta 2M > 2,5$ mg/dl	47
	Alto	Del13q y $\beta 2M > 2,5$ mg/dl	25

4.3.3. Aneuploidía

La aneuploidía es muy frecuente en el MM (Dewald *et al*, 1985; Drach *et al*, 1995; Sawyer *et al*, 1995; Zandecki *et al*, 1996; Tabernero *et al*, 1996; Debes-Marun *et al*, 2003). De

hecho, la presencia de aneuploidía es independiente del estadio (GMSI vs MM) (Drach *et al*, 1995, 1995b; Zandecki *et al*, 1995, 1996). Casi la mitad de los pacientes con MM tienen hiperdiploidía (con 48-75 cromosomas) y a menudo tienen múltiples trisomías involucrando a los cromosomas 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19, 21. Los MM no hiperdiploides pueden ser hipodiploides (44-45 cromosomas), pseudodiploides (44/45 a 46/47 cromosomas) o casi tetraploides (≥ 75 cromosomas) (Smadja *et al*, 1998, 2001; Debes-Marun *et al*, 2003). Las 5 traslocaciones recurrentes de IgH son mucho más frecuentes en los MM no hiperdiploides comparado con los MM hiperdiploides (70% vs 30%) (Smadja *et al*, 2003; Fonseca *et al*, 2003b). Las traslocaciones secundarias de IgH, por el contrario, ocurren con la misma frecuencia en ambos tipos de MM. Globalmente, la prevalencia de las anomalías cromosómicas estructurales es prácticamente el doble en los mielomas no hiperdiploides (Smadja *et al*, 2003). Las monosomías/delecciones del cromosoma 13 ($\Delta 13$) se detectan en el 72% de los MM no hiperdiploides frente a tan sólo el 37% de los hiperdiploides. Esta diferencia puede explicarse parcialmente por la elevada prevalencia de las t(4;14) y t(14;16) en los MM no hiperdiploides (Smadja *et al*, 2003). Los MM hipodiploides tienen una corta supervivencia (Calasanz *et al*, 1997; Smadja *et al*, 2001; Fassas *et al*, 2002; Debes-Marun *et al*, 2003). Inicialmente se había sugerido que la hipodiploidía era el factor pronóstico crítico y que las $\Delta 13$ no tenían significado pronóstico adicional (Smadja *et al*, 2001), sin embargo, estos resultados no se han confirmado en otros estudios (Fassas *et al*, 2002). Tal y como se ha comentado anteriormente, los mieloma hiperdiploides y los no hiperdiploides estarían asociados a un mecanismo patogenético diferente (Bergsagel *et al*, 2005)

4.3.4. Otras anomalías citogenéticas

p53 (17p13)

La inactivación de p53, ya sea por mutación y/o delección, parece ser un fenómeno poco frecuente en el MM y restringido fundamentalmente a estadios tardíos de la enfermedad (Drach *et al*, 1998; Schulteis *et al*, 1999). Las delecciones de p53 se detectan en el 10% de los pacientes y se asocia a corta supervivencia (Drach *et al*, 1998; Fonseca *et al*, 2003a). Las mutaciones de p53 se presentan en un 5% de pacientes al diagnóstico, en el 20-40% de pacientes con mieloma en fase avanzado o leucemia de células plasmáticas y en más del 60% de líneas celulares de mieloma (Preudhomme *et al*, 1992; Neri *et al*, 1993; Corradini *et al*, 1994) mientras que son infrecuentes en las GMSI (Ackerman *et al*, 1998).

Mutaciones de ras

Las mutaciones de ras se encuentran en el 35-50% de los pacientes con MM (Liu *et al*, 1996; Bezieau *et al*, 2001) y en una proporción similar de líneas celulares de MM (Chesi *et al*, 2001). La prevalencia de estas mutaciones se incrementa en los estadios avanzados de la enfermedad (Corradini *et al*, 1993; Liu *et al*, 1996; Bezieau *et al*, 2003), en cambio, son poco frecuentes en la GMSI, hecho que sugiere que podría ser un factor de progresión desde GMSI a MM (Bezieu *et al*, 2001; Corradini *et al*, 1993). No hay estudios sobre las mutaciones de ras en el mieloma quiescente. Las mutaciones de ras pueden afectar al codón K- o N-ras, pero únicamente las primeras se han asociado a mal pronóstico (Liu *et al*, 1996). Los MM o las líneas celulares con la t(4;14) pueden tener mutaciones de FGFR3 o Ras; sin embargo, ambas son mutuamente excluyentes (Chesi *et al*, 2001).

II. HIPÓTESIS

Actualmente se considera que el mieloma múltiple (MM) aparece como consecuencia de varios pasos oncogénicos. De este modo, el espectro de las gammapatías monoclonales va desde la gammapatía monoclonal de significado incierto -GMSI- (situación premielomatoso) hasta la leucemia de células plasmáticas (forma más agresiva de MM). El mieloma quiescente (MQ) constituye una situación intermedia que, aun cumpliendo los criterios diagnósticos de MM, clínica y biológicamente se halla más cerca de la GMSI que del auténtico MM. Sin embargo, mientras que sólo una cuarta parte de sujetos con GMSI evolucionan a MM, la totalidad de los pacientes con MQ acabará por presentar un MM sintomático y requerirá tratamiento citostático. Posiblemente el mayor número de células plasmáticas en el MQ sea el factor que determina la elevada probabilidad de sufrir el definitivo paso oncogénico, cuyo mecanismo último aún desconocemos.

En el MM el bajo índice mitótico de las células plasmáticas dificulta la obtención de metafases para su análisis citogenético. Aun así, las alteraciones citogenéticas constituyen el factor pronóstico más importante en esta enfermedad. Con la finalidad de obtener mayor información sobre la incidencia y el significado pronóstico de las anomalías citogenéticas en pacientes con MM se están aplicando métodos que aportan información sobre las alteraciones cromosómicas sin necesidad de conseguir metafases. Así, los estudios de hibridación in situ fluorescente (HISF) permiten analizar las células tanto en metafase como en núcleos interfásicos. Por otra parte, con la hibridación genómica comparada (HGC) es posible analizar la totalidad del genoma sin necesidad de disponer de metafases tumorales, hecho que convierte a esta técnica de suma utilidad en el estudio de neoplasias con bajo índice proliferativo. Este sería el caso del mieloma quiescente en el que el índice proliferativo de las células plasmáticas es incluso más bajo que en el MM sintomático. De hecho, si bien existen series de pacientes en los que se estudian posibles factores clínicos y de laboratorio que pueden predecir la evolución del MQ, no existe ningún estudio sobre la posible influencia de las alteraciones citogenéticas en la progresión del MQ a MM sintomático.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

- a. Estudio de la historia natural del mieloma quiescente: análisis de los parámetros clínicos y de laboratorio predictivos de progresión a mieloma múltiple sintomático.

Objetivos concretos

- a. Analizar el patrón de progresión del mieloma quiescente.
- b. Determinar la respuesta al tratamiento y la supervivencia de los pacientes con mieloma quiescente una vez se ha producido la transformación.
- c. Investigar la incidencia, tipo y posible influencia pronóstica de las anomalías citogenéticas, estudiadas mediante hibridación genómica comparada, en el mieloma quiescente.

IV. RESULTADOS

Trabajo 1

SMOLDERING MULTIPLE MYELOMA: NATURAL HISTORY AND RECOGNITION OF AN EVOLVING TYPE.

Laura Rosiñol, Joan Bladé, Jordi Esteve, Marta Aymerich, María Rozman, Silvia Montoto, Eva Giné, Elisabet Nadal, Xavier Filella, Rosa Queralt, Ana Carrió, y Emili Montserrat.

British journal of Haematology, 2003; 123:631-636.

Resumen del trabajo 1

Los pacientes con MQ, aun cumpliendo los criterios diagnósticos de MM se hallan asintomáticos y muchos de ellos permanecen estables y sin requerir tratamiento durante años. Existen pocos trabajos en los que se haya analizado la evolución a largo plazo de los pacientes con MQ. Por otra parte, en ninguno de ellos se han aplicado los criterios diagnósticos de la publicación original.

Por todo ello, los objetivos del presente trabajo fueron: 1) identificar qué parámetros clínicos y de laboratorio pueden influir en la evolución de MQ a MM sintomático 2) estudiar el patrón de progresión y 3) analizar la respuesta al tratamiento y la supervivencia tras la progresión.

Se incluyeron en el estudio 53 pacientes (22 hombres / 31 mujeres, edad mediana 63 años) diagnosticados de MQ entre enero de 1978 y julio de 2001. Todos los pacientes tenían un componente M igual o mayor a 30 g/L y al menos una proporción de células plasmáticas superior al 10% en médula ósea en ausencia de manifestaciones clínicas. El análisis estadístico incluyó el test de la χ^2 , la U de Mann-Whitney, el método de Kaplan y Meier y el log-rank test.

Las medianas del componente M sérico y de células plasmáticas en médula ósea de los pacientes incluidos fueron de 30 g/L y 27%, respectivamente. Desde un punto de vista evolutivo se identificaron dos variantes de MQ: 1) el tipo “progresivo” (22 pacientes) caracterizado por un aumento continuado del componente M y 2) el tipo “no progresivo” (26 pacientes) caracterizado por un componente M estable hasta el momento de la transformación. Trece de los 22 pacientes con MQ de tipo “progresivo” presentaban el antecedente de una GMSI frente a un solo caso entre los 26 con MQ “no progresivo” ($p=0,00001$). El tipo IgA fue más frecuente en el MQ de tipo “progresivo” (36% frente a 7%, $p=0,018$). La mediana hasta la progresión clínica fue más corta en el tipo progresivo (1,3 frente a 3,9 años, $p=0,007$). Existió una tendencia a una progresión más rápida en los pacientes con una cifra de Hb < 12 g/dL y con un componente M > 35 g/L ($p=0,08$ para ambas variables). El patrón de progresión consistió en anemia y/o osteolisis u osteoporosis. La tasa de respuestas al tratamiento tras la aparición de MM sintomático fue del 43% (53% para el tipo “progresivo” y 21% para el “no progresivo”, $p=0,08$). Las

medias de supervivencia desde el diagnóstico y desde la progresión fueron de 8,2 y 3,5 años, respectivamente.

