



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Factores pronósticos en pacientes con amiloidosis sistémica por cadenas ligeras

Luis Gerardo Rodríguez Lobato

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACTORES PRONÓSTICOS EN PACIENTES CON AMILOIDOSIS SISTÉMICA POR CADENAS LIGERAS

Tesis presentada por

Luis Gerardo Rodríguez Lobato

Para optar el grado de Doctor en Medicina

Directores de la tesis:

Dr. Carlos José Fernández de Larrea Rodríguez
Dr. Joan Bladé Creixenti

Tutor de la tesis:

Dr. Carlos José Fernández de Larrea Rodríguez

Facultad de Medicina
Universitat de Barcelona
Marzo 2018

DEDICATORIAS

A mis padres,
que siempre me han guiado en la vida,
con su ilimitado apoyo, consejo y amor.

Nunca podré agradecerles
todo lo que me han dado,
sin ustedes no sería lo que soy.

A mi hermana Erika,
consejera y complice de vida.

A Carlos Fernández de Larrea,

primer contacto con las gammapatías monoclonales,
ejemplo de médico, investigador y persona.

Motivador principal de esta tesis doctoral.

Gracias por todos los consejos, la ayuda, la comprensión,
el interés y la confianza que depositaste en mí,
pero principalmente por tu amistad.

Al Doctor Joan Bladé,

invaluable pilar en la Hematología,

mentor de diferentes generaciones de hematólogos.

Gracias por permitirme ser parte del quipo de gammapatías monoclonales

Su ejemplo como médico e investigador perdurará para siempre en mí.

A Maite Cibeira,

referente en amiloidosis de cadenas ligeras en España,

Gracias por todo tu apoyo y conocimiento brindado

para la realización de este tesis.

Al Doctor Jordi Esteve,
tutor en mis inicios en la Hematología,
ejemplo desde el punto de vista profesional y humano
Gracias por haberme dado la oportunidad de integrarme
en el servicio de Hematología del Hospital Clínic

Al Doctor Álvaro Urbano,
por haberme dado la oportunidad de integrarme en el
Instituto de Hematología y Oncología del Hospital Clínic

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros de la Unidad de Amiloidosis y Mieloma, en especial a Laura Rosiñol, Jordi Yagüe, Juan Ignacio Aróstegui, Montserrat Elena, de los servicios de Inmunología y Bioquímica, por todo su apoyo técnico, logístico y científico durante la elaboración de la presente tesis doctoral

A todos los médicos adjuntos y becarios del servicio de Hematología, por brindar y compartir siempre sus conocimientos y destrezas en el ámbito asistencial, científico y docente. En particular a Montse Rovira, Francesc Fernández, Carmen Martínez, Gonzalo Gutiérrez, María Suárez-Lledó, Anna Gaya, Marina Díaz, Armando López-Guillermo, Eva Giné, Julio Delgado, Tycho Baumann, Alfredo Rivas, Ignacio Isola, Ivan Dlouhy y Arturo Pereira.

A mis compañeros residentes de Hematología, en particular a Valentín Ortíz-Maldonado, Gabriela Bastidas, Xisca Guijarro, Ana Moreno, Pablo Mozas, Juan Correa y Miguel Ángel Torrente por su ayuda, consejo y compañía durante esta etapa.

A todo el personal de la Unidad de Hematopatología, en particular a María Rozman, Josep Lluís Aguilar, Marta Aymerich, Neus Villamor, Dolors Colomer y Laura Magnano, con quienes compartí un periodo enriquecedor durante mi residencia.

A todo el personal de enfermería y administrativo de los servicios de Hematología, Hemostasia y Hemoterapia, y de la Unidad de Hematopatología.

A los pacientes y sus familiares.

A todos aquellos que me han acompañado durante mi camino en Barcelona, en especial a Lilia, Gaby, Mauricio, Alfredo, Mayra, Xavi, Jorge, Serena, Roberto, Diego, Jose y especialmente a Henrietta, por que sin ustedes mi vida no sería la misma.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AA	Amiloidosis secundaria o reactiva
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AL	Amiloidosis de cadenas ligeras
ARN	Ácido ribonucleico
BMDex	Bortezomib / melfalán / dexametasona
BNP	Péptido natriurético tipo B
BOC	Banda oligoclonal
CP	Células plasmáticas
CRAB	Hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas líticas
CRD	Ciclofosfamida / lenalidomida / dexametasona
CTD	Ciclofosfamida / talidomida / dexametasona
CyBorD	Ciclofosfamida / bortezomib / dexametasona
dFLC	Diferencia entre la cadena ligera libre involucrada y no involucrada
EMG	Electromiograma
FE	Fracción de eyección
FLC	Cadenas ligeras libres
FLCr	Cociente de cadenas ligeras libres
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GM	Gammapatía monoclonal
GMSI	Gammapatía monoclonal de significado incierto
iFISH	Hibridación fluorescente <i>in situ</i> en interfase
Ig	Inmunoglobulina
IMiD	Inmunomodulador

IMWG	International Myeloma Working Group
IP	Inmunoparesia
MBRP	Muy buena respuesta parcial
MDex	Melfalán / dexametasona
MM	Mieloma múltiple
MO	Médula ósea
MMQ	Mieloma múltiple quiescente
MRD	Melfalán / lenalidomida / dexametasona
MRT	Mortalidad relacionada al trasplante
MW	Macroglobulinemia de Waldenström
NA	No alcanzado
NR	No respuesta
NT-proBNP	Propéptido natriurético cerebral N-terminal
NYHA	Clasificación de la New York Heart Association
Pd	Pomalidomida / dexametasona
RC	Remisión completa
Rd	Lenalidomida / dexametasona
RG	Respuesta global
RH	Respuesta hematológica
RO	Respuesta orgánica
RP	Respuesta parcial
SAP	Componente amiloide P sérico
SG	Supervivencia global
SLP	Supervivencia libre de progresión
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
TAPH	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

TFGe Tasa de filtrado glomerular estimada

TTR Transtiretina

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. Amiloidosis	3
1.1. Concepto	3
1.2. Nomenclatura y clasificación	3
2. Amiloidosis sistémica de cadenas ligeras	4
2.1. Concepto	4
2.2. Epidemiología	5
2.3. Patogénesis	6
2.3.1. Formación y depósito de amiloide	6
2.3.2. Mecanismo de daño tisular	7
2.3.3. Alteraciones genéticas	7
2.4. Relación con otras gammapatías monoclonales	8
2.5. Características clínicas	9
2.5.1. Corazón	9
2.5.2. Riñón	10
2.5.3. Hígado y tracto gastro-intestinal	10
2.5.4. Sistema nervioso periférico y autónomo	10
2.5.5. Tejidos blandos	11
2.5.6. Hemostasia	11
2.6. Diagnóstico	12
2.6.1. Biopsia tisular	12
2.6.2. Diagnóstico histopatológico – identificación del amiloide	13
2.6.3. Determinación del tipo de amiloide	13
2.6.4. Evaluación de la extensión y daño orgánico	17

2.7.	Factores pronósticos y estadificación	20
2.7.1.	Impacto pronóstico del daño cardíaco	21
2.7.2.	Impacto pronóstico de las cadenas ligeras libres séricas	22
2.7.3.	Otros factores pronósticos en estudio	22
2.7.4.	Modelos pronóstico	26
2.8.	Tratamiento	27
2.8.1.	Conceptos generales	27
2.8.2.	Valoración de la respuesta	28
2.8.3.	Tratamiento inicial	31
2.8.4.	Enfermedad recaída o refractaria	38
2.8.5.	Trasplante de órgano sólido	44
2.8.6.	Tratamiento de soporte	46
II.	HIPÓTESIS	49
III.	OBJETIVOS	53
IV.	RESULTADOS	57
a.	Trabajo 1: Impacto del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en la incidencia y pronóstico de las bandas oligoclonales en pacientes con amiloidosis de cadenas ligeras.	59
i.	Resumen	61
ii.	Separata	63
b.	Trabajo 2: Impacto pronóstico de la inmunoparesia al diagnóstico y tras el tratamiento en pacientes con amiloidosis de cadenas ligeras	71
i.	Resumen	73
ii.	Separata	75
c.	Trabajo 3: Infiltración de células plasmáticas en la médula ósea en la amiloidosis de cadenas ligeras: impacto sobre la	

afección orgánica y el pronóstico	85
i. Resumen	87
ii. Separata	89
V. DISCUSIÓN	97
VI. CONCLUSIONES	111
VII. BIBLIOGRAFÍA	115

I. INTRODUCCIÓN

1. AMILOIDOSIS

1.1. Concepto

La amiloidosis es un término genérico utilizado para describir un grupo heterogéneo y poco frecuente de síndromes que se caracterizan por el depósito extracelular de amiloide, el cual es un material fibrilar insoluble derivado de distintos precursores proteicos con una conformación de hoja β plegada (Merlini & Bellotti, 2003; Sipe *et al.*, 2014). El amiloide se puede producir a partir de proteínas anómalas (amiloidosis hereditaria y amiloidosis de cadenas ligeras [AL]), por exceso de una proteína normal durante un tiempo prolongado (reactiva [AA], y asociada a hemodiálisis), y acompañando al proceso de envejecimiento (sistémica senil o por transtiretina no mutada) (Wechalekar *et al.*, 2016).

1.2. Nomenclatura y clasificación

La nomenclatura se basa en la proteína fibrilar amiloidea denominada proteína A, seguido de un sufijo que es la forma abreviada de la proteína precursora (Sipe *et al.*, 2014). Actualmente se conocen más de 30 proteínas amiloidogénicas, las cuales producen un síndrome clínico distinto. Sin embargo, solo 5 formas de amiloidosis son las más comunes, siendo la amiloidosis de cadenas ligeras o AL la más frecuente de todas (Tabla 1) (Palladini & Merlini, 2013; Sipe *et al.*, 2014).

Tabla 1. Formas más frecuentes de amiloidosis (Palladini & Merlini, 2013; Sipe *et al.*, 2014).

Proteína fibrilar	Proteína precursora	Localización	Adquirida o hereditaria	Órganos
AL	Inmunoglobulina de cadena ligera	S, L	A, H	Todos excepto SNC
AA	Amiloide A	S	A	Todos excepto SNC
ATTR	Transtiretina, "wild type"	S	A	Corazón (varones), ligamentos y tejido sinovial
	Transtiretina, variantes	S	H	SNP, SNA, corazón, ojo
AApoAI	Apolipoproteína A I, variantes	S	H	Corazón, testículos, hígado, SNP, riñón

A: adquirido; H: hereditaria; L: localizado; S: sistémico; SNA: sistema nervioso autónomo; SNC: sistema nervioso central; SNP: sistema nervioso periférico.

2. AMILOIDOSIS SISTÉMICA DE CADENAS LIGERAS

2.1. Concepto

La amiloidosis sistémica de cadenas ligeras (AL) es una gammapatía monoclonal (GM), que se caracteriza por la expansión clonal de células plasmáticas (CP) productoras de cadenas ligeras kappa o lambda (Swerdlow *et al.* 2008). El *International Myeloma Working Group* (IMWG) ha publicado un documento de consenso donde se establecen la clasificación y los criterios diagnósticos de las diferentes GM (Tabla 2) (International Myeloma Working Group, 2003; Rajkumar *et al.*, 2014). Recientemente se ha demostrado que existe un estado precursor de la amiloidosis AL (gammapatía monoclonal de significado incierto [GMSI]), el cual es detectable por laboratorio antes de la aparición clínica de la enfermedad, lo que podría potencialmente incrementar el diagnóstico precoz y mejora en el pronóstico de la misma (Dispenzieri *et al.*, 2010a; Kyle *et al.*, 2014).

Tabla 2. Clasificación de las gammopatías monoclonales.

I. Gammopatías monoclonales malignas
<ul style="list-style-type: none"> A. Mieloma múltiple <ul style="list-style-type: none"> 1. Mieloma múltiple sintomático 2. Mieloma quiescente 3. Leucemia de células plasmáticas 4. Mieloma no secretor 5. Síndrome de POEMS (mieloma osteosclerótico)
<ul style="list-style-type: none"> B. Plasmocitoma localizado <ul style="list-style-type: none"> 1. Plasmocitoma óseo solitario 2. Plasmocitoma extramedular
C. Macroglobulinemia de Waldenström
D. Enfermedades de las cadenas pesadas y ligeras
E. Amiloidosis de cadenas ligeras
II. Gammopatía monoclonal de significado incierto
A. Gammopatía monoclonal idiopática (significado incierto)
B. Gammopatías monoclonales transitorias en contexto de inmunodepresión

2.2. Epidemiología

La amiloidosis AL es una enfermedad infrecuente con una incidencia difícil de calcular. Sin embargo, se estima entre 3-10 casos por millón de personas por año, con un ligero predominio en varones (60%) (Hemminki *et al.*, 2012; Kyle *et al.*, 1992; Pinney *et al.*, 2013). Al igual que otras GM, la incidencia se incrementa con la edad, con una mediana de presentación de 64 años. Al diagnóstico, el 60% de los pacientes tienen entre 50 y 70 años de edad y solo el 10% tienen menos de 50 años (Kyle & Gertz, 1995).

2.3. Patogénesis

2.3.1. Formación y depósito del amiloide

El mecanismo de formación del amiloide aún no es completamente conocido. En el caso de la amiloidosis AL, las fibrillas de amiloide derivan de la región *N*-terminal de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas (Ig) monoclonales íntegras o, como generalmente sucede, solo de una porción del dominio variable (V_L) (Booth *et al.*, 1997; Merlini & Bellotti, 2003), el cual generalmente se encuentra mutado, lo que genera baja estabilidad de plegado y una dinámica proteica incrementada, favoreciendo su agregación (Merlini, 2017). Aunque todas las cadenas ligeras monoclonales son estructuralmente únicas, solo una pequeña proporción de ellas serán amiloidogénicas, siendo la cadena ligera lambda la más frecuentemente asociada con la formación de amiloide, con un cociente aproximado de 3:1 en comparación con kappa (Booth *et al.*, 1997; Dispenzieri & Merlini, 2016; Gillmore *et al.*, 2015). La interacción con el ambiente extracelular puede producir escisión proteolítica y unión a diferentes componentes de la matriz extracelular, como los glicosaminoglicanos, elastina, entactina y colágeno IV, los cuales facilitan la agregación de los oligómeros protéicos mal plegados para favorecer la formación de fibrillas de amiloide (Dispenzieri *et al.*, 2012a; Kastritis & Dimopoulos, 2016; Merlini & Bellotti, 2003; Merlini *et al.*, 2011). El componente amiloide P sérico (SAP) se une a las fibrillas de amiloide y las protege de la reabsorción (Merlini & Bellotti, 2003). Otro factor importante es el aumento de la concentración de la proteína mal plegada, desplazando el equilibrio entre monómeros mal plegados, oligómeros y fibrillas hacia la formación de fibrillas (Kastritis & Dimopoulos, 2016; Merlini & Bellotti, 2003). En la microscopía electrónica, los depósitos de amiloide están compuestos por fibrillas protéicas rígidas de 7-13 nm de longitud, depositadas con una conformación hoja β plegada, que exhiben la característica afinidad por la tinción de rojo Congo con birrefringencia bajo luz polarizada (Merlini & Bellotti, 2003).

2.3.2. Mecanismos de daño tisular

En la actualidad se desconoce el mecanismo exacto de lesión celular, daño tisular y disfunción orgánica en la amiloidosis AL. Las fibrillas de amiloide se depositan en el espacio extracelular, reemplazando y destruyendo el parénquima de diferentes tejidos, lo cual genera finalmente disfunción orgánica (Merlini & Bellotti, 2003).

El segundo mecanismo es la toxicidad tisular directa que genera los oligómeros prefibrilares, principalmente en el cardiomiocito (Merlini & Bellotti, 2003). Los oligómeros prefibrilares pueden generar disfunción diastólica cardiaca al incrementar el estrés oxidativo mediado por la activación de p38 MAPK (Brenner *et al.*, 2004; Liao *et al.*, 2001; Shi *et al.*, 2010). Esta misma vía de señalización media la transcripción del péptido natriurético tipo B (BNP), lo que refleja la conexión entre los niveles séricos de BNP, la prohormona NT-proBNP y la cardiotoxicidad generada por el amiloide (Merlini, 2017; Shi *et al.*, 2010). En un modelo de pez cebra se ha demostrado que la proteotoxicidad inducida por las cadenas ligeras se debe a la alteración de la función lisosomal y la autofagia que genera (Guan *et al.*, 2014).

El organotropismo en la amiloidosis AL se cree que se debe a una función del gen de la región variable de la cadena ligera y a la familia de genes del clon (Merlini, 2017). Por ejemplo, el gen LV6-57 de la línea germinal se asocia a depósito renal, mientras que el LV1-44 se dirige preferentemente al corazón y KV1-33 al hígado (Kourelis *et al.*, 2017a; Merlini, 2017; Perfetti *et al.*, 2012).

2.3.3. Alteraciones genéticas

Las CP clonales en la amiloidosis AL tienen perfiles de alteraciones fenotípicas y de número de copias similares a las del mieloma. Sin embargo, no se han encontrado alteraciones genéticas características. El análisis de las CP en la amiloidosis AL a

través de hibridación fluorescente *in situ* en interfase (iFISH) ha demostrado que la anomalía genética más frecuente es la $t(11;14)(q13;q23)$, considerada de riesgo estándar en el mieloma múltiple (MM). Está presente en el 39-55% de los pacientes con amiloidosis AL, en comparación con solo el 15% de los pacientes con MM (Bochtler *et al.*, 2008; Bryce *et al.*, 2009; Harrison *et al.*, 2002). En cuanto a las alteraciones citogenéticas consideradas de alto riesgo como la $t(4;14)(p16;q23)$ y deleción $17p13$, se presentan con menor frecuencia en comparación con el MM (Bochtler *et al.*, 2008; Gertz *et al.*, 2005a). Existen otras alteraciones citogenéticas descritas en la amiloidosis AL, como son la deleción del $13q14$ (Harrison *et al.*, 2002) y las ganancias de $1q21$ (Bochtler *et al.*, 2008).

El análisis de perfiles de expresión génica de CP clonales altamente purificadas de pacientes con amiloidosis AL sugiere que la CP en la amiloidosis AL presenta un patrón mutacional de baja complejidad semejante a las CP normales (Paiva *et al.*, 2016; Rossi *et al.*, 2017) o CP de pacientes con GMSI (Abraham *et al.*, 2005). Todo esto refuerza el modelo de la amiloidosis AL como una GMSI con una proteína anómala que se deposita en los tejidos (Hayman *et al.*, 2001).

2.4. Relación con otras gammopatías monoclonales

La amiloidosis AL puede presentarse en pacientes con otras GM incluyendo MM y macroglobulinemia de Waldenström (MW). En el caso del MM, aproximadamente el 10% de los pacientes con amiloidosis AL tiene MM al momento del diagnóstico (Kyle & Gertz, 1995), y solo una minoría lo desarrollará en el futuro (Kyle *et al.*, 1992; Rajkumar *et al.*, 1998a). En el sentido inverso, en los pacientes diagnosticados de MM, 15-30% tendrán depósitos de amiloide subclínicos y del 10-15% tendrá sintomatología clínica asociada con el depósito de amiloide (Kourelis *et al.*, 2013; Madan *et al.*, 2010).

En pacientes con amiloidosis AL, el diagnóstico de MM se reservará a aquellos que tengan una infiltración $\geq 10\%$ CP en médula ósea (MO) y uno o más eventos definitorios de mieloma, conocidos por su acrónimo inglés CRAB (hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas líticas) (Kourelis *et al.*, 2013; Rajkumar *et al.*, 2014). En cuanto a la MW, la presencia de amiloidosis es una complicación infrecuente (4%) que se asocia a altas tasas de morbi-mortalidad. (Terrier *et al.*, 2008).

2.5. Características clínicas

Los depósitos en la amiloidosis AL pueden afectar casi cualquier órgano, exceptuando el cerebro, lo que derivará en una presentación clínica diversa, con una consecuente dificultad y retraso en el diagnóstico (Merlini, 2017; Wechalekar *et al.*, 2016).

La fatiga y la pérdida de peso son síntomas muy frecuentes pero poco específicos. Sin embargo, otras alteraciones orgánicas como el síndrome nefrótico con o sin insuficiencia renal, la cardiomiopatía restrictiva, la neuropatía sensitiva-motora y/o autonómica, así como la hepatomegalia, son frecuentes (Kyle & Gertz, 1995).

2.5.1. Corazón

El compromiso cardíaco se presenta en el 50-70% de los pacientes y es la principal causa de morbilidad y mortalidad (Falk, 2011; Kyle & Gertz, 1995; Merlini *et al.*, 2011). Se presenta en forma de cardiomiopatía restrictiva con signos de insuficiencia cardíaca derecha (edema, ingurgitación yugular, tercer ruido cardíaco, hepatomegalia congestiva y edemas periféricos) (Gillmore *et al.*, 2015; Wechalekar *et al.*, 2016), arritmias (prolongación del intervalo QRS, QTc y bloqueos intraventriculares), o signos de bajo gasto cardíaco, hipotensión arterial, síncope y muerte súbita, estos últimos como indicadores de enfermedad avanzada y asociados a peor pronóstico (Boldrini *et al.*, 2013; Gillmore *et al.*, 2015).

2.5.2. Riñón

Los riñones son los órganos que con mayor frecuencia se encuentran involucrados, alcanzando hasta un 70% de los pacientes (Kyle & Gertz, 1995). Se manifiesta como proteinuria glomerular que progresa a síndrome nefrótico, si bien la insuficiencia renal no es frecuente en el momento del diagnóstico. Entre la sintomatología se incluye edemas periféricos, astenia, fatiga, derrame pleural y/o pericárdico (Gillmore *et al.*, 2015; Wechalekar *et al.*, 2016).

2.5.3. Hígado y tracto gastro-intestinal

El daño hepático secundario al depósito de amiloide se detecta en un 20-25% de los pacientes, caracterizado por elevación de las enzimas colestásicas (fosfatasa alcalina principalmente) y la bilirrubina (Park *et al.*, 2003). La hepatomegalia se detecta en el 70% de los pacientes, sin embargo este hallazgo se puede deber a insuficiencia cardiaca congestiva y no a la presencia de infiltración hepática por amiloide (Kyle & Gertz, 1995; Park *et al.*, 2003). El isotipo kappa es más habitual en la afección hepática, detectándose hasta en el 40% de los casos; sin embargo, el isotipo lambda es el asociado a mayor agresividad y peor pronóstico (Park *et al.*, 2003; Russo *et al.*, 2011).

La clínica gastro-intestinal es infrecuente, presentándose en solo el 10% de los pacientes (Menke *et al.*, 1993). Las manifestaciones clínicas incluyen gastroparesia, estreñimiento, malabsorción, pseudo-oclusión intestinal, pérdida de peso, perforación y hemorragia (Menke *et al.*, 1993; Rowe *et al.*, 2017).

2.5.4. Sistema nervioso periférico y autónomo

La neuropatía periférica mixta sensorial y motora se presenta en el 20% de los pacientes y se caracteriza por daño axonal simétrico sensitivo que posteriormente puede progresar a motor. Se presenta en forma de parestesias, hipoestusias, dolor y

debilidad muscular (Haan, 1994; Kyle & Gertz, 1995; Rajkumar *et al.*, 1998b). La neuropatía autonómica se presenta en el 15% de los pacientes y se caracteriza por hipotensión ortostática, impotencia, anhidrosis, pérdida de peso y dismotilidad gastrointestinal (Haan, 1994; Kyle & Gertz, 1995; Rajkumar *et al.*, 1998b).

2.5.5. Tejidos blandos

La afección de tejidos blandos se presenta en el 10 a 15% de los pacientes. Su presencia puede sugerir fuertemente el diagnóstico de amiloidosis AL. Entre los signos y síntomas más característicos se encuentran: macroglosia, aumento de las estructuras submandibulares, linfadenopatías, claudicación mandibular, pseudohipertrofia muscular, depósitos articulares, signo de la almohadilla de grasa en hombro y el síndrome del túnel del carpo (Kyle & Gertz, 1995; Palladini & Merlini, 2013).

2.5.6. Hemostasia

La clínica hemorrágica se puede presentar hasta en un tercio de los pacientes, mientras que las alteraciones analíticas hemostáticas hasta en la mitad de ellos (Mumford *et al.*, 2000). Entre los principales factores patogénicos se encuentra la fragilidad vascular por el depósito endotelial de amiloide, la deficiencia del factor X por su adsorción a las fibrillas de amiloide a nivel hepático y esplénico, la disminución en la síntesis de otros factores de coagulación por daño hepático, hiperfibrinólisis y disfunción plaquetaria en forma de enfermedad de von Willebrand adquirida (Choufani *et al.*, 2001; Furie *et al.*, 1981; Sucker *et al.*, 2006). Las manifestaciones clínicas varían desde hemorragias leves como equimosis y púrpura (incluido el característico signo de púrpura periorbitaria [11%]), hasta hemorragias graves que pongan en riesgo la vida de los pacientes (Gillmore *et al.*, 2015).

2.6. Diagnóstico

El diagnóstico de amiloidosis sistémica AL requiere una alta sospecha diagnóstica. El diagnóstico generalmente se realiza de forma tardía, incluso hasta más de 1 año después de la aparición del cuadro clínico en el 40% de los pacientes. Este diagnóstico tardío representa un 25% de los pacientes que presentarán un daño cardíaco avanzado e irreversible y que fallecerán en los siguientes 12 meses tras el diagnóstico. Por este motivo, es crucial un diagnóstico oportuno (Merlini, 2017).

Se debe sospechar amiloidosis en cualquiera de las siguientes situaciones: proteinuria en rango nefrótico en pacientes no diabéticos, cardiomiopatía restrictiva o en insuficiencia cardíaca congestiva sin causa aparente, incremento de NT-proBNP en ausencia de enfermedad cardíaca primaria, edema inexplicado, hepatoesplenomegalia o síndrome del túnel del carpo, macroglosia y púrpura facial inexplicada (Gillmore *et al.*, 2015).

El diagnóstico y estadiaje requiere una serie de procedimientos que involucran los siguientes pasos: elegir el sitio a biopsiar, confirmar el depósito de amiloide, identificar el tipo de fibrilla, evaluar el trastorno amiloidogénico subyacente y la extensión y gravedad del daño orgánico (Fernández de Larrea *et al.*, 2015; Gillmore *et al.*, 2015; Wechalekar *et al.*, 2016).

2.6.1. Biopsia tisular

El diagnóstico de amiloidosis AL requiere la demostración de fibrillas de amiloide en algún órgano involucrado como el riñón o el hígado, o en alguna otra localización como la grasa subcutánea abdominal o la MO. La elección de la biopsia inicial debe tomar en consideración el rendimiento esperado, la accesibilidad del sitio y el riesgo asociado al procedimiento (Gillmore *et al.*, 2015). Generalmente la fuente inicial de

tejido es la punción y aspiración de grasa subcutánea abdominal, con una sensibilidad del 50-80% (Libbey *et al.*, 1983) y si se asocia a biopsia de MO, se eleva hasta 85-90% (Duston *et al.*, 1987, 1989; Miyazaki *et al.*, 2015). Cabe señalar, que la revisión exhaustiva por un patólogo con experiencia incrementa aún más la sensibilidad (>90%) (van Gameren *et al.*, 2006). La biopsia de algún órgano involucrado puede incrementar aún más el rendimiento (90-95%) (van Gameren *et al.*, 2006; Kyle & Gertz, 1995); sin embargo, hay un riesgo incrementado de sangrado, por lo que se debe considerar únicamente cuando no es posible demostrar la presencia de amiloide por otros métodos (Wechalekar *et al.*, 2016). Una alternativa es la biopsia rectal o de glándulas salivales labiales con un sensibilidad de 80-86% (Fatih *et al.*, 1999; Hachulla *et al.*, 1993) y de 58% en los casos previamente negativos para la aspiración de grasa subcutánea (Foli *et al.*, 2011). El resultado combinado negativo para amiloide de grasa subcutánea y glándula salival tiene un valor predictivo negativo superior al 90% (Fernández de Larrea *et al.*, 2015; Foli *et al.*, 2011).

2.6.2. Diagnóstico histopatológico – identificación del amiloide

El amiloide teñido con hematoxilina y eosina tiene una apariencia cerosa, amorfa y rosada, con un característico agrietamiento. Sin embargo, el diagnóstico se basa en la afinidad de las fibrillas de amiloide por la tinción de rojo Congo asociado con la birrefringencia verde manzana bajo el microscopio de luz polarizada (Glenner, 1980; Merlini & Bellotti, 2003).

2.6.3. Determinación del tipo de amiloide

La tipificación de la proteína responsable del amiloide es crucial, ya que determinará el diagnóstico y tratamiento específico (Leung *et al.*, 2012; Wechalekar *et al.*, 2016).

- **Inmunohistoquímica:** Es el método más utilizado, por ser ampliamente disponible, pese a que la sensibilidad y especificidad son aproximadamente del

60% debido a la presencia de Ig normal de fondo y por pérdida de los epítomos de la cadena ligera kappa o lambda durante la formación fibrilar o la fijación del tejido, que son reconocidos por el anticuerpo monoclonal (Gillmore *et al.*, 2015). Sin embargo, en centros experimentados tienen una alta sensibilidad y especificidad (90 y 100% respectivamente) (Schönland *et al.*, 2012). Existen anticuerpos disponibles para detectar la cadena ligera lambda, kappa, transtiretina y el componente amiloide A sérico (Gillmore *et al.*, 2015).

- **Microscopía inmunoelectrónica:** Combina la inmunohistoquímica con la microscopía electrónica con anticuerpos anti-proteína fibrilar marcados con oro. Tiene una sensibilidad del 76% (78% para kappa y 83% para lambda) y una especificidad del 100%. Sin embargo, su disponibilidad es limitada (Arbustini *et al.*, 1997; Fernández de Larrea *et al.*, 2015).
- **Espectrometría de masas:** Es el criterio de referencia para la tipificación del amiloide. Tiene una sensibilidad cercana al 100%. El uso sistemático en diagnóstico está disponible en muy pocos laboratorios (Brambilla *et al.*, 2012; Vrana *et al.*, 2009).
- **Análisis de ADN:** Utilizado principalmente para distinguir amiloidosis sistémicas de origen hereditario (Gillmore *et al.*, 2015; Merlini *et al.*, 2014).

2.6.4. Trastorno plasmocelular amiloidogénico subyacente

La evaluación o identificación del trastorno subyacente es el siguiente paso en el proceso diagnóstico de la amiloidosis AL. El diagnóstico requiere la evidencia de un trastorno proliferativo de CP monoclonales, demostrado por la presencia de una proteína monoclonal en suero o en orina, una proporción anómala de cadenas ligeras

libres en suero o células plasmáticas clonales en la MO (Gillmore *et al.*, 2015). La proteína monoclonal es IgG en el 35% de los casos, IgA en el 10%, IgM en el 5%, IgD en el 1% y cadenas ligeras (kappa o lambda) en el restante. El isotipo de cadena ligera monoclonal es lambda en el 70% de los casos, kappa en el 25% y biclonal en menos del 5% (Kyle *et al.*, 1997).