La principal aportación de este trabajo radica en la descripción por primera vez del MQ de tipo “progresivo” caracterizado por un incremento continuado del componente M, antecedente de GMSI, mayor frecuencia de tipo IgA y evolución más rápida a MM sintomático que el MQ clásico o “no progresivo”.

Trabajo 2

COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION IDENTIFIES TWO VARIANTS OF SMOLDERING MULTIPLE MYELOMA

**Laura Rosiñol, Ana Carrió, Joan Bladé, Rosa Queralt, Marta Aymerich,
M^aTeresa Cibeira, Jordi Esteve, Maria Rozman, Elías Campo, Emili Montserrat.**

British Journal of Haematology 2005; 130:729-732.

Resumen del trabajo 2

En el trabajo 1 se identificaron dos variantes de MQ con una historia natural distinta: 1) el tipo MQ “no progresivo” caracterizado por un incremento continuo del componente M y antecedente de GMSI y 2) MQ “no progresivo” en el que el componente M permanece estable durante años hasta que, de forma brusca, evoluciona a MM sintomático. El factor pronóstico que más influye en la evolución a MM sintomático es el tipo de MQ. El bajo índice proliferativo de las células plasmáticas dificulta los estudios citogenéticos en el MM, ello es particularmente cierto en el MQ. De hecho, no existen estudios citogenéticos en series de pacientes con MQ.

El objetivo del presente trabajo fue analizar las posibles anomalías cromosómicas mediante HGC en las dos variantes de MQ.

Para ello se incluyeron 15 pacientes con MQ (7 de tipo “progresivo” y 8 “no progresivo”). Para el estudio con HGC se procedió al enriquecimiento de la población plasmocelular mediante bolas magnéticas unidas a anticuerpos anti-CD138, extracción del ADN de la muestra enriquecida y a su posterior análisis. Los hallazgos obtenidos por HGC se validaron mediante HISF con utilización de sondas comerciales locus específicas o centroméricas.

En el 87% de los pacientes (13/15) se observaron alteraciones cromosómicas por HGC. El 92% de los pacientes con alteraciones (12/13) tenían ganancias mientras que el 46% (6/13) mostraron pérdidas de material cromosómico. Si bien las ganancias cromosómicas se observaron en las dos variantes de MQ, las pérdidas fueron más frecuentes en el tipo “progresivo” (71% frente a 16%). Las alteraciones más frecuentes en el MQ de tipo “progresivo” consistieron en ganancias de 1q (57%) y deleciones de 8p, 13q, 14q y 16q(43%). En el MQ de tipo “no progresivo” no se observó ningún caso con ganancias de 1q.

En conclusión, el MQ de tipo “progresivo” tiene alteraciones citogenéticas propias del MM sintomático (ganancias de 1q, deleción de 13q) mientras que el MQ “no progresivo” no presenta ganancias de 1q y las deleciones son infrecuentes. El distinto patrón citogenético sugiere que las dos variantes de MQ no solo tienen distinta historia natural sino que también pueden tener un mecanismo patogenético diferente.

V. DISCUSIÓN

En los trabajos que conforman la presente tesis doctoral se analizan la historia natural y las alteraciones citogenéticas del mieloma quiescente. La principal aportación del primer trabajo radica en la identificación por primera vez del MQ de tipo “progresivo” (Rosiñol *et al*, 2003). El segundo trabajo, primer estudio sobre alteraciones citogenéticas en pacientes con MQ, demuestra que las dos variantes de MQ (“progresivo” y “no progresivo”) tienen un patrón citogenético diferente (Rosiñol *et al*, 2005). A continuación se discuten en profundidad los hallazgos referidos en estos dos trabajos en relación con las principales publicaciones sobre el tema.

La gran mayoría de pacientes con MM presentan una enfermedad sintomática y requieren tratamiento desde el momento del diagnóstico (Kyle *et al*, 2003a). Kyle y Greipp (1980) acuñaron el término MQ para referirse a un subgrupo de pacientes con un componente M sérico muy elevado (≥ 30 g/L) y una proporción de células plasmáticas en médula ósea superior al 10% sin lesiones osteolíticas ni manifestaciones clínicas debidas a la gammapatía monoclonal. De hecho, los seis pacientes objeto de la publicación original permanecieron estables y sin requerir tratamiento durante más de cinco años (Kyle y Greipp, 1980). La frecuencia de pacientes con MQ se sitúa entre el 10 y el 20% en las distintas series de mieloma (Weber *et al*, 1997). La incidencia del 9% observada en el presente trabajo posiblemente obedezca a la aplicación de los estrictos criterios diagnósticos referidos en la serie original.

Desde la descripción del MQ se han publicado varias series en las que dicha entidad se ha referido como mieloma quiescente, mieloma asintomático o mieloma en estadio I de Durie y Salmon en las que el objetivo fundamental ha consistido en el análisis de los factores predictivos de progresión a MM sintomático (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Hjorth *et al*, 1993; Dimopoulos *et al*, 1993; Facon *et al*, 1995; Weber *et al*, 1997; Cesana *et al*, 2002). Cabe destacar, sin embargo, que en todos estos estudios los criterios diagnósticos de MQ difieren de los publicados en la serie original. Así, el grupo del MD Anderson Cancer Center requería un componente M superior a 20 g/L en un estudio (Alexanian *et al*, 1988) y superior a 25 g/L en una serie más reciente (Weber *et al*, 1997), mientras que Wisloff *et al* (1991) requieren un componente M superior a 15 g/L para el tipo IgA y mayor de 30 g/L para el tipo IgG. La serie de Facon *et al* (1995) estaba compuesta por pacientes que presentaban una proporción de células plasmáticas en médula ósea superior al 15% con independencia de la cuantía del componente M en suero y/u orina. Cesana *et al* (2002) utilizan unos criterios incluso más laxos: componente M sérico entre 21 y 49 g/L para el tipo IgA, entre 36 y 69 g/L para el tipo IgG, proteinuria superior a 1 g/24 horas o bien más de un 10% de células plasmáticas en médula ósea. A mayor

abundamiento, algunos de estos trabajos incluyen pacientes con lesiones osteolíticas (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Hjorth *et al*, 1993; Dimopoulos *et al*; 1993; Facon *et al*, 1995). Dado que la presencia de osteólisis es un factor constantemente asociado a una rápida progresión, estos pacientes no deberían considerarse como afectados de MQ, ya que, a pesar de que se hallan asintomáticos, presentan invariablemente una enfermedad sintomática en menos de un año (Alexanian *et al*, 1988; Dimopoulos *et al*, 1993). En la serie objeto de la presente tesis doctoral se han incluido únicamente pacientes que cumplían los criterios estrictos propuestos por Kyle y Greipp (1980) en cuanto a cuantía del componente M, proporción de células plasmáticas en médula ósea y ausencia de lesiones osteolíticas. En este trabajo se identifican por primera vez dos tipos de MQ con unas características e historia natural diferentes: el “progresivo” y el “no progresivo” o clásico. Si bien los hallazgos de laboratorio son similares en ambas variantes, los pacientes con un MQ “progresivo” muestran un incremento continuado del componente M hasta la aparición de la sintomatología propia del MM, mientras que en el MQ “no progresivo” el componente M que permanece estable hasta el momento de la transformación a enfermedad sintomática en que puede haber aumentado bruscamente. Un hecho interesante radica en que el MQ de tipo “progresivo” puede identificarse en los seis primeros meses de seguimiento en los que habitualmente se asiste a un aumento del componente M superior al 10% con respecto al valor inicial (Rosiñol *et al*, 2003). Otro hecho destacable es que más de la mitad de los pacientes con MQ progresivo tienen el antecedente de una GMSI, que típicamente también tiene un comportamiento progresivo, mientras que el antecedente de una GMSI es muy infrecuente en los pacientes con MQ de tipo “no progresivo” o clásico. Este hecho puede llevar a considerar que todos los pacientes con MQ “progresivo” han presentado una GMSI previa, constituyendo esta variante de MQ una situación intermedia entre la GMSI y el mieloma sintomático, con un corto tiempo hasta la transformación. Por el contrario, el MQ “no progresivo” constituye una situación clínica más estable con un tiempo hasta la transformación más prolongado y, rara vez, precedido por una GMSI (Rosiñol *et al*, 2003). De hecho, el comportamiento clínico y biológico de esta variante de MQ sería equiparable al de una GMSI, aunque con una mayor masa tumoral y, en consecuencia, una mayor probabilidad de evolución a MM sintomático (Kyle *et al*, 2002; Montoto *et al*, 2002).

Por lo que se refiere al patrón de progresión, la mayoría de los pacientes de la presente serie presentaron anemia y/o afección esquelética, que consistió en lesiones osteolíticas de pequeño tamaño y/u osteoporosis. Cabe destacar que ninguno de los pacientes de esta serie presentó insuficiencia renal, hipercalcemia o plasmocitomas extramedulares en el momento de la progresión. Ello contrasta con los hallazgos de Wisloff *et al* (1991) quienes

refirieron que seis y tres de sus 71 pacientes presentaron insuficiencia renal y complicaciones neurológicas, respectivamente, en el momento de la transformación. En las series restantes, el patrón de progresión consistió en aumento de la afección ósea, incremento en la cuantía del componente M y/o aparición de anemia (Alexanian *et al*, 1988; Hjorth *et al*, 1993; Dimopoulos *et al*; 1993, 2000; Weber *et al*, 1997). Una minoría de casos presentó insuficiencia renal o hipercalcemia (Facon *et al*, 1995). El hecho de que los pacientes con MQ no presenten insuficiencia renal ni durante la fase asintomática de la enfermedad ni en el momento de la progresión es indicativo del bajo potencial nefrotóxico de las cadenas ligeras en el MQ. Además, la ausencia de afectación esquelética extensa, hipercalcemia o plasmocitomas extramedulares reflejan una baja actividad proliferativa de las células plasmáticas no sólo en la fase asintomática sino también en el momento de la transformación. Todo lo anterior justifica la aproximación terapéutica conservadora, que consiste en no administrar tratamiento citostático a estos pacientes hasta la aparición de síntomas. Ello resulta de particular interés en el grupo de pacientes con MQ de tipo “no progresivo”, ya que más del 40% de ellos permanecen estables a los 5 años de seguimiento. Esta conducta viene refrendada por los resultados obtenidos en dos estudios (Hjorth *et al*, 1993; Grignani *et al*, 1996) realizados en pacientes con MM asintomático, en los que los pacientes fueron aleatorizados a recibir tratamiento con melfalán y prednisona desde el momento del diagnóstico o bien a tratamiento diferido hasta que existió evidencia de progresión clínica. El tratamiento precoz no mejoró la supervivencia en ninguno de estos dos estudios. Además, en el estudio de Hjorth *et al* (1993), dos de los pacientes asignados al grupo de terapia inicial presentaron una leucemia aguda mieloide. La aparición de nuevos fármacos con mecanismos de acción diferentes a la quimioterapia y sin efecto leucemógeno conocido ha despertado el interés por el tratamiento precoz del MQ, con el objetivo de estabilizar la enfermedad en su fase asintomática. Existen dos estudios recientes (Rajkumar *et al*, 2002; Weber *et al*, 2003) en los que se ha efectuado tratamiento del MQ con talidomida. La base racional para el empleo de la talidomida, un fármaco con propiedades antiangiogénicas e inmunomoduladoras, radica en la evidencia de que en las gammapatías monoclonales existe un aumento de la angiogénesis que puede favorecer la progresión de GMSI a MM sintomático. Sin embargo, en ambos estudios la tasa de respuestas se ha situado alrededor del 35% y la toxicidad ha sido considerable, por lo que no puede recomendarse el uso de talidomida en pacientes con MQ hasta que existan estudios aleatorizados que demuestren un claro beneficio. De hecho, se especula que el uso de talidomida en fases precoces de la enfermedad puede contribuir a crear resistencia al fármaco, comprometiendo su uso posterior en combinación con otros fármacos (por ej. dexametasona) de probada eficacia en el mieloma sintomático. Por otra parte, el uso prolongado de talidomida puede ocasionar una neuropatía periférica

que impida su uso posterior y comprometa, además, tratamientos futuros con otros fármacos eficaces en el MM y con potencial neurotóxico, como el bortezomib (Richardson et al, 2003, 2005).

A pesar de que en esta serie se han empleado los criterios diagnósticos más estrictos de MQ, la mediana de supervivencia de alrededor de tres años desde el diagnóstico hasta la transformación a MM sintomático fue similar a la referida en otros estudios en los que se han incluido pacientes con menor masa tumoral (Alexanian *et al*, 1988; Wisloff *et al*, 1991; Hjorth *et al*, 1993; Dimopoulos *et al*, 1993, 2000; Facon *et al*, 1995; Weber *et al*, 1997). En la presente serie, el único factor con valor predictivo de transformación precoz fue el tipo de MQ (“progresivo” frente a “no progresivo”). En la experiencia del grupo del MD Anderson (Alexanian *et al*, 1988; Weber *et al*, 1997), un componente M superior a 30 g/L, el tipo IgA y una proteinuria de cadenas ligeras >50 mg/24h se asociaron significativamente a una progresión precoz, mientras que en la serie de Facon *et al* (1995) los factores asociados a una progresión más rápida fueron un componente M superior a 30 g/L, una cifra de Hb inferior a 12 g/dL y una proporción de células plasmáticas en médula ósea superior al 25%. En la presente serie, la cuantía del componente M sérico (que es más elevado que el de los otros estudios) y la cifra de Hb, sólo mostraron una tendencia hacia una progresión más temprana (Rosiñol *et al*, 2003).

En los pacientes con MQ que han evolucionado a MM sintomático, la tasa de respuestas alcanzada en las diferentes series ha oscilado entre el 52 y el 64% (Alexanian *et al*, 1988; Hjorth *et al*, 1993; Dimopoulos *et al*, 1993; Weber *et al*, 1997). Sin embargo, en las publicaciones anteriores no se especifica el grado de respuesta alcanzado. En la serie actual la tasa de respuestas fue del 63%. Sin embargo, cabe destacar que sólo el 43% correspondían a respuestas parciales, mientras que el 57% de los pacientes no respondieron o bien mostraron únicamente una respuesta mínima a la quimioterapia inicial. Los pacientes con un MQ de tipo “progresivo” mostraron una tendencia a una mayor tasa de respuesta que los de tipo no progresivo (53% vs 21%), si bien esta diferencia no llegó a alcanzar significación estadística, probablemente por el limitado número de pacientes incluidos en cada grupo. Cabe señalar, además, que cuatro de siete pacientes de la presente serie que fueron sometidos a tratamiento intensivo con quimioterapia a dosis elevadas seguido de rescate con progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (autotrasplante) no respondieron o solo alcanzaron una respuesta mínima. En conjunto, los resultados del presente estudio indican que la respuesta del MQ al tratamiento es relativamente escasa, incluso si se administra quimioterapia a dosis elevadas. Sin embargo, a pesar de la relativa mala respuesta al tratamiento, la supervivencia mediana

tras la progresión es ligeramente superior a la de la población general con mieloma (Bladé *et al*, 2001). Ello confirma la naturaleza indolente de la enfermedad, incluso tras la progresión. De hecho, la mediana de supervivencia desde el momento del diagnóstico es superior a los 8 años.

Una situación similar se da en la serie de Hjorth *et al* (1993), con una tasa global de respuestas del 52% en el grupo asignado a tratamiento inicial y del 53% en el grupo aleatorizado a tratamiento diferido. Cabe destacar que en el grupo de tratamiento diferido la tasa de respuestas fue superior en los pacientes en los que se constató un aumento del componente M antes de iniciar el tratamiento comparado con aquellos en los que el componente M permaneció estable (81% vs 27%, $p < 0,01$). En este sentido, se podría especular que el grupo en el que se observó un aumento en el componente M en el momento de la transformación tal vez correspondiese al MQ de tipo “progresivo” descrito en la presente tesis y en este sentido la mayor tasa de respuestas en este grupo coincidiría con los resultados del presente trabajo. En el trabajo de Hjorth *et al* (1993), la supervivencia global desde el momento del diagnóstico fue de 52 meses. De otro lado, en la serie de Grignani *et al* (1996), la supervivencia fue de 58 meses para el grupo asignado a tratamiento diferido frente a 54 meses para el grupo de tratamiento inicial.

En suma, en este primer trabajo se identifican dos subtipos de MQ: el tipo “progresivo”, caracterizado por un aumento continuado del componente M, antecedente de GMSI en la mayoría de los casos, mayor frecuencia de la paraproteína de tipo IgA y una rápida evolución a MM sintomático y el tipo “no progresivo” o clásico, caracterizado por un componente M estable hasta la transformación, ausencia de una fase previa de GMSI y una progresión tardía a MM sintomático. En ambos casos, el patrón de progresión consiste en anemia y/u osteólisis en ausencia de insuficiencia renal, hipercalcemia o plasmocitomas extramedulares. En el MQ la respuesta al tratamiento es relativamente escasa, en particular en el tipo “no progresivo”.

En el segundo trabajo que conforma esta tesis se estudiaron las alteraciones citogenéticas mediante HGC en un grupo de 15 pacientes con MQ (7 de tipo “progresivo” y 8 de tipo “no progresivo”) (Rosíñol *et al*, 2005). Los hallazgos citogenéticos apoyan la distinta naturaleza de las dos variantes de MQ. Así, el MQ “no progresivo” muestra un patrón caracterizado por múltiples ganancias cromosómicas, mientras que las pérdidas son infrecuentes. Por el contrario, en el MQ “progresivo” los cambios más frecuentes corresponden a deleciones de 8p, 13q, 14q y 16q, que se detectan en el 43% de los casos, y a ganancias de 1q, presentes en el 57% de los casos. De hecho, ningún paciente con MQ clásico mostró ganancias de 1q. El patrón citogenético del MQ “progresivo” es similar al que caracteriza al

MM sintomático (Avet-Loiseau *et al*, 1997; Cigudosa *et al*, 1998; Gutiérrez *et al*, 2001, 2004; Liebisch *et al*, 2003).

Si tenemos en consideración que las anomalías citogenéticas que se detectan en el MM pueden ser detectadas en la fase de GMSI (Fonseca *et al*, 2002,2004; Gutiérrez *et al*, 2004) y que, probablemente, la mayoría de los MQ “progresivos” tienen una fase previa de GMSI, cabe pensar que en el MQ “progresivo” estas alteraciones citogenéticas ya se han adquirido en la fase previa de GMSI. Al menos desde el punto de vista citogenético podemos considerar al MQ “progresivo” como un auténtico MM que evoluciona lentamente desde su origen como GMSI. Por el contrario, el MQ “no progresivo” consistiría en una entidad que se origina como tal, permanece estable durante años y que probablemente precise un segundo fenómeno oncogénico que de lugar a un MM sintomático. En este sentido, las ganancias de 1q se han asociado a progresión tumoral y a un pronóstico desfavorable (Sawyer *et al*,1998; Debes-Marun *et al*, 2003; Nakagawa *et al*, 2003). Por otro lado, las ganancias de 1q se asocian a deleciones de 13q y 16q, hallazgos de reconocido valor pronóstico adverso en el MM (Nakagawa *et al*, 2003; Gutiérrez *et al*, 2004).

En resumen, el MQ de tipo “progresivo” muestra un patrón citogenético caracterizado por múltiples pérdidas cromosómicas y ganancias en 1q, hallazgos que son propios del MM sintomático. Por el contrario, en el tipo clásico, las pérdidas cromosómicas son infrecuentes y no se observan ganancias en 1q. El distinto patrón citogenético observado en la dos variantes de MQ sugiere que los tipos “progresivo” y “no progresivo” no solo tienen una historia natural distinta sino también un mecanismo patogenético diferente.