- **Electroforesis de proteínas séricas y urinarias:** La electroforesis de proteínas en suero detecta una proteína M hasta en el 50% de los pacientes con amiloidosis AL, siendo su cuantía <10 g/l en el 30% de los casos y < 20 g/l en el 70% (Kyle & Gertz, 1995).
- **Inmunofijación de proteínas séricas y urinarias:** La inmunofijación de proteínas logra identificar un componente monoclonal en más del 90% de los casos de amiloidosis AL, por lo que es crucial en aquellos casos con un componente monoclonal muy bajo (Gillmore *et al.*, 2015).
- **Cadenas ligeras libres séricas:** Se basa en el reconocimiento por anticuerpos específicos de epítomos crípticos en las cadenas ligeras que se encuentran ocultos conformacionalmente cuando la Ig intacta se encuentra ensamblada (Figura 1) (Bradwell *et al.*, 2009; Dispenzieri *et al.*, 2009). Por nefelometría se puede determinar cuantitativamente los niveles de las cadenas ligeras kappa y lambda, no unidas a cadenas pesadas, y establecer un cociente entre las dos fracciones libres. El valor de normalidad de dicho cociente se ha establecido entre 0,26 y 1,65 (Figura 2) (Bradwell *et al.*, 2002, 2009). La elevación de cadenas ligeras libres (FLC) detecta un cociente (FLCr) alterado hasta en el 98% de los pacientes con amiloidosis sistémica AL, incluyendo aquellos en los que no es posible detectar un componente monoclonal por electroforesis e inmunofijación de proteínas (Bradwell *et al.*, 2001; Lachmann *et al.*, 2003).

Figura 1. Estructura de las cadenas ligeras libres (Dispenzieri *et al.*, 2009).

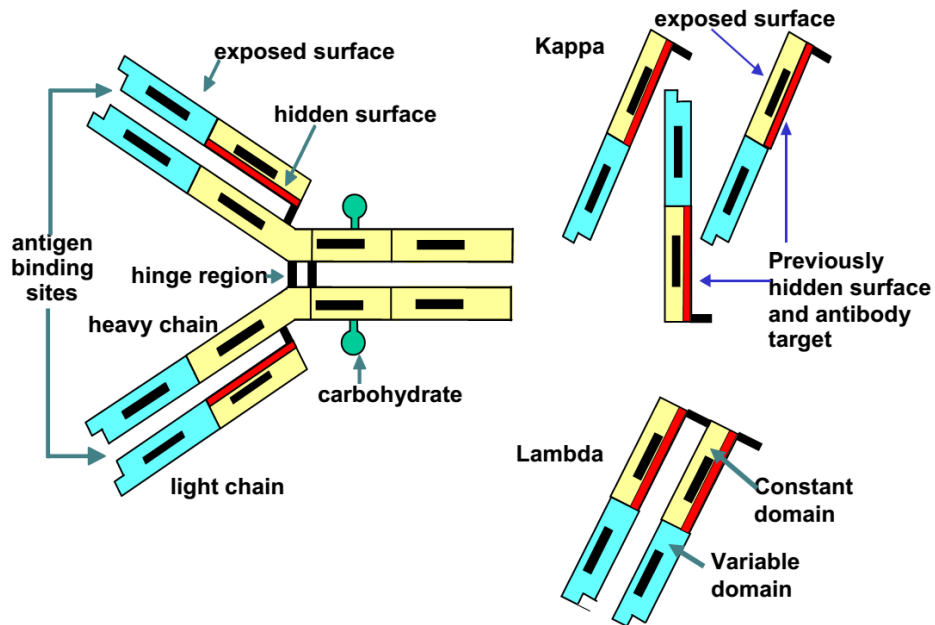
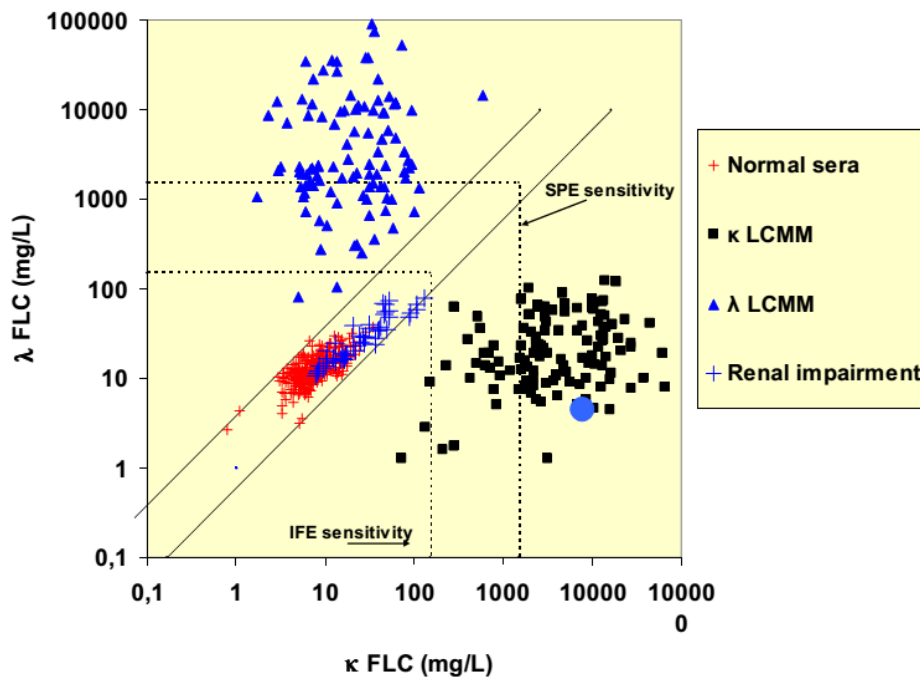


Figura 2. Concentraciones séricas de cadenas ligeras libres en individuos normales, pacientes con mieloma múltiple y pacientes con insuficiencia renal (Bradwell *et al.*, 2002, 2009).



La evaluación con inmunofijación sérica y urinaria, asociado al FLCr es la medida más sensible para detectar el componente monoclonal en pacientes con sospecha de amiloidosis AL (Palladini *et al.*, 2009).

- **Aspirado de médula ósea y biopsia ósea:** La mayoría de pacientes con amiloidosis sistémica AL tienen una pequeña clona de CP en MO con una actividad proliferativa baja y una mediana de infiltración del 7-10% (Gertz *et al.*, 1989; Kastritis & Dimopoulos, 2016). La clonalidad se puede establecer por inmunofenotipo o inmunohistoquímica hasta en el 97% de los casos (Paiva *et al.*, 2011).

2.6.5. Evaluación de la extensión y daño orgánico

Una vez se ha confirmado el diagnóstico de amiloidosis AL, debe evaluarse la extensión y la gravedad del daño orgánico. Esta valoración de la extensión y la gravedad es de mucha utilidad, ya que arroja información pronóstica, sobre el requerimiento de tratamiento de soporte y en la formulación de un plan de tratamiento adaptado al riesgo (Wechalekar *et al.*, 2016). En la tabla 3 se resume los criterios diagnósticos para daño orgánico relacionado a amiloide.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de consenso no invasivos actualizados para la afección orgánica relacionados con amiloide (Gertz & Merlini, 2010; Gertz *et al.*, 2005b).

Órgano	Criterio
Corazón	Grosor medio de la pared del ventrículo izquierdo >12mm por ecocardiograma, sin causa aparente NT-proBNP >332 ng/l en ausencia de insuficiencia renal o fibrilación auricular
Riñón	Proteinuria no Bence Jones >0,5 g/24h
Hígado	Hepatomegalia >15 cm en ausencia de insuficiencia cardíaca o Fosfatasa alcalina >1,5 veces el límite superior de lo normal
Sistema nervioso	Neuropatía periférica axonal, simétrica, sensitiva-motora de extremidades inferiores Neuropatía autonómica: trastorno de vaciamiento gástrico, pseudo-obstrucción, hipotensión postural, disfunción eréctil, disfunción miccional no relacionada con la infiltración directa orgánica
Gastrointestinal	Verificación directa por biopsia asociada a sintomatología clínica
Pulmón	Verificación directa por biopsia asociada a sintomatología clínica o Patrón radiográfico de infiltración intersticial
Tejido blando	Macroglosia, artropatía, cambios cutáneos, miopatía por biopsia o pseudohipertrofia muscular, linfadenopatía o síndrome del túnel del carpo

- **Cardíaco:** En el electrocardiograma se puede observar una disminución del voltaje a medida que se hipertrofia la pared ventricular (Carroll *et al.*, 1982), mientras que en el ecocardiograma se observan ventrículos no dilatados, con hipertrofia ventricular izquierda, derecha y de los tabiques interventriculares y auriculares, con el característico destello granular refractivo del amiloide (Koyama *et al.*, 2015). La resonancia magnética cardíaca muestra un realce global en la captación tardía de gadolinio a nivel subendocárdico (Thomson, 2008), con una buena sensibilidad y especificidad (80% y 94% respectivamente) (Ruberg *et al.*, 2009). Los biomarcadores cardíacos incluyen la troponina T y el NT-proBNP, o alternativamente el BNP; son requeridos en

todos los pacientes por su una alta sensibilidad cercana al 100% para daño miocárdico (Muchtar *et al.*, 2016a; Palladini *et al.*, 2003, 2010).

- **Renal:** Se evalúa a través del nivel sérico de creatinina o de la estimación del filtrado glomerular (TFGe) y con la orina de 24 horas para determinar el grado de proteinuria, principalmente albuminuria. El criterio diagnóstico de daño renal es la excreción de al menos 0,5 g de albúmina en la recolección de orina de 24 horas (Gertz *et al.*, 2005b). Se ha publicado recientemente un sistema de estadificación que discrimina 3 grupos con riesgo de progresión a diálisis, evaluando la proteinuria ≥ 5 g/24h y la TFGe < 50 mL/min/1,73m² (etapa renal I sin ningún factor; etapa renal II con un factor; etapa renal III con la presencia de ambos factores) (Palladini *et al.*, 2014a).
- **Hepático:** se determina principalmente midiendo la fosfatasa alcalina sérica ($>1,5$ veces el límite superior de la normalidad) y el tamaño hepático (>15 cm). Debe tomarse en cuenta que ambas determinaciones pueden alterarse en casos de insuficiencia cardíaca (Gertz & Merlini, 2010; Gertz *et al.*, 2005b).
- **Componente P de amiloide sérico (SAP) marcado con ¹²³I:** es un método que detecta el depósito de amiloide en hígado, riñones, bazo, glándulas suprarrenales y huesos. Tiene poco valor en la valoración cardíaca, gastrointestinal y en el sistema nervioso. Existe poca correlación con el nivel de captación y el grado de disfunción orgánica (Hawkins *et al.*, 1990; Sachchithanantham & Wechalekar, 2013).
- **Amiloidosis AL localizada:** constituye una forma especial de amiloidosis AL sin afección sistémica. Afecta principalmente al tracto urinario (21%), la vía respiratoria superior (14%), el tracto gastrointestinal y genital, así como la piel y

la órbita (Kourelis *et al.*, 2017b). Se caracteriza por la presencia de focos infiltrativos de células linfoplasmocitoides clonales. El diagnóstico se confirma a través de inmunohistoquímica o por espectrometría de masas. La electroforesis e inmunofijación de proteínas sérica y urinaria es negativa y el FLCr es normal (Gillmore *et al.*, 2015). El tratamiento se basa en la resección quirúrgica de la lesión o el seguimiento clínico con abstención terapéutica. El pronóstico en términos generales es favorable, con una supervivencia a los 10 años del 78% (Kourelis *et al.*, 2017b).

2.7. Factores pronóstico y estadiaje

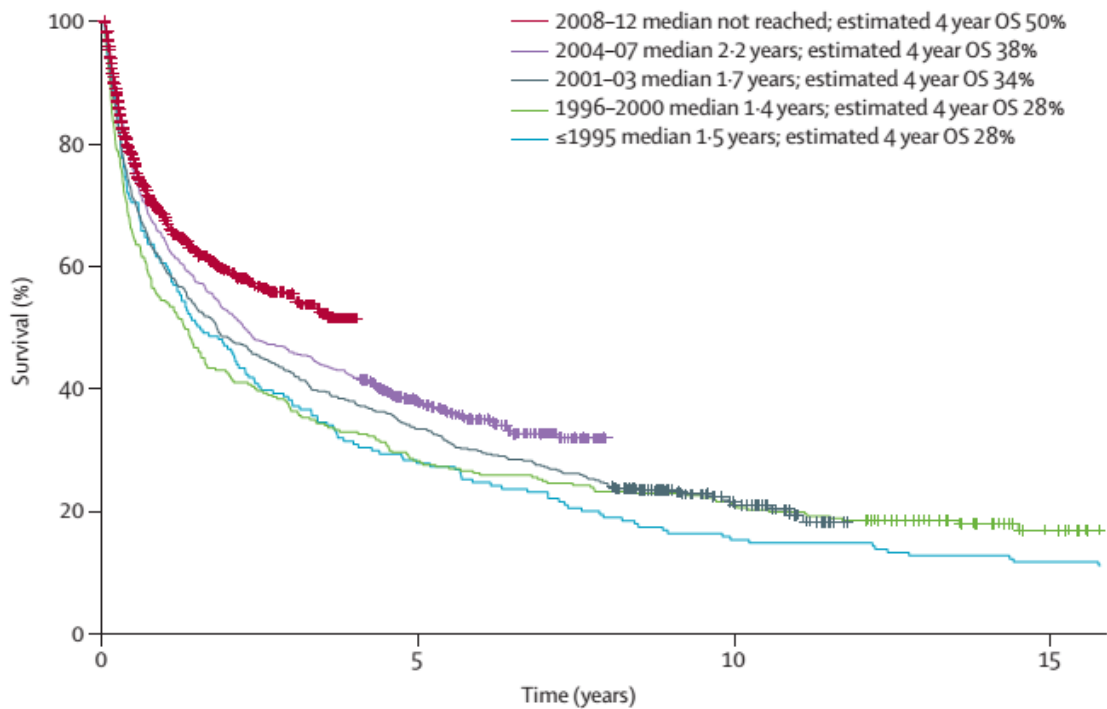
El pronóstico en esta enfermedad es extremadamente heterogéneo, basándose en el número de órganos afectados y extensión del daño orgánico (Merlini, 2017). En ausencia de tratamiento, la mediana de supervivencia fue de solo 8 meses en un artículo publicado en 1997 (Kyle *et al.*, 1997). Característicamente, las curvas de supervivencia presentan dos segmentos: una sección de caída brusca, que representa la alta tasa de mortalidad precoz secundaria al daño cardíaco; y una segunda sección, en el que toma mayor importancia el clon de CP, asociada a una respuesta subóptima y a recaídas hematológicas que conducen a un mayor deterioro orgánico (Kastritis & Dimopoulos, 2016).

En general, la supervivencia depende principalmente de dos factores: la extensión del daño orgánico (principalmente a nivel cardíaco) y de la biología / carga tumoral de la clona de CP (Merlini, 2017), los cuales predicen la habilidad de alcanzar una respuesta hematológica (RH) y orgánica (RO) (Gertz *et al.*, 2005b; Palladini *et al.*, 2012a).

A pesar del uso de nuevos fármacos y de realizar un diagnóstico precoz, la proporción de pacientes que mueren durante los primeros 12 meses posteriores al diagnóstico ha permanecido similar (30-40%) (Figura 3) (Dispenzieri *et al.*, 2015; Muchtar *et al.*,

2017a; Wechalekar *et al.*, 2016). Esta tasa de mortalidad temprana explica en gran parte por que los pacientes recién diagnosticados tienden a tener peores resultados que los pacientes con amiloidosis AL recidivante o refractaria (Warsame *et al.*, 2014) y el porqué de los diferentes factores de riesgo para mortalidad durante o tras el primer año (Kyle *et al.*, 1986).

Figura 3. Curvas de supervivencia que demuestran la mejoría en la supervivencia global de los pacientes con amiloidosis AL en el Reino Unido, pero no en la mortalidad temprana (Wechalekar *et al.*, 2016).



2.7.1. Impacto pronóstico del daño cardíaco

La extensión del daño cardíaco es el principal determinante de supervivencia, aunque el daño hepático sintomático y el autonómico influyen también en la supervivencia (Dingli *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2003). El daño cardíaco es determinado a través de los

niveles séricos de troponina T y el NT-proBNP, biomarcadores con pronóstico independiente entre sí, ya que el primero mide el daño tisular y el segundo el grado de estiramiento del miocito (Muchtar *et al.*, 2016a). Las ventajas potenciales de estos biomarcadores son: la reproducibilidad del ensayo, la facilidad de realización y su relativo bajo costo (Dispenzieri *et al.*, 2015). En caso de deterioro de la función renal (TFGe <30 mL/min/1,72m²) se debe determinar el nivel sérico de BNP en lugar del NT-proBNP (Palladini *et al.*, 2012b). Existen otros factores pronóstico descritos tales como los datos clínicos de insuficiencia cardiaca o síncope, asociados con una mediana de supervivencia de 4 a 6 meses (Gertz & Kyle, 1994; Gertz *et al.*, 1999; Wechalekar *et al.*, 2013).

2.7.2. Impacto pronóstico de las cadenas ligeras libres séricas

La diferencia entre los niveles séricos de cadena ligera libre involucrada y no involucrada (dFLC) es una medida indirecta de la carga tumoral y han demostrado su importancia pronóstica al diagnóstico (Dispenzieri *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2010), y en la reevaluación tras el tratamiento (Palladini *et al.*, 2012a). Por esto han sido incorporados en distintos sistemas de estadiaje.

2.7.3. Otros factores pronósticos en estudio

- **Grado de infiltración medular:** La mediana de infiltración de CP en amiloidosis AL se encuentra entre 7% y 10%; no obstante, en un 20% de pacientes será superior a 20% (Kyle & Gertz, 1995). Recientemente la Clínica Mayo demostró que el punto de corte del 10% afecta de forma decisiva el pronóstico (mediana de SG de 46 meses en pacientes con $\leq 10\%$ CPMO frente a 16 meses en aquellos con $>10\%$ CPMO) independientemente de la FLC y los biomarcadores cardiacos (Kourelis *et al.*, 2013). Sin embargo, este resultado no fue reproducido por el grupo de Boston (mediana de SG de 7,9 meses en

≤10% CPMO frente a 6,8 meses en >10% CPMO) (Dittus *et al.*, 2016). Debido a estos resultados contradictorios, en la actualidad aún se encuentra controversia para este factor pronóstico.

El papel de la citometría de flujo multiparamétrica en la MO de pacientes con amiloidosis sistémica AL ha sido evaluado por dos grupos internacionales. Paiva *et al.* demostró que la cuantificación de CPMO mediante inmunofenotipo por citometría de flujo fue un factor pronóstico significativo para la SG (≤1% frente a >1% de punto de corte, tasas de SG a 2 años del 90% frente al 44%, $P=0,02$) (Paiva *et al.*, 2011). En cambio, Muchtar *et al.* demostró que al diagnóstico, ≥2,5% de CP monotípicas se asociaron a una menor SLP y SG comparada con pacientes con <2,5% de CP monotípicas (SLP a los 2 años 41% frente a 56%, $P=0,007$; SG a los 2 años 55% frente a 70%, $P=0,01$) (Muchtar *et al.*, 2017b).

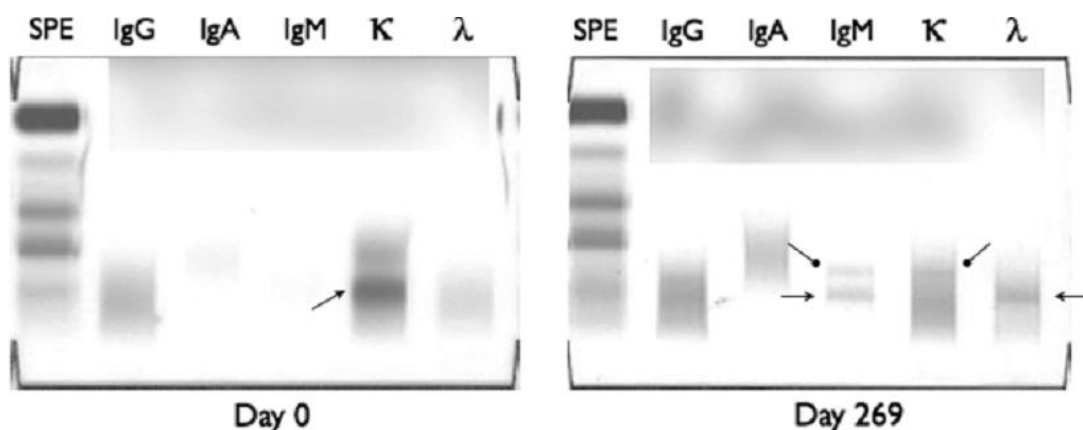
- **Biología de las CP:**

Se ha demostrado que ciertas alteraciones citogenéticas, determinadas por FISH, se correlacionan con peor pronóstico e incluso pudiesen utilizarse como factores predictores de respuesta al tratamiento. En este aspecto, la presencia de la $t(11;14)$ se ha asociado a una supervivencia libre de eventos y SG más corta (mediana 3,4 meses frente a 8,8 meses, $P=0,002$; 8,7 meses frente 40,7 meses, $P=0,05$; respectivamente) (Bochtler *et al.*, 2015). Se ha demostrado más recientemente que los pacientes que presentan esta translocación se benefician de un tratamiento intensivo con melfalán, asociado a un trasplante autólogo de progenitores hematopoyético (TAPH) que podría vencer su factor pronóstico desfavorable. En cambio, el uso de bortezomib o inmunomoduladores (IMiD), no logró superar este factor desfavorable (Bochtler *et al.*, 2016; Muchtar *et al.*, 2017c).

- **Inmunoparesia (IP):** La supresión de las Ig no involucradas o IP es un factor pronóstico adverso reconocido en las GM. En el MM, su incidencia varía del 65 al 91% (Kastritis *et al.*, 2014; Kawano *et al.*, 1989; Kyle *et al.*, 2003; Pruzanski *et al.*, 1980), asociándose a peores respuestas y a una disminución en la SLP y SG (Kastritis *et al.*, 2014). En el caso de la GMSI y al MM quiescente, la presencia de IP al diagnóstico se asocia a un alto riesgo de progresión a MM sintomático (Caers *et al.*, 2016; Cesana *et al.*, 2002; Kastritis *et al.*, 2013; Pérez-Persona *et al.*, 2007; Turesson *et al.*, 2014). En las gammopatías IgM (Andrade-Campos *et al.*, 2017) y en el plasmocitoma solitario (Katodritou *et al.*, 2014; Ozsahin *et al.*, 2006), también se ha demostrado su valor pronóstico adverso. Recientemente, se ha demostrado que la recuperación de las Ig policlonales al año tras el TAPH en pacientes con MM, podría ser un marcador predictor independiente asociado a una mejor supervivencia (González-Calle *et al.*, 2017). En amiloidosis sistémica AL, el impacto de la IP únicamente ha sido evaluado en dos series, en las que se ha asociado a una menor tasa de RH y a una supervivencia más corta (Muchtar *et al.*, 2016b, 2017d).
- **Bandas oligoclonales (BOC):** En pacientes con MM se ha detectado la aparición de BOC, las cuales corresponden en la electroforesis a Ig no relacionadas con la banda original del MM, ya sea en su isotipo de cadena ligera y/o pesada, o debido a su movilidad electroforética diferente (Figura 4). Este fenómeno ha recibido múltiples nombres como BOC (Fernández de Larrea *et al.*, 2009), bandas protéicas anormales (Zent *et al.*, 1998), patrones de inmunofijación atípicos (Mark *et al.*, 2008), cambio de isotipo aparente (Zent *et al.*, 1998) o GMSI secundaria (Manson *et al.*, 2012; Wadhera *et al.*, 2011). En el MM, estas proteínas anormales se han observado en diferentes escenarios clínicos como tras el TAPH (Hovenga *et al.*, 2000; Mitus *et al.*,

1989; Tovar *et al.*, 2013; Zent *et al.*, 1998) o con el uso de regímenes que incorporan nuevos fármacos como bortezomib o IMiDs (talidomida y lenalidomida) (Fernández de Larrea *et al.*, 2011; Mark *et al.*, 2008). La presencia de este fenómeno humoral oligoclonal se ha asociado a mayor reducción tumoral, mejores respuestas y a un mejor pronóstico en términos de SLP y SG (Hall *et al.*, 2009; Mark *et al.*, 2008; Tovar *et al.*, 2013; Wadhera *et al.*, 2011; Zent *et al.*, 1998). El mecanismo responsable de esta respuesta humoral oligoclonal restringida se desconoce. Sin embargo, se cree que puede deberse a la aparición de un GMSI secundaria (Wadhera *et al.*, 2011) o a la reconstitución inmune tras el tratamiento (Fumoux *et al.*, 1993; Gerritsen *et al.*, 1994; Jo *et al.*, 2014) reflejando la recapitulación ontogénica de los linfocitos B tras el TAPH (Zent *et al.*, 1998), o como un marcador indirecto de la reconstitución inmune normal (Guikema *et al.*, 1999), al vencer los efectos inmunosupresores de la clona maligna del mieloma (Zent *et al.*, 1998). Sin embargo, la presencia de este fenómeno en amiloidosis sistémica AL no ha sido descrita previamente.

Figura 4. Aparición de BOC (IgM kappa y lambda) en un paciente con MM Bence-Jones kappa en tratamiento con lenalidomida y dexametasona al día 269 de tratamiento (Mark *et al.*, 2008).



2.7.4. Modelos pronósticos

Se han propuesto múltiples modelos pronósticos en amiloidosis AL. De ellos, los 3 principales en uso clínico extendido incluyen (Tabla 4):

- **Estadificación de la Clínica Mayo del 2004:** En este modelo se utilizan los biomarcadores cardiacos para clasificar a los pacientes en tres estadios, en función de la presencia de ninguno, uno o ambos de los siguientes hallazgos: NT-proBNP ≥ 332 ng/l y troponina T $\geq 0,035$ μ g/l. La mediana de supervivencia para los pacientes no candidatos a tratamiento intensivo en estadio I, II y III fue de 26, 11 y 4 meses, respectivamente, mientras que la supervivencia a los 4 años de los que recibieron un TAPH fue de 85%, 75% y 25%, respectivamente (Dispenzieri *et al.*, 2004a, 2004b).
- **Modificación Europea al Estadaje de la Clínica Mayo del 2004:** Posteriormente un estudio colaborativo Europeo dividió a la población de la etapa III de la estadificación de la Clínica Mayo del 2004, en tres grupos adicionales basados en un NT-proBNP > 8500 ng/l y presión arterial sistólica ≤ 100 mmHg, con lo cual logro identificar un subgrupo de pacientes con un pronóstico especialmente ominoso con una mediana de SG de tan sólo 3 meses (Wechalekar *et al.*, 2013).
- **Estadaje revisado de la Clínica Mayo del 2012:** El grupo de la Clínica Mayo actualizó los criterios del 2004, añadiendo la dFLC. Así, clasificó a los pacientes en estadio I, II, III o IV según la identificación de 0, 1, 2, o 3 de los siguientes factores de riesgo: NT-proBNP ≥ 1800 ng/l, troponina T $\geq 0,025$ μ g/l y

dFLC ≥ 18 mg/dl. La mediana de SG desde el diagnóstico fue de 94, 40, 14 y 6 meses, respectivamente. En aquellos pacientes que recibieron un TAPH, las tasas de SG a 4 años fueron 87, 72, 56 y 46%, respectivamente (Kumar *et al.*, 2012a).

Tabla 4. Sistemas de estadificación pronóstica para amiloidosis sistémica AL

(Dispenzieri *et al.*, 2004a, 2004b; Kumar *et al.*, 2012a; Wechalekar *et al.*, 2013).

Sistema de estratificación	Troponina T ($\mu\text{g/l}$)	NT-proBNP (ng/l)	Otro	Estadio
Mayo 2004	<0,035	<332	---	I: ambos bajos II: uno alto III: ambos altos
Modificación Europea Mayo 2004	$\geq 0,035$	≥ 332 y ≤ 8500	TAS > 100 mmHg	IIIA: NT-proBNP ≤ 8500 ng/l y TAS > 100 mmHg IIIB: no A y no C IIIC: NT-proBNP > 8500 ng/l y TAS ≤ 100 mmHg
Mayo 2012 revisado	<0,025	<1800	dFLC <18 mg/dl	I: todos bajos II: uno elevado III: dos elevados IV: todos elevados

dFLC: diferencia entre FLC involucrada y no involucrada, TAS: tensión arterial sistólica.

2.8. Tratamiento

En la amiloidosis AL, al tratarse de una enfermedad rara, existen pocos ensayos clínicos aleatorizados fase III, por lo que la mayoría de las recomendaciones terapéuticas se basan en estudios fase II, estudios observacionales o series con un número limitado de casos (Kastritis & Dimopoulos, 2016).

2.8.1. Conceptos generales

- **Objetivos del tratamiento:**
 - El primer objetivo del tratamiento es mejorar la supervivencia. Se debe seleccionar cuidadosamente el tratamiento ya que la toxicidad

relacionada al mismo puede ser alta, como resultado de la fragilidad del paciente y del deterioro orgánico (Mughtar *et al.*, 2016a).

- Segundo objetivo: Se debe conseguir una reducción rápida e intensa de la cadena ligera patogénica (Mughtar *et al.*, 2016a).
- Tercer objetivo: Recuperación de los órganos dañados (Mughtar *et al.*, 2016a).

- **Indicaciones del tratamiento:** Virtualmente todos los pacientes con diagnóstico de amiloidosis sistémica AL requieren tratamiento desde el momento del diagnóstico. Constituyen una excepción aquellos pacientes con GMSI a los que se les descubre de manera incidental amiloidosis AL exclusivamente en la MO y sin daño orgánico, y aquellos con formas localizadas de amiloidosis AL, como mencionado previamente (Dispenzieri *et al.*, 2015; Mughtar *et al.*, 2016a; Wechalekar *et al.*, 2016).

2.8.2. Valoración de la respuesta

La evaluación de la respuesta al tratamiento se basa en criterios objetivos tanto para la evaluación de la enfermedad clonal como para la evaluación orgánica.

- **Evaluación hematológica**

Se basa en la medición de las FLC séricas, definiendo cuatro niveles de respuesta. La remisión completa (RC; inmunofijación sérica y urinaria negativas y FLCr normalizado), muy buena respuesta parcial (MBRP; dFLC < 40 mg/l); respuesta parcial (RP; disminución de dFLC > 50%), y no respuesta (NR; menos que RP) (Tabla 5). La meta del tratamiento es alcanzar al menos una MBRP, ya que se correlaciona con una mejoría muy significativa de la supervivencia (Comenzo *et al.*, 2012; Palladini *et al.*, 2012a). Estos criterios de

respuesta no pueden ser aplicados en pacientes con dFLC <50 mg/l previos al tratamiento (aproximadamente el 20% de los pacientes). En estos casos, se ha intentado adaptar los criterios de valoración a una nueva definición de RH, ya que el lograr una dFLC <10 mg/l en este grupo de pacientes se asocia a un mejor pronóstico (Dittrich *et al.*, 2017; Milani *et al.*, 2017a; Sidana *et al.*, 2017).