La identificación de dos subgrupos de MQ con un comportamiento clínico-biológico bien diferenciado y la observación de que el MQ progresivo evoluciona desde la fase de GMSI nos ha llevado a estudiar la posible existencia de dos patrones evolutivos en los pacientes con GMSI. Así, en una amplia serie de 359 pacientes diagnosticados de GMSI y seguidos durante más de tres años en nuestra institución hemos podido identificar dos subtipos de GMSI: la GMSI “no progresiva”, caracterizada por un componente M estable y una baja probabilidad de transformación (10% a los 10 años) y la GMSI “progresiva”, caracterizada por un aumento del componente M y una elevada tasa de transformación (80% a los 10 años). De hecho, la naturaleza “progresiva” constituye el factor de riesgo más importante para la transformación en el análisis multivariante, con un valor predictivo mayor que el tipo IgA y la cuantía del componente M (Rosinol *et al*, Blood 2005).

Así, pues, a la luz de las observaciones derivadas de la presente tesis doctoral existirían dos tipos de gammapatías monoclonales asintomáticas: las de tipo “progresivo” y las de tipo “no progresivo”. Las de tipo “progresivo” se originarían en la fase de GMSI y evolucionarían lentamente a MM sintomático pasando por una fase de transición de MQ de tipo progresivo. Por el contrario, las gammapatías monoclonales de tipo “no progresivo” se originarían bien en la fase de GMSI o bien en la fase de MQ, permanecerían estables durante largo tiempo, y únicamente evolucionarían a MM sintomático como consecuencia de un segundo fenómeno oncogénico (Figura 3). Si bien las GMSI de tipo “no progresivo” suelen permanecer estables durante muchos años, en el MQ este segundo evento ocurre siempre, probablemente porque tiene una mayor masa plasmocelular y resulta más probable que una clona tumoral escape a los mecanismos reguladores que frenaban su crecimiento.

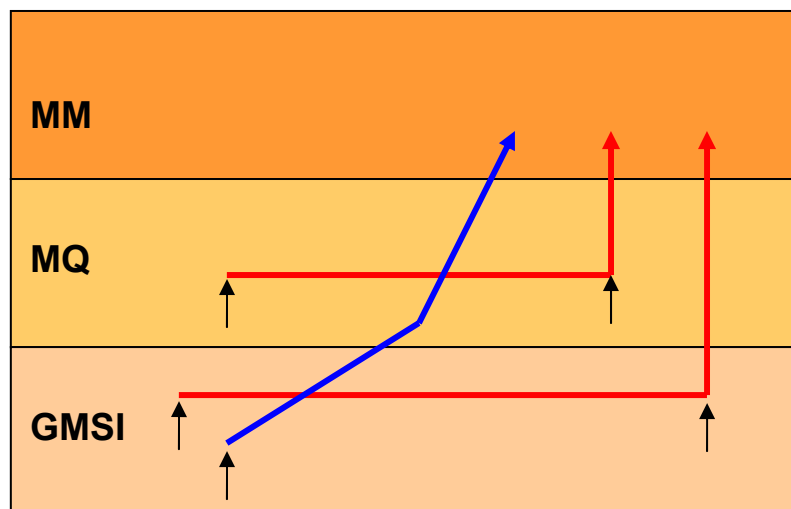


Figura 3. Representación de la patogénesis de los dos tipos de gammapatías monoclonales.

Una vez que ha aparecido una gammapatía monoclonal, los factores que limitan la expansión/progresión de la clona tumoral se desconocen. En las gammapatías monoclonales de tipo “progresivo” los mecanismos limitantes de la progresión de la clona tumoral no existirían e, independientemente de la masa plasmocelular inicial, todos los pacientes acabarían presentando inexorablemente a MM sintomático. De hecho, estos pacientes tendrían un mieloma lentamente progresivo desde el diagnóstico de la gammapatía monoclonal. No cabe duda de que las nuevas técnicas de estudio molecular contribuirán a profundizar en el conocimiento tanto de la patogénesis de las gammapatías monoclonales como de sus mecanismos de progresión. Cabe esperar que con ello se identifiquen nuevas dianas moleculares frente a las cuales se pueda actuar desde un punto de vista terapéutico evitando la progresión a mieloma múltiple sintomático.

VI. CONCLUSIONES

1. Desde un punto de vista evolutivo se han identificado dos variantes de mieloma quiescente: 1) el tipo “progresivo” caracterizado por un aumento continuado del componente M, antecedente de GMSI, mayor frecuencia de paraproteína de tipo IgA y rápida evolución a MM sintomático y 2) el tipo “no progresivo” caracterizado por un componente M estable hasta el momento de la transformación, ausencia de una fase previa de GMSI y progresión tardía a MM sintomático.
2. El patrón de progresión del mieloma quiescente consiste en anemia y/u osteolisis en ausencia de insuficiencia renal, hipercalcemia o plasmocitomas extramedulares.
3. En el mieloma quiescente, la respuesta al tratamiento es escasa, en particular en el tipo “no progresivo”.
4. El hecho de que, a pesar de la mala respuesta al tratamiento, los pacientes con MQ tengan una supervivencia tras la progresión superior a la de la población general con mieloma confirma la naturaleza indolente de la enfermedad, incluso tras su evolución a mieloma sintomático.
5. El MQ de tipo “progresivo” tiene alteraciones citogenéticas propias del MM sintomático como son ganancias de 1q y delección de 13q.
6. El MQ de tipo “no progresivo” se caracteriza por presentar ganancias cromosómicas entre las que no se observan ganancias de 1q, siendo las delecciones cromosómicas muy infrecuentes.
7. El distinto patrón citogenético sugiere que las dos variantes de MQ tienen un mecanismo patogenético diferente.

VII. BIBLIOGRAFIA

Ackermann J, Meidlinger P, Zojer N, Gisslinger H, Ludwig H, Huber H, Drach J. Absence of p53 deletions in bone marrow plasma cells of patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* 1998;103:1161-1163.

Alexanian R, Haut A, Khan AU, et al. Treatment for multiple myeloma: combination chemotherapy with different melphalan dose regimens. *JAMA* 1969; 208: 1680-1685.

Alexanian R, Barlogie B, Dixon D. Prognosis of asymptomatic multiple myeloma. *Arch Intern Med* 1988;148:1963-1965.

Alexanian R, Dimopoulos MA, Hester J, Delasalle K, Champlin R. Early myeloablative therapy for multiple myeloma. *Blood* 1994; 84: 4278-4282.

Alexanian R, Weber D, Giralt S, Dimopoulos M, Delasalle K, Smith T, Champlin R. Impact of complete remission with intensive therapy in patients with responsive multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:1037-1043.

Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, Casassus P, Maisonneuve H, Facon T, Ifrah N, Payer C, Bataille R. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* 1996; 335: 91-97.

Attal M, Harousseau JL, Facon T, Guilhot F, Doyen C, Fuzibet JG, Monconduit M, Hubin C, Caillot D, Bouabdallah R, Voillat L, Sotto JJ, Grosbois B, Bataille R; Intergroupe Francophone du Myelome. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003;349:2495-2502.

Avet-Loiseau H, Andree-Ashley LE, Moore D 2nd, Mellerin MP, Feusner J, Bataille R, Pallavicini MG. Molecular cytogenetic abnormalities in multiple myeloma and plasma cell leukemia measured using comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1997a; 19: 124-133.

Avet-Loiseau H y Bataille R. Detection of nonrandom chromosomal changes in multiple myeloma by comparative genomic hybridization. *Blood* 1998a; 92: 2997-2998.

Avet-Loiseau H, Facon T, Daviet A, Gordon C, Rapp MJ, Harousseau JL, Grosbois B, Bataille R. 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy

of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myelome. *Cancer Res* 1999a;59:4546-4550.

Avet-Loiseau H, Daviet A, Saumer S, Bataille R. Chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol* 2000;111:1116-1117.

Avet-Loiseau H, Gerson F, Magrangeas F, Minvielle S, Harousseau JL, Bataille R. Rearrangements of the c-myc oncogene are present in 15% of primary human multiple myeloma tumors. *Blood* 2001a;98:3082-3086.

Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B, Magrangeas F, Rapp MJ, Harousseau JL, Minvielle S, Bataille R and Intergroupe Francophone du Myelome. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002;99:2185-2191.

Badrós A, Barlogie B, Morris C, et al. High response rate in refractory and poor-risk multiple myeloma after allotransplantation using nonmyeloablative conditioning regimen and donor lymphocyte infusion. *Blood* 2001; 97: 2574-2579.

Baldini L, Guffanti A, Cesana BM, Colombi M, Chiorboli O, Damilano I, Maiolo AT. Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. *Blood*. 1996;87(3):912-918.

Barlogie B, Smith L, Alexanian R. Effective treatment of advanced multiple myeloma refractory to alkylating agents. *N Engl J Med* 1984; 310: 1353-1356.

Barlogie B, Kyle RA, Anderson KC, Greipp PR, Lazarus HM, Hund DD, McCoy J, Dakhil SR, Lanier KS, Chapman RA, Cromer JN, Salmon SE, Durie B, Crowley JC. Standard chemotherapy compared with high-dose chemoradiotherapy for multiple myeloma: final results of phase III US Intergroup Trial S9321. *J Clin Oncol* 2006; 24:929-936.

Bataille R, Boccadoro M, Klein B, Durie B, Pileri A. C-reactive protein and beta-2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood* 1992;80:733-737.

Bataille R, Barlogie B, Lu ZY, Rossi JF, Lavabre-Bertrand T, Beck T, Wijdenes J, Brochier J, Klein B. Biologic effects of anti-interleukin-6 murine monoclonal antibody in advanced multiple myeloma. *Blood* 1995; 86: 685-691.

Bensinger WI, Buckner CD, Anasetti C, Clift R, Storb R, Barnett T, Chauncey T, Shulman H, Appelbaum FR. Allogeneic marrow transplantation for multiple myeloma: an analysis of risk factors on outcome. *Blood* 1996; 88: 2787-2793.

Bentz M, Dohner H, Werner CA, Huck K, Baudis M, Joos S, Schlegelberger B, Trumper LH, Feller AC, Pfreundschuh, M. Identification of genetic imbalances in malignant lymphoma using comparative genomic hybridization. *Stem Cells*; 1995: 13 Suppl, 83-87.