Tabla 5. Criterios de respuesta y progresión hematológica (Comenzo *et al.*, 2012).

Categoría de la respuesta	Criterio
Completa (RC)	Normalización de los niveles de FLC y FLCr, con inmunofijación sérica y urinaria negativas
Muy buena parcial (MBRP)	Disminución de la dFLC < 40 mg/l
Parcial (RP)	Reducción > 50% de la dFLC
No respuesta	Menos que una RP
Progresión	De RC, cualquier proteína monoclonal detectable o FLCr anormal (los niveles de la FLC amiloidogénica se deben duplicar) De RP, incremento al menos del 50% del componente M en suero a >0,5 g/dl o incremento del 50% del componente M en orina a > 200 mg/día (debe estar presente un pico monoclonal) Incremento de la dFLC de al menos 50% y de > 100 mg/dl

FLC: cadena ligera libre; dFLC: diferencia entre FLC involucrada y no involucrada, FLCr: cociente de FLC.

- **Evaluación orgánica**

La evaluación orgánica se define para los 4 órganos con mayor relevancia (corazón, riñón, hígado y sistema nervioso). Los criterios de respuesta orgánica (Gertz *et al.*, 2005b) fueron actualizados con la introducción de los biomarcadores cardiacos (Palladini *et al.*, 2012a) y la nueva clasificación renal (Palladini *et al.*, 2014a) (Tabla 6).

Cabe destacar que a cuanto más profunda es la RH, mayor es la probabilidad de lograr la RO (Dispenzieri *et al.*, 2006; Gertz *et al.*, 1991; Kaufman *et al.*, 2015; Palladini *et al.*, 2014a; Skinner *et al.*, 2004). La mediana de tiempo para la primera RO es 2,1 meses desde el tiempo de normalización del FLCr. El lograr una RO dentro del primer año tras la normalización del FLCr predice una supervivencia más prolongada (Kaufman *et al.*, 2015).

Tabla 6. Criterios de respuesta y progresión orgánica (Gertz *et al.*, 2005b; Palladini *et al.*, 2012a, 2014a).

Órgano	Respuesta	Progresión
Corazón	NT-proBNP (disminución >30% y >300 ng/l en pacientes con niveles basales \geq 650 ng/l) o NYHA (disminución \geq 2 clases en pacientes con clase 3 o 4)	>30% y >300 ng/l del NT-proBNP o \geq 33% de la troponina T o Disminución \geq 10% de la FE
Riñón	Disminución del 50% (por lo menos 0,5 g/d) en orina de 24 horas (la proteinuria debe ser > 0,5 g/d pretratamiento) Creatinina o depuración de creatinina no debe empeorar más de un 25% del basal	\geq 50% (\geq 1 g/d) en orina de 24 horas o \geq 25% en creatinina sérica o Disminución \geq 25% en la depuración de creatinina
Hígado	Disminución \geq 50% de la fosfatasa alcalina y/o disminución \geq 2 cm de la hepatomegalia	\geq 50% de la fosfatasa alcalina comparando con el nivel más bajo
SNP	Mejoría en la velocidad de conducción del EMG	Progresión de la neuropatía por EMG o en la velocidad de conducción

EMG: electromiograma; FE: fracción de eyección; NYHA: New York Heart Association; SNP: Sistema nervioso periférico.

2.8.3. Tratamiento inicial

El tratamiento comprende el uso de quimioterapia dirigida a la discrasia de CP clonales subyacente, con el objetivo de reducir rápidamente la producción de cadenas ligeras amiloidogénicas (Comenzo *et al.*, 2012).

Se han adaptado a la amiloidosis AL las estrategias terapéuticas útiles en el MM, traduciéndose en tratamientos más efectivos y con un incremento en la supervivencia. Sin embargo, el estado clínico funcional del paciente y el daño orgánico produce como resultado una mayor toxicidad, constituyendo el enfoque terapéutico adaptado al riesgo un aspecto fundamental (Gertz & Dispenzieri, 2012).

- **Pacientes candidatos a TAPH**

Todos los pacientes diagnosticados recientemente deben ser evaluados para determinar la elegibilidad para el TAPH. Los criterios varían según países e instituciones médicas. En general, se basan principalmente en la condición del paciente y la función orgánica, con un enfoque principal en el daño cardíaco (Dispenzieri *et al.*, 2015; Muchtar *et al.*, 2016a). En la Tabla 7 se resumen los criterios de elegibilidad a TAPH de la Clínica Mayo. Sin embargo, únicamente 20-25% de los pacientes serán considerados candidatos a un TAPH (Muchtar *et al.*, 2016a).

Tabla 7. Criterios de elegibilidad para TAPH de la Clínica Mayo (Dispenzieri *et al.*, 2015).

Edad fisiológica \leq 70 años
ECOG \leq 2
NYHA clase I/II
Troponina T $<$ 0,06 ng/ml
Presión arterial sistólica \geq 90 mmHg
Depuración de creatinina \geq 30 ml/min (a menos que se someta a diálisis a largo plazo)
No más de 2 órganos significativamente involucrados

Basados en la mejor selección de los pacientes a tratamiento intensivo y la mejoría en el tratamiento de soporte, se ha logrado disminuir la mortalidad relacionada al trasplante (MRT) a los 100 días del procedimiento, desde 20-50% a 1-7% (Cibeira *et al.*, 2011; D'Souza *et al.*, 2015; Gertz *et al.*, 2011, 2013; Jantunen *et al.*, 2006; Muchtar *et al.*, 2017a). Debe tenerse en cuenta la experiencia del centro hospitalario como otro factor (Hegenbart *et al.*, 2013).

El TAPH se ha asociado a elevadas tasas de RC hematológicas de larga duración seguidas de RO (Kastritis & Dimopoulos, 2016). En este sentido, se describen tasas de RC de 34-49%, mantenidas a los 10 años en 40% y asociadas a RO en 26-53% de los pacientes (Cibeira *et al.*, 2011; Cordes *et al.*, 2012; Dispenzieri *et al.*, 2013). En términos de supervivencia, en el estudio más amplio en pacientes trasplantados se ha referido una supervivencia del 77% a los 5 años (D'Souza *et al.*, 2015). Cabe señalar, que no existen ensayos clínicos aleatorizados que apoyen estos resultados. Por el contrario, el único ensayo clínico fase III publicado, demostró resultados inferiores para el TAPH frente a melfalán con dexametasona (MDex). Aunque las tasas de respuesta fueron comparables, la supervivencia fue inferior en el brazo del trasplante (SG

mediana 57 meses frente 22 meses) (Jaccard *et al.*, 2007). Sin embargo, se trataba de un estudio con un número limitado de pacientes, multicéntrico, con aspectos mejorables en la selección y que condicionó una MRT elevada (24%) (Dispenzieri *et al.*, 2015; Muchtar *et al.*, 2016a).

Movilización de progenitores hematopoyéticos: El uso de factor estimulante de colonias granulocitario (G-CSF) se puede asociar a una importante morbilidad y en ocasiones mortalidad en pacientes con amiloidosis AL (Bashir *et al.*, 2011). Entre las complicaciones que pueden observarse se encuentran: sobrecarga hídrica, aumento de peso, arritmias cardíacas, colapso cardiopulmonar y muerte (2%). Se cree que se pueden deber al efecto proinflamatorio de las citocinas producidas por la administración de G-CSF. El manejo incluye el óptimo uso de diuréticos y la administración de G-CSF dos veces en lugar de una vez al día (Sher *et al.*, 2016). En casos de fallo de movilización, es posible utilizar plerixafor (Dhakal *et al.*, 2014; Kaul *et al.*, 2014).

Intensidad del acondicionamiento: El acondicionamiento habitual previo al TAPH es melfalán 200 mg/m² (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastritis & Dimopoulos, 2016). Se han evaluado estrategias de dosificación adaptadas al riesgo, utilizando dosis de melfalán más bajas en un intento de reducir la MRT. No obstante, los resultados han sido poco alentadores, ya que se ha asociado a peores respuestas y supervivencia más cortas, con toxicidad similar (Cibeira *et al.*, 2011; Gertz *et al.*, 2004; Perfetti *et al.*, 2006; Skinner *et al.*, 2004; Tandon *et al.*, 2017a). En la actualidad, en los pacientes que no se consideran elegibles para recibir melfalán a dosis plenas, no se debería plantear el TAPH; exceptuando aquellos pacientes que se encuentran en diálisis (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastritis & Dimopoulos, 2016; Muchtar *et al.*, 2016a).

Inducción pretrasplante: Generalmente los pacientes con amiloidosis AL pueden proceder directamente a la movilización y posterior TAPH, sin requerir tratamiento de inducción. Sin embargo, en aquellos pacientes que presenten >10% CPMO o que se prevé que el trasplante se retrase más de dos meses, se ha sugerido la administración de 2 a 4 ciclos de regímenes basados en bortezomib. Existen pocos estudios publicados que enfoquen este tema. El grupo de Boston comparó el uso de 2 ciclos de melfalán previos al TAPH frente a TAPH directo, resultando en respuestas y supervivencia equiparables entre ambos grupos (Sanchorawala *et al.*, 2004). En una actualización más reciente de su serie, no se observó un beneficio del tratamiento de inducción previo al TAPH en pacientes con 10 a 30% de CPMO frente a <10 CPMO (SG mediana 5,8 años frente 7,8 años) (Dittus *et al.*, 2016). En contraposición a estos resultados, tres grupos internacionales demostraron la utilidad del tratamiento de inducción previo al TAPH. Huang *et al.* demostró que el uso de bortezomib y dexametasona previo al TAPH frente a trasplante directo mostró mejores tasas de RC a los dos años (70 frente 35%) y mejor SG a los 2 años (95 frente 69%) (Huang *et al.*, 2014). Estos últimos resultados han sido confirmados por el grupo de Seattle y la Clínica Mayo (Cowan *et al.*, 2016; Hwa *et al.*, 2016).

Consolidación: En un intento de mejorar los resultados del trasplante, se han publicado 3 estudios en los que se analiza la eficacia del tratamiento de consolidación; uno de ellos basado en TAPH en tándem y otros dos en quimioterapia. En el primero de ellos, los pacientes que no alcanzaron RC con el primer TAPH se llevaron a un segundo TAPH. Se demostró que el TAPH en tándem incrementaba la tasa de RC hematológicas de 55% a 67% (Sanchorawala *et al.*, 2007). Los otros dos ensayos clínicos fase II, compararon la consolidación con talidomida ± dexametasona o bortezomib ± dexametasona

en los pacientes que no alcanzaron RC tras el trasplante. En estos estudios se demostró que la consolidación es factible, con una MRT baja y altas tasas de RH y RO (Cohen *et al.*, 2007; Landau *et al.*, 2013). Por lo tanto, en la actualidad podría considerarse el tratamiento de consolidación tras el TAPH en aquellos pacientes que no alcanzan una MBRP o mejor (Dispenzieri *et al.*, 2015).

Mantenimiento: En la actualidad no existen ensayos clínicos que hayan analizado la utilidad el mantenimiento en esta patología, por lo que no se recomienda (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastritis & Dimopoulos, 2016).

Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos: En la actualidad no se recomienda esta estrategia fuera de ensayo clínico. El grupo europeo informó 19 pacientes que se sometieron a este procedimiento entre 1991 y 2003. La SG y la SLP al año fueron de 60 y 53%, con una MRT del 40% (Schönland *et al.*, 2006).

- **Pacientes no candidatos a TAPH**

Existe controversia referente a los pacientes no candidatos a tratamiento intensivo, por lo que se sugiere incluir en ensayos clínicos como primera opción. En general, se recomienda el tratamiento con un triplete basado en bortezomib, tales como bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona (CyBorD) o bortezomib, melfalán, dexametasona (BMDex). En caso de no ser candidato a bortezomib (neuropatía sensitiva) se puede utilizar la combinación de MDex (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastritis & Dimopoulos, 2016; Merlini, 2017; Wechalekar *et al.*, 2016).

La duración óptima del tratamiento con quimioterapia convencional no ha sido validada; en general se acepta un tratamiento entre 8 y 12 ciclos. En los pacientes con compromiso orgánico significativo y/o enfermedad de alto riesgo, debería cambiar de régimen si no se ha alcanzado al menos una RP tras 2 ciclos. En el caso de pacientes de riesgo bajo con una condición física y orgánica preservada, la decisión se puede posponer hasta finalizar el tercer ciclo (Muchtar *et al.*, 2016a).

Regímenes basados en bortezomib (CyBorD, BMDex): En general se aconseja iniciar tratamiento con los inhibidores del proteasoma, tales como bortezomib, debido a las respuestas rápidas que logran (Muchtar *et al.*, 2016a). En el estudio más grande publicado de CyBorD para el tratamiento de primera línea se analizaron 230 pacientes no candidatos a trasplante. La tasa de respuestas globales (RG) fue del 60% (23% RC), respuesta cardíaca en 17% y renal en el 25%. La mediana del tiempo hasta el próximo tratamiento fue de 13 meses. La SG a los 3 años fue del 55% en toda la población (52% estadio II, 55% estadio IIIa, 19% estadio IIIb) (Palladini *et al.*, 2015). Dichos resultados habían sido previamente descritos por otros grupos internacionales (Mikhael *et al.*, 2012; Venner *et al.*, 2012).

En cuanto a BMDex, los resultados del ensayo clínico fase III que lo compara frente a MDex aún no se han publicado, pero el análisis intermedio muestra una mejoría en la RG hematológica al final del tratamiento de 81% frente 56% ($P=0,001$), con respuestas \geq MBRP de 64% frente 38% ($P=0,002$) (Kastritis *et al.*, 2016).

En cuanto a la posología, se recomienda administrar bortezomib de manera subcutánea y programada una vez por semana, ya que se mantiene la eficacia

y disminuye la toxicidad (Reece *et al.*, 2011). En pacientes con insuficiencia cardiaca con NYHA clase III-IV se recomienda iniciar con dosis bajas (0,7-1 mg/m² una vez por semana), ya que dosis superiores se han relacionado con empeoramiento cardiaco (Dubrey *et al.*, 2011).

Regímenes basados en alquilantes (MDex): La combinación de alquilantes con glucocorticoides fue la terapia principal durante décadas. De hecho, MDex es actualmente el tratamiento preferido en pacientes no candidatos a TAPH y que no puedan recibir regímenes basados en bortezomib.

Un estudio Italiano fase II mostró que MDex lograba RC hematológicas en el 33% con toxicidad aceptable (Palladini *et al.*, 2007). En su última actualización, las tasas de RC hematológicas se mantenían en 31% con una supervivencia mediana de 7,4 años (Palladini *et al.*, 2014b). Dichos hallazgos han sido corroborados por investigadores en Francia (Jaccard *et al.*, 2007). Existen otras publicaciones con resultados contradictorios, muy probablemente debido a una mayor incidencia de compromiso cardiaco (Dietrich *et al.*, 2010; Lebovic *et al.*, 2008).

En general, MDex es bien tolerado, siendo las citopenias la causa más común de toxicidad limitante de dosis. Esta combinación no es suficiente para superar el mal pronóstico asociado con la amiloidosis cardiaca avanzada (Dispenzieri *et al.*, 2015; Merlini, 2017).

2.8.4. Enfermedad recaída o refractaria

Para pacientes que recaen o son refractarios al tratamiento inicial, las opciones terapéuticas incluyen regímenes basados en inhibidores del proteasoma y en regímenes basados en IMiDs. No existe evidencia científica de calidad suficiente para establecer cuál de los regímenes es superior. Sin embargo, la elección se basa en la terapia inicial administrada, la toxicidad esperada, la disponibilidad de nuevos fármacos y las preferencias del médico y del paciente (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastritis & Dimopoulos, 2016; Merlini, 2017).

Un aspecto analizado ha sido el mejor momento para iniciar el tratamiento de rescate. Los pacientes que presentaron progresión cardiaca, determinada por niveles de NT-proBNP, tuvieron una supervivencia mediana de 17 meses comparada con 62 meses en aquellos que no presentaron dicha progresión. Por tanto, el tratamiento de segunda línea debe iniciarse con la progresión de acuerdo a FLC, antes de la progresión clínica (Merlini, 2017).

El tiempo hasta la siguiente terapia es más corto en aquellos pacientes retratados con el mismo tratamiento, comparado con aquellos que reciben una combinación diferente (22 frente a 32,3 meses; $P=0,01$), pero sin impacto en la supervivencia (30,8 frente a 51,1 meses; $P=0,5$). (Tandon *et al.*, 2017b).

- **Regímenes basados en inhibidores del proteasoma**

Se ha evaluado el papel de bortezomib en series pequeñas prospectivas y estudios retrospectivos. La RG varía del 70-80% y la tasa de RC en 25-40%. El 50-79% experimentó algún grado de toxicidad y alrededor del 40% suspendió el tratamiento (Browning *et al.*, 2017; Kastritis *et al.*, 2010; Reece *et al.*, 2011; Wechalekar *et al.*, 2008).

- **Regímenes basados en IMiDs**

Estos fármacos se han demostrado eficaces en pacientes en recaída, pero no han sido comparados con otro tipo de regímenes en esta fase de la enfermedad. La dosis utilizada es menor (en comparación con MM) debido a la toxicidad que pueden producir. Cabe destacar que se asocian a un aumento de los biomarcadores cardiacos (NT-proBNP), sin quedar claro si esto indica toxicidad cardíaca, retención hídrica o eliminación renal alterada (Dispenzieri *et al.*, 2010b; Tapan *et al.*, 2010).

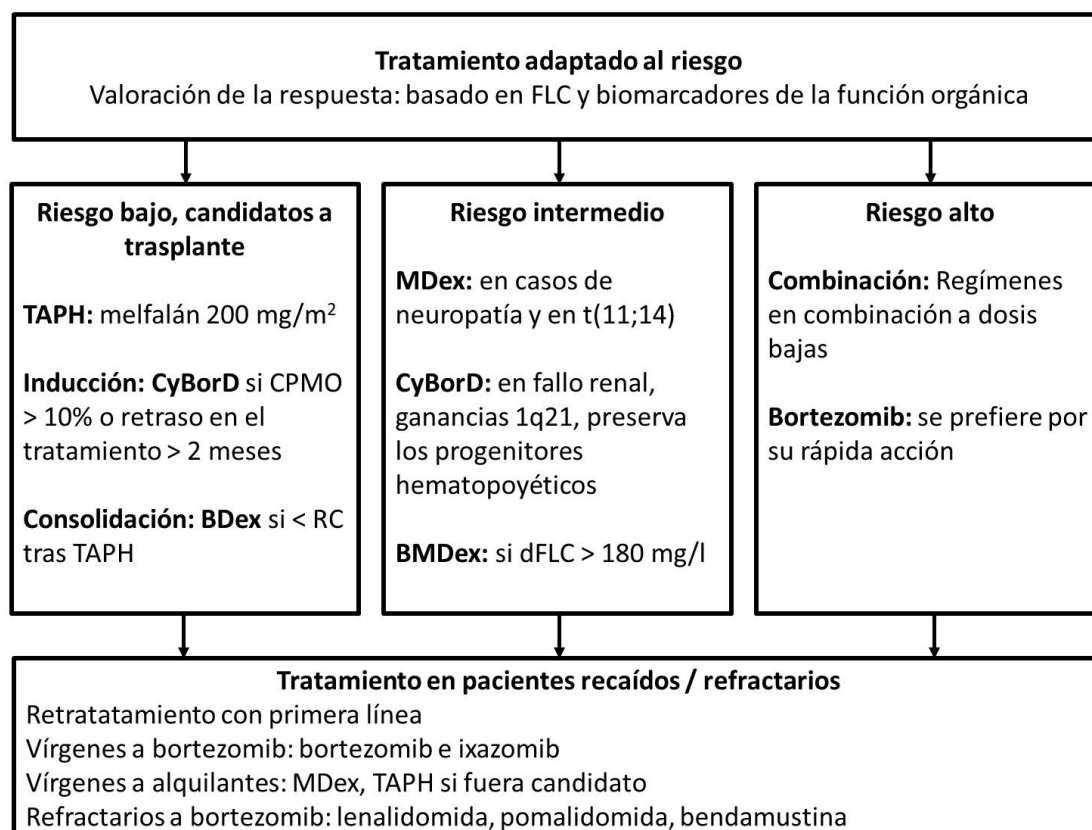
Talidomida: Fue el primer IMiD utilizado en amiloidosis AL, logrando un beneficio clínico modesto (RG: 48-74%, RC 19-21%, RO 26%); sin embargo se asocia a toxicidad significativa (52-65%) y es mal tolerado. La combinación de talidomida con bajas dosis de dexametasona (Td) con o sin ciclofosfamida (CTD), es una opción en pacientes recaídos, pero se prefieren las combinaciones con lenalidomida o pomalidomida (Palladini *et al.*, 2005; Wechalekar *et al.*, 2007).

Lenalidomida: Su actividad como fármaco aislado es limitada. La combinación de lenalidomida, melfalán y dexametasona (MRD) logra una tasa de RG de 50-58% y de RC de 7-8% (Dinner *et al.*, 2013; Sanchorawala *et al.*, 2013). La combinación de lenalidomida, ciclofosfamida y dexametasona (CRD) logra RG en 55-62%, RC 5-11% y RO en 19-29% de los pacientes (Kastritis *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2012b; Mahmood *et al.*, 2014a; Palladini *et al.*, 2013). Todos estos resultados sugieren que los regímenes basados en lenalidomida son activos en pacientes recaídos y se asocian a una toxicidad aceptable, particularmente atractivo en pacientes con neuropatía de base.

Pomalidomida: El uso de pomalidomida y dosis bajas de dexametasona (Pd) ha sido evaluado solamente en pequeños ensayos prospectivos. Logra RH en el 48-68% de los pacientes, con RC del 3%, RO en torno al 15%, con medianas de SLP y SG de 14-17,8 meses y 26-28 meses, respectivamente. En general es un fármaco con mejor tolerancia que los previos y puede utilizarse a pesar del uso previo de IMiDs (Dispenzieri *et al.*, 2012b; Palladini *et al.*, 2017; Sanchorawala *et al.*, 2016).

En la Figura 5 se resume el enfoque terapéutico en amiloidosis sistémica AL de primera línea y en recaídos / refractarios.

Figura 5 abordaje terapéutico en amiloidosis AL (Palladini & Merlini, 2016).



BDex: bortezomib y dexametasona; BMDex: bortezomib, melfalán y dexametasona; CPMO: células plasmáticas en médula ósea; CyBorD: ciclofosfamida, bortezomib y dexametasona; FLC: cadenas ligeras libres; MDex: melfalán y dexametasona; RC: remisión completa; TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

2.8.5. Nuevas terapias en investigación

- **Dirigidos contra las células plasmáticas amiloidogénicas**

Actualmente se está evaluado en pacientes recaídos o refractarios el papel de los inhibidores del proteasoma de segunda generación, ixazomib y carfilzomib. En un estudio fase I/II, ixazomib ha demostrado una tasa de RH y RO del 52% y 56% respectivamente. La SLP y SG al año fue de 60% y 85% respectivamente (Sanchorawala *et al.*, 2017). Carfilzomib ha demostrado ser eficaz con respuestas en el 63% de los pacientes, pero asociado a toxicidad cardiopulmonar relevante hasta en el 36% de los pacientes (Cohen *et al.*, 2016). Dentro de los fármacos alquilantes, bendamustina demostró una tasa de RH del 36%, de las cuales 2% era RC (Milani *et al.*, 2017b). Se ha observado que daratumumab (anticuerpo monoclonal anti-CD38) logra respuestas en 76% de los pacientes, de las cuales 36% son RC y 24% MBRP (Kaufman *et al.*, 2017).

- **Dirigidos contra la síntesis de cadenas ligeras, toxicidad y formación de amiloide**

Se ha investigado en modelos preclínicos la utilidad del ARN de interferencia dirigidos a la región constante de la cadena ligera (Zhou *et al.*, 2014), así como pequeños ligandos que pueden estabilizar las cadenas ligeras amiloidogénicas, logrando inhibir la agregación y la formación de amiloide (Brumshtein *et al.*, 2015). La doxicilina interfiere con la formación de la fibrilla de amiloide y se sugiere la posible utilidad en pacientes con estadio IIIa de la Clínica Mayo, debido a la reducción de la proteotoxicidad generada por las cadenas ligeras, logrando reducir la mortalidad en amiloidosis AL cardiaca (Merlini, 2017; Nuvolone & Merlini, 2017; Wechalekar & Whelan, 2017). Recientemente se ha informado la posible utilidad del té verde (polifenoles [*Epigallocatechin gallate*]),

ya que en consumidores regulares se ha observado una disminución del grosor del septum interventricular, por lo que en la actualidad se encuentran en marcha ensayos clínicos enfocados en analizar su actividad (Mereles *et al.*, 2010; Nuvolone & Merlini, 2017).

- **Inmunoterapia dirigida contra los depósitos de amiloide**

Se ha evaluado el efecto de la inmunoterapia pasiva al infundir el anticuerpo monoclonal anti-cadena ligera 11-1F4, observando RO en 12 de 18 pacientes evaluables (Edwards *et al.*, 2017). El anticuerpo monoclonal humanizado tipo IgG1 dirigido contra SAP resulta en una marcada reducción de los depósitos de amiloide y dicha respuesta se incrementa con la administración repetida del anticuerpo (Richards *et al.*, 2015). El anticuerpo monoclonal dirigido contra un epítipo críptico de la cadena ligera expuesto en las fibrillas de amiloide, NEOD001, ha sido evaluado en un estudio fase I/II en 69 pacientes que logran como mínimo una RP hematológica a la quimioterapia previa. En este caso, se ha demostrado una mejoría de la RO en que el 53% de los pacientes desde el punto de vista cardíaco, 64% renal y 82% neurológica (Gertz *et al.*, 2016).

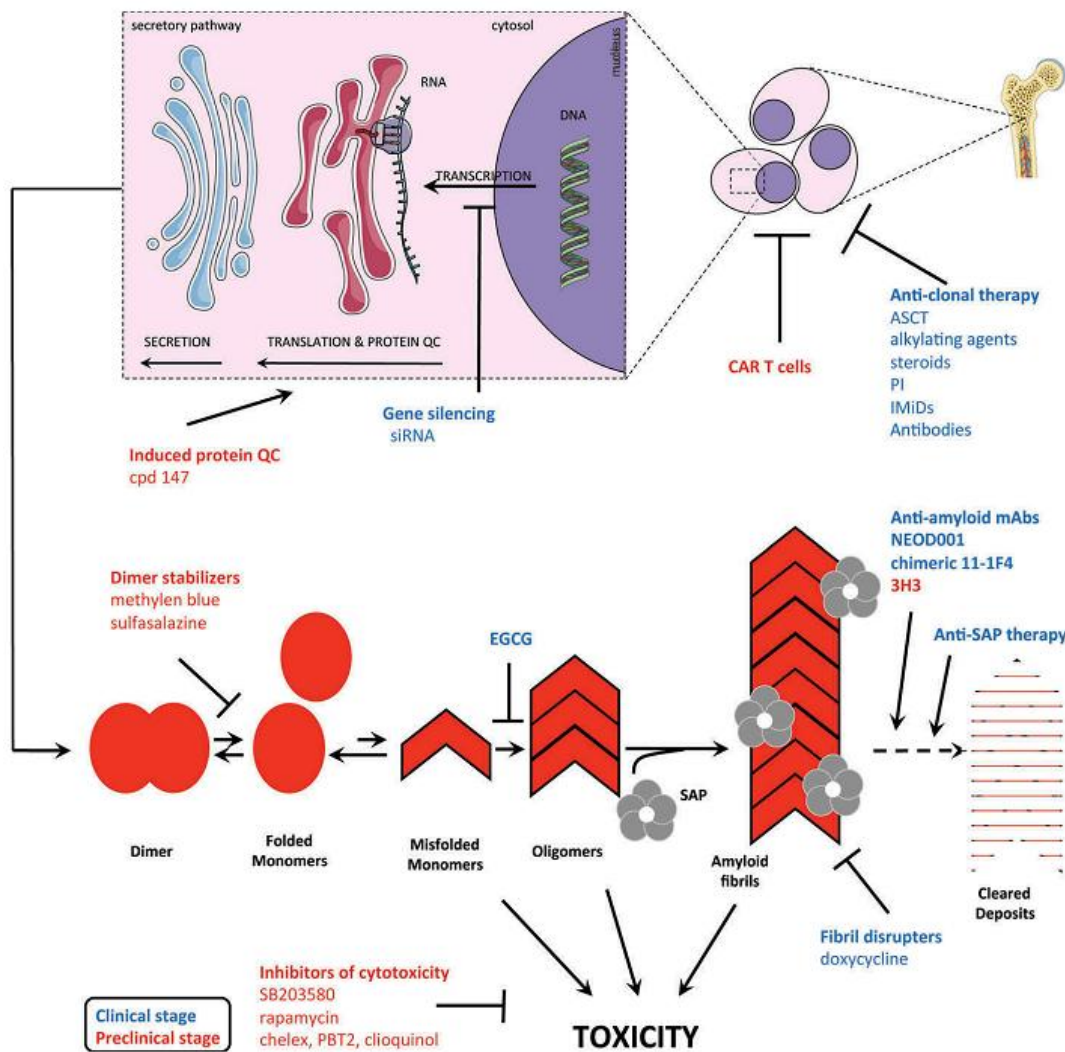
En la Tabla 8 se presenta una selección de los resultados más importantes en el tratamiento de la amiloidosis sistémica AL. En la Figura 6 se abunda en los nuevos objetivos moleculares y enfoques terapéuticos contra la amiloidosis AL.

Tabla 8. Resumen de los resultados más importantes en las diferentes estrategias terapéuticas en amiloidosis sistémica AL.

Régimen	Severidad / Fase	No.	RH% (RC%)	RO (%)	SG
TAPH (D'Souza <i>et al.</i> , 2015)	TAPH elegible	1551	71 (37)	Re 32	68% a 5 años
TAPH (Sanchorawala <i>et al.</i> , 2015)	TAPH elegible	629	-- (35)	--	Mediana 7,6 años
MDex (Palladini <i>et al.</i> , 2014b)	Dex dosis completa (estadio IIIb 10%)	119	76 (31)	Co 37; Re 24	Mediana 7,3 años
	Dex dosis baja (estadio IIIb 36%)	140	51 (12)	Co 20; Re 17	Mediana 7 meses
CTD (Venner <i>et al.</i> , 2014)	Estadio IIIb 22%	69	72 (19)	Co 19; Re 39	>50% a 5 años (mediana 4m en IIIb)
BMDex (Palladini <i>et al.</i> , 2014c)	Estadio IIIb 22%	87	69 (42)	Co 16; Re 16	53% a 5 años
CyBorD (Palladini <i>et al.</i> , 2015)	Estadio I	30	77 (33)	Co 22	100% a 5 años
	Estadios II a IIIa	128	67 (21)	Co 4	50% a 5 años
	Estadio IIIb	43	42 (14)	Re 25	20% a 5 años
Rd (Mahmood <i>et al.</i> , 2014a)	R/R	84	61 (20)	Co 12; Re 40	84% a 2 años
CRD (Kumar <i>et al.</i> , 2012b)	R/R	43	81 (65)	Global 46	98% a 2 años
MRD (Moreau <i>et al.</i> , 2010)	R/R	35	60 (11)	Global 31	Mediana 3,1 años
Pd (Palladini <i>et al.</i> , 2017)	R/R	28	66 (4)	Re 17	Mediana 26 meses
Bendamustina (Milani <i>et al.</i> , 2017b)	R/R	125	36 (2)	Co 13; Re 15	Mediana 21 meses
Ixazomib (Sanchorawala <i>et al.</i> , 2017)	R/R	27	52 (10)	Co 45; Re 45	85% a 1 año
Carfilzomib (Cohen <i>et al.</i> , 2016)	R/R	24	63 (13)	Global 21	SLP mediana 20 meses
Daratumumab (Kaufman <i>et al.</i> , 2017)	R/R	25	76 (37)	--	--

Bor: bortezomib; C/Cy: ciclofosfamida; Co: corazón; d/D/Dex: dexametasona; M: melfalán; P: pomalidomida; R: lenalidomida; Re: renal; RC: respuesta completa; RH: respuesta hematológica; RO: respuesta orgánica; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión; T: talidomida; TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; R/R: recaída/refractario

Figura 6. Nuevos objetivos moleculares y enfoques terapéuticos contra la amiloidosis AL (Nuvolone & Merlini, 2017).



2.8.6. Trasplante de órgano sólido

- **Trasplante cardiaco**

Los resultados del trasplante cardiaco ortotópico son heterogéneos, con una SG a 5 años que varía de 18 a 65%. La selección es muy cuidadosa; así, los posibles candidatos son aquellos que presenten baja carga tumoral, afección orgánica limitada al corazón y la posibilidad de administrar un tratamiento

intensivo (TAPH) efectivo ulterior. La mayoría de los pacientes no cumplen estos criterios o no sobreviven en tiempo suficiente para el trasplante (Dey *et al.*, 2010; Dispenzieri *et al.*, 2015; Dubrey *et al.*, 2004; Pelosi *et al.*, 1997). Actualmente se recomienda que los pacientes que cumplan las características previamente mencionadas y que no puedan recibir quimioterapia debido a la cardiomiopatía, se consideren para trasplante cardiaco con ulterior TAPH en centros con experiencia, siempre con el apoyo de un equipo multidisciplinario (Mehra *et al.*, 2016).

- **Trasplante renal**

El trasplante renal se asocia a una probabilidad de 5 y 10 años de supervivencia del injerto del 54-71% y 26%, respectivamente. El TAPH se realiza antes o después del trasplante renal, con resultados comparables (Pinney *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2013). En pacientes cuidadosamente seleccionados, el trasplante renal se asocia a la supervivencia del aloinjerto, aunque la recurrencia de la amiloidosis AL en el aloinjerto no es infrecuente (Dispenzieri *et al.*, 2015; Kastiris & Dimopoulos, 2016).

- **Trasplante hepático**

El trasplante hepático debido a insuficiencia hepática terminal secundaria a amiloidosis AL se puede realizar en casos muy seleccionados. En una serie de 9 pacientes que recibieron un trasplante hepático ortotópico, la tasa de supervivencia a 1 y 5 años fue del 33 y 22%, respectivamente. Los pacientes que recibieron el TAPH y lograron una RH completa tuvieron una mayor supervivencia (Sattianayagam *et al.*, 2010).

2.8.7. Tratamiento de soporte

La amiloidosis AL es una enfermedad que afecta múltiples órganos, por lo que en general los pacientes requerirán un enfoque multidisciplinario.

- **Cardiaco**

Se ha propuesto el uso de desfibriladores cardioversores implantables en algunos pacientes con historia de taquicardias ventriculares. Sin embargo existe falta de un beneficio en la supervivencia, indicando una dificultad en la selección apropiada de los pacientes (Lin *et al.*, 2013; Varr *et al.*, 2014). En el tratamiento farmacológico de las arritmias cardíacas, la digoxina está contraindicada, debido a su capacidad de unirse a las fibrillas de amiloide; el único posiblemente útil es la amiodarona (Falk & Dubrey, 2010; Rubinow *et al.*, 1981).

El tratamiento de la insuficiencia cardíaca es un reto, ya que la mayoría de los fármacos no son bien tolerados. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, los antagonistas del receptor de angiotensina, los beta-bloqueantes y los bloqueantes de canales de calcio, están contraindicados. Los únicos fármacos que podrían utilizarse en la insuficiencia cardíaca son los diuréticos de asa o los antagonistas de aldosterona (Dispenzieri *et al.*, 2015; Falk, 2011; Gertz *et al.*, 1985).

- **Disfunción autonómica**

Se sugiere evitar la deshidratación y el uso excesivo de diuréticos, así como realizar movimientos graduales con cambios posturales y el uso de medias elásticas. A nivel farmacológico, es posible utilizar midodrine (α -agonista), o fludrocortisona (mineralocorticoide) (Dispenzieri *et al.*, 2015; Freeman, 2008).

- **Renal**

El síndrome nefrótico asociado a edemas requerirá el tratamiento con diuréticos y en ocasiones la administración de albúmina endovenosa (Kastritis & Dimopoulos, 2016).

- **Nutrición**

La mayoría de los pacientes con amiloidosis AL presenta desnutrición. Se asocia con el número de órganos afectados, con estadios más avanzados y con reducción de la calidad de vida y peor pronóstico. Se aconseja soporte nutricional y valoración por un dietista (Caccialanza *et al.*, 2006, 2012; Sattianayagam *et al.*, 2013).

II. HIPÓTESIS

Es probable que existan otros factores pronósticos aún no establecidos que podrían tener relevancia en pacientes diagnosticados de amiloidosis AL.

1. La aparición de BOC tras el tratamiento intensivo con TAPH o el uso de nuevos fármacos (como inhibidores del proteasoma e IMiDs) en el tratamiento de inducción, se asocia a mejores tasas de RH y a una mejoría en el pronóstico en términos de SLP y SG.
2. La presencia de IP al diagnóstico en pacientes con amiloidosis AL se asocia a menor tasa de RH y a un peor pronóstico en términos de SLP y SG; por el contrario, la recuperación de la IP tras el tratamiento se asocia a un mejor pronóstico.
3. La infiltración de la MO al diagnóstico por un número superior de 10% de CP se asocia a un pronóstico menos favorable en términos de RH y supervivencia.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Establecer la posible contribución pronóstica de la presencia de BOC, de IP y de la proporción de infiltración de las CP en la MO, en pacientes con amiloidosis AL.

Objetivos específicos

1. Determinar la incidencia, historia natural e impacto pronóstico de las BOC en pacientes con amiloidosis AL tras el tratamiento de inducción.
2. Establecer el impacto pronóstico en términos de supervivencia y respuesta al tratamiento de la IP en pacientes con amiloidosis AL.
3. Analizar la correlación entre el porcentaje de infiltración de la MO por CP y características clínicas, así como los resultados clínicos en términos de supervivencia tras el tratamiento.

IV.RESULTADOS

Trabajo 1

**IMPACT OF AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION ON THE
INCIDENCE AND OUTCOME OF OLIGOCLONAL BANDS IN PATIENTS WITH
LIGHT-CHAIN AMYLOIDOSIS**

**Luis Gerardo Rodríguez-Lobato, Carlos Fernández de Larrea, Ma. Teresa Cibeira,
Natalia Tovar, Juan I. Aróstegui, Laura Rosiñol, Tania Díaz, Ester Lozano,
Montserrat Elena, Jordi Yagüe, Joan Bladé**

Biol Blood Marrow Transplant, 2017;23(8):1269-1275.

Resumen del trabajo 1

La aparición de BOC en pacientes con MM que alcanzan RC es un fenómeno bien conocido tras el TAPH, así como con el uso de nuevos fármacos como bortezomib, talidomida y lenalidomida. La presencia de BOC se considera un fenómeno benigno con pronóstico favorable, debido probablemente a una profunda reconstitución inmune humoral. Sin embargo, la incidencia, el impacto clínico y el pronóstico de la presencia de BOC en pacientes con amiloidosis sistémica AL no ha sido previamente descrita.

El objetivo del presente estudio es establecer la incidencia, historia natural y el impacto pronóstico de las BOC en amiloidosis AL, en aquellos pacientes del Hospital Clínic de Barcelona que logren, por lo menos, una RP tras el TAPH o el tratamiento convencional de inducción en aquellos no candidatos a trasplante.

Se incluyeron 50 pacientes, de los cuales el 40% recibió un TAPH y 60% no fueron candidatos a recibir un tratamiento intensivo. El 60% de los pacientes presentaron BOC, siendo el isotipo más frecuentes IgG-kappa (30,7%) e IgG-lambda (20,9%). Dicho fenómeno oligoclonal fue más prevalente en aquellos que alcanzaban una RC en comparación a otros grados de respuesta (88% frente a 32%, $P=0,0001$). Esta diferencia se mantuvo en pacientes no candidatos a TAPH (87,5% frente a 36,4%, $P=0,01$) y en candidatos a TAPH (88,2% frente a 0%, $P=0,001$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el uso de nuevos fármacos y la terapia convencional. En cuanto al pronóstico, el análisis tipo “landmark” al año tras el diagnóstico, la persistencia de BOC durante más de un año dio lugar a una SLP y SG a los 3 años más prolongadas (85,1% frente a 51%, $P=0,04$; y 100% frente a 82,3%, $P=0,07$, respectivamente). El impacto pronóstico también se observó en pacientes que alcanzaron una RC y en pacientes con un estadio más avanzado (estadio II y III de la Clínica Mayo del 2004).

En conclusión, esta publicación describe por primera vez la historia natural de las BOC en pacientes con amiloidosis AL tras tratamiento de inducción. La incidencia resulta ser aún más elevada que en los pacientes con MM. El fenómeno humoral oligoclonal fue más prevalente en los pacientes que alcanzaron una RC. Los pacientes con BOC que persistieron más de un año tuvieron una SLP y SG significativamente más prolongada que aquellos con una duración más corta de las BOC o ausencia de las mismas, lo que reflejaría una reconstitución inmune humoral no tumoral más profunda.



Impact of Autologous Stem Cell Transplantation on the Incidence and Outcome of Oligoclonal Bands in Patients with Light-Chain Amyloidosis

Luis Gerardo Rodríguez-Lobato¹, Carlos Fernández de Larrea¹, M. Teresa Cibeira¹, Natalia Tovar¹, Juan I. Aróstegui², Laura Rosiñol¹, Tania Díaz¹, Ester Lozano¹, Montserrat Elena³, Jordi Yagüe², Joan Bladé^{1,*}

¹ Amyloidosis and Myeloma Unit, Department of Hematology, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, University of Barcelona, Barcelona, Spain

² Department of Immunology, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, University of Barcelona, Barcelona, Spain

³ Department of Biochemistry, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Article history:

Received 16 February 2017

Accepted 12 April 2017

Key Words:

Amyloidosis
Immunoglobulin
Oligoclonal band
Transplantation
Prognostic factors

A B S T R A C T

The emergence of oligoclonal bands (OB) in patients with multiple myeloma achieving a complete remission (CR) after autologous stem cell transplantation (ASCT) and the use of novel agents is a well-recognized event. The presence of OB is associated with favorable outcome. However, the emergence of OB in light-chain (AL) amyloidosis has never been investigated. The aim of the study was to determine the incidence, natural history, and prognostic impact of OB in 50 patients with AL amyloidosis who achieved at least a partial response either after upfront ASCT (20 patients [40%]) or after conventional treatment in patients ineligible for transplantation (30 patients [60%]). OB were observed in 60% of the patients, with IgG-kappa (30.7%) the most frequently detected isotype. This phenomenon was more prevalent in patients achieving CR than those in other response categories (88% versus 32%, $P = .0001$). The landmark analysis at 1 year after diagnosis demonstrates a significantly longer progression-free survival and an improvement trend in overall survival ($P = .04$ and $P = .06$, respectively). This prognostic impact was also observed in patients who achieved CR and in patients with more advanced stage. In summary, this is the first report of OB in patients with AL amyloidosis. Although its biological meaning remains unclear, it could reflect a more robust humoral immune response.

© 2017 American Society for Blood and Marrow Transplantation.

INTRODUCTION

Systemic immunoglobulin light-chain amyloidosis (AL) is a rare plasma cell (PC) neoplasm, characterized by a clonal population of bone marrow (BM) PC that produces a monoclonal immunoglobulin (Ig) light chain, more frequently of the lambda isotype [1]. The amyloidogenic Ig light chains aggregate and deposit in tissue as amyloid fibrils with a predominant β -pleated sheet structure [2]. The clinical presentation is heterogeneous and its diagnosis requires a high index of suspicion. Amyloid deposition is demonstrated by Congo red staining using crossed polarized light on histological tissue sections. Fibrils can be typified by immunohistochemistry [3],

immuno-electron microscopy [4], or mass spectrometry [5]. Prognosis depends on the organ involvement as well as the size and biology of the PC clone [6]. The treatment goal is to suppress the production of the fibril precursor protein by the underlying PC clone, while minimizing the treatment-related toxicity [7]. A good quality of hematologic response (very good partial response [VGPR] or better) is associated with an overall survival (OS) benefit [6].

By contrast, multiple myeloma (MM) is the most common PC neoplasm, characterized by the clonal proliferation of neoplastic PC with the subsequent production of a monoclonal Ig and development of symptoms due to the tumor burden [8]. Emergence of oligoclonal bands (OB), an oligoclonal humoral response different to the original monoclonal immunoglobulin observed at diagnosis by immunofixation (IFE), is a well-recognized event after autologous stem cell transplantation (ASCT) [9–11] and with the use of regimens incorporating novel drugs (bortezomib, thalidomide, and

Financial disclosure: See Acknowledgments on page 1274.

* Correspondence and reprint requests: Joan Bladé, MD, PhD, Amyloidosis and Myeloma Unit, Department of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.

E-mail address: jblade@clinic.ub.es (J. Bladé).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.04.012>

1083-8791/© 2017 American Society for Blood and Marrow Transplantation.

lenalidomide) [12,13]. The presence of OB after ASCT is considered a benign phenomenon attributed to a strong immune reconstitution [14,15]. This is apparently associated with greater tumor reduction, higher rate of complete response (CR), and better prognosis in terms of progression-free survival (PFS) and OS [9,11,12,16,17]. However, the frequency and clinical outcome after the emergence of OB in patients with AL amyloidosis who received or did not receive an ASCT have never been described.

The aim of the present study was to determine the incidence, natural history, and prognostic impact of OB in patients with AL amyloidosis achieved at least a partial response (PR) either after upfront ASCT or after conventional treatment in patients ineligible for stem cell transplantation at our institution.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The clinical records of 74 newly diagnosed patients with AL amyloidosis at a single institution from January 2006 to December 2015 were reviewed. Those cases who achieved at least a PR after first-line therapy, either ASCT or conventional treatment in patients ineligible for transplantation, were included in the study. Twelve patients were excluded because of lack of hematological response, 9 because of early death, and 3 were lost to follow-up. Fifty patients (26 male, 24 female; median age, 60 years; range, 43 to 83) made up the final study population (Supplementary Figure S1). Initial baseline

demographics, clinical, and laboratory data and information concerning treatment and follow-up were collected and are shown in Table 1. The median follow-up for alive patients was 3.3 years. Approval for the review of these records was obtained from the ethics committee of the Hospital Clínic of Barcelona and was in accordance with the Declaration of Helsinki.

Oligoclonal Bands Definition

We performed a retrospective and systematic review of serum and urine IFE studies. OB was defined as the presence of a serum and/or urine IFE monoclonal spike that was different from the original M-protein either in heavy and/or light chains or with a different IFE migration pattern. Response, relapse, and progression were defined according to the Consensus Opinion from the X International Symposium on Amyloid and Amyloidosis [18] but also including the recent consensus update that allows VGPR category definition [6]. IFE was performed every 3 to 6 months in patients throughout their follow-up.

Statistical Analysis

Baseline characteristics and differences among the subgroups of patients were analyzed by using Student's *t*-test for continuous variables and the chi-square test for categorical variables or nonparametric tests when required. Time-to-event analysis were performed by the Kaplan-Meier method and survival curves were compared using the log-rank test. PFS was defined as survival from a landmark-time of 1 year after diagnosis until hematological relapse or death from any cause. OS was calculated from the same landmark time to the date of death from any cause or the date of last follow-up [19,20]. All statistical test values were 2-sided, with statistical significance evaluated at the .05 alpha level. All analyses were performed using SPSS 20.0 for Windows.

Table 1
Patient Characteristics according to the Presence or Absence of OB

Variable	Baseline (n = 50)	Without OB (n = 20)	With OB (n = 30)	P
Age, years, median (range), yr	60 (43 - 83)	61 (43 - 82)	60 (49 - 83)	.92
Gender (m/f)	26/24	9/11	17/13	.42
Immunological subtype				.48
Light chain	29 (58)	10 (34.5)	19 (65.5)	
IgG	16 (32)	9 (56.2)	7 (43.8)	
IgA	3 (6)	1 (33.3)	2 (66.7)	
IgM	1 (2)	0 (0)	1 (100)	
Biclonal	1 (2)	0 (0)	1 (100)	
Light chain subtype				.27
Kappa	11 (22)	6 (54.5)	5 (45.5)	
Lambda	39 (78)	14 (35.9)	25 (64.1)	
PC clone, median (range)				
BM PC	12 (1 - 79)	13 (1 - 64)	11 (1-79)	.50
dFLC* (mg/L)	337 (0 - 7823)	390 (75 - 6792)	276 (0 - 7823)	.15
Organ involvement				
Heart	37 (74)	15 (40.5)	22 (59.5)	.90
Kidney	35 (70)	13 (37.1)	22 (62.9)	.53
Liver	8 (16)	3 (37.5)	5 (62.5)	.88
Gastrointestinal	12 (24)	5 (41.7)	7 (58.3)	.89
Autonomic nervous system	8 (16)	4 (50)	4 (50)	.53
Soft tissues	15 (30)	8 (53.3)	7 (46.7)	.21
Other	5 (10)	2 (40)	4 (60)	.99
No. of organs involved				.96
1	11 (22)	5 (45.5)	6 (54.5)	
2	18 (36)	6 (33.3)	12 (66.7)	
3 or more	21 (42)	9 (42.8)	12 (57.2)	
Mayo Risk Stratification System 2004†				.66
1	16 (35.6)	5 (31.2)	11 (68.8)	
2	15 (33.3)	7 (46.7)	8 (53.3)	
3	14 (31.1)	5 (35.7)	9 (64.3)	
Type of treatment				
ASCT	20 (40)	5 (25)	15 (75)	.07
Novel drugs	29 (58)	11 (37.9)	18 (62.1)	.73
Hematologic response				.0001
CR	25 (50)	3 (12)	22 (88)	
VGPR	10 (20)	6 (60)	4 (40)	
PR	15 (30)	11 (73.3)	4 (26.7)	

Data presented are n (%) unless otherwise indicated.

Bold typeface indicates statistical significance.

M indicates male; f, female; dFLC, difference between involved and uninvolved serum free-light chain.

* Only available in 41 patients with dFLC.

† Only available in 45 patients with cardiac biomarkers.

RESULTS

Fifty patients were evaluable for the study. At diagnosis, more than one-half of the patients (58%) had only monoclonal Ig light chains and the predominant light chain isotype was lambda (78%), as expected. Thirty (60%) patients were ineligible for transplantation, while 20 (40%) received an ASCT as first-line therapy. In the nontransplantation setting, 9 patients (18%) received only cytotoxic therapy (alkylating agents) and 21 patients (42%) were treated with novel agents (bortezomib-based therapy [36%] and lenalidomide-based therapy [6%]). In the ASCT group, 11 patients (22%) received upfront ASCT without induction therapy, 1 patient (2%) received previous induction with conventional cytotoxic therapy, and 8 patients (16%) received bortezomib-based therapy. Regarding hematological response, 25 of the 50 patients (50%) achieved CR, 10 patients (20%) VGPR, and 15 patients (30%) PR. Those patients who underwent ASCT reached higher CR rates compared with those who were not eligible for transplantation (85% versus 26.7%, $P < .0001$).

Out of the 50 patients, 60% presented OB while on response, with a median number of 2 bands per patient (range, 1 to 5). Most of the OB (85.5%) were observed in serum, whereas the remaining (14.5%) were only detected in urine. The isotypes of the OB were as follows: IgG-kappa (30.7%), IgG-lambda (20.9%), free kappa (19.4%), IgM-kappa (14.5%), IgM-lambda (8.1%), and free lambda (6.4%). The median duration of OB was 12 months (range, .6 to 52.5; interquartile range, 6.8 to 32.4).

No significant association was found between the emergence of OB and the original monoclonal Ig light chain isotype (45.5% kappa versus 64.1% lambda; $P = .48$). The presence of an abnormal serum free light chain ratio was more frequent in patients who developed OB (65.5% versus 34.5%; $P = .65$). The oligoclonal phenomenon was more prevalent in patients achieving CR compared with those with the other degrees of response (88% versus 32%, $P = .0001$). This difference was maintained in patients ineligible for transplantation (87.5% versus 36.4%, $P = .01$) and in transplantation candidates

(88.2% versus 0%, $P = .001$). There was a trend towards a higher frequency of OB in patients who received ASCT compared with those who did not (75% versus 25%, respectively; $P = .07$). However, differences did not reach significance between the use of novel drugs and conventional therapy (62.1% versus 37.9%, $P = .73$) or between induction chemotherapy with bortezomib before ASCT compared with those who received upfront ASCT (88.9% versus 63.6%, $P = .19$). The characteristics of the patients with or without this oligoclonal response are summarized in Table 1.

The oligoclonal response lasting for more than 1 year was more prevalent in patients who underwent ASCT than in those ineligible for transplantation (45% versus 16.7%, $P = .02$). The disappearance of the OB preceded hematological relapse in all the patients (3 of 3, 100%). Regarding its prognostic value, we perform a landmark analysis with a landmark time of 1 year after diagnosis, comparing those patients with OB and those without OB, resulting in a significantly longer 3-year PFS (85.1% versus 51%, $P = .04$) (Figure 1A) and a non-negligible improvement trend in 3-year OS (100% versus 82.3%, $P = .07$) (Figure 1B).

In the stratified analysis, among those patients with more advanced stage (stages II and III, Mayo system 2004) [21,22], the landmark analysis demonstrated that the presence of OB within 1 year after diagnosis was also associated with a significant change in 3-year PFS, but not in the 3-year OS (87.5% versus 45.7%, $P = .04$ and 100% versus 71.1%, $P = .13$, respectively) (Figure 2A and 2B). This prognostic impact was also observed in those patients who achieved a CR in terms of 3-year OS (100% versus 75%, $P = .03$) (Figure 3). Although PFS and OS were longer, the differences did not reach statistical significance between patients with or without the presence of this oligoclonal phenomenon among those who received an ASCT (3-year PFS: 88.9% versus 58.4%; $P = .18$, and 3-year OS: 100% versus 87.5%; $P = .19$), as was also observed for the non-candidates for ASCT (3-year PFS: 80% versus 47.1%; $P = .16$, and 3-year OS: 100% versus 75.8%; $P = .26$). The statistical significance of OB was not independent of achieving CR after adjusting in a multivariate Cox proportional hazard model.

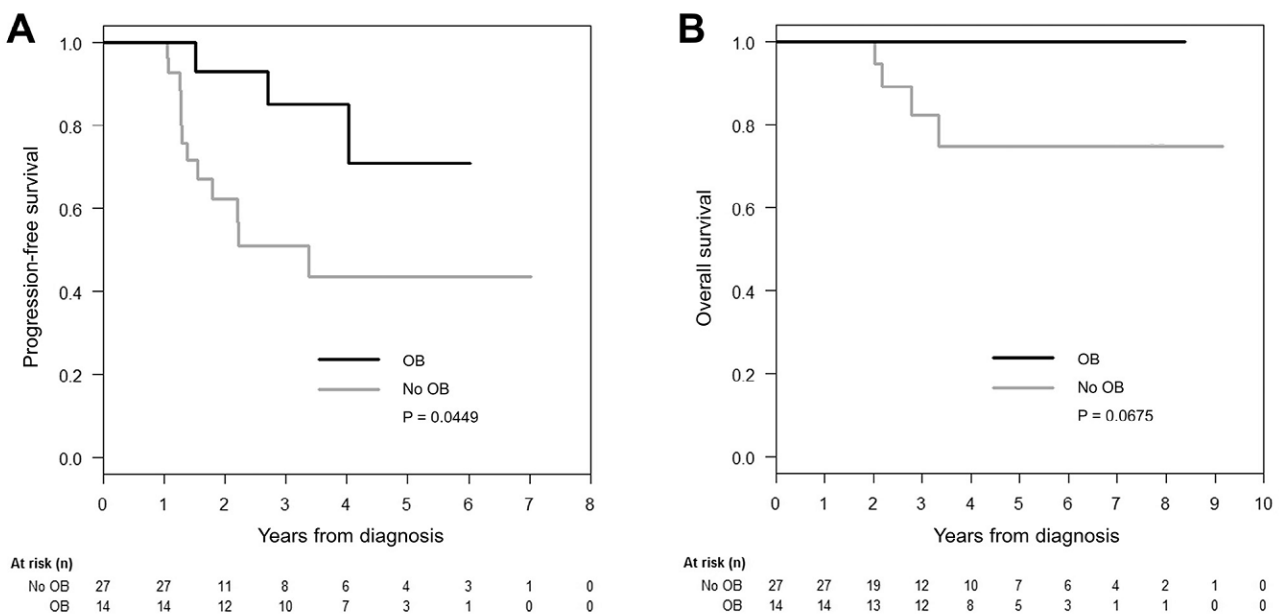


Figure 1. Landmark (A) progression-free survival and (B) overall survival, according to the presence of oligoclonal bands (OB) at 1 year after diagnosis compared with those without OB at 1 year after diagnosis.

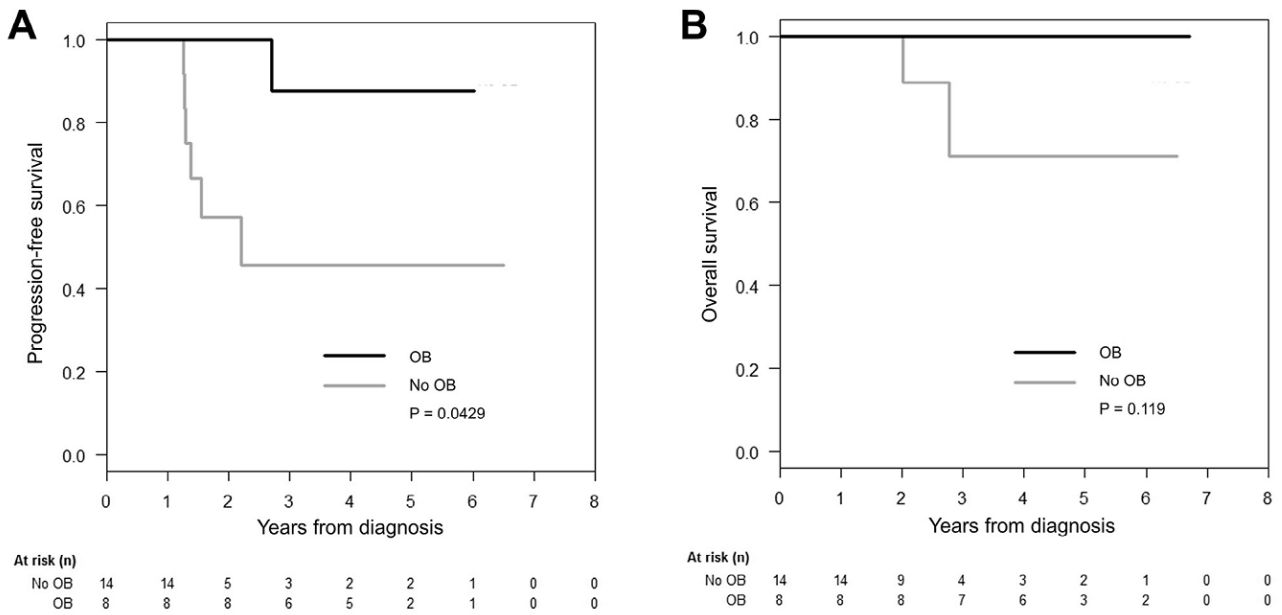


Figure 2. Landmark (A) progression-free survival and (B) overall survival, according to the presence of oligoclonal bands (OB) at 1 year after diagnosis compared with those without OB at 1 year after diagnosis, in patients with more advanced stage (Mayo Risk Stratification System 2004).

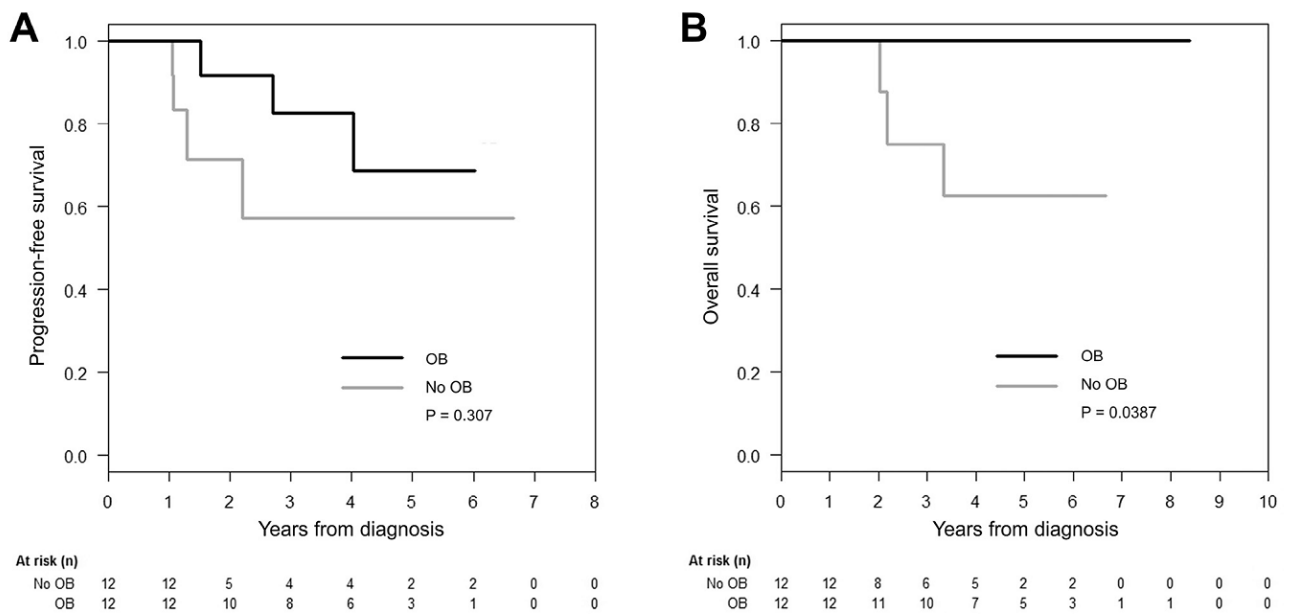


Figure 3. Landmark (A) progression-free survival and (B) overall survival, according to the presence of oligoclonal bands (OB) at 1 year after diagnosis compared with those without OB at 1 year after diagnosis, in patients who achieved a complete remission.