Bergsagel PL, Chesi M, Brents LA, Kuehl WM. Translocations into IgH switch regions-the genetic hallmark of multiple myeloma. *Blood* 1995; 86:223-223.

Bergsagel PL, chesi M, Nardini E, Brents LA, Kirby SL, Kuehl WM. Promiscuous translocations into immunoglobulin heavy chain switch regions in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:13931-13936.

Bergsagel PL, Kuehl WM. Chromosomal translocations in multiple myeloma. *Oncogene* 2001;20:5611-5622.

Bergsagel PL, Kuehl WM. The molecular biology of multiple myeloma. In: *Myeloma: Biology and Management*. 3rd ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC, Eds. Saunders, Philadelphia 2004a;pp:35-58.

Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, Sawyer J, Barlogie B, Shaughnessy J. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenetic event in multiple myeloma. *Blood* 2005; 106:296-303.

Bezieau S, Devilder MC, Avet-Loiseau H, Mellerin MP, Puthier D, Pennarun E, Rapp MJ, Harousseau JL, Moisan JP, Bataille R. High incidence of N- and K-ras activating mutations in multiple myeloma and primary plasma cell leukaemia at diagnosis. *Hum Mutat* 2001;18:212-224.

Bezieau S, Avet-Loiseau H, Moisan JP, Bataille R. Activating Ras mutations in patients with plasma-cell disorders: a reappraisal. *Blood* 2003;100:1101-1102.

Bladé J, Rozman C, Montserrat E, Cervantes F, Feliu E, Grañena A, Marin P, Nomdedeu B. Treatment of resistant multiple myeloma with vincristine, BCNU, doxorubicin and prednisone (VBAP). *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 1193-1197.

Bladé J, San Miguel JF, Sanz-Sanz MA, Alcalá A, hernandez JM, Martínez M, García-Conde J, Moro J, Ortega F, Fontanillas M. Treatment of melphalan-resistant multiple myeloma with vincristine; BCNU, doxorubicin, and high-dose dexamethasone (VBAD). *Eur J Cancer* 1992; 29A: 57-60.

Bladé J, Lust JA, Kyle RA. IgD multiple myeloma: presenting features, response to therapy and survival in a series de 53 patients. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2398--2404.

Bladé J. Presenting features and prognosis in 72 patients with multiple myeloma who were younger than 40 years. *Br J Haematol* 1996a;93:345-351.

Bladé J, Kyle RA, Greipp PR. Multiple myeloma in patients younger than 40 years. Report of 10 cases and review of the literature. *Arch Intern Med* 1996b; 156: 1463-1468.

Bladé J, Fernández-Llama P, Bosch F, Montoliu J, Lens XM, Montoto S, Cases A, Darnell A, Rozman C, Montserrat E. Renal failure in multiple myeloma. Presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Arch Intern Med* 1998; 158:1889-1893.

Bladé J, Esteve J, Rives S, Martinez C, Rovira M, Urbano-Ispizua A, Marin P, Carreras E, Montserrat E. High-dose therapy autotrasplantation / intensification vs continued standard chemotherapy in multiple myeloma in first remission. Results of a non-randomized study from a single institution. *Bone Marrow Transplant*. 2000;26:845-849.

Bladé J, San Miguel JF, Fontanillas M, Esteve J, Maldonado J, Alcalá A, Brunet S, Garcia-Conde J, Besalduch J, Moro MJ, Fernández-Calvo J, Conde E, Font L, Gardella S, Carnero M, Carbonell F, Martí JM, Hernández-Martín J, Ortega F, Besses C, Ribera JM, Trujillo J, Escudero ML, Rozman C, Estape J, Montserrat E. Increased conventional chemotherapy does not improve survival in multiple myeloma: long-term results of two PETHEMA trials including 914 patients. *Hematol J* 2001;2:272-278.

Bladé J, Rosiñol L, Sureda A, Ribera JM, Díaz-Mediavilla J, García-Larana J, Mateos MV, Palomera L, Fernández-Calvo J, Martí JM, Giraldo P, Carbonell F, Callis M, Trujillo J, Gardella

S, Moro MJ, Barez A, Soler A, Font L, Fontanillas M, San Miguel J. Programa para el estudio de la Terapéutica en Hemopatía Maligna (PETHEMA). High-dose therapy intensification versus continued standard chemotherapy in multiple myeloma: long-term results from a prospective randomized trial from the Spanish Cooperative Group PETHEMA. *Blood* 2005;106:3755-3759.

Boersma-Vreugdenhil GR, Knipers J, Van Strolen E, Peeters T, Michaux L, Hagemeyer A, Pearson PL, Clevers HC, Bast BJ. The recurrent translocation t(14;20)(q32;q12) in multiple myeloma results in aberrant expression of MAFB: a molecular and genetic analysis of the chromosomal breakpoint. *Br J Haematol* 2004; 126:355-363.

Börset MW, Brekke OL, Helseth E. TNF and IL-6 are potent growth factors for OH-2, a novel human myeloma cell line. *Eur J Haematol* 1994; 33: 31-37.

Bruno B, Patriarca F, Maloney D, et al. Autografting followed by non-myeloablative TBI-based allografting for treatment of multiple myeloma: A multi-center trial. [abstract] *Blood* 2002;100: 1642a.

Calasanz MJ, Cigudosa JC, Odero MD, García-Foncillas J, Marín J, Ardanaz MT, Rocha E, Gullon A. Hypodiploidy and 22q11 rearrangements at diagnosis are associated with poor prognosis in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 1997;98:418-425.

Cesana C, Klersy C, Barbarano L, Nosari AM, Crugnola M, Pungolino E, Gargantini L, Granata S, Valentini M, Morra E. Prognostic factor for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002;20:1625-1634.

Cigudosa JC, Pulivarti HR, Calasanz MJ, et al. Characterization of nonrandom chromosomal gains and losses in multiple myeloma by comparative genomic hybridization. *Blood* 1998; 91: 3007-3010.

Chesi M, Bergsagel PL, Brents LA, Smith CM, Gerhard DS, Kuehl WM. Dysregulation of cyclin D1 by translocation into an IgH γ switch region in two multiple myeloma cell lines. *Blood* 1996;88:674-681.

Chesi M, Nardini E, Brents LA, Schrock E, Ried T, Kuehl WM, Bergsagel PL. Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased

expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor 3. *Nat Genet* 1997;16:260-265.

Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO, Martinelli ML, Brents LA, Chen T, Schrock E, Ried T, Kuehl WM. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood* 1998;91:4457-4463.

Chesi M, Brents LA, Ely SA, Bais C, Robbiani DF, Mesri EA, Kuehl WM, Bergsagel PL. Activated fibroblast growth factor receptor 3 is an oncogene that contributes to tumor progression in multiple myeloma. *Blood* 2001;97:729-736.

Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, Brown J, Drayson MT, Selby PJ; Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. High dose therapy with haematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma: The MRC Myeloma VII randomized study. *N Engl J Med* 2003; 348:1875-1883.

Corradini P, Ladetto M, Voena C, Palumbo A, Inghirami G, Knowles DM, Boccadoro M, Pileri A. Mutational activation of N- and K-ras oncogenes in plasma cell dyscrasias. *Blood* 1993;81:2708-2713.

Corradini P, Inghirami G, Astolfi M, Ladetto M, Voena C, Ballerini P, Gu W, Nilsson K, Knowles DM, Boccadoro M, Pileri A, Dalla-Favera R. Inactivation of tumor suppressor genes, p53 and Rb1, in plasma cell dyscrasias. *Leukemia* 1994;8:758-767.

Debes-Marun C, Dewald G, Bryant S, Picken E, Santana-Dávila S, González-Paz N, Winkler JM, Kyle R, Gertz M, Witzig T, Dispenzieri A, Lacy M, Rajkumar S, Lust J, Greipp P, Fonseca R. Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. *Leukemia (Baltimore)* 2003;17:427-436.

Desikan R, Barlogie B, Sawyer J, Ayers D, Tricot G, Badros A, Zangari M, Munshi NC, Anaissie E, Spoon D, Siegel D, Jagannath S, Vesole D, Epstein J, Shaughnessy J, Fassas A, Lim S, Roberson P, Crowley J. Results of high-dose therapy for 1000 patients with multiple myeloma: durable complete remission and superior survival in the absence of chromosome 13 abnormalities. *Blood* 2000;95:4008-4010.

Dewald GW, Kyle RA, Hicks GA, Greipp PR. The clinical significance of cytogenetics studies in 100 patients with multiple myeloma, plasma cell leukemia or amyloidosis. *Blood* 1985;66:380-390.

Dewald GW, Thernau T, Larson D, Lee YK, Fink S, Smoley S, Paternoster S, Adeyinka A, Ketterling R, Van Dyke DL, Fonseca R, Kyle RA. Relationship of patient survival and chromosome anomalies detected in metaphase and/or interphase cells at diagnosis of myeloma. *Blood* 2005; 106:3553-3558.

Dimopoulos MA, Moulopoulos A, Smith T, Delasalle KB, Alexanian R. Risk of disease progression in asymptomatic multiple myeloma. *Am J Med* 1993; 94:57-61.

Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Weber D. Treatment of plasma cell dyscrasias with thalidomide and its derivatives. *J Clin Oncol* 2003; 21:4444 - 4454.

Dimopoulos MA, Spencer A, Attal M, Prince M, Harousseau JL, Dmoszynska A, Yu Z, Olesnyckyj, Zeldis J, Knight R. Study of Lenalidomide plus Dexamethasone versus Dexamethasone alone in relapsed or refractory multiple myeloma (MM): results of a phase 3 study (MM-010). *Blood* 2005; 106; 6a (abstract).

Drach J, Schuster J, Nowotny H, Angerler J, Rosenthal F, Fiegl M, Rothermundt C, Gsur A, Jager U, Heinz R, Lechner K, Ludwig H, Huber H. Multiple myeloma: high incidence of chromosomal aneuploidy as detected by interphase fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res* 1995;55:3854-3859.

Drach J, Angerler J, Schuster J, Rothermundt C, Thalhammer R, Haas OA, Jager U, Fiegl M, Geissler K, Ludwig H. Interphase fluorescence in situ hybridization identifies chromosomal abnormalities in plasma cells from patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 1995b;86:3915-3921.