DISCUSSION

The presence of OB in patients during recovery after high-dose chemotherapy followed by stem cell transplantation for MM was first recognized in 1989 [23]. This phenomenon has received multiple names, such as OB [24], abnormal protein bands [9], atypical serum immunofixation patterns [12], apparent isotype class switching [9], or secondary monoclonal gammopathies of undetermined significance (MGUS) [17,25]. In MM, these abnormal protein bands were observed in different clinical scenarios [11–13,17]. Nevertheless, their presence in AL amyloidosis has never been described.

The incidence of OB among different series of patients with MM ranges between 6.6% and 73% [9–12,16,17,24–26], being more frequently observed in patients who underwent ASCT than in those who received conventional chemotherapy [11,17] and with the use of novel agents [12,13]. Compared with patients with MM treated with ASCT, in whom up to 34% of patients presented the oligoclonal phenomena [11], OB were observed in 75% of our patients with AL amyloidosis after ASCT. Furthermore, one-half of patients with AL amyloidosis ineligible for ASCT also showed OB. We did not observe significant differences in the presence OB between patients

who received induction chemotherapy as compared with upfront ASCT.

In our series, the use of novel agents (bortezomib or lenalidomide), compared with conventional chemotherapy or upfront ASCT, was not associated with a higher incidence of OB. This observation is discordant with previous reports in MM, where we found that patients receiving novel agents without ASCT have a significantly higher prevalence of OB compared with those receiving conventional chemotherapy (63% versus 22%, $P = .0001$) [11]. A potential explanation of this observation may be a higher sensitivity to alkylators and glucocorticoids in patients with AL amyloidosis not eligible for ASCT compared with patients with MM who are not candidates for high-dose therapy. In the VISTA trial that compared melphalan and prednisone either alone or with bortezomib in patients with MM who were not candidates for high-dose therapy, the proportion of patients with a CR was 30% in the bortezomib group and 4% in the control group ($P < .001$) [27]. However, in those patients with AL amyloidosis ineligible for ASCT, the administration of a full-dose melphalan and dexamethasone resulted in higher CR rates (31%) [28]. Thus, there is evidence that OB frequently emerged in MM patients who achieved CR after any type of therapy [11,12]; this also occurred in our series of patients with AL amyloidosis (88% versus 32%).

The higher frequency of OB in patients with AL amyloidosis compared with in MM could be explained by the different biology of the malignant PC clone. Previous reports showed similarities of cytogenetic patterns between AL amyloidosis and MGUS, with significant differences compared with MM. Patients with AL amyloidosis have a higher frequency of t(11;14)(q13;q23), considered a less aggressive translocation, and paucity of high-risk cytogenetic abnormalities such as t(4;14)(p16;q23) and 17p13 deletion, compared with MM [29,30]. Analysis of highly purified clonal PC from patients with AL amyloidosis displayed highly overlapping immunophenotypic protein expression profiles with MM; however, the gene expression profiling would suggest that PC in AL amyloidosis are closer to normal PC [31] or MGUS PC [32], reinforcing the model of AL amyloidosis as an MGUS with an unlucky protein producing tissue deposition [33].

Other potential contributing factor is the size of the malignant PC clone in AL amyloidosis and its relationship with the BM niches. In MM, the progressive competition and replacement of normal BMPC by malignant cells in BM niches is associated with more advanced forms of disease [34]. This could be extrapolated to patients with AL amyloidosis, which usually present with fewer malignant PC. The depletion of normal BMPC is typically associated with immunoparesis in MM, and less frequently in MGUS [35]. In this regard, it has been demonstrated that immunoparesis is an adverse prognostic marker in AL amyloidosis associated with a higher treatment failure rate and shorter survival [36].

It has been recently shown that patients with AL amyloidosis undergoing ASCT have better outcomes compared with patients with MM, with higher CR rates (40.1% versus 29.4%, $P < .0001$) and longer OS (113 and 59.5 months, $P < .0001$), addressing in a clinical scenario the differences between the biology of the malignant clones of AL amyloidosis and MM [37]. In this sense, we suggest that a less-aggressive biology and smaller size of the malignant PC clone, as well as the better outcomes after ASCT in patients with AL amyloidosis, could explain the higher frequency of OB in patients achieving hematological response after therapy.

The duration of the oligoclonal humoral response in MM is a matter of debate. Initial reports suggested that it was a

transient phenomenon [17]. However, recent evidence demonstrates that this can last for years [11]. In our series of patients with AL amyloidosis, the median duration was 12 months, suggesting that OB are not a transient phenomenon. Interestingly, in patients with MM the disappearance of the OB preceded the reappearance of the original malignant monoclonal protein and the clinical relapse. This humoral behavior was also observed in our patients with AL amyloidosis and might reflect the competition between polyclonal B lymphocytes and malignant PC clone [11]. However, in rare cases, OB can coexist with the original paraprotein, as it has been observed in patients with MM and controlled BM disease but extramedullary PC escape in soft tissues [38,39].

Regarding the prognostic significance of OB in MM, their presence after ASCT has been associated with a longer PFS and OS than their absence [11]. This fact is reproduced in the present series of AL amyloidosis in the whole population, showing that the presence of OB at 1 year after diagnosis was associated with longer 3-year PFS and improvement trend in 3-year OS. This better outcome related to the presence of OB was independent of the Mayo risk stratification stage [21,22], suggesting a beneficial effect even in patients with advanced stage. Moreover, the development of OB improved the OS even in patients who achieved CR. However, we did not observe this improvement in survival when analyzing the stratified groups by ASCT in first line, which could be explained by the low number of patients in each subgroup.

The mechanism responsible for this restricted oligoclonal humoral response is unclear. In patients with MM, OB may represent various clinical situations, such as the emergence of a secondary MGUS [17] or an immune reconstitution after treatment [40]. They may reflect a recapitulation of B cell ontogeny after myeloablation [9] or a surrogate marker of normal immune reconstitution [41], with alleviation of the immunosuppressive effects of the myeloma clone [9]. Molecular studies by seminested ASO-RT-PCR and DNA sequencing of Ig variable region-encoding genes have demonstrated that the serum oligoclonality is not produced by myeloma-related cells [41]. This antimyeloma humoral immune response may be mediated or facilitated by the release of large amounts of tumor antigens (ie, heat-shock proteins) after highly effective therapies, such as allogeneic stem cell transplantation [42]. However, our group has demonstrated that there is no difference of anti-heat-shock proteins after ASCT, according to the presence or absence of the oligoclonal response [43]. Thus, the biological explanation of OB in AL amyloidosis remains unknown and deserves further investigation. This would be important to clarify whether the OB is a surrogate marker of a better immune reconstitution, with a potential use of this parameter as a guide for post induction strategies.

This study has some limitations as a single-center-based study, with a relative low number of patients, deserving further investigation in larger series studies. It is known that therapy in AL amyloidosis has changed considerably in the past decades and is reflected in the 4-year OS-increase from 28% in 1995 to 50% in the latest time period (2008 to 2012) [44,45]. Our results highlight the impact of OB in patients diagnosed with AL amyloidosis in the last decade.

In summary, this is the first report describing the incidence of OB bands in patients with AL amyloidosis after first-line therapy, which is even higher than in patients with multiple myeloma. The oligoclonal humoral phenomenon was more frequent in patients who achieved CR. Patients with oligoclonal humoral response for more than 1 year had

a significantly better outcome, even in those with poor prognostic features, thereby reflecting the relevance of a more robust humoral immune response in this disease.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Esther Bladé for her technical support in this research.

Financial disclosure: This work has been supported in part by grants RD12/0036/0046, JR14/00035, PI12/01290 and PI16/0423 from Instituto de Salud Carlos III and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), and 2014SGR-552 from AGAUR (Generalitat de Catalunya).

Conflict of interest: The authors declare no disclosures.

Author contributions: L.G.R.L., C.F.L., and M.T.C. designed the study; collected and analyzed data; performed statistical analysis; and wrote and reviewed the paper; N.T., L.R., and J.B. treated the patients and reviewed the paper; J.I.A., L.D., E.L. M.E., and J.Y. performed the laboratory tests and reviewed the paper. All authors approved the final version of the manuscript. L.G.R.L. and C.F.L. equally contributed to the manuscript.

SUPPLEMENTARY DATA

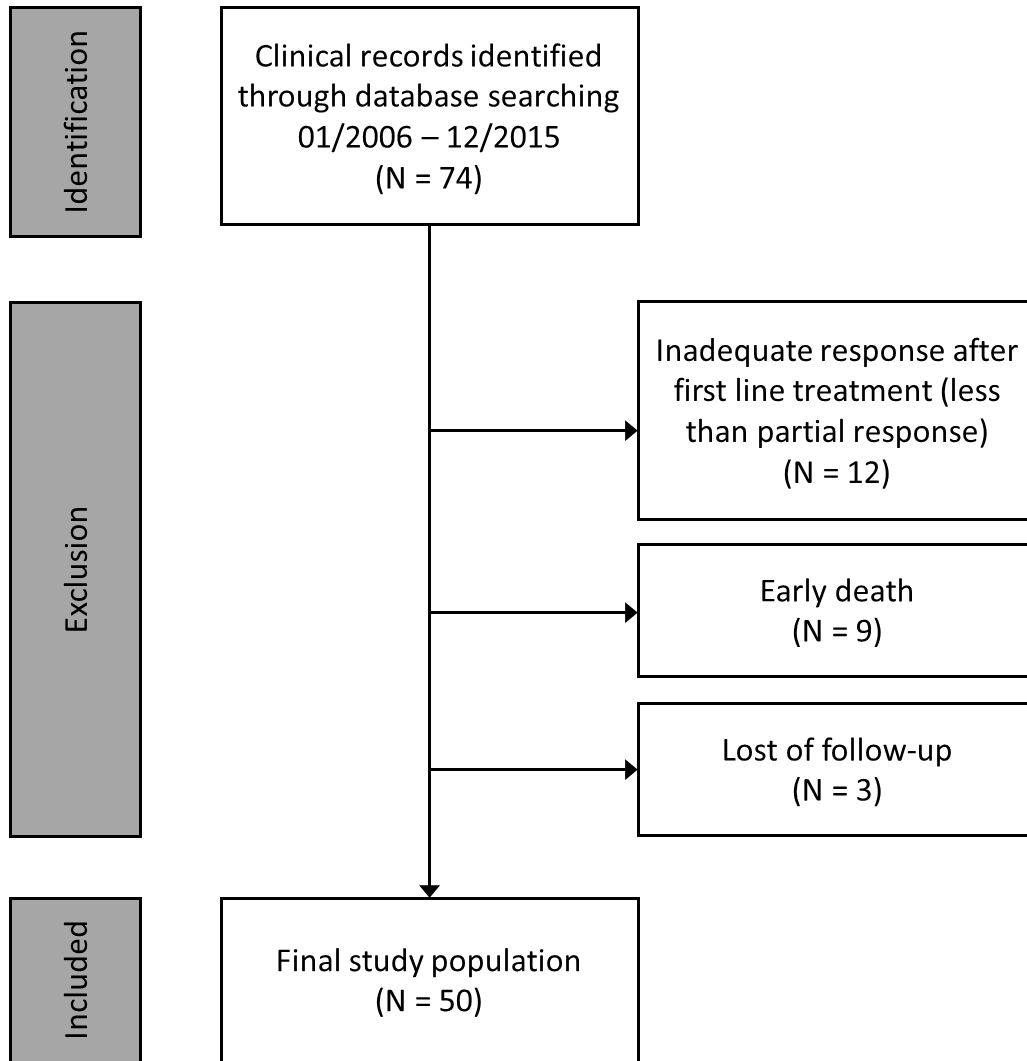
Supplementary data related to this article can be found online at doi:10.1016/j.bbmt.2017.04.012.

REFERENCES

- Merlini G, Wechalekar AD, Palladini G. Systemic light chain amyloidosis: an update for treating physicians. *Blood*. 2013;121:5124-5130.
- Falk RH, Comenzo RL, Skinner M. The systemic amyloidoses. *N Engl J Med*. 1997;337:898-909.
- Mahmood S, Palladini G, Santhorawala V, Wechalekar A. Update on treatment of light chain amyloidosis. *Haematologica*. 2014;99:209-221.
- Fernández de Larrea C, Verga L, Morbini P, et al. A practical approach to the diagnosis of systemic amyloidosis. *Blood*. 2015;125:2239-2244.
- Vrana JA, Theis JD, Dasari S, et al. Clinical diagnosis and typing of systemic amyloidosis in subcutaneous fat aspirates by mass spectrometry-based proteomics. *Haematologica*. 2014;99:1239-1247.
- Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol*. 2012;30:4541-4549.
- Cibeira MT, Santhorawala V, Seldin DC, et al. Outcome of AL amyloidosis after high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation: long-term results in a series of 421 patients. *Blood*. 2011;118:4346-4352.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23:3-9.
- Zent CS, Wilson CS, Tricot G, et al. Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 1998;91:3518-3523.
- Hovenga S, de Wolf JT, Guikema JE, et al. Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma after VAD and EDAP courses: a high incidence of oligoclonal serum Igs post transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25:723-728.
- Tovar N, Fernández de Larrea C, Aróstegui JI, et al. Natural history and prognostic impact of oligoclonal humoral response in patients with multiple myeloma after autologous stem cell transplantation: long-term results from a single institution. *Haematologica*. 2013;98:1142-1146.
- Mark T, Jayabalan D, Coleman M, et al. Atypical serum immunofixation patterns frequently emerge in immunomodulatory therapy and are associated with a high degree of response in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2008;143:654-660.
- Fernández de Larrea C, Tovar N, Cibeira MT, et al. Emergence of oligoclonal bands in patients with multiple myeloma in complete remission after induction chemotherapy: association with the use of novel agents. *Haematologica*. 2011;96:171-173.
- Fumoux F, Guigou V, Blaise D, Maraninchi D, Fougereau M, Schiff C. Reconstitution of human immunoglobulin VH repertoire after bone marrow transplantation mimics B-cell ontogeny. *Blood*. 1993;81:3153-3157.
- Gerritsen EJ, Van Tol MJ, Van 't Veer MB, et al. Clonal dysregulation of the antibody response to tetanus-toxoid after bone marrow transplantation. *Blood*. 1994;84:4374-4382.
- Hall SL, Tate J, Gill D, Mollee P. Significance of abnormal protein bands in patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Clin Biochem Rev*. 2009;30:113-118.
- Wadhera RK, Kyle RA, Larson DR, et al. Incidence, clinical course, and prognosis of secondary monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2011;118:2985-2987.
- Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol*. 2005;79:319-328.
- Delgado J, Pereira A, Villamor N, López-Guillermo A, Rozman C. Survival analysis in hematologic malignancies: recommendations for clinicians. *Haematologica*. 2014;99:1410-1420.
- Anderson JR, Cain KC, Gelber RD. Analysis of survival by tumor response and other comparisons of time-to-event by outcome variables. *J Clin Oncol*. 2008;26:3913-3915.
- Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. *J Clin Oncol*. 2004;22:3751-3757.
- Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2004;104:1881-1887.
- Mitus AJ, Stein R, Rappaport JM, et al. Monoclonal and oligoclonal gammopathy after bone marrow transplantation. *Blood*. 1989;74:2764-2768.
- Fernández de Larrea C, Cibeira MT, Elena M, et al. Abnormal serum free light chain ratio in patients with multiple myeloma in complete remission has strong association with the presence of oligoclonal bands: implications for stringent complete remission definition. *Blood*. 2009;114:4954-4956.
- Manson GV, Campagnaro E, Balog A, et al. Secondary MGUS after autologous hematopoietic progenitor cell transplantation in plasma cell myeloma: a matter of undetermined significance. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47:1212-1216.
- Alejandro ME, Madalena LB, Pavlovsky MA, et al. Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myeloma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:727-731.
- San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2008;359:906-917.
- Palladini G, Milani P, Foli A, et al. Oral melphalan and dexamethasone grants extended survival with minimal toxicity in AL amyloidosis: long-term results of a risk-adapted approach. *Haematologica*. 2014;99:743-750.
- Bochtler T, Hegenbart U, Cremer FW, et al. Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood*. 2008;111:4700-4705.
- Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood*. 2005;106:2837-2840.
- Paiva B, Martínez-López J, Corchete LA, et al. Phenotypic, transcriptomic, and genomic features of clonal plasma cells in light-chain amyloidosis. *Blood*. 2016;127:3035-3039.
- Abraham RS, Ballman KV, Dispenzieri A, et al. Functional gene expression analysis of clonal plasma cells identifies a unique molecular profile for light chain amyloidosis. *Blood*. 2005;105:794-803.
- Hayman SR, Bailey RJ, Jalal SM, et al. Translocations involving the immunoglobulin heavy-chain locus are possible early genetic events in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood*. 2001;98:2266-2268.
- Paiva B, Pérez-Andrés M, Vidriales M-B, et al. Competition between clonal plasma cells and normal cells for potentially overlapping bone marrow niches is associated with a progressively altered cellular distribution in MGUS vs myeloma. *Leukemia*. 2011;25:697-706.
- Ludwig H, Milosavljevic D, Berlanga O, et al. Suppression of the noninvolved pair of the myeloma isotype correlates with poor survival in newly diagnosed and relapsed/refractory patients with myeloma. *Am J Hematol*. 2016;91:295-301.
- Muchtar E, Dispenzieri A, Kumar SK, et al. Immunoparesis in newly diagnosed AL amyloidosis is a marker for response and survival. *Leukemia*. 2017;31:92-99.
- Dispenzieri A, Seenithamby K, Lacy MQ, et al. Patients with immunoglobulin light chain amyloidosis undergoing autologous stem cell transplantation have superior outcomes compared with patients with multiple myeloma: a retrospective review from a tertiary referral center. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:1302-1307.
- Pratt G, Mead GP, Godfrey KR, et al. The tumor kinetics of multiple myeloma following autologous stem cell transplantation as assessed by measuring serum-free light chains. *Leuk Lymphoma*. 2006;47:21-28.
- Bladé J, Fernández de Larrea C, Rosiñol L, Cibeira MT, Jiménez R, Powles R. Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: incidence, mechanisms of extramedullary spread, and treatment approach. *J Clin Oncol*. 2011;29:3805-3812.

40. Jo J-C, Yoon DH, Kim S, et al. Clinical significance of the appearance of abnormal protein band in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2014;93:463-469.
41. Guikema JE, Vellenga E, Veeneman JM, et al. Multiple myeloma related cells in patients undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 1999;104:748-754.
42. Rahlff J, Trusch M, Haag F, et al. Antigen-specificity of oligoclonal abnormal protein bands in multiple myeloma after allogeneic stem cell transplantation. *Cancer Immunol Immunother.* 2012;61:1639-1651.
43. Tovar N, Fernández de Larrea C, Pedrosa F, et al. Differential humoral responses against heat-shock proteins after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2014;93:107-111.
44. Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet.* 2016;387:2641-2654.
45. Muchtar E, Buadi FK, Dispenzieri A, Gertz MA. Immunoglobulin light-chain amyloidosis: from basics to new developments in diagnosis, prognosis and therapy. *Acta Haematol.* 2016;135:172-190.

Supplementary Figure 1. Algorithmic diagram of the patients with AL amyloidosis in the study.



Trabajo 2

**PROGNOSTIC IMPACT OF IMMUNOPARESIS AT DIAGNOSIS AND AFTER
TREATMENT ONSET IN PATIENTS WITH LIGHT-CHAIN AMYLOIDOSIS**

**Luis Gerardo Rodríguez-Lobato, Carlos Fernández de Larrea, Ma. Teresa Cibeira,
Natalia Tovar, Ignacio Isola, Juan I. Aróstegui, Laura Rosiñol, Tania Díaz, Ester
Lozano, Jordi Yagüe, Joan Bladé**

Amyloid, 2017;24(4):245-252.

Resumen del trabajo 2

La presencia de IP al diagnóstico en diferentes GM es un factor de riesgo de progresión y se asocia a un pronóstico desfavorable. Sin embargo, su impacto pronóstico en amiloidosis sistémica AL sólo ha sido evaluado en algunas series, asociándose a peor respuesta y supervivencia. Recientemente, se ha demostrado que la recuperación de la IP tras el TAPH en pacientes con MM es un factor de buen pronóstico.

El objetivo del estudio fue determinar el impacto pronóstico de la IP al diagnóstico, así como el efecto pronóstico de su persistencia un año tras el inicio del tratamiento en pacientes con amiloidosis AL.

Se incluyeron 69 pacientes (32M/37V, mediana de edad al diagnóstico 62 años, rango intercuartil 55-70). La mediana de seguimiento en los pacientes vivos fue de 46,3 meses. Se definió IP como la disminución de todas las Ig no involucradas por debajo del límite inferior de referencia.









Análisis de IP al diagnóstico. La incidencia de IP fue de 27,5%. Los pacientes con IP tenían un mayor porcentaje de CPMO (29 frente 9, $P<0,001$). La ausencia de IP se asoció a mejores tasas de respuestas \geq MBRP (62,2% frente 37,8%, $P=0,04$). En cuanto al pronóstico, en el grupo que recibió un TAPH, la presencia de IP se asoció a una SLP más reducidas (no alcanzada [NA] frente a 30,2 meses, $P=0,02$), pero no observamos diferencias estadísticamente significativas en SG (NA frente a 62,5 meses, $P=0,097$).

Análisis de IP tras el tratamiento: Se analizaron 41 pacientes. La incidencia de IP fue de 9,8%. El realizar un TAPH redujo significativamente la presencia de IP un año tras el tratamiento (9,1% frente 40,9%, $P=0,016$). En cuanto al pronóstico, en el grupo de pacientes que recibió un TAPH, la ausencia de IP dio lugar a una mediana de SLP y

SG más prolongada (NA frente a 22,6 meses, $P=0,006$ y NA frente a 35,2 meses, $P<0,001$, respectivamente). En el análisis multivariado, la ausencia de IP mantuvo su independencia pronóstica (HR=0,057; IC 95%, 0,005-0,679; $P=0,024$).

En conclusión, la presencia de IP al diagnóstico tiene un impacto negativo sobre la supervivencia y podría ser un indicador pronóstico discriminatorio adicional. La recuperación de la IP al año del inicio del tratamiento podría ser un marcador de supervivencia independiente a largo plazo.

Prognostic impact of immunoparesis at diagnosis and after treatment onset in patients with light-chain amyloidosis

Luis Gerardo Rodríguez-Lobato^a , Carlos Fernández de Larrea^a , Maria Teresa Cibeira^a , Natalia Tovar^a, Ignacio Isola^a, Juan I. Aróstegui^b , Laura Rosiñol^a , Tania Díaz^a, Ester Lozano^a , Jordi Yagüe^b  and Joan Bladé^a 

^aDepartment of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain; ^bDepartment of Immunology, Amyloidosis and Myeloma Unit, Hospital Clínic of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Objectives: Immunoparesis (IP) is a risk factor associated with an unfavourable outcome in several plasma cell disorders. It has been suggested that its presence in light-chain (AL) amyloidosis could be associated with worse prognosis. However, the relevance of IP after treatment has not been evaluated to date. The aim of this study was to determine the prognostic impact of IP at diagnosis and one year after treatment onset in patients with AL amyloidosis.

Methods: The clinical records of 69 patients with AL amyloidosis treated at a single institution from January 2006 to January 2016 were included in the study.

Results: IP was observed in 27.5% of patients at diagnosis. The presence of IP was associated with a lower probability to achieve very good partial response or better after first-line treatment (37.8% versus 62.2%; $p = .04$). However, only in the group of patients treated with autologous stem cell transplantation (ASCT), the presence of IP resulted in a shorter progression-free survival (PFS) (30.2 months versus not reached [NR]; $p = .02$) but not in overall survival (OS). Persistence of IP at one year after treatment onset was identified in only four (9.8%) of the 41 evaluable patients. In the ASCT group, the absence of IP at one year after treatment onset resulted in a longer median PFS and OS (NR versus 22.6 months; $p = .006$; and NR versus 35.2 months; $p < .001$; respectively). In the multivariate analysis, the absence of IP at one year after treatment onset was independently associated with longer survival.

Conclusion: IP at diagnosis has a negative impact on survival while its absence at one year after treatment is an independent marker for long-term survival.

Abbreviations: AL: light-chain amyloidosis; ASCT: autologous stem cell transplantation; BM: bone marrow; BMPC: bone marrow plasma cell; dFLC: difference between involved and uninvolved serum free light chain; Ig: immunoglobulin; IP: immunoparesis; MGUS: monoclonal gammopathy of undetermined significance; MM: multiple myeloma; OS: overall survival; PC: plasma cell; PFS: progression-free survival; SMM: smoldering multiple myeloma; Treg: T regulatory cells

ARTICLE HISTORY

Received 11 August 2017

Revised 5 October 2017

Accepted 6 October 2017



KEYWORDS


Amyloidosis; immunoglobulin; immunoparesis; response; prognostic factor

Introduction

Immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis is an uncommon haematological disease characterized by a monoclonal proliferation of plasma cells (PC) that produces a monoclonal immunoglobulin (Ig) light chain [1–3]. The pathogenic Ig light chain misfolds, aggregates and is deposited in tissue as insoluble amyloid fibrils with a predominant β -pleated sheet structure, generating structural damage and organ dysfunction [4,5]. The clinical presentation is variable and the diagnosis can be challenging [1]. The treatment goal is to suppress the production of the fibril precursor protein, while minimizing the treatment-related toxicity [6,7]. The prognosis is variable and depends on the organ involvement as well as the size and biology of the PC clone [8]. The most important prognostic factors are the difference between

involved and uninvolved serum free light chain (dFLC) and cardiac biomarkers (troponin T and NT-proBNP) [1,5,7,9]. The suppression of the uninvolved immunoglobulins (Igs) or immunoparesis (IP) is a recognized poor prognostic factor in other plasma cell disorders. In this sense, the reported incidence of IP in patients with symptomatic multiple myeloma (MM) ranges between 65% and 91% [10–13], and it is associated with unfavourable outcomes with reduced progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) [13]. In patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) or smoldering multiple myeloma (SMM), the presence of IP at diagnosis is associated with higher risk of progression to MM [14–18]. This negative prognostic value of IP has also been demonstrated in IgM gammopathies [19] and solitary plasmacytomas [20,21]. Recently, it has been shown that the recovery of polyclonal

CONTACT Joan Bladé  jblade@clinic.ub.es  Department of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain

 Supplemental data for this article can be accessed [here](#).

© 2017 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Table 1. Patient characteristics according to the presence or absence of immunoparesis at diagnosis.

Variable	Baseline (n = 69)	No IP (n = 50)	IP (n = 19)	p
Median age, years (IQR)	62 (55–69.5)	64.5 (56–70.25)	56 (52–67)	.09
Gender (F/M)	32/37	21/29	11/8	.24
Immunological subtype; N (%)				.75
Light chain	32 (46.4)	24 (48)	8 (42.1)	
IgG	27 (39.1)	18 (36)	9 (47.3)	
IgA	7 (10.2)	6 (12)	1 (5.3)	
IgM	3 (4.3)	2 (4)	1 (5.3)	
Light chain subtype; N (%)				.44
Kappa	14 (20.3)	9 (18)	5 (26.3)	
Lambda	55 (79.7)	41 (82)	14 (73.7)	
Plasma cell clone; median (IQR)				
Bone marrow plasma cell	11 (7–16)	9 (6–13.5)	29 (13–48)	<.001
dFLC ^a (mg/L)	278.9 (98.5–546)	221.7 (75–512)	360.2 (229.8–1137)	.08
Organ involvement; N (%)				
Heart	51 (73.9)	37 (74)	14 (73.7)	.98
Kidney	48 (69.6)	39 (78)	9 (47.4)	.01
Liver	14 (20.3)	11 (22)	3 (15.8)	.68
Gastrointestinal	15 (21.8)	12 (24)	3 (15.8)	.61
Autonomic nervous system	12 (17.4)	10 (20)	2 (10.5)	.52
Soft tissues	21 (30.5)	13 (26)	8 (42.1)	.38
Number of organs involved; N (%)				
1–2	38 (55.1)	25 (50)	13 (68.4)	.17
3 or more	31 (44.9)	25 (50)	6 (31.6)	
Renal stage; N (%) ^b				
I	31 (44.9)	17 (34)	14 (73.7)	.008
II	30 (43.5)	25 (50)	5 (26.3)	
III	8 (11.6)	8 (16)	0 (0)	
Mayo Risk Stratification System 2012				.90
1–2	34 (58.6)	26 (59.1)	8 (57.1)	
3–4	24 (41.4)	18 (40.9)	6 (42.9)	
Type of treatment; N (%)				
ASCT	26 (37.7)	15 (57.7)	11 (42.3)	.03
Novel drugs	28 (40.6)	24 (85.7)	4 (14.3)	.04
Hematologic response; N (%)				
CR – VGPR	37 (53.6)	23 (62.2)	14 (37.8)	.04

ASCT, autologous stem cell transplantation; CR, complete response; dFLC, difference between involved and uninvolved serum free-light chain; IP, immunoparesis; IQR, interquartile range; VGPR, very good partial response.

^aAvailable in 58 patients.

^bRenal stage is calculated based on eGFR <50 mL/min/1.73 m² and proteinuria >5 g/24 h (I – none present; II – either one present; III – both present) [43].

The bold values are statistically significant.

IgG one year after autologous stem cell transplantation (ASCT) in patients with MM is an independent long-term predictor marker for disease progression and survival [22]. In AL amyloidosis, impact of IP has been evaluated in two series of patients, being associated with lower degree of hematologic responses and poorer survival [23,24].

The aims of the present study were to determine the incidence and prognostic impact of IP at diagnosis, as well as the prognosis significance of its persistence one year after treatment onset in patients with AL amyloidosis.

Patients and methods

Patients

The clinical records of 75 consecutive patients with systemic AL amyloidosis treated at a single institution from January 2006 to January 2016 were reviewed. Three patients were lost to follow-up, and three were excluded because Ig measurements were not available. Sixty-nine patients (32F/37M; median age at diagnosis 62) were the final study population (Supplementary Figure 1). The diagnosis of AL amyloidosis was based on the demonstration of tissue-positive Congo red and green birefringence under polarized light followed by

typing with immunohistochemistry. Baseline demographics, clinical and laboratory data, treatment and follow-up were collected (Table 1). The risk categories were established according to the Mayo 2012 staging system [9]. The Ethics Committee of the Hospital Clínic of Barcelona approved the study and was in accordance with the Declaration of Helsinki.

Immunoparesis and response definitions

We performed a retrospective and systematic review of serum levels of Igs at diagnosis and one year after starting treatment in all the study population. Suppression of the Igs or IP was defined as suppression of all uninvolved Igs below the lower limit of normal for our centre reference range (IgG <6.8 g/L, IgA <0.66 g/L and IgM <0.36 g/L). Ig were measured by standard nephelometry. The definitions of response, relapse and progression were defined according to the most recent response criteria [8].

Statistical analysis

The Student's *t*-test was used to analyze differences among the subgroups of patients for continuous variables and χ^2

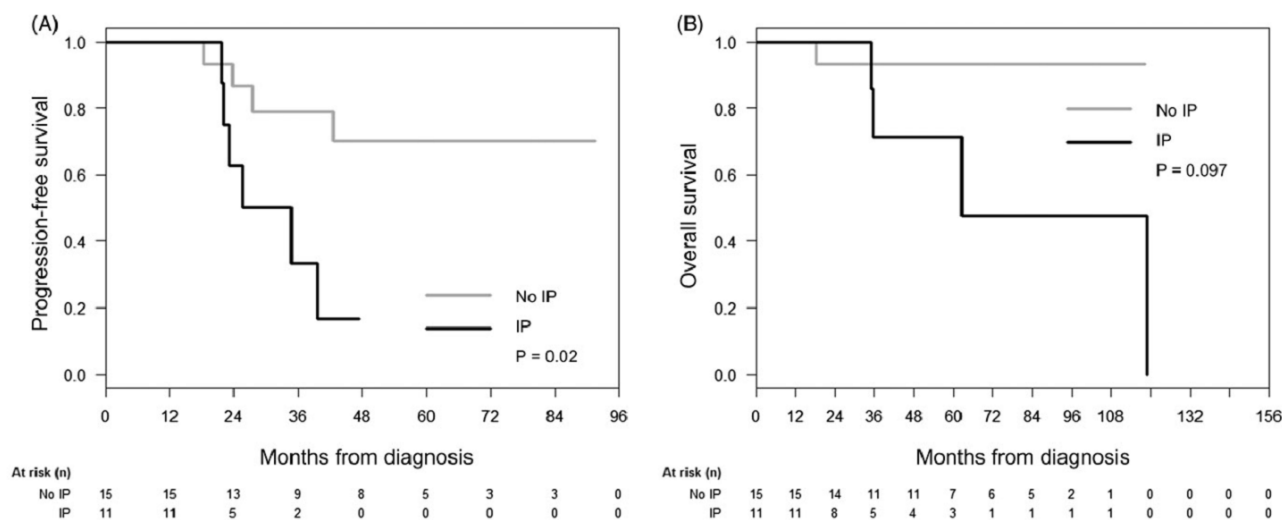


Figure 1. (A) Progression-free survival and (B) overall survival, according to the presence of immunoparesis at diagnosis in patients who received an autologous stem cell transplantation.

test for categorical variables, or non-parametric tests when required. The McNemar test was used to analyze differences on paired nominal data. Evaluation of response, PFS and OS were performed in accordance with consensus criteria [25]. Time-to-event analysis was performed by the Kaplan-Meier method and survival curves were compared using the log-rank test. The effect of IP one year after treatment onset was evaluated using the landmark approach [26,27]. Only patients who were still alive and without progression at such landmark time were included in the respective analyzes. Multivariate analysis by Cox proportional hazard model was used to identify prognostic factors. The proportional hazards assumption was evaluated with Schoenfeld residuals. Statistical test values were two-sided, with statistical significance evaluated at the .05 alpha level. Analyses were performed using R 2.15.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>).

Results

Patient characteristics

The baseline characteristics of the 69 patients included in the final analysis are summarized in Table 1. The median age was 62 years (interquartile range [IQR]: 55–69.5) and 54% were males. At diagnosis, 46% of patients had only monoclonal Ig light chains and the predominant light chain isotype was lambda (80%). Median number of organs involved was two (IQR: 2–3), being heart (74%) and kidney (70%) the most commonly involved. Almost half of the patients (45%) had more than two involved organs. The median bone marrow (BM) PC infiltration was 10% (IQR: 7–16) with a median dFLC of 279 mg/L (IQR: 98.5–546 mg/L). The revised Mayo staging system scoring distribution was available for 58 patients, of which 59% had stages I–II and 41% stages III–IV. As part of their first line treatment, 26 patients (38%) underwent an ASCT and 40.6% received novel drugs (29% bortezomib and 12% lenalidomide). Regarding haematological response, 41% of the patients

achieved complete response (CR), 13% very good partial response (VGPR), 22% partial response (PR). The median follow-up for alive patients was 46.3 months (range: 13–118.2 months).

Analysis of immunoparesis at diagnosis

The comparisons of the patients' characteristics between both groups with and without IP at diagnosis are summarized in Table 1. Nineteen patients (27.5%) had suppression of all uninvolved Igs. The predominant light chain isotype was lambda in both groups with and without IP (73.7% and 82%, respectively; $p = .44$). There were no statistically significant differences regarding the number of involved organs.

In terms of tumour burden, patients with IP had a higher median BMPC infiltration compared with patients without IP (29% versus 9%; $p < .001$). Patients with IP had a higher median dFLC compared with patients without IP, but it was not statistically significant (360.2 mg/L versus 221.7 mg/L; $p = .08$). Correlation analysis showed a significant positive correlation between IP and BMPC infiltration (Spearman $r = 0.573$; $p < .001$) and a trends toward a positive correlation between IP and dFLC (Spearman $r = 0.235$; $p = .08$). There were no significant differences in terms of the revised Mayo staging system distribution comparing patients with and without IP.

In terms of haematological response, patients who did not present IP had a greater VGPR rate or better (62.2%) than those patients with IP (37.8%; $p = .04$). There were no differences regarding the type of treatment received (ASCT, non-ASCT or novel agents) and the presence of IP (no IP: 55% versus IP: 45%; $p = .61$, no IP: 70.6% versus IP: 29.4%; $p = .14$, no IP: 84.6% versus IP: 15.4%; $p = .88$, respectively).

Regarding its prognostic value in the whole series, there were not statistically significant differences in terms of median PFS (42.1 months without IP and 23.2 months with IP; $p = .29$) and medians OS (not reached (NR) without IP and 62.5 months with IP; $p = .89$). In the ASCT group, the

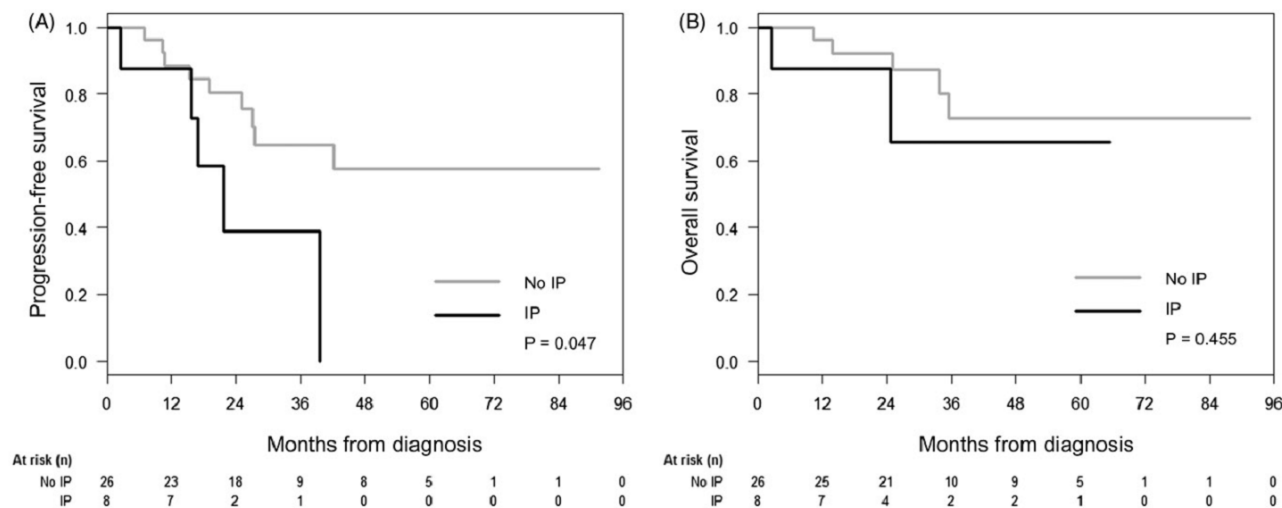


Figure 2. (A) Progression-free survival and (B) overall survival, according to the presence of immunoparesis at diagnosis in the group of patients with stage I and II of the revised Mayo risk stratification system.

presence of IP resulted in a significantly shorter median PFS (NR versus 30.2 months; $p = .02$; Figure 1(A)) however, there was no statistically significant difference in OS (NR versus 62.5 months; $p = .097$; Figure 1(B)). In contrast, no differences in terms of PFS and OS were found according to the presence or absence of IP in those patients who did not receive high-dose chemotherapy. In the group of patients with stages I–II of the revised Mayo risk stratification system, the presence of IP resulted in a shorter median PFS (NR versus 21.8 months; $p = .047$; Figure 2(A)), but not significantly differences in OS (Figure 2(B)). No statistically significant differences in patients either with more advanced stages (III–IV) of the revised Mayo staging systems or with the use of novel drugs were observed.

Multivariate analysis restricted to patients with stages I–II of the revised Mayo staging system, with a model incorporating ASCT, BMPC infiltration and IP, showed that the presence of IP retained its independent prognostic value for worse PFS (hazard ratio [HR] = 12.06; 95% CI: 1.9–75.7; $p = .008$). In a second analysis for PFS, restricted to the group of patients who received high-dose therapy with ASCT at first line, the model incorporated IP and haematological response, IP also retained its independent prognostic value (HR = 5.635; 95% CI: 1.367–23.23; $p = .017$).

Analysis of immunoparesis at one year after treatment onset

Serum levels of Igs at one year after treatment onset were available in 41 out of the 69 patients included in this study. Only four of these patients (9.8%) had suppression of all uninvolved Igs at that time. In the paired-sample analysis of the 41 patients, there was a statistically significant disappearance of IP one year after treatment onset compared with IP at diagnosis (9.8% versus 34.1%; $p = .006$) (Figure 3). These results were mainly found in patients with lambda light chain isotype (5.9% versus 29.4%; $p = .02$) but were not significantly for kappa (28.6% versus 57.1%; $p = .5$).

In relation to the type of treatment, the use of novel agents did not show improvement in the recovery of uninvolved Ig one year after treatment onset (6.2%) compared with IP at diagnosis (12.5%; $p = 1.00$). However, high-dose therapy with ASCT significantly reduced IP one year after treatment onset (9.1% versus 40.9%; $p = .016$). The analysis of hematologic response comparing IP at one year with IP at diagnosis, showed that patients who achieved \geq VGPR recovered from IP more frequently than those who achieved PR or worse (6.5% at one year versus 41.9% at diagnosis, $p = .001$; and 20% at one year versus 10% at diagnosis, $p = 1.00$; respectively). Results of the paired-sample analysis are summarized in Figure 3.

In order to evaluate IP prognostic value, we performed a one year landmark point analysis. IP recovery resulted in a non-statistically significant longer median PFS (NR versus 22.6 months, $p = .085$) and a statistically significant longer OS (NR versus 33.3 months, $p = .03$) (Figure 4(A,B)). In the stratified analysis, among those patients who received high-dose therapy with ASCT, the one year landmark analysis demonstrated that the absence of IP was also associated with a significant longer median PFS (NR versus 22.6 months; $p = .006$), and longer median OS (NR versus 35.2 months; $p < .001$); while no differences were found in the non-ASCT group. In the multivariate analysis performed for OS at one year landmark point in the subgroup of patients who received an ASCT, including IP and haematological response as covariates, the absence of IP retained its independent prognostic value (HR = 0.057; 95% CI: 0.005–0.679; $p = .024$).

Discussion

The presence of IP is a well-known poor prognostic factor described in other monoclonal gammopathies [19–21] and higher risk of progression to MM in patients with MGUS and SMM [14–18]. Recently, two groups have analyzed the prognostic impact of IP in patients with AL amyloidosis and have suggested its association with higher treatment failure

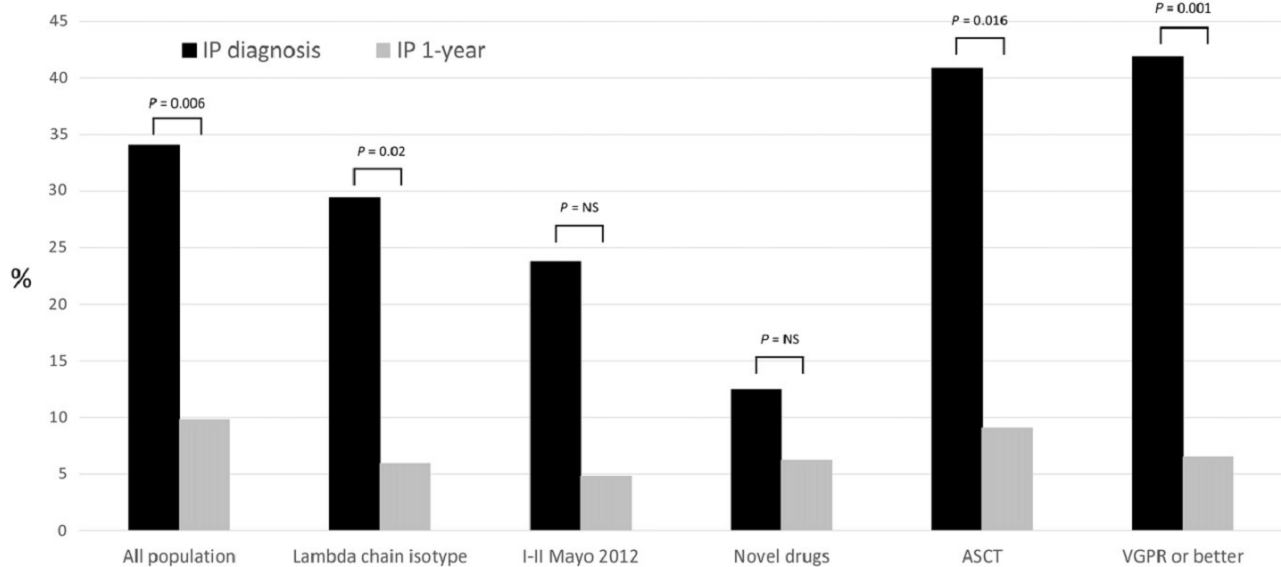


Figure 3. Paired-sample analysis of immunoparesis change comparing its presence at diagnosis and at one year after treatment onset. ASCT, autologous stem cell transplantation; VGPR, very good partial response.

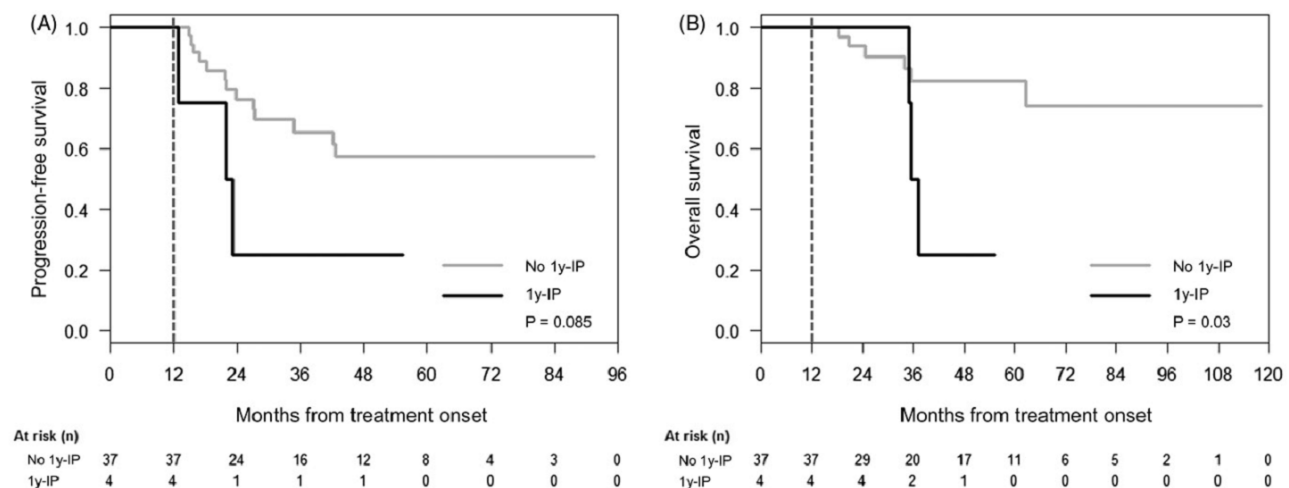


Figure 4. Landmark (A) progression-free survival and (B) overall survival, according to the persistence of immunoparesis at one year after treatment onset.

rate and a shorter survival [23,24]. The present study supports the negative prognostic value of IP at diagnosis in AL amyloidosis and highlights the importance of IP recovery at one year after treatment onset.

The incidence of IP among different series of patients with MM ranges between 65% and 91% [10–13]; while in AL amyloidosis is between 23% and 72% [23,24]. This wide variability could be due to the definition of IP used. In our series, we decided to define IP as the suppression of all the uninvolved Igs because previous results showed similar outcomes between patients with partial suppression and preserved uninvolved Igs [24], with similar results also in our series (data not shown).

Interestingly, IP frequency in AL amyloidosis is lower than in patients with MM. It could be explained by the less aggressive biology of the PC clone in AL amyloidosis with higher frequency of neutral cytogenetic abnormalities such as *t(11;14)(q13;q23)* and lower frequency of high-risk abnormalities [28,29]. In addition, gene expression profiling

suggests that amyloidogenic PC are more similar to normal PC than malignant PC from patients with MM [30]. Other important factor is the tumour burden. The smaller size of the PC clone in AL amyloidosis compared with MM could have an important role in humoral immunosuppression [1]. In our series, patients with IP had a higher BMPCs infiltration compared with patients without IP (29% versus 9%) in contrast with previous results in patients with MM (93% versus 78% using cutoff of >40% of PC infiltration) [13]. Accordingly, our patients with AL amyloidosis and IP showed a trend toward a higher dFLC. In this sense, we suggest that the low tumour burden and a less aggressive biology in AL amyloidosis could explain the lower frequency of IP compared with MM. In any event, in patients with AL amyloidosis, the presence of IP is associated with higher tumour burden, probably reflecting the competence for the niche in BM of abnormal versus normal PC.

Although patients who underwent ASCT achieved similar rates of \geq VGPR regardless of the presence or absence of IP,

the PFS and OS could be significantly worse in patients with IP. In fact, in the landmark analysis, this was the only treatment strategy able to reduce significantly the incidence of IP at one year after treatment (40.9% at diagnosis versus 9.1% at one year) which translated into longer median PFS and OS. The impact of this prognostic factor was confirmed in the multivariate analysis both at diagnosis and at one year after treatment onset. On the contrary, patients non-eligible for ASCT with suppression of all uninvolved Igs achieved fewer \geq VGPR despite the use of novel drugs. Thus, no treatment used was able to significantly decrease the frequency of IP at one year after treatment onset. Our results are in concordance with Mayo Clinic series, in which patients who underwent ASCT demonstrated a significant difference in favour to the non-IP group in terms of PFS (30 versus 127 months) and OS (108 months versus NR). In contrast, no significant differences were observed in those treated with a bortezomib-based regimen in terms of PFS and OS (14 versus 23 months, $p = .13$; and 41 versus 57 months, $p = .61$; respectively) [31]. These data suggest that high-dose therapy with ASCT could be the treatment of choice in patients with suppression of all uninvolved Igs, and the presence of IP did not modify the inherent poor prognosis in patients unsuitable for transplantation, despite the use of novel drugs.

Besides the revised Mayo staging system [9], recent data have suggested that there may be other prognostic factors useful in patient stratification, such as elevated serum von Willebrand factor antigen levels [32]. In our series, the presence of IP at diagnosis in patients with revised Mayo stages I–II resulted in a shorter median PFS; however, this influence was not observed in patients with more advanced stages (III–IV). These results suggest that the presence of IP could be an additional powerful discriminatory prognostic indicator, especially in early stage. The presence of IP in stages III and IV lacks prognostic relevance most likely because cardiac involvement and high tumour burden play the most relevant role.

The precise mechanism responsible for the suppression of the uninvolved Igs in AL amyloidosis is unclear. In myeloma, different cellular and humoral mechanisms have been proposed [13,33]. Malignant BMPC compete with normal PC for the occupation of BM niches, which explain why patients with high tumour burden have more IP [13,34]. Another potential explanation relies on the effect of T regulatory (Treg) cells, which are increased in MM [35]. Treg cells are associated with suppression of Ig production and secretion [36], correlating with low polyclonal PC numbers and shorter survival [37]. Nevertheless, the biological explanation of IP in AL amyloidosis deserves further investigation.

Another interesting finding is the effect of IP at one year after treatment onset. In patients with MM, immune reconstitution of B-lymphocytes is a progressive process that ends after one year of transplantation [38]. In this regard, recent published data showed that the recovery of polyclonal Igs one year after ASCT was an independent long-term marker of progression and survival [22]. Similarly, in patients with AL amyloidosis, the presence of oligoclonal bands for more than one year after ASCT was associated to better outcome

[39]. In this study, recovery of IP at one year after high-dose chemotherapy with ASCT was associated with a longer median PFS and OS compared with those patients with persistent IP (NR versus 22.6 months; $p = .006$ and NR versus 35.2 months; $p < .001$, respectively). Thereby, this data reflect the relevance of a more robust immune response in AL amyloidosis.

Consolidation or maintenance treatment strategies after ASCT in AL amyloidosis are still controversial. In this aspect, risk-adapted ASCT with adjuvant thalidomide is feasible in AL patients [40]. Landau et al. also demonstrated that bortezomib and dexamethasone as consolidation following risk-adapted ASCT could be an effective therapeutic strategy to improve responses and extend long-term survival [41,42]. Persistence of IP at one year after treatment might be considered in order to select those patients that would benefit from a consolidation or maintenance approach.

This study has some limitations as a single-centre based study, with a relative low number of patients. For these reasons, other groups must corroborate these results, although they are consistent with the results in larger series, such as the Mayo Clinic.

In conclusion, the suppression of all the uninvolved immunoglobulins at diagnosis in AL amyloidosis could have a negative impact on survival, especially in early stages of the disease, and could be an additional powerful discriminatory prognostic indicator. Recovery of immunoparesis at one year after treatment onset could be an independent long-term marker of survival. Identification of immunoparesis, as well as other new prognostic markers could lead to a personalized treatment approach in this disease.

Disclosure statement

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work has been supported in part by grants RD12/0036/0046, JR14/00035, PI12/01290 and PI16/0423 from Instituto de Salud Carlos III and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), and 2014SGR-552 from AGAUR (Generalitat de Catalunya).

ORCID

Luis Gerardo Rodríguez-Lobato  <http://orcid.org/0000-0001-5694-0921>
 Carlos Fernández de Larrea  <http://orcid.org/0000-0003-4930-9255>
 Maria Teresa Cibeira  <http://orcid.org/0000-0002-4036-754X>
 Juan I. Aróstegui  <http://orcid.org/0000-0003-4757-504X>
 Laura Rosñol  <http://orcid.org/0000-0001-9531-961X>
 Ester Lozano  <http://orcid.org/0000-0002-6307-9807>
 Jordi Yagüe  <http://orcid.org/0000-0002-1935-4488>
 Joan Bladé  <http://orcid.org/0000-0002-4563-3405>

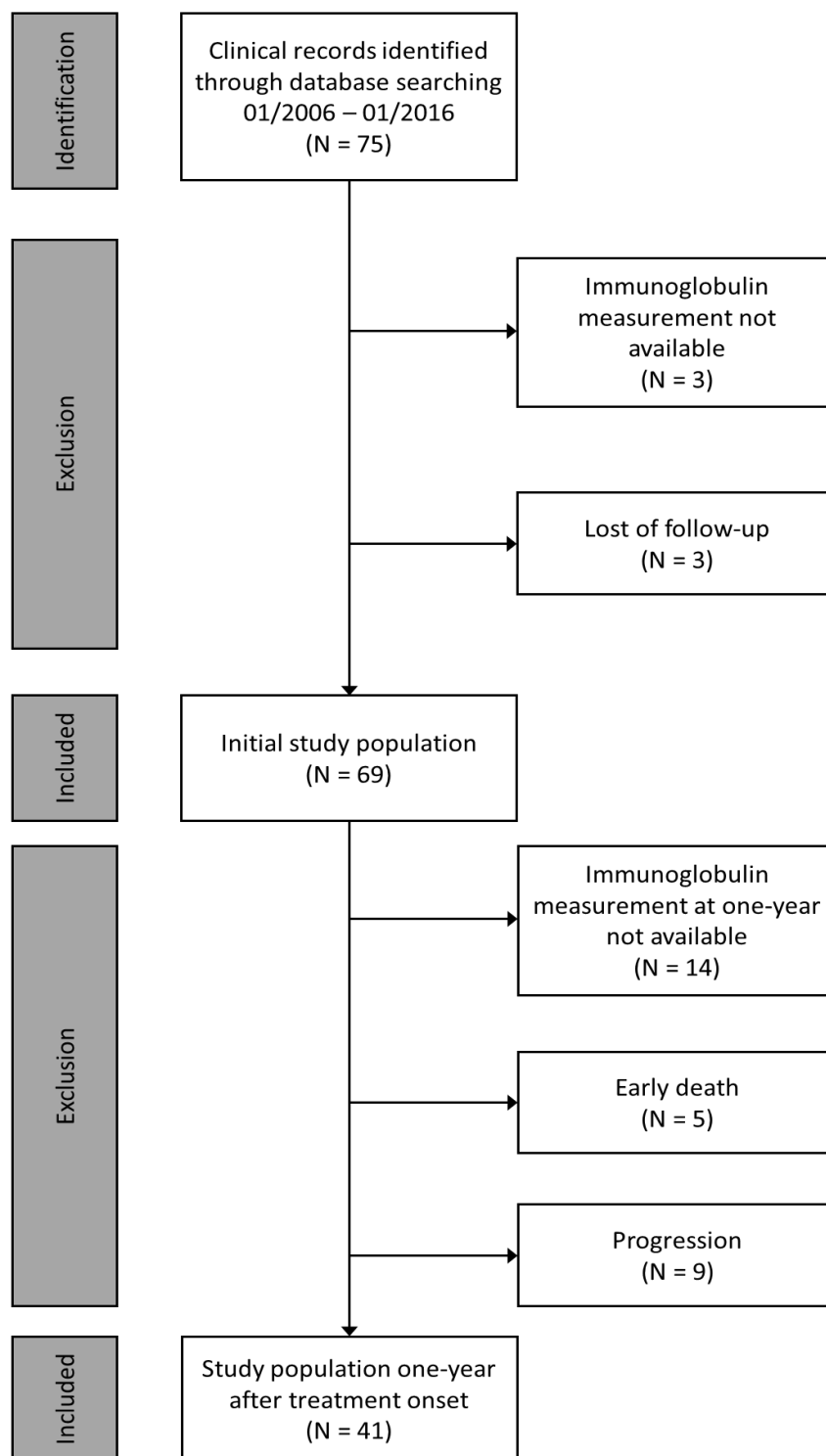
References

- [1] Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet*. 2016;387:2641–2654.