Drach J, Ackermann J, Fritz E, Kromer E, Schuster R, Gisslinger H, DeSantis M, Zojer N, Fiegl M, Roka S, Schuster J, Heinz R, Ludwig H, Huber H: Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood* 1998; 92: 802-809.

Drach J, Kaufman H, Urbauer E, Schreiber S, Ackerman J, Huber H. The biology of multiple myeloma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:441-447.

Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood*. 2001 May 1;97(9):2900-2902.

Du Manoir S, Speicher MR, Joos S, Schrock E, Popp S, Kovacs G, Robert-Nicoud M, Lichter P, Cremer T. Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic in situ hybridization. *Hum Genet* 1993; 90: 590-610.

Durie BGM, Salmon SE, Moon TE. Pretreatment tumor mass, cell kinetics and prognosis in multiple myeloma. *Blood* 1980;55:364-372.

Facon T, Menard JF, Michaux JL, Euller-Ziegler L, Bernard JF, Grosbois B, Daragon A, Azais I, Courouble Y, Kaplan G, Laporte JP, De Gramont A, Duclos B, Leonard A, Mineur P, Delannoy A, Jouet JP, Bauters F. Prognostic factors in low tumour mass asymptomatic multiple myeloma: a report on 91 patients. The Groupe d'Etudes sur le Myelome (GERM). *Am J Hematol* 1995;48:71-75.

Facon T, Avet-Loiseau H, Guillemin G, Moreau P, Geneviève F, Zandecki M, Lai J, Leleu X, Jouet J, Bauters F, Harousseau J, Bataille R, Mary JY, and Intergroupe Francophone du Myelome. Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum b-2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy. *Blood* 2001;97:1566-1571.

Fassas AB, Spencer T, Sawyer J, Zangari M, Lee CK, Anissie E, Muwalla F, Morris C, Barlogie B, Tricot G. Both hypodiploidy and deletion of chromosome 13 independently confer poor prognosis in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002;118:1041-1047.

Ferland JP, Katsanian S, Divine M, Leblond V, Dreyfus F, Macro M, Arnulf B, Royer B, Mariette X, Pertruiset E, Belanger C, Janvier M, Chevret S, Bronet JC, Ravaud P, Group Myeloma-Autogreffe. High-dose therapy and autologous blood stem-cell transplantation compared with conventional treatment in myeloma patients aged 55 to 65 years: long-term results of a randomized control trial from the Group Myelome-Autogreffe. *J Clin Oncol* 2005;23:9227-9233.

Fonseca R, Witzig TE, Gertz MA, Kyle RA, Hoyer JD, Jalal SM, Greipp PR. Multiple myeloma and the translocation t(11;14)(q13;q32)- A report on 13 cases. *Br J Haematol* 1998a;101:296-301.

Fonseca R, Oken M, Greipp P. The t(4;14)(p16.3;q32) is strongly associated with chromosome 13 abnormalities of undetermined significance. *Blood* 2001a;98:1271-1272.

Fonseca R, Oken MM, Harrington D, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Kay NE, Van NB, Greipp PR, Dewald GW. Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy. *Leukemia* 2001b;15:981-986.

Fonseca R, Harrington D, Oken M, Kyle RA, Dewald G, Bailey R, Van Wier S, Henderson K, Hoyer J. Myeloma and the t(11;14)(q13;q32) represents a uniquely defined biological subset of patients. *Blood* 2002a;99:3735-3741.

Fonseca R, Bailey RJ, Ahmann GJ, Rajkumar SV, Hoyer JD, Lust JA, Kyle RA, Gertz MA, Greipp PR, Dewald GW. Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2002b;100:1417-1424.

Fonseca R, Harrington D, Oken M, Dewald G, Bailey R, Van Wier S, Henderson K, Blood E, Rajkumar SV, Kay N, Van Ness B, Greipp PR. Biologic and prognostic significance of interphase FISH detection of chromosome 13 abnormalities ($\Delta 13$) in multiple myeloma: an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Study. *Cancer Res* 2002c;62:715-720.

Fonseca R, Blood E, Rue M, Harrington D, Oken MM, Kyle RA, Dewald GW, Van Ness B, Van Wier SA, Henderson KJ, Bailey RJ, Greipp PR. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003a;101:4569-4575.

Fonseca R, Debes-Marun CS, Picken EB, Dewald GW, Bryant SC, Winkler JM, Blood E, Oken MM, Santana-Davila R, González-Paz N, Kyle RA, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR. The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood* 2003b;102:2562-2567.

Fonseca R. Cytogenetics in multiple myeloma. In: *Myeloma: Biology and Management*. 3rd ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC, Eds. Saunders, Philadelphia 2004a;pp:67-81.

Gahrton G, Svensson H, Cavo M, Apperly J, Bacigalupo A, Bjorkstrand B, Bladé J, Cornelissen J, de Laurenzi A, Facon T, Ljungman P, Michallet M, Niederwieser D, Powles R,

Reiffers J, Russell NH, Samson D, Schaefer UW, Schattenberg A, Tura S, Verdonck LF, Vernant JP, Willemze R, Volin L; European Group for Blood and Marrow Transplantation. Progress in allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma: a comparison between transplants performed 1983-93 and 1994-98 at European Group for Blood and Marrow Transplantation centres. *Br J Haematol* 2001;113:209-216.

Giralt S, Weber Aleman et al. Non-myeloablative conditioning with fludarabine/melphalan (FM) for patients with multiple myeloma (MM) [abstract]. *Blood* 1999;94 (suppl 1):347a.

Gregersen H, Mellemkjaer L, Ibsen JS, Dahlerup JF, Thomassen L, Sorensen HT. The impact of M-component type and immunoglobulin concentration on the risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica*. 2001 Nov;86(11):1172-1179.

Greipp PR, Witzig TE, Gonchoroff NJ, Habermann TM, Katzman JA, O'Fallon WM, Kyle RA. Immunofluorescence labeling indices in multiple myeloma and related monoclonal gammopathies. *Mayo Clin Proc* 1987;62:969-977.

Greipp PR, San Miguel JF, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shustik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. International Staging System for Multiple Myeloma. *J Clin Oncol* 2005;23:3412-3420.

Grignani G, Gobbi PG, Formisano R, Pieresca C, Ucci G, Brugnatelli S, Riccardi A, Ascari E. A prognostic index for multiple myeloma. *Br J of Cancer* 1996; 73: 1101-1107.

Gutiérrez NC, Hernández JM, García JL, Cañizo MC, González M, Hernández J, González MB, García-Marcos MA, San Miguel JF. Differences in genetic changes between multiple myeloma and plasma cell leukemia demonstrated by comparative genomic hybridization. *Leukemia* 2001;15:840-845.

Hallek M, Bergsagel PL, Anderson KC. Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood* 1998; 91: 3-21.

Harrison C, Mazullo H, Cheung K, Mehta A, Lachmann H, Hawkins P, Orchard K. Chromosomal abnormalities in systemic amyloidosis. Proceedings of the VIII International Myeloma Workshop. Banff, Alberta, Canada 2001, p 218.

Hayman SR, Bailey RJ, Jalal SM, Ahmann GJ, Dispenzieri A, Gertz MA, Greipp PR, Kyle RA, Lacy MQ, Rajkumar SV, Witzig TE, Lust JA, Fonseca R. Translocations involving heavy-chain locus are possible early genetic events in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood* 2001;98:2266-2268.

Herrington LJ, Weiss NS, Olshan AF. Epidemiology of myeloma. In: Myeloma: Biology and Management. 3rd ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC, Eds. Saunders, Philadelphia 2004;pp:117-157.

Hjorth M, Hellquist L, Holmberg E, Magnusson B, Rödger S, Westin J. Initial versus deferred melphalan – prednisone therapy for asymptomatic multiple myeloma stage I – A randomized study. *Eur J Haematol* 1993; 50: 95-102.

Kallionemi A, Kallionemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258, 818-821.

Klein B, Zhang X-G, Rossi JF. Cytokine, cytokine receptors, signal transduction in human multiple myeloma. En: Myeloma: Biology and Management. 2nd ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC. Oxford University Press, Oxford, 1998; pp: 70-88.

Königsberg R, Zojer N, Ackerman J, Kromer E, Kittler H, Fritz E, Kaufmann H, Nosslinger T, Riedl L, Gisslinger H, Jager U, Simonitsch I, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J. Predictive role of interphase cytogenetics for survival of patients with multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2000;18:804-812.

Königsberg R, Ackerman J, Kaufmann H, Zojer N, Urbauer E, Kromer E, Jager U, Gisslinger H, Schreiber S, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J. Deletions of chromosome 13q in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 2000b;14:1975-1979.

Kroger N, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Sayer HG, Renges H, Zabelina T, Fehse B, Togel F, Wittkowsky G, Kuse R, Zander AR. Autologous stem cell transplantation followed by a dose-reduced allograft induces high complete remission rate in multiple myeloma. *Blood* 2002;100:755-760.

Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer* 2002;2:175-187.

Kuppers R, Dalla-Favera R. Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene* 2001;20:5580-5594.

Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: natural history in 241 cases. *Am J Med* 1978;64:814-826.

Kyle R.A., Greipp P.R. Smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 1980; 302, 1347-1349.

Kyle RA. "Benign" monoclonal gammopathy: a misnomer? *J Am Soc Assoc* 1984;251:1849-1854.

Kyle RA. "Benign" monoclonal gammopathy-after 20 to 35 years of follow-up. *Mayo Clin Proc* 1993;68:26-36.

Kyle RA, Thernau TM, Rajkumar SV. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2002;346:564-569.

Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Thernau TM, Greipp PR. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2003a; 78: 21- 33.

Kyle RA, Bladé J, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. In: Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC, eds. *Myeloma: Biology and Management*. 3rd ed. Philadelphia, Saunders, 2004a; pp:315-352.

Kyle RA, Thernau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ III. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: the original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc* 2004b;79:859-866.

Kyle RA, Remstein E, Thernau T, Dispenzieri A, Kurtin P, Hodnefield J, Larson D, Plevak M, Melton III J, Rajkumar SV. The natural history of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 949a (abstract 3396).