- [2] Muchtar E, Buadi FK, Dispenzieri A, et al. Immunoglobulin light-chain amyloidosis: from basics to new developments in diagnosis, prognosis and therapy. *Acta Haematol.* 2016;135:172–190.
- [3] Dispenzieri A, Merlini G. Immunoglobulin light chain systemic amyloidosis. *Cancer Treat Res.* 2016;169:273–318.
- [4] Falk RH, Comenzo RL, Skinner M. The systemic amyloidoses. *N Engl J Med.* 1997;337:898–909.
- [5] Merlini G, Wechalekar AD, Palladini G. Systemic light chain amyloidosis: an update for treating physicians. *Blood.* 2013;121:5124–5130.
- [6] Cibeira MT, Sanchoawala V, Seldin DC, et al. Outcome of AL amyloidosis after high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation: long-term results in a series of 421 patients. *Blood.* 2011;118:4346–4352.
- [7] Palladini G, Merlini G. What is new in diagnosis and management of light chain amyloidosis? *Blood.* 2016;128:159–168.
- [8] Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol.* 2012;30:4541–4549.
- [9] Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J Clin Oncol.* 2012;30:989–995.
- [10] Pruzanski W, Gidon MS, Roy A. Suppression of polyclonal immunoglobulins in multiple myeloma: relationship to the staging and other manifestations at diagnosis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1980;17:280–286.
- [11] Kawano M, Iwato K, Asaoku H, et al. Altered cytokine activities are related to the suppression of synthesis of normal immunoglobulin in multiple myeloma. *Am J Hematol.* 1989;30:91–96.
- [12] Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:21–33.
- [13] Kastritis E, Zagouri F, Symeonidis A, et al. Preserved levels of uninvolved immunoglobulins are independently associated with favorable outcome in patients with symptomatic multiple myeloma. *Leukemia.* 2014;28:2075–2079.
- [14] Cesana C, Klersy C, Barbarano L, et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2002;20:1625–1634.
- [15] Pérez-Persona E, Vidriales M-B, Mateo G, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood.* 2007;110:2586–2592.
- [16] Caers J, Fernández de Larrea C, Leleu X, et al. The changing landscape of smoldering multiple myeloma: a European perspective. *Oncologist.* 2016;21:333–342.
- [17] Kastritis E, Terpos E, Mouloupoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia.* 2013;27:947–953.
- [18] Turesson I, Kovalchik SA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood.* 2014;123:338–345.
- [19] Andrade-Campos M, Murillo-Flórez I, García-Sanz R, et al. Immunoparesis in IgM gammopathies as a useful biomarker to predict disease progression. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:1598–1604.
- [20] Ozsahin M, Tsang RW, Poortmans P, et al. Outcomes and patterns of failure in solitary plasmacytoma: a multicenter Rare Cancer Network study of 258 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;64:210–217.
- [21] Katodritou E, Terpos E, Symeonidis AS, et al. Clinical features, outcome, and prognostic factors for survival and evolution to multiple myeloma of solitary plasmacytomas: a report of the Greek myeloma study group in 97 patients. *Am J Hematol.* 2014;89:803–808.
- [22] González-Calle V, Cerdá S, Labrador J, et al. Recovery of polyclonal immunoglobulins one year after autologous stem cell transplantation as a long-term predictor marker of progression and survival in multiple myeloma. *Haematologica.* 2017;102:922–931.
- [23] Muchtar E, Magen H, Itchaki G, et al. Uninvolved immunoglobulins predicting hematological response in newly diagnosed AL amyloidosis. *Leuk Res.* 2016;41:56–61.
- [24] Muchtar E, Dispenzieri A, Kumar SK, et al. Immunoparesis in newly diagnosed AL amyloidosis is a marker for response and survival. *Leukemia.* 2017;31:92–99.
- [25] Comenzo RL, Reece D, Palladini G, et al. Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic light-chain amyloidosis. *Leukemia.* 2012;26:2317–2325.
- [26] Anderson JR, Cain KC, Gelber RD. Analysis of survival by tumor response and other comparisons of time-to-event by outcome variables. *J Clin Oncol.* 2008;26:3913–3915.
- [27] Delgado J, Pereira A, Villamor N, et al. Survival analysis in hematologic malignancies: recommendations for clinicians. *Haematologica.* 2014;99:1410–1420.
- [28] Bochtler T, Hegenbart U, Cremer FW, et al. Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood.* 2008;111:4700–4705.
- [29] Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), [t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood.* 2005;106:2837–2840.
- [30] Paiva B, Martínez-López J, Corchete LA, et al. Phenotypic, transcriptomic, and genomic features of clonal plasma cells in light-chain amyloidosis. *Blood.* 2016;127:3035–3039.
- [31] Muchtar E, Dispenzieri A, Kumar SK, et al. Immunoparesis status in immunoglobulin light chain amyloidosis at diagnosis affects response and survival by regimen type. *Haematologica.* 2016;101:1102–1109.
- [32] Kastritis E, Papassotiriou I, Terpos E, et al. Clinical and prognostic significance of serum levels of von Willebrand factor and ADAMTS-13 antigens in AL amyloidosis. *Blood.* 2016;128:405–409.
- [33] Ludwig H, Milosavljevic D, Berlanga O, et al. Suppression of the noninvolved pair of the myeloma isotype correlates with poor survival in newly diagnosed and relapsed/refractory patients with myeloma. *Am J Hematol.* 2016;91:295–301.
- [34] Radbruch A, Muehlinghaus G, Luger EO, et al. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:741–750.
- [35] Giannopoulos K, Kaminska W, Hus I, et al. The frequency of T regulatory cells modulates the survival of multiple myeloma patients: detailed characterisation of immune status in multiple myeloma. *Br J Cancer.* 2012;106:546–552.
- [36] Milburn GL, Lynch RG. Immunoregulation of murine myeloma in vitro. II. Suppression of MOPC-315 immunoglobulin secretion and synthesis by idiotype-specific suppressor T cells. *J Exp Med.* 1982;155:852–862.
- [37] Muthu Raja KR, Rihova L, Zahradova L, et al. Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma. *PloS One.* 2012;7:e47077.
- [38] Rueff J, Medinger M, Heim D, et al. Lymphocyte subset recovery and outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation for plasma cell myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:896–899.
- [39] Rodríguez-Lobato LG, Fernández de Larrea C, Cibeira MT, et al. impact of autologous stem cell transplantation on the incidence and outcome of oligoclonal bands in patients with

- light-chain amyloidosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 23:1269–1275.
- [40] Cohen AD, Zhou P, Chou J, et al. Risk-adapted autologous stem cell transplantation with adjuvant dexamethasone +/- thalidomide for systemic light-chain amyloidosis: results of a phase II trial. *Br J Haematol.* 2007;139:224–233.
- [41] Landau H, Hassoun H, Rosenzweig MA, et al. Bortezomib and dexamethasone consolidation following risk-adapted melphalan and stem cell transplantation for patients with newly diagnosed light-chain amyloidosis. *Leukemia.* 2013;27:823–828.
- [42] Landau H, Smith M, Landry C, et al. Long-term event-free and overall survival after risk-adapted melphalan and SCT for systemic light chain amyloidosis. *Leukemia.* 2017;31:136–142.
- [43] Palladini G, Hegenbart U, Milani P, et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood.* 2014;124:2325–2332.

Supplementary Figure 1. Algorithmic diagram of the patients with AL amyloidosis in the study.



Trabajo 3

**BONE MARROW PLASMA CELL INFILTRATION IN LIGHT CHAIN AMYLOIDOSIS:
IMPACT ON ORGAN INVOLVEMENT AND OUTCOME**

**Natalia Tovar, Luis Gerardo Rodríguez-Lobato, Ma. Teresa Cibeira, Laura
Magnano, Ignacio Isola, Laura Rosiñol, Joan Bladé, Carlos Fernández de Larrea**

Amyloid 2018 Feb 26:1-7. doi: 10.1080/13506129.2018.1443439.

[Epub ahead of print]

Resumen del trabajo 3







El pronóstico de la amiloidosis sistémica AL depende principalmente del compromiso cardíaco y de la carga tumoral de la enfermedad. Se ha sugerido que una mayor carga de CPMO constituye un factor pronóstico adverso, aunque aún no está establecido si es debido a un componente de la carga tumoral, un factor pronóstico independiente y/o un factor de riesgo para el desarrollo de MM.

El objetivo del estudio fue analizar la correlación entre la infiltración por CPMO, sus características clínicas y su efecto pronóstico en una serie de pacientes diagnosticados de amiloidosis AL en una sola institución.

Se analizaron 79 pacientes (42M/37V), con una mediana de edad al diagnóstico de 65 años. La mediana de infiltración de BMPC en el momento del diagnóstico fue de 11% (RIC 7-18) y se correlacionó significativamente con la dFLC ($R=0,551$; $P<0,001$). Cuarenta y cuatro pacientes (56%) tenían >10% de CPMO al diagnóstico. Los pacientes con >10% de CPMO tuvieron con mayor frecuencia afección cardíaca (86% frente a 63%, $P=0,015$), tendencia a una mayor mortalidad temprana (27% frente a 11%, $P=0,08$) y una mediana de SLP y SG más corta (18 meses frente a 48 meses, $P=0,02$ y 33 meses frente a NA, $P=0,046$, respectivamente). En el análisis multivariado, una infiltración de CPMO >10% retuvo su valor pronóstico adverso para SLP (HR=2,26; IC 95%: 1,048-4,866, $P=0,038$). El uso de nuevos fármacos logró superar el impacto pronóstico negativo de la mayor infiltración de CPMO.

En conclusión, una mayor infiltración de CPMO en amiloidosis sistémica AL se asocia a mayor daño orgánico sistémico, particularmente a nivel cardíaco, y rara vez a evolución a MM. El uso de nuevos fármacos como bortezomib y lenalidomida podría superar este factor pronóstico adverso.

Bone marrow plasma cell infiltration in light chain amyloidosis: impact on organ involvement and outcome

Natalia Tovar^{a*}, Luis Gerardo Rodríguez-Lobato^{a*} , Maria Teresa Cibeira^a , Laura Magnano^b , Ignacio Isola^a, Laura Rosiñol^a , Joan Bladé^a  and Carlos Fernández de Larrea^a 

^aAmyloidosis and Myeloma Unit, Department of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain; ^bHematopathology Unit, Hospital Clínic of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Objectives: Prognosis of immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis depends mainly on the presence of cardiac involvement and the disease burden. A higher bone marrow plasma cell (BMPC) burden has been recognized as an adverse prognostic factor. The aim of our study was to analyze the correlation between the BMPC infiltration, clinical features and outcomes in patients with AL amyloidosis.

Methods: The clinical records of 79 patients with AL amyloidosis treated at a single institution.

Results: Median BMPC infiltration at diagnosis was 11% and significantly correlated with the serum free light-chain difference ($p < .001$). Patients with more than 10% BMPCs had more frequent cardiac involvement (86 vs. 63%; $p = .015$), a trend towards a higher early mortality (27 vs. 11%; $p = .08$) and a significantly shorter progression-free survival (PFS) (median of 18 vs. 48 months, $p = .02$) and overall survival (median of 33 months vs. not reached; $p = .046$). In the multivariate analysis, a BMPC infiltration over 10% retained its adverse prognostic value for PFS (HR = 2.26; 95% CI, 1.048–4.866; $p = .038$). The use of new drugs seemed to overcome the negative prognostic impact of a higher BMPC infiltration.

Conclusion: Higher BMPC infiltration in AL amyloidosis might be associated with increased systemic organ damage, particularly cardiac involvement and is rarely related to the development of myeloma features.

Abbreviations: AL: light chain amyloidosis; ASCT: autologous stem cell transplantation; BM: bone marrow; BMPC: bone marrow plasma cell; dFLC: difference between involved and uninvolved serum free light chain; FLC: free light-chain; iFISH: interphase fluorescence *in situ* hybridization; MFC: multiparametric flow cytometry; MGUS: monoclonal gammopathy of unknown significance; MM: multiple myeloma; OS: overall survival; PC: plasma cell; PFS: progression-free survival

ARTICLE HISTORY

Received 7 December 2017

Revised 12 February 2018

Accepted 18 February 2018

KEYWORDS

AL amyloidosis; bone marrow plasma cells; prognostic impact; multiple myeloma



Introduction

Immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis is a plasma cell disorder characterized by the production of amyloidogenic immunoglobulin light chains that mis fold, aggregate and deposit in tissues as amyloid fibrils, thereby causing organ damage [1]. Prognosis of this disease mainly relies on the presence and degree of cardiac involvement, as well as on the tumor burden. The latest is usually measured by the serum immunoglobulin free light-chain (FLC) amount. Thus, the difference between the involved and uninvolved serum FLC (dFLC) was included in the revised staging prognostic system, together with the cardiac biomarkers, due to their proved independent prognostic impact on survival [2].


Although AL amyloidosis is commonly considered as a low tumor burden disease with a median bone marrow plasma cell (BMPC) infiltration between 7 and 10% [3], the range is much higher and around 20% of patients have infiltration over 20% [3]. Therefore, as another possibly reliable

marker of tumor burden, the proportion of bone marrow plasma cells (BMPCs) producing the amyloidogenic protein and its prognostic value have been explored. In this sense, it is well known that diagnosis of concurrent symptomatic multiple myeloma (MM) in AL amyloidosis is associated with inferior outcome [4]. Kourelis et al. [5] also showed that patients with AL amyloidosis and more than 10% BMPCs had poor outcomes similar to the small population of patients with coexistent myeloma features (hypercalcemia, renal failure, anemia and/or lytic bone lesions). In contrast, the prognostic value of BMPC infiltration in the pre-transplant setting is not well established given the contradictory results of some studies [6,7]. The percentage of BMPC arises the question if it is only other component of tumor burden, a prognostic factor by itself in the organ involvement of clinical features and/or a risk factor for developing MM.

The potential role of multiparametric flow cytometry (MFC) in AL amyloidosis has also been investigated. A few studies seem to show that the measurement of monotypic

CONTACT Carlos Fernández de Larrea  cfernan1@clinic.cat  Amyloidosis and Myeloma Unit, Department of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain

*These authors contributed equally to this work.

 Supplemental data for this article can be accessed [here](#).

© 2018 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

BMPC by MFC has an impact on prognosis, as it is already well established in MM [8,9]. In one of these studies, persistence of 0.1% or more monotypic BMPC at the end of the first line of treatment was associated with shorter progression-free survival (PFS) and overall survival (OS), suggesting a potential role, as a sensitive complementary factor, in the definition of hematologic response [10].

The aim of our study was to analyze the correlation between the BMPC infiltration, clinical features and outcomes in a series of patients consecutively diagnosed at a single institution.

Methods

Patients

We retrospectively reviewed the clinical records of 85 patients consecutively diagnosed with systemic AL amyloidosis at a single institution between January 2006 and April 2016. Three patients were lost to follow-up and three were excluded because BMPC measurements at diagnosis were not available. Seventy-nine patients (42 F/37 M; median age at diagnosis 65 years) were the final study population (Supplementary Figure 1). Complete data including baseline demographics, clinical and laboratory data, treatment received and follow-up information were available in all patients. Diagnosis of AL amyloidosis was established based on demonstration of tissue amyloid deposition, evidence of a monoclonal gammopathy and amyloid-related organ involvement [11]. The prognostic categories were established according to the 2004 Mayo Clinic staging system [12,13], 2004 Mayo Clinic plus NT-proBNP [14] and the 2012 revised Mayo Clinic staging system [2]. The Ethics Committee of the Hospital Clínic of Barcelona provided institutional review board approval for this study. The median follow-up for alive patients of the series was 45 months (interquartile range [IQR] range 24–45 months).

Bone marrow plasma cells

Bone marrow (BM) samples were obtained by aspiration and BMPC were identified by optic microscopic revision of May-Grünwald-Giemsa-stained BM smears processed according to standard procedures. All 79 patients had BM samples with adequate cellularity at diagnosis and BMPC infiltration was evaluated by senior cytologists, systematically counting 200 BM total nucleated cells in random areas from two different slides. In 67 of the 79 patients, a second independent revision of 500 BM nucleated cells was performed by I.L., L.M., N.T. and L.G.R.L. The concordance between the results obtained by both group of cytologists was excellent ($R=0.949$; $p<.001$). Hematologic and organ responses were evaluated according to the Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic AL [11,15].

Statistical analysis

Descriptive statistics were used to summarize patient characteristics and to analyze variables of the study. Student's

t-test was used for continuous variables and χ^2 test for categorical variables or non-parametric tests when required. Spearman's rho correlation coefficient was used to compare quantitative variables. PFS was defined as survival from diagnosis until relapse or death from any cause. OS was calculated from diagnosis until death from any cause. Survival analysis was performed using the Kaplan-Meier method and survival curves were compared using the log-rank test. Multivariate analysis was conducted using the Cox proportional hazards regression model [16]. All statistical test values were two-sided, with statistical significance evaluated at the 0.05 alpha level. All analyses were performed using R 2.15.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>).

Results

Patient characteristics

A total of 79 patients (37 M/42 F) were included in the study. Their clinical characteristics are summarized in Table 1. The median age at diagnosis was 65 years (IQR 57–72 years). As expected, most of the patients (80%) had a lambda clonal plasma cell dyscrasia, being immunoglobulin (IgG) in 38% and light chain only in 43% of them. The median number of organs involved by amyloidosis was two (IQR 2–3), being heart (76%) and kidney (65%) the most commonly involved. Sixty-two patients (79%) had two or more involved organs.

The median BMPC infiltration was 11% (IQR 7–18) with 18 patients (23%) presenting more than 20% BMPC infiltration. The median dFLC was 302 mg/L (IQR 112–602 mg/L). Twenty-three patients (32%) had stage I, 18 patients (25%) had stage II and 32 patients (44%) had stage III of the 2004 Mayo staging system and 16 (50%) had stage III with NT-proBNP >8500 pg/mL. The revised Mayo staging system scoring distribution was available for 66 patients, of which 47% had stage III–IV. Twenty-five patients (32%) received first-line treatment with autologous stem cell transplantation (ASCT) of which 15 patients received previous induction treatment and 10 patients did not. Forty-four out of the 79 patients (56%) received novel drugs (43% bortezomib and 13% lenalidomide) as part of their first-line treatment. Fifty-four patients (69%) achieved a hematologic response, including complete response (CR) in 39%, very good partial response (VGPR) in 13% and partial response (PR) in 15%; 31 patients (39%) obtained an organ response. Only one of our patients developed CRAB criteria during the disease evolution.

Analysis of bone marrow plasma cell infiltration

Forty-four patients (56%) had >10% of BMPC at diagnosis. Regarding their clinical characteristics, the significant differences observed between both groups with >10% and $\leq 10\%$ BMPC are summarized in Table 1. The median dFLC, was significantly higher in those patients with >10% BMPC (450 versus 128 mg/L; $p=.002$) and there was a positive correlation between BMPC against dFLC ($R=0.551$; $p<.001$).

Table 1. Characteristics of the patients regarding BMPC infiltration.

Characteristics	All patients (n = 79)	Low PC ≤10% (n = 35)	High PC >10% (n = 44)	p value
Age, median (IQR)	65 (57–72)	67 (55–75)	63 (56–71)	.39
Gender, Male (%)	37 (47)	17 (49)	20 (46)	.78
Immunological subtype, n (%)				.46
Light chain	34 (43)	18 (51)	16 (36)	
IgG	30 (38)	12 (34)	18 (41)	
IgA	11 (14)	3 (9)	8 (18)	
IgM	4 (5)	2 (6)	2 (5)	
Light chain isotype, n (%)				.54
Lambda	63 (80)	29 (83)	34 (77)	
Plasma cell clone				
Differential FLC (mg/L), median (IQR)	302 (112–602)	128 (37–469)	450 (161–933)	.002
BMPC infiltration (%), median (IQR)	11 (7–18)	–	–	–
>20% BMPC infiltration, n (%)	18 (22)	–	–	–
Crab criteria development	1 (1)	0 (0)	1 (2)	1.0
Organ involvement, n (%)				
Heart	60 (76)	22 (63)	38 (86)	.015
Kidney	51 (65)	30 (86)	21 (48)	.001
Renal stage, n (%) ^a				.001
I	38 (48)	9 (26)	29 (66)	
II	31 (39)	18 (51)	13 (30)	
III	10 (13)	8 (23)	2 (5)	
Liver	14 (18)	7 (20)	7 (16)	.61
Gastrointestinal	20 (25)	8 (23)	12 (27)	.59
Autonomic nervous system	14 (18)	7 (20)	7 (16)	.61
Peripheral nervous system	15 (19)	7 (20)	8 (18)	.60
Soft tissues	22 (28)	5 (14)	17 (39)	.05
Number of organs involved, n (%)				
Two or more	62 (69)	23 (66)	39 (89)	.014
Mayo Risk Stratification System 2004 ^b , n (%)				.01
I	23 (32)	15 (47)	8 (20)	
II	18 (25)	9 (28)	9 (22)	
III	32 (44)	8 (25)	24 (59)	
III with NT-proBNP >8500 pg/ml, n/N (%)	16/32 (50)	5/8 (63)	11/24 (46)	.41
Mayo Risk Stratification System 2012 ^c , n (%)				
III–IV	31 (47)	8 (29)	23 (61)	.01
Type of treatment, n (%)				
ASCT	25 (32)	13 (37)	12 (27)	.47
Novel drugs	44 (56)	15 (43)	29 (66)	.04

ASCT: autologous stem cell transplantation; CR: complete remission; dFLC: difference between involved and uninvolved serum free-light chain, IQR: interquartile range.

^aRenal stage is calculated based on eGFR <50 ml/min/1.73m² and proteinuria >5 g/24 h (I-none present; II-either one present; III-both present) [17].

^bAvailable in 73 patients.

^cAvailable in 66 patients.

Cardiac involvement was also more frequent in patients with higher BMPC infiltration (86 versus 63; $p = .015$) as well as it was soft tissue involvement (39 versus 14%; $p = .05$), whereas a lower BMPC infiltration was associated with kidney involvement (86% in patients with ≤10 versus 48% in patients with >10% BMPCs; $p = .001$) as renal stage III (23 versus 5%; $p = .001$). Moreover, involvement of two or more organs was more frequent in the group of patients with >10% BMPC infiltration (89 versus 66%; $p = .014$). In terms of 2004 Mayo risk stratification system, heart involvement was less severe in patients with lower BMPC infiltration (stage III, 25 versus 59%; $p = .01$). However, there were no differences in Mayo 2004 Stage III plus NT-proBNP >8500 pg/mL (63 versus 46%; $p = .4$). Regarding the revised Mayo risk stratification system, patients with higher BMPC infiltration were more frequently classified as stage III or IV (61% with >10 versus 29% with ≤10%; $p = .01$).

The median PFS was 48 months in the group of patients with ≤10% BMPC infiltration compared to 18 months for those with >10% BMPC ($p = .02$), with a three-year PFS of 63 versus 31%, respectively (Figure 1(A)). The median OS was also significantly higher in the ≤10% BMPC group (not

reached [NR]) versus 33 months in the >10% BMPC group ($p = .046$), with a three-year OS of 71 versus 46%, respectively (Figure 1(B)). Interestingly, even lower BMPC thresholds (i.e. >7%) had negative impact on OS ($p = .009$). Early mortality, set as within one year from diagnosis, was higher in the group of patients with higher BMPC infiltration the difference was not significant (27 versus 11%; $p = .08$).

Two multivariate Cox proportional hazards models were built. The first one included the 2004 Mayo Clinic staging system, BMPC infiltration and the dFLC and the second included the revised Mayo risk stratification system and BMPC infiltration. In both analysis BMPC infiltration >10% retained its independent prognostic value for worse PFS (HR = 1.86; 95% CI, 1.013–3.73; $p = .049$ and HR = 2.26; 95% CI, 1.048–4.866; $p = .038$, respectively) but not in OS.

In the group of patients who did not received bortezomib or lenalidomide as part of their first line of therapy, the presence of >10% of BMPC infiltration resulted in a significantly shorter three-year PFS and OS (25 versus 69%, $p = .026$ and 28 versus 79%, $p = .013$; respectively, Figure 2(A,B)). In contrast, no survival differences regarding PFS or OS were observed depending on the BMPC infiltration in

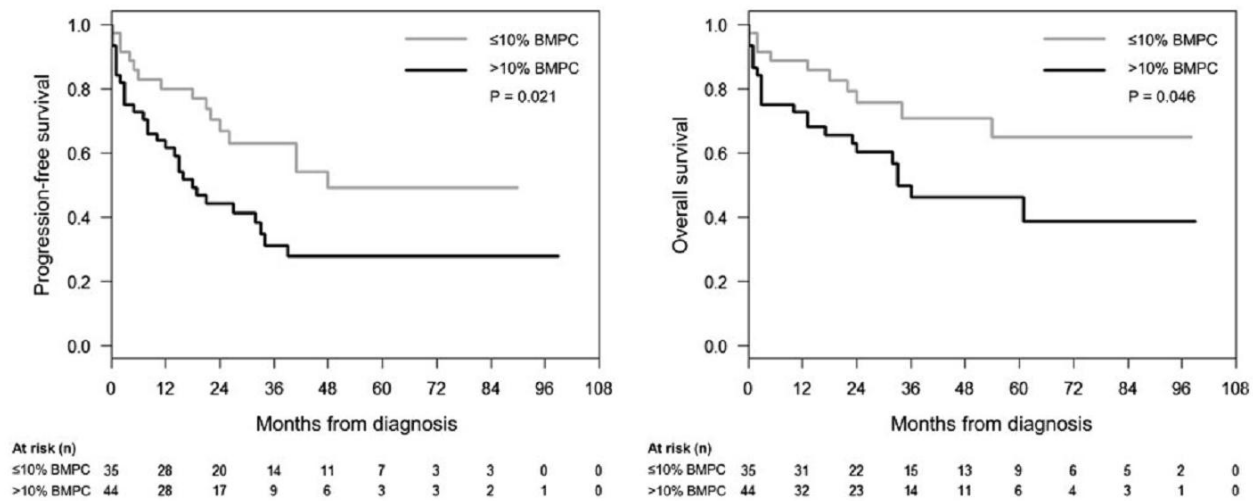


Figure 1. (A) Progression-free survival and (B) overall survival regarding BMPC infiltration.

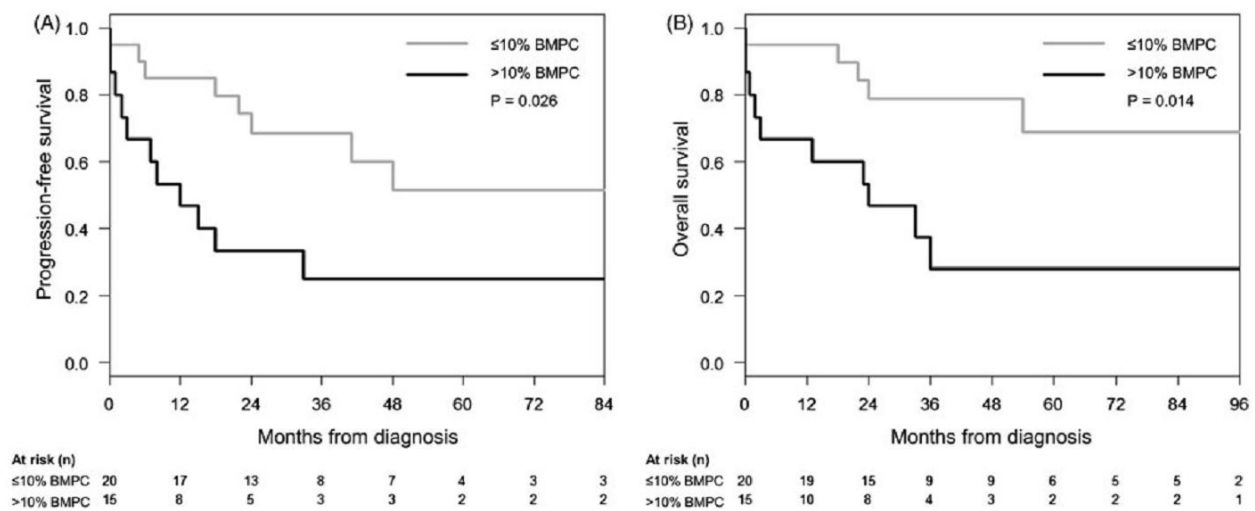


Figure 2. (A) Progression-free survival and (B) overall survival regarding BMPC infiltration in the group of patients who did not receive novel drugs.

those patients who had received a proteasome inhibitor or an immunomodulatory drug (three-year PFS of 47% in $\leq 10\%$ BMPC versus 35% in $>10\%$ BMPC; $p = .29$, Figure 3(A) and three-year OS of 62% in $\leq 10\%$ BMPC versus 57% in $>10\%$ BMPC; $p = .58$, Figure 3(B)). These results suggest that treatment with these so-called novel drugs might overcome the negative prognostic impact of a higher BMPC infiltration. We did not observe statistically significant differences in patients who received or not an ASCT regarding the percentage of BMPC infiltration.

Discussion

It is known that the clonal plasma cell is the underlying abnormality in AL amyloidosis, as the source of the amyloidogenic light chain later deposited in the tissues [18]. However, BMPCs had largely been ignored as a prognostic factor or as a parameter that might direct therapy [5]. In fact this is not included in the revised prognostic staging system [2]. Although the biological significance of an

increased BMPC infiltration is unclear, it has been demonstrated that AL plasma cells have a low proliferative index [19]. Our series and others [5,8,20] have shown that AL amyloidosis with a higher BMPC infiltration is associated with increased organ damage, particularly cardiac involvement and worse prognosis. In our series, we observed that even a smaller BMPC cutoff than the standard of 10% (i.e. 7%) had a prognostic impact. In this sense, the traditional threshold of 10%, which is the same as the percentage used to distinguish MM from monoclonal gammopathy of unknown significance (MGUS) [21], suggests that when the percentage of BMPC expands across the BM, different biological interactions with the BM microenvironment may occur and driving to control or progression of the monoclonal gammopathy.

The prognosis of patients with AL amyloidosis can be very heterogeneous, as it is the disease itself. Poor performance status, advanced organ dysfunction and particularly advanced cardiac involvement (Mayo Clinic stage III disease or revised Mayo stage IV), severe postural hypotension, involvement of more than two organs or severe weight loss,

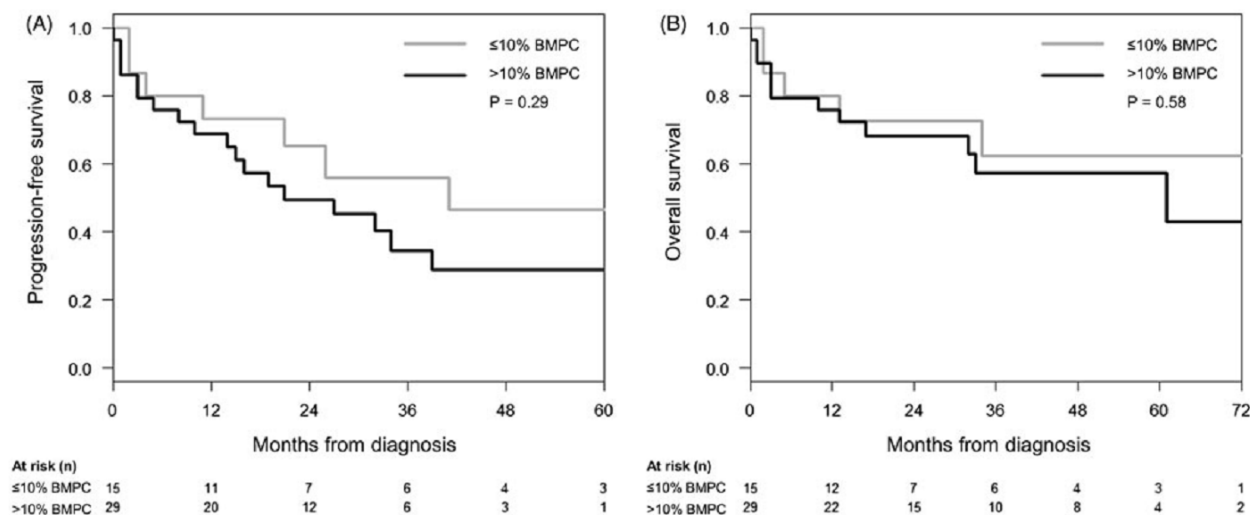


Figure 3. (A) Progression-free survival and (B) overall survival regarding BMPC infiltration in the group of patients who received novel drugs.

are prognostic variables associated with decreased OS in this disease [6]. Regarding treatment response with the new response criteria, prognosis is related to the ability of therapy to reduce the concentration of amyloidogenic precursors, measured by the circulating FLC, as well as its ability to improve the cardiac function, assessed by changes in NT-proBNP [15]. Regarding the potential role of BMPC infiltration as a response criteria after treatment, previous series have demonstrated that none of the patients who achieved serological complete remission had >5% BMPC [15]. However, the decrease of BMPC has not yet been validated as a response criteria parameter such as FLC or NT-proBNP. The association of differential organ involvement according to tumor burden is intriguing. In our series, patients with higher infiltration showed higher heart involvement, with increased early mortality. In contrast, patients with low BMPC infiltration had more renal involvement and a higher proportion of patients were classified as renal stage III. This finding had been previously described by three very recent retrospective studies from Pavia, Heidelberg and Mayo Clinic [22–24] when considering patients with low serum amyloidogenic dFLC (<50 mg/L). In these studies, low dFLC burden represent a distinct subgroup of patients with less frequent (40–45 versus 80–83%) and less severe cardiac involvement (15–18 versus 45–51%) [19–21]. Renal involvement was more frequent in the low dFLC group compared with the high dFLC group (72–83 versus 53–63%) [22–24]. Following the results of the previously mentioned publications, our group has recently described a more frequent renal involvement in patients without immunoparesis compared with immunoparesis (78 versus 47%) [25]. Although the biological basis of this behavior deserves further investigation, it is believed that lower dFLC may be related to lower BMPC and/or higher rates of excretion of light chains in the urine, resulting in less light chain cardiac deposit [24] and a unique phenotype of light chains with high glomerular toxicity or a higher susceptibility of the glomerulus could explain these observations [23].