Kyle RA, Thernau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, Dispenzieri A, Katzman JA, Melton III LJ. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) among persons 50 years of age or older. *NEJM* 2006 (in press).

Lacy MQ, Donovan KA, Heimbach JK, Ahman GJ, Lust JA. Comparison of interleukin-1-beta expression by in situ hybridization in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. *Blood* 1999;93:300-305.

Latreille J, Barlogie B, Johnson D, Drewinko B, Alexanian R. Ploidy and proliferative characteristics in monoclonal gammopathies. *Blood* 1982; 59: 43-46.

Liu P, Leong T, Quam L, Billadieu D, Kay NE, Greipp P, Kyle RA, Oken MM, Van Ness B. Activating mutations of N- and K-ras in multiple myeloma show different clinical associations: analysis of the Eastern Cooperative Oncology Group Phase III Trial. *Blood* 1996;88:2699-2706.

Lust JA, Lacy MQ, Zeldenrust SR, Dispenzieri A, Gertz MA, Greipp PR, Witzig TE, Geyer SM, Moon-Tasson LL, Rajkumar SV, Donovan KA: In smoldering/indolent myeloma patients treated with interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra), responders demonstrate a significantly increased time to progression and decreased C-reactive protein (CRP) compared with non-responders. *Blood* 2005; 106:721a (abstract).

Malgeri U, Baldini L, Perfetti V, Fabris S, vignarelli MC, Colombo G, Lotti V, Compasso S, Bogni S, Lombardi L, Maiolo AT, Neri A. Detection of t(4;14)(p16.3;q32) chromosomal translocation in multiple myeloma by reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of IgH-MMSET fusion transcripts. *Cancer Res* 2000;60:4058-4061.

Maloney D, Sahebi F, Stockerl-Goldstein KE, et al. Combining an allogeneic graft vs. myeloma effect with high dose autologous stem cell rescue in the treatment of multiple myeloma. [abstract]. *Blood* 2001; 98:1822a.

Mariette X, Zagdanski AM, Guermazi A, Bergot C, Arnould A, Fria J, Brouet JC, Fermand JP. Prognostic value of vertebral lesions detected by magnetic resonance imaging in patients with stage I multiple myeloma. *Br J Haematol* 1999, 104: 723-729.

Montoto S, Bladé J, Montserrat E. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2002; 346:2087-2088 (Letter).

Moreau P, Facon T, Leleu X, Morineau N, Huyghe P, Harousseau JL, Batalille R, Avet-Loiseau H. Recurrent 14q32 translocations determine the prognosis of multiple myeloma, especially in patients receiving intensive chemotherapy. *Blood* 2002;100:1579-1583.

Moulopoulos LA, Dimopoulos MA, Smith TL, Weber DM, Delasalle KB, Libshitz HI, Alexanian R. Prognostic significance of magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1995; 13:251-256.

Myeloma Trialist's Collaborative Group. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6633 patients from 27 randomized trials. *J Clin Oncol* 1998;16:3832-3842.

Myeloma Trialist's Collaborative Group. Interferon as therapy for multiple myeloma: a individual patient data overview of 24 trials and 4012 patients. *Br J Haematol* 2001; 113: 475-489.

Myeloma Trialist's Collaborative Group. Interferon as therapy for multiple myeloma: an individual patient data overview of 24 trials and 4012 patients. *Br J Haematol* 2001;113:475-489.

Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121:749-757.

Nadal E, Gine E, Bladé J, Esteve J, Rosiñol L, Fernández-Avilés F, Marín P, Martínez C, Rovira M, Urbano-Ispizua A, Carreras E, Montserrat E. High-dose therapy/stem cell autotransplantation in patients with chemosensitive myeloma: predictors of complete remission. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:61-64.

Neri A, Baldini L, Trecca D, Cro L, Polli E, Maiolo AT. P53 gene mutations in multiple myeloma are associated with advanced forms of malignancy. *Blood* 1993;81:128-135.

Nishida K, Tamura A, Nakazawa N, Ueda Y, Abe T, Matsuda F, Kashima K, Taniwaki M. The Ig heavy chain gene is frequently involved in chromosomal translocations in multiple myeloma and plasma cell leukemia as detected by in situ hybridization. *Blood* 1997;90:526-534.

Ocqueteau M, Orfao A, Almeida J, Bladé J, González M, García-Sanz R, López-Berges C, Moro MJ, Hernández J, Escribano L, Caballero D, Rozman M, San Miguel J. Immunophenotypic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. *Am J Pathol* 1998;152:1655-1664.

Ortega MM, Melo MB, De Souza CA, Lorand-Metze I, Costa FF, Lima CS. A possible role of the p53 gene deletion as a prognostic factor in multiple myeloma. *Ann Hematol* 2003; 82: 405-409.

Paccagnella A, Sileni VC, Soesan M, et al. Second and third responses to the same induction regimen in relapsing patients with multiple myeloma. *Cancer* 1991; 68: 975-980.

Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, Merla E, Capparella V, Callea V, Cangialosi C, Gasso M, Rossini F, Galli M, Catalana L, Zamagni E, Petrucci MT, De Stefano V, Ceccarelli M, Ambrosini MT, Avonto I, Falco P, Ciccone G, Liberati AM, Musto P, Boccadoro M; Italian Multiple Myeloma Network, GIMEMA. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 825-831.

Pantou D, Rizou H, Tsarouha H, Pouli A, Papanastasiou K, Stamatellou M, Trangas T, Pandis N, Bardi G. Cytogenetic manifestations of multiple myeloma heterogeneity. *Genes Chromosomes and Cancer* 2005; 42:44-57.

Pasqualetti P, Casale R. Risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Biomed Pharmacother.* 1997;51(2):74-78.

Peggs KS, Williams CD, Chopra R, et al. Non-myeloablative allogeneic transplantation with adjuvant dose scalated donor lymphocyte infusions for multiple myeloma [abstract]. *Blood* 2000;96:781a.

Pérez-Andrés M, Almeida J, Martín-Ayuso M, Moro MJ, Martín-Núñez G, Galende J, Borrego D, Rodríguez MJ, Ortega F, Hernández J, Moreno I, Domínguez M, Mateo G, San Miguel JF, Orfao A. Clonal plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma and plasma cell leukemia show different expression profiles of molecules involved in the interaction with the immunological bone marrow microenvironment. *Leukemia* 2005;19:449-455.

Pérez-Simón JA, García-Sanz R, Tabernero D, Almeida J, González M, Fernández-Calvo J, Moro MJ, Hernández JM, San Miguel JF. Prognostic value of numerical chromosome aberrations in multiple myeloma: a FISH analysis of 15 different chromosomes. *Blood* 1998; 91: 3366-3371.

Pérez-Simón JA, Martino R, Alegre A, Brunet S, Urbano A, Caballero MD, Sureda A, Sierra J, San Miguel JF. Chronic but not acute graft-versus-host disease improves outcome in multiple myeloma patients after non-myeloablative allogeneic transplantation. *Br J Haematol* 2003; 121:104-108.

Pérez-Simón JA, Sureda A, Fernández-Avilés F, Sampol A, Cabrera JR, Caballero MD, Martino R, Petit J, Tomás JF, Moraleta JM, Alegre A, Cañizo C, Brunet S, Rosiñol L, Lahuerta JJ, Díez-Martín JL, León A, García A, Vázquez L, Sierra J, San Miguel JF on behalf of GEM (Grupo Español de Mieloma). Reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation is associated with a high incidence of extramedullary relapses in multiple myeloma patients. *Leukemia* 2006; 20:542-545.

Piper J, Rutovitz D, Sudar D, Kallionemi A, Kallionemi OP, Waldman FM, Gray JW, Pinkel D. Computer image analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry* 1995; 19, 10-26.

Pollet BP, Trudel S, Stern D, Li Z, Stewart AK. Overexpression of the myeloma-associated oncogene fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) confers dexamethasone resistance. *Blood* 2002, 100:3919-3821.

Preudhomme C, Facon T, Zandecki M, Vanrumbe M, Lai JL, Nataf E, Loucheux LMH, Kerckaert JP, Fenaux P. Rare occurrence of p53 gene mutations in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1992;81:440-443.

Rajkumar SV, Fonseca R, Dewald GW, Thernau TM, Lacy MQ, Kyle RA et al. Cytogenetic abnormalities correlate with the plasma cell labeling index and extent of bone marrow involvement in myeloma. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;113:73-77.

Rajkumar SV, Hayman S, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR, Geyer S, Iturria N, Fonseca R, Lust JA, Kyle RA, Witzig TE. Combination therapy with thalidomide plus dexamethasone for newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol* 2002;20:4319-4323.

Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ 3rd, Bradwell AR, Clark RJ, Larson DR, Plevak MF, Dispenzieri A, Katzman JA. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2005a Aug 1;106(3):812-817.

Richardson P, Jagannath S, Schlossman R, et al. A multicenter randomized phase 2 study to evaluate the efficacy and safety of CC-5013 dose regimens when used alone or in combination with dexamethasone for the treatment of relapsed or relapsed refractory multiple myeloma. [abstract] *Blood* 2003a;102:825a.

Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin D, Rajkumar SV, Srkalovic G, Alsina M, Alexanian R, Siegel D, Orlowski RZ, Kuter D, Limentari SA, Lee S, Hideshima T, Esseltine DL, Kauffman M, Adams J, Schenkein DP, Anderson KC. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med* 2003b; 348: 2609-2617.

Richardson P, Anderson K. Immunomodulatory analogs of thalidomide: an emerging new therapy in myeloma. *J Clin Oncol* 2004a;22:3212-3214.

Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T, Harousseau JL, Ben-Yeuda D, Lonial S, Goldschmidt H, Reece D, San Miguel JF, Bladé J, Boccadoro M, Cavenagh J, Dalton WS, Boral A, Esseltine D, Porter JB, Schenkein D, Anderson KC for the Assessment of Proteasome Inhibition for Extending Remissions (APEX) Investigators. *N Engl J Med* 2005;352:2487-2498.

Rosiñol L, Bladé J, Esteve J, Aymerich M, Rozman M, Montoto S, Giné E, Nadal E, Filella X, Queralt R, Carrió A, Montserrat E. Smoldering multiple myeloma: natural history and recognition of an evolving type. *Br J Haematol* 2003; 123: 631-636.

Rosiñol L, Cibeira MT, Bladé J, Esteve J, Aymerich M, Rozman M, Segarra M, Cid MC, Filella X, Montserrat E. Extramedullary multiple myeloma escapes the effect to thalidomide. *Haematologica* 2004;89:832-836.

Rosiñol L, Carrió A, Bladé J, Queralt R, Aymerich A, Cibeira MT, Esteve J, Rozman M, Campo E, Montserrat E. Comparative genomic hybridisation identifies two variants of smoldering multiple myeloma. *Br J Haematol* 2005a; 130:729-732.

Rosiñol L, García-Sanz R, Lahuerta JJ, Hernández-García M, Sureda A, de la Rubia J, Ribera JM, Hernández-Ruiz B, Carreras D, Navarro I, García-Ruiz JC, Gardella S, García-Laraña J,

Díaz-Mediavilla J, San Miguel JF, Bladé J. High-dose therapy/stem cell support (HDT), including tandem transplant, for primary refractory multiple myeloma (MM): results from the Spanish Myeloma Group (PETHEMA/GEM) in 49 patients. *Blood* 2005b; 106:456b (abstract).

Rosiñol L, Lahuerta J.J., Sureda A, de la Rubia J, García-Laraña J, Hernández-García M, Hernández-Ruíz B, Pérez-Simón JA, Bello JL, Carrera D, Peñarrubia MJ, Abella E, León A, Poderós C, García-Ruiz JC, Besalduch J, Martínez-Martínez R, Pérez-Fernández I, Ribas P, Escalante F, San Miguel J, Bladé J. Feasibility and efficacy of a planned second transplant (“auto” or “mini-allo”) intensification in patients with multiple myeloma not achieving complete remission (CR) or near-CR with a first autologous transplant: results from a Spanish PETHEMA/GEM study. 10th International Myeloma Workshop. *Blood* 2005;106;128a (abstract).

Rosiñol L, Bladé J, Cibeira MT, Montoto S, Esteve J, Rozman M, Filella X, Montserrat E. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): predictors of outcome and recognition of an evolving type. *Blood* 2005d; 106: 345b (abstract).

San Miguel JF, García-Sanz R, González M, Orfao A. Immunophenotype and DNA content in multiple myeloma. *Baillière's Clinical Haematology* 1995a; 8: 735-759.

San Miguel JF, García-Sanz R, González M, Moro MJ, Hernández JM, Ortega F, Borrego D, Carnero M, Casanova F, Jimenez R. A new staging system for multiple myeloma based on the number of S-phase plasma cells. *Blood* 1995;85:448-455.

San Miguel JF, Fonseca R, Greipp PR. Prognostic factors and classification for multiple myeloma (Contribution to clinical management). In: *Myeloma: Biology and Management*. 3rd ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC, Eds. Saunders, Philadelphia 2004a; pp: 189-199.

San Miguel JF, García-Sanz R. Prognostic features of multiple myeloma. En: *Best Practice & Research Clinical Haematology. Advances in the Biology and Management of Plasma Cell Dyscrasias* 2005;18:569-583.

Santra M, Zhan F, Tian E, Barlogie B, Shaughnessy J. A subset of multiple myeloma harboring the t(4;14)(p16.3;q32) translocation lack FGFR3 expression but maintain an IgH/MMSET fusion transcript. *Blood* 2003;101:2374-2376.

Sawyer JR, Waldron JA, Jagannath S, Barlogie B. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple myeloma. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 82:41-49

Sawyer JR, Lukacs JL, Munshi N, Desikan KR, Singhal S, Mehta J, Siegel D, Shaughnessy J, Barlogie B. Identification of new nonrandom translocations in multiple myeloma with multicolor spectral karyotyping. *Blood* 1998;92:4269-4278.

Sawyer JR, Luckacs JL, Thomas EL, Swanson C, Goosen LS, Sammartino G, Gilliland JC, Munshi N, Tricot G, Shaughnessy JD, Jr, Barlogie B. Multicolor spectral karyotyping identifies new translocations and a recurring pathway for chromosome loss in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2001;112:167-174.

Schey SA, Fields P, Bartlett JB, Clarke IA, Ashan G, Knight RD, Streetly M, Dalglish AG. Phase I study of an immunomodulatory thalidomide analog (CC-4047) in relapsed/refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2004;22:3269-3276.

Schulteis B, Kramer A, Willer A, Hegenbart U, Goldschmidt H, Hehlman R. Analysis of p73 and p53 gene deletions in multiple myeloma. *Leukemia* 1999;13:2099-2103.

Seong C, Delasalle K, Hayes K, Weber D, Dimopoulos M, Swankowski J, Huh Y, Glassman A, Champlin R, Alexanian R. Prognostic value of cytogenetics in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1998;101:189-194.

Shaughnessy J, Tian E, Sawyer JR, Bumm K, Landes R, Badros A, Morris C, Tricot G, Epstein J, Barlogie B. High incidence of chromosome 13 deletion in multiple myeloma detected by multiprobe interphase FISH. *Blood* 2000;96:1505-1511.

Shaughnessy J, Jr, Tian E, Sawyer J, McCoy J, Tricot G, Jacobson J, Anaissie E, Zangari M, Fassas A, Muwalla F, Morris C, Barlogie B. Prognostic impact of cytogenetic and interphase fluorescence in situ hybridization defined chromosome 13 deletion in multiple myeloma: early results of total therapy II. *Br J Haematol* 2003;120:44-52.

Shou Y, Martelli ML, Gabrea A, Qi Y, Brents LA, Roschke A, Dewald G, Kirsch IR, Bergsagel PL, Kuehl WM. Diverse karyotypic abnormalities of the c-myc locus associated with c-myc dysregulation and tumor progression in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:228-233.

Smadja NV, Fruchart C, Isnard F, Louvet C, Dutel JL, Cheron N, Grange MJ, Monconduit M, Bastard C. Chromosomal analysis in multiple myeloma: cytogenetic evidence of two different diseases. *Leukemia (Baltimore)* 1998;12:960-969.

Smadja N.V, Bastard C, Brigaudeau C, Leroux D, Fruchart C. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2001;98:2229-2238.

Smadja NV, Leroux D, Soulier J, Dumont S, Arnould C, Taviaux S, Taillemite JL, Bastard C. Further cytogenetic characterization of multiple myeloma confirms that 14q32 translocations are a very rare event in hyperdiploid cases. *Gene Chromosomes and Cancer* 2003;38:234-239.

Tabernero D, San Miguel JF, García-Sanz R, Najera L, Garcia-Isidoro M, Pérez-Simón JA, González M, Wiegant J, Raap AK, Orfao A. Incidence of chromosome numerical changes in multiple myeloma. Fluorescence in situ hybridization analysis using 15 chromosome-specific probes. *Am J Pathology* 1996; 149: 153-161.

Tricot G, Barlogie B, Jagannath S, Bracy D, Mattox S, Vesole DH, Naucke S, Sawyer JR. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with other karyotype abnormalities. *Blood* 1995;86:4250-4256.

Vande Berg BC, Lecouvet FE, Michaux L, Labaisse M, Malghem J, Jamart J, Maldague BE, Ferrant A, Michaux JL. Stage I multiple myeloma: value of MRI of the bone marrow in the determination of prognosis. *Radiology* 1996; 201: 243-246.

Vesole DH, Barlogie B, Jagannath S, Cheson B, Tricot G, Alexanian R, Crowley J. High-dose therapy for multiple myeloma: improved prognosis with better supportive care and double transplants. *Blood* 1994; 84: 950-956.

Vesole DH, Tricot G, Jagannath S, Desikan KR, Siegel D, Bracy D, Miller L, Cheson B, Crowley J, Barlogie B. Autotransplants in multiple myeloma: what have we learned?. *Blood* 1996; 88: 838-847.

Weber D, Dimopoulos MA, Moulopoulos LA, Delasalle KB, Smith T, Alexanian R. Prognostic features of asymptomatic multiple myeloma. *Br J Haematol* 1997;97:810-814.

Weber D, Rankin K, Gavino M, Delasalle K, Alexanian R. Thalidomide alone or with dexamethasone for previously untreated multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2003;21:16-19.

Weiss MM, Hermsen M A J A, Meijer G A, Van grieken N C T, Baak J P A, Kuipers E J, Van Diest P J. Comparative genomic hybridisation. *J Clin Pathol:Mol Pathol* 1999; 52: 243-251.

Wisloff F, Andersen P, Brandt E, Eika C, Fjaestad K, Gronvold T, Holm B, Lovasen K, Tjonnfjord GE. Incidence and follow-up of asymptomatic multiple myeloma. *Eur J Haematol* 1991;47:338-341.

Witzig TE, Gonchoroff NJ, Katzman JA, Thernau TM, Kyle RA, Greipp PR. Peripheral blood B cell labeling indices are a measure of disease activity in patients with monoclonal gammopathies. *JCO* 1988;6:1041-1046.

Witzig TE, Kyle RA, O'Fallon WM, Greipp PR. Detection of peripheral blood plasma cells as a predictor of disease course in patients with smouldering multiple myeloma. *Br J Haematol* 1994;87:266-272.

Zandecki M, Obein V, Bernardi F, Soenen V, Flactif M, Lai JL, Francois M, Facon T. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: chromosomal changes are a common finding within bone marrow plasma cells. *Br J Haematol* 1995;90:693-696.

Zandecki M. Multiple myeloma: almost all patients are cytogenetically abnormal. *Br J of Haematol* 1996; 94:217-227.

Zojer N, Königsberg R, Ackerman J, Fritz E, Dallinger S, Kromer E, Kaufmann H, Riedl L, Gisslinger H, Schreiber S, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J. Deletion of 13q14 remains an independent adverse prognostic variable in multiple myeloma despite its frequent detection by intrphase fluorescence in situ hybridization. *Blood* 2000;95:1925-1930.