Unlike other hematologic malignancies, the utility of BMPC to assess response and risk of relapse has not been

routinely used in AL and further studies with more refined measurements, such as flow cytometry, are warranted. In this sense, up to our knowledge, only two series of cases have analyzed these techniques in AL [8,10]. Firstly, Paiva et al. demonstrated that a higher percentage of BMPCs at diagnosis has a negative impact on survival [8]. Furthermore, they suggest it can also have a role in the response evaluation. As in MM [9], where the use of flow cytometry has focused on the assessment of minimal residual disease, measurement of BMPCs may have an impact on survival in AL [10]. In addition, it is also well known that cytogenetic aberrations, detected by interphase fluorescence *in situ* hybridization (iFISH), of plasma cells are a prognostic marker and a risk stratification parameter for MM [26]. The Heidelberg Group performed a long-term follow-up study to assess the prognosis of AL depending on iFISH results, with the aim of identifying a cytogenetic subset of patients that would benefit most from ASCT [27]. Although these results need to be validated by other groups in order to take iFISH cytogenetics into account for the choice of the upfront treatment they conclude patients with t(11;14) benefitted the most from high-dose melphalan.

Prior studies from the Mayo group have tried to determine the relationship between BMPCs infiltration, induction therapy and post-transplant response rates. In this regard, the rate of hematologic CR or VGPR achievement was significantly higher in patients with <10% BMPCs at diagnosis [28]. This result tallies with a better post-transplant outcome observed after ASCT in MM patients who undergo ASCT with <5% BMPC infiltration after induction therapy [7]. According to these results, patients with >10% BMPCs benefit the most from induction treatment before ASCT [28]. The authors suggest that patients with higher tumor burden may behave more like myeloma disease and therefore might be candidates to induction therapy and even maintenance [27]. In contrast, the Boston group have not found [6] differences in survival depending on the BMPC infiltration at diagnosis ($p = .70$), not even after receiving induction therapy prior to transplant. Similarly, the Mayo group reports BMPC infiltration at diagnosis does not

correlate with survival in those who undergo upfront ASCT versus those treated with induction chemotherapy [10]. In our series, the shorter OS observed in patients with higher BMPC is probably related to a higher cardiac involvement, which is the main prognostic factor for OS [15]. Further studies are needed to determine if ASCT can overcome the dismissal prognosis of higher BMPCs but we believe a high BMPC infiltration should be taken into consideration when considering the best treatment schedule for these patients, as it can be an important prognostic factor.

Finally, regarding the prognostic impact of increased BMPC infiltration in AL amyloidosis, the Mayo group observed that more than 10% BMPC translated into shorter OS with similar outcomes that patients with AL amyloidosis who presented CRAB symptoms. They suggest that these entities should both be admitted into clinical trials and considered as one group given their similar behavior [5]. In our opinion, it should be emphasized that patients with AL amyloidosis and >10% BMPC without myeloma features, have a worse prognosis due to a higher cardiac involvement and it is not related to the clonal plasma cell expansion. In fact, in our series, only one out of 44 patients developed CRAB symptoms during the course of his disease despite their higher tumor burden. In this sense, it has long been shown [29] AL amyloidosis occurs more often than previously expected when thoroughly looked for in patients with MM, as included in previous criteria for the definition of symptomatic MM [21]. However, its presence does not influence the outcome of myeloma patients or the development of signs or symptoms suggesting organ involvement by amyloid [30] and is being considered an incidental finding. Although a delayed onset of AL amyloidosis is possible [31] in patients with MM, this phenomenon is very rarely seen and their outcome is extremely poor.

This study has some limitations as a single-center based study, with a relative low number of patients and short follow-up. The confirmation of our results by other groups would be recommended, although they are consistent with the conclusions of larger series, such as the Mayo Clinic.

In conclusion, a higher BMPC infiltration in patients with AL amyloidosis was associated with increased systemic organ damage, particularly cardiac involvement, but this fact is not related to the development of myeloma features.


Disclosure statement


No potential conflict of interest was reported by the authors.


Funding


This work has been supported in part by grants [FIS PI16/00423] and [PI12/01290] from Instituto de Salud Carlos III and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) and 2014SGR-552 from AGAUR (Generalitat de Catalunya).


ORCID


Luis Gerardo Rodríguez-Lobato  <http://orcid.org/0000-0001-5694-0921>

Maria Teresa Cibeira  <http://orcid.org/0000-0002-4036-754X>

Laura Magnano  <http://orcid.org/0000-0002-6928-8386>

Laura Rosiñol  <http://orcid.org/0000-0001-9531-961X>

Joan Bladé  <http://orcid.org/0000-0002-4563-3405>

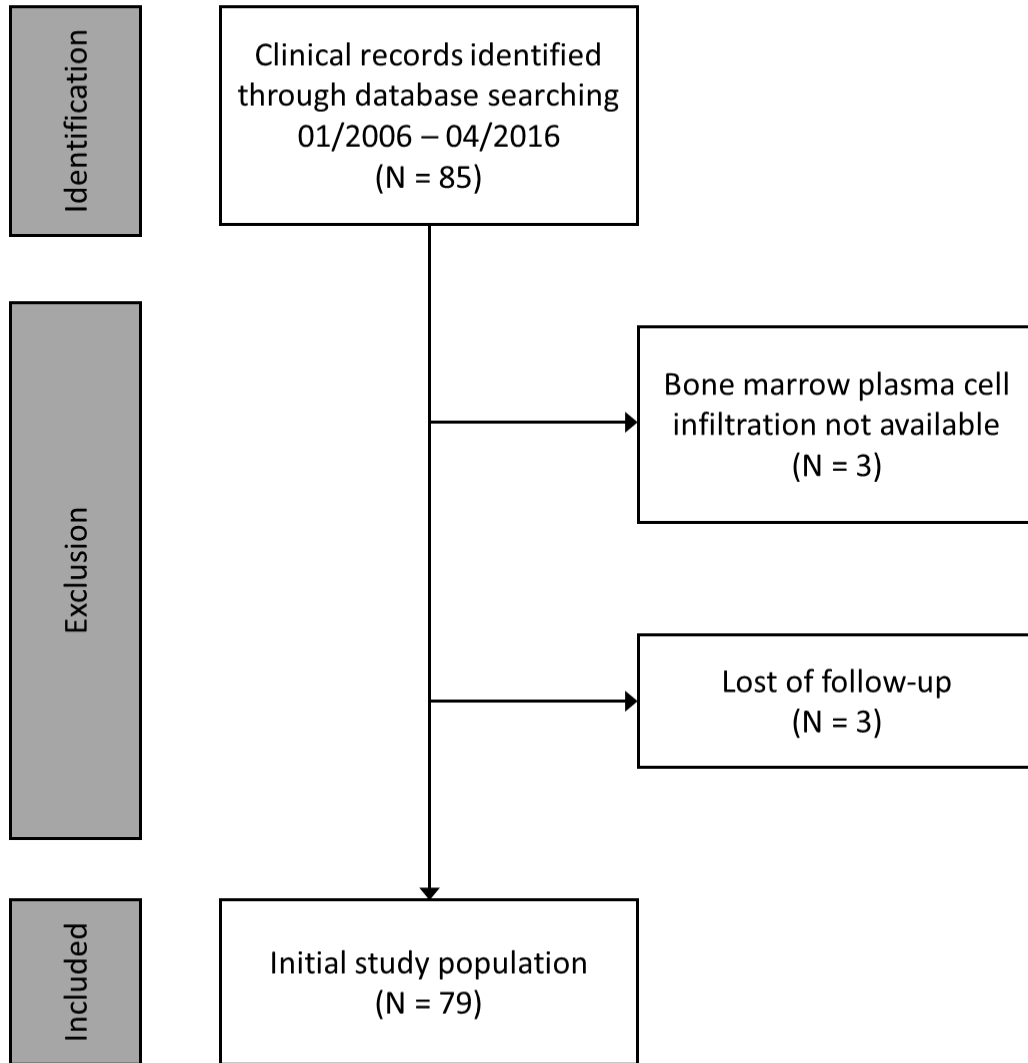
Carlos Fernández de Larrea  <http://orcid.org/0000-0003-4930-9255>

References

- [1] Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet*. 2016;387:2641–2654.
- [2] Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J Clin Oncol*. 2012;30:989–995.
- [3] Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol*. 1995;32:45–59.
- [4] Dinner S, Witteles W, Witteles R, et al. The prognostic value of diagnosing concurrent multiple myeloma in immunoglobulin light chain amyloidosis. *Br J Haematol*. 2013;161:367–372.
- [5] Kourelis TV, Kumar SK, Gertz MA, et al. Coexistent multiple myeloma or increased bone marrow plasma cells define equally high-risk populations in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *J Clin Oncol*. 2013;31:4319–4324.
- [6] Dittus C, Uwumugambi N, Sun F, et al. The Effect of bone marrow plasma cell burden on survival in patients with light chain amyloidosis undergoing high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22:1729–1732.
- [7] Chakraborty R, Muchtart E, Kumar SK, et al. Impact of pre-transplant bone marrow plasma cell percentage on post-transplant response and survival in newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2017;58:308–315.
- [8] Paiva B, Vidriales M-B, Pérez JJ, et al. The clinical utility and prognostic value of multiparameter flow cytometry immunophenotyping in light-chain amyloidosis. *Blood*. 2011;117:3613–3616.
- [9] Paiva B, van Dongen JJM, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood*. 2015;125:3059–3068.
- [10] Muchtart E, Jevremovic D, Dispenzieri A, et al. The prognostic value of multiparametric flow cytometry in AL amyloidosis at diagnosis and at the end of first-line treatment. *Blood*. 2017;129:82–87.
- [11] Comenzo RL, Reece D, Palladini G, et al. Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic light-chain amyloidosis. *Leukemia*. 2012;26:2317–2325.
- [12] Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. *J Clin Oncol*. 2004;22:3751–3757.
- [13] Dispenzieri A, Gertz M, Kyle RA, et al. Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2004;104:1881–1887.
- [14] Wechalekar AD, Schönland SO, Kastritis E, et al. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. *Blood*. 2013;121:3420–3427.
- [15] Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol*. 2012;30:4541–4549.
- [16] Delgado J, Pereira A, Villamor N, et al. Survival analysis in hematologic malignancies: recommendations for clinicians. *Haematologica*. 2014;99:1410–1420.
- [17] Palladini G, Hegenbart U, Milani P, et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood*. 2014;124:2325–2332.

- [18] Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood*. 2010;116:5126–5129.
- [19] Gertz MA, Kyle RA, Greipp PR. The plasma cell labeling index: a valuable tool in primary systemic amyloidosis. *Blood*. 1989;74:1108–1111.
- [20] Perfetti V, Colli Vignarelli M, Anesi E, et al. The degrees of plasma cell clonality and marrow infiltration adversely influence the prognosis of AL amyloidosis patients. *Haematologica*. 1999;84:218–221.
- [21] International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*. 2003;121:749–757.
- [22] Milani P, Basset M, Russo F, et al. Patients with light-chain amyloidosis and low free light-chain burden have distinct clinical features and outcome. *Blood*. 2017;130:625–631.
- [23] Dittrich T, Bochtler T, Kimmich C, et al. AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood*. 2017;130:632–642.
- [24] Sidana S, Tandon N, Dispenzieri A, et al. Clinical presentation and outcome in light chain amyloidosis patients with non-evaluable serum free light chains. *Leukemia*. 2017. DOI: 10.1038/leu.2017.286. [Epub ahead of print].
- [25] Rodríguez-Lobato LG, Fernández de Larrea C, Cibeira MT, et al. Prognostic impact of immunoparesis at diagnosis and after treatment onset in patients with light-chain amyloidosis. *Amyloid*. 2017;24:245–252.
- [26] Munshi NC, Anderson KC, Bergsagel PL, et al. Consensus recommendations for risk stratification in multiple myeloma: report of the International Myeloma workshop consensus panel 2. *Blood*. 2011;117:4696–4700.
- [27] Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, et al. Prognostic impact of cytogenetic aberrations in AL amyloidosis patients after high-dose melphalan: a long-term follow-up study. *Blood*. 2016;128:594–602.
- [28] Hwa YL, Kumar SK, Gertz MA, et al. Induction therapy pre-autologous stem cell transplantation in immunoglobulin light chain amyloidosis: a retrospective evaluation. *Am J Hematol*. 2016;91:984–988.
- [29] Desikan KR, Dhodapkar MV, Hough A, et al. Incidence and impact of light chain associated (AL) amyloidosis on the prognosis of patients with multiple myeloma treated with autologous transplantation. *Leuk Lymphoma*. 1997;27:315–319.
- [30] Siragusa S, Morice W, Gertz MA, et al. Asymptomatic immunoglobulin light chain amyloidosis (AL) at the time of diagnostic bone marrow biopsy in newly diagnosed patients with multiple myeloma and smoldering myeloma. A series of 144 cases and a review of the literature. *Ann Hematol*. 2011;90:101–106.
- [31] Madan S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Clinical features and treatment response of light chain (AL) amyloidosis diagnosed in patients with previous diagnosis of multiple myeloma. *Mayo Clin Proc*. 2010;85:232–238.

Supplementary Figure 1. Algorithmic diagram of the patients with AL amyloidosis in the study.



V. DISCUSIÓN

La amiloidosis sistémica de cadenas ligeras o AL es una enfermedad hematológica infrecuente, caracterizada por la proliferación monoclonal de CP, las cuales producen cadenas ligeras anómalas (Dispenzieri & Merlini, 2016). Estas cadenas ligeras anómalas se agregan y depositan en el tejido en forma de fibrillas de amiloide con una estructura de hoja β plegada (Falk *et al.*, 1997). La presentación clínica es muy heterogénea y el diagnóstico requiere un alto índice de sospecha clínica (Merlini *et al.*, 2011). Es muy importante demostrar el depósito de amiloide a través de la tinción rojo Congo que produce una birrefringencia verde manzana al microscopio de luz polarizada y, además, tipificar la fibrilla de amiloide por inmunohistoquímica, microscopía electrónica o espectrometría de masas (Fernández de Larrea *et al.*, 2015; Mahmood *et al.*, 2014b; Vrana *et al.*, 2014). Los objetivos principales del tratamiento son suprimir o eliminar la producción del precursor proteico de la fibrilla de amiloide por parte de la clona de CP y al mismo tiempo minimizar la toxicidad relacionada al tratamiento (Cibeira *et al.*, 2011; Palladini *et al.*, 2012a).

En cuanto al pronóstico, se sabe que la mediana de supervivencia de los pacientes sin tratamiento es de tan sólo 8 meses (Kyle *et al.*, 1997). El diagnóstico precoz, la adecuada selección de los pacientes a tratamientos intensivos como el TAPH, el uso de nuevos fármacos (inhibidores del proteasoma e IMiDs), así como el manejo de estos pacientes en centros hospitalarios especializados en esta patología, ha logrado mejorar el pronóstico en las últimas décadas, alcanzando SG a los 4 años del 50% (Hegenbart *et al.*, 2013; Kastiris & Dimopoulos, 2016; Warsame *et al.*, 2014). Sin embargo, todavía existe un porcentaje no despreciable de pacientes que recaen o son primariamente refractarios, sin olvidar que la tasa de mortalidad temprana no se ha modificado, permaneciendo entorno al 30-40% durante los primeros 12 meses tras el diagnóstico (Cibeira *et al.*, 2011; Dispenzieri *et al.*, 2015; Muchtar *et al.*, 2017a; Wechalekar *et al.*, 2016).

La supervivencia de los pacientes depende principalmente de la extensión del daño orgánico, esencialmente a nivel cardíaco, y de la carga tumoral (y probablemente a la biología de las CP clonales) (Palladini *et al.*, 2012a). En la actualidad los factores pronóstico más importantes en la práctica clínica son la dFLC y los biomarcadores cardíacos (troponina T y NT-proBNP), los cuales han sido integrados en diferentes modelos pronósticos. El sistema de estadiaje de la Clínica Mayo del 2004 fue el primer modelo pronóstico que integró la determinación de NT-proBNP y troponina T, categorizando a los pacientes en tres estadios (Dispenzieri *et al.*, 2004a, 2004b). La modificación europea logró identificar un subgrupo de pacientes con un pronóstico especialmente ominoso basado en NT-proBNP >8500 ng/l y presión arterial sistólica \leq 100 mmHg (Wechalekar *et al.*, 2013). Posteriormente en el 2012, la Clínica Mayo actualizó su modelo pronóstico del 2004, añadiendo la dFLC, logrando clasificar a los pacientes en cuatro estadios, con marcadas diferencias entre ellos en términos de SG (Kumar *et al.*, 2012a).

Al igual que en otras GM como el MM, en la amiloidosis AL se ha intentado identificar nuevos marcadores pronósticos y/o predictores de respuesta al diagnóstico o tras el tratamiento que podrían predecir la respuesta al mismo, la supervivencia o el riesgo de recaída, para finalmente diseñar una estrategia terapéutica que podría ajustarse a cada paciente a la luz de los resultados pronósticos. Por este motivo, se decidió analizar tres posibles marcadores pronósticos en pacientes con amiloidosis sistémica AL, para intentar acortar el camino a las metas descritas anteriormente.

En el primer trabajo de la presente tesis doctoral (Rodríguez-Lobato *et al.*, 2017a), describimos y analizamos por primera vez la incidencia y el impacto pronóstico de las BOC en pacientes con amiloidosis sistémica AL. Las BOC fueron descritas a finales de los años 80 en pacientes con MM que recibían un tratamiento intensivo de quimioterapia seguido de un TAPH (Mitus *et al.*, 1989). Posteriormente, se han

descrito en múltiples escenarios, principalmente en pacientes que alcanzan RC con el uso de nuevos fármacos (inhibidores del proteasoma e IMiDs) y corroborado en el TAPH (Fernández de Larrea *et al.*, 2011; Mark *et al.*, 2008; Tovar *et al.*, 2013). La incidencia de BOC en pacientes con MM es muy variable (6,6% a 73%) (Alejandre *et al.*, 2010; Hall *et al.*, 2009; Hovenga *et al.*, 2000; Fernández de Larrea *et al.*, 2009; Manson *et al.*, 2012; Mark *et al.*, 2008; Wadhera *et al.*, 2011; Zent *et al.*, 1998). En la presente tesis doctoral encontramos una incidencia de 75% en amiloidosis AL, que contrasta con el 34% que observamos en pacientes con MM (Tovar *et al.*, 2013). Así también observamos que la mitad de los pacientes que no recibieron tratamientos intensivos también desarrollaron BOC. En contraposición a publicaciones previas en MM, nosotros no observamos una mayor incidencia de BOC con el uso de nuevos fármacos, lo cual podría explicarse por el aumento en la sensibilidad a alquilantes y glucocorticoides que tienen las CP amiloidogénicas en comparación a las CP del MM (Palladini *et al.*, 2014b; San Miguel *et al.*, 2008). La duración de esta respuesta humoral oligoclonal es un tema en debate, ya que las descripciones iniciales sugerían que se trataba de un fenómeno transitorio (Wadhera *et al.*, 2011); evidencia más reciente demuestra que pueden estar presentes durante años (Tovar *et al.*, 2013). En nuestra serie, la mediana de duración fue de 12 meses, lo que sugiere que tampoco son un fenómeno transitorio en los pacientes con amiloidosis AL. Por este motivo decidimos analizar el significado pronóstico de la persistencia de BOC por más de un año, encontrando que la persistencia de este fenómeno humoral oligoclonal se asociaba a una SLP más prolongada y también una tendencia en la SG. Esta mejoría en el resultado relacionado con la presencia de BOC fue independiente del sistema de estratificación del riesgo de la Clínica Mayo del 2004, lo que sugiere un efecto positivo, aún en pacientes con estadios más avanzados. De forma similar al MM, la desaparición de la BOC precedió a la recaída serológica en todos los casos, lo que podría reflejar la competición entre los linfocitos B policlonales y la clona de CP amiloidogénica. En el caso del MM, de manera excepcional pueden coincidir de

manera temporal las BOC con la proteína anómala. Ejemplos de ello ocurren cuando la recaída se presenta en forma extramedular así como con la reaparición de la banda original en orina en casos de mieloma de cadenas ligeras, lo que se podría deber a la vida media de las BOC en suero frente a una forma de recaída explosiva con cadenas ligeras predominantemente en orina (Bladé *et al.*, 2011; Pratt *et al.*, 2006; Tovar *et al.*, 2013).

En el segundo artículo de la presente tesis doctoral (Rodríguez-Lobato *et al.*, 2017b), analizamos el impacto pronóstico de la IP al diagnóstico y su recuperación tras el tratamiento. La supresión de las Ig no involucradas es un factor pronóstico adverso reconocido en GM (Andrade-Campos *et al.*, 2017; Katodritou *et al.*, 2014; Ozsahin *et al.*, 2006) y de riesgo de progresión en GMSI y MM quiescente (Caers *et al.*, 2016; Cesana *et al.*, 2002; Kastritis *et al.*, 2013; Pérez-Persona *et al.*, 2007). La incidencia reportada en MM varía de 65% a 91% (Kastritis *et al.*, 2014; Kawano *et al.*, 1989; Kyle *et al.*, 2003; Pruzanski *et al.*, 1980), mientras que en las dos series publicadas previamente en amiloidosis AL es de 23% a 72% (Muchtar *et al.*, 2016b, 2017d). La incidencia de IP al diagnóstico en nuestra serie de pacientes fue de 27,5%. Esta variabilidad tan amplia probablemente se deba a la definición de IP utilizada. La Clínica Mayo ha utilizado dos métodos para definirla. El primero, cualitativo, se basa en el número de Ig no involucradas por debajo del límite de referencia para el rango de referencia de su laboratorio, estratificando a los pacientes en tres categorías (sin supresión, supresión parcial y supresión completa); el segundo método, cuantitativo, es un método matemático, que categoriza a los pacientes como positivos o negativos para IP. Con el método cualitativo se observa que los pacientes con IP parcial y sin IP tienen resultados similares (Muchtar *et al.*, 2017d). En cuanto al método cuantitativo, se sugiere que podría discriminar de forma más precisa a los pacientes con IP parcial, ya que reubicaría al 13% de estos al grupo de IP completa, pese a que no se observan claras diferencias en el pronóstico. Por este último motivo, y a la facilidad de identificar

IP por el método cuantitativo, decidimos utilizar como definición de IP a la supresión de todas las Ig no involucradas. La presencia de IP se relacionó con respuestas inferiores tras la primera línea de tratamiento, lo que podría explicar la diferencia en la supervivencia, ya que RH de peor calidad predicen una alta probabilidad de daño orgánico continuado y depósito de amiloide (Palladini *et al.*, 2012a). Nuestros resultados sugieren que el tratamiento intensivo con TAPH podría ser la estrategia de elección en pacientes con IP. Dichos hallazgos concuerdan con la reciente publicación de la Clínica Mayo, donde destacan el papel del TAPH y el uso de inhibidores del proteasoma para vencer el efecto adverso de la IP, así como la poca utilidad del melfalán en el grupo de pacientes no candidatos a TAPH con IP. La razón de estos resultados es incierta, pero podría reflejar la diferencia biológica de la enfermedad basada en la IP (Muchtar *et al.*, 2016c). Los resultados obtenidos respecto a la estratificación del riesgo según los criterios revisados de la Clínica Mayo del 2012, sugieren que la presencia de IP al diagnóstico en estadios I y II se asocian a peor pronóstico, mientras que en estadios III y IV, la IP carecerá de relevancia, ya la afección cardíaca y la alta carga tumoral juegan un papel mucho más importante. Recientemente se ha publicado que existe un subgrupo de pacientes con amiloidosis AL que han recibido un TAPH sin tratamiento de inducción previo, que son de muy bajo riesgo de progresión (aproximadamente 43%) (Hwa *et al.*, 2016). Estos pacientes tienen estadios bajos según los criterios revisados de clasificación de la Clínica Mayo del 2012, y CPMO $\leq 10\%$, logrando 64% de respuestas \geq MBRP, con una SG a los 8 años del 72%. En vista a estos resultados, se podría especular que en este grupo de pacientes la presencia de IP podría discernir aún más a aquellos pacientes que se beneficiarían de tratamiento de inducción previo al TAPH.

La menor incidencia de IP al diagnóstico, asociado a la mayor frecuencia de BOC tras el tratamiento en nuestra serie de pacientes con amiloidosis sistémica AL, sugieren que la CP clonal amiloidogénica es muy distinta a las CP malignas del MM. A nivel

biológico, la CP AL tiene un patrón de menor agresividad, ya que presenta patrones citogenéticos similares a la GMSI, con diferencias significativas cuando se compara con las células del MM. En amiloidosis AL, la $t(11;14)(q13;23)$ es la alteración citogenética más habitual, que aunque asociada a peor pronóstico en comparación con citogenéticas normales, es considerada una traslocación menos agresiva frente a anomalías citogenéticas de alto riesgo como $t(4;14)(p16;q23)$ y delección de $17p13$, siendo estas últimas muy infrecuentes en amiloidosis AL (Bochtler *et al.*, 2008, 2015, 2016; Muchtar *et al.*, 2017c). A mayor abundamiento, los perfiles de expresión génica sugieren que la CP amiloidogénica tiene mayor similitud a las CP normales que las CP del MM (Paiva *et al.*, 2016). Otro factor potencial contribuyente sobre la BOC y la IP, es el tamaño o carga tumoral de la clona de CP amiloidogénicas. En la amiloidosis AL, la menor carga tumoral podría tener un papel importante en la inmunosupresión humoral. En nuestra serie, los pacientes con IP tenían un mayor grado de infiltración de CPMO comparado con aquellos que no tenían IP (29% frente 9%), lo que contrasta con resultados previos en pacientes con MM (98% frente 78% utilizando un corte de infiltración de CPMO del 40%) (Ludwig *et al.*, 2016). En cuanto a la respuesta al tratamiento, se ha demostrado recientemente que los pacientes con amiloidosis AL que reciben un tratamiento intensivo asociado a TAPH tienen mejores resultados en comparación con pacientes con MM, en términos de RC y SG (40,1% frente 29,4% y 113 meses frente 59,5 meses; respectivamente) (Dispenzieri *et al.*, 2013), lo que refuerza el concepto que la amiloidosis AL tiene una biología menos agresiva y menor carga tumoral, que conlleva a mejores respuestas al tratamiento y finalmente mayor incidencia de BOC y menos IP.

La reconstitución inmune tras el tratamiento juega un papel fundamental en las enfermedades hematológicas. En el caso de la amiloidosis AL, se puede especular a través de datos obtenidos en MM, que la presencia de BOC tras el tratamiento podría representar la aparición de una segunda GMSI (Wadhera *et al.*, 2011), pero es más

plausible reflejar la recapitulación ontogénica del linfocito B tras el TAPH o ser un marcador de reconstitución inmune normal (Guikema *et al.*, 1999; Jo *et al.*, 2014; Zent *et al.*, 1998). Se cree que la respuesta inmune humoral antimieloma pueda estar facilitada o mediada a través de la liberación de grandes cantidades de antígenos tumorales. En cualquier caso, la explicación biológica de las BOC en amiloidosis AL es aún desconocida (Rahlff *et al.*, 2012; Tovar *et al.*, 2014). En el caso de la IP, el mecanismo responsable de la supresión de las Ig no involucradas aún se desconoce, pero se cree que las CPMO compiten con las CP normales por la ocupación del nicho medular, lo que podría explicar porque pacientes con alta carga tumoral tienen más IP (Kastritis *et al.*, 2014; Ludwig *et al.*, 2016; Radbruch *et al.*, 2006). Sin embargo, existen otras teorías sobre los linfocitos T reguladores, los cuales podrían suprimir la producción y secreción de Ig (Giannopoulos *et al.*, 2012; Milburn & Lynch, 1982; Muthu Raja *et al.*, 2012). Otro hallazgo interesante sobre reconstitución inmune, son los datos observados sobre IP al año tras el tratamiento. La reconstitución de linfocitos B es un proceso lento y progresivo, que se inicia al mes del trasplante y termina generalmente un año después (Hernández *et al.*, 1998; Rueff *et al.*, 2014). En este aspecto, la recuperación de la IP después del TAPH se asoció a un mejor pronóstico en términos de SLP y SG, en comparación con pacientes que persistían con IP. De hecho, datos recientemente publicados en pacientes con MM han demostrado que la recuperación de las Ig policlonales al año tras el TAPH se asocia a mejor pronóstico y es aún mejor si es durante los primeros 6 meses (González-Calle *et al.*, 2017). Se cree que la reconstitución inmune rápida de linfocitos y de células NK tiene un impacto positivo significativo, muy probablemente debido al efecto inmune sobre las CP residuales del mieloma (Rueff *et al.*, 2014). Es posible que la aparición de las BOC pudiera ser la consecuencia de la reconstitución inmune que se asocia a mejor SLP, y sugiere que existe una competencia clonal entre las CP malignas y los linfocitos B policlonales (González-Calle *et al.*, 2017).

En el tercer trabajo de la presente tesis doctoral (Tovar *et al.*, 2018), analizamos el impacto orgánico y pronóstico de la infiltración de CPMO. En nuestra serie, la mediana de infiltración CPMO fue de 11%, y el 23% de los pacientes presentó > 20% de CPMO. Estos resultados concuerdan con lo previamente descrito en la literatura médica (Kyle & Gertz, 1995). Cuarenta y cuatro pacientes (55,7%) tuvieron >10% CPMO al diagnóstico. Nuestra serie, al igual que otros, ha demostrado que la infiltración elevada de CPMO se asocia a daño orgánico, principalmente a nivel cardíaco, y a peor pronóstico (Kourelis *et al.*, 2013; Paiva *et al.*, 2011; Perfetti *et al.*, 1999). Incluso infiltraciones medulares de menor cuantía, tales como del 7%, pueden tener impacto pronóstico, lo que sugiere que a medida que se expande las CPMO en el nicho medular existen diferentes interacciones biológicas con el microambiente medular que pueden controlar o favorecer la progresión de la amiloidosis AL. De manera interesante, al analizar a los pacientes con <10% CPMO observamos una mayor frecuencia y gravedad de daño renal. Estos hallazgos también fueron encontrados en nuestra serie de pacientes sin IP (Rodríguez-Lobato *et al.*, 2017b), así como por grupos internacionales que han analizado niveles bajos de dFLC (< 50 mg/l) (Dittrich *et al.*, 2017; Milani *et al.*, 2017a; Sidana *et al.*, 2017). Probablemente se trate de un subtipo de amiloidosis AL, con baja carga tumoral (<10% CPMO, sin IP y niveles bajos de dFLC) que genere cadenas ligeras anómalas con un fenotipo con especial susceptibilidad hacia el depósito glomerular (Dittrich *et al.*, 2017). Sin embargo, existen otras teorías que sugieren un aumento en la excreción urinaria de cadenas ligeras en la orina, de lugar a menor depósito de cadenas ligeras a nivel cardíaco (Sidana *et al.*, 2017).

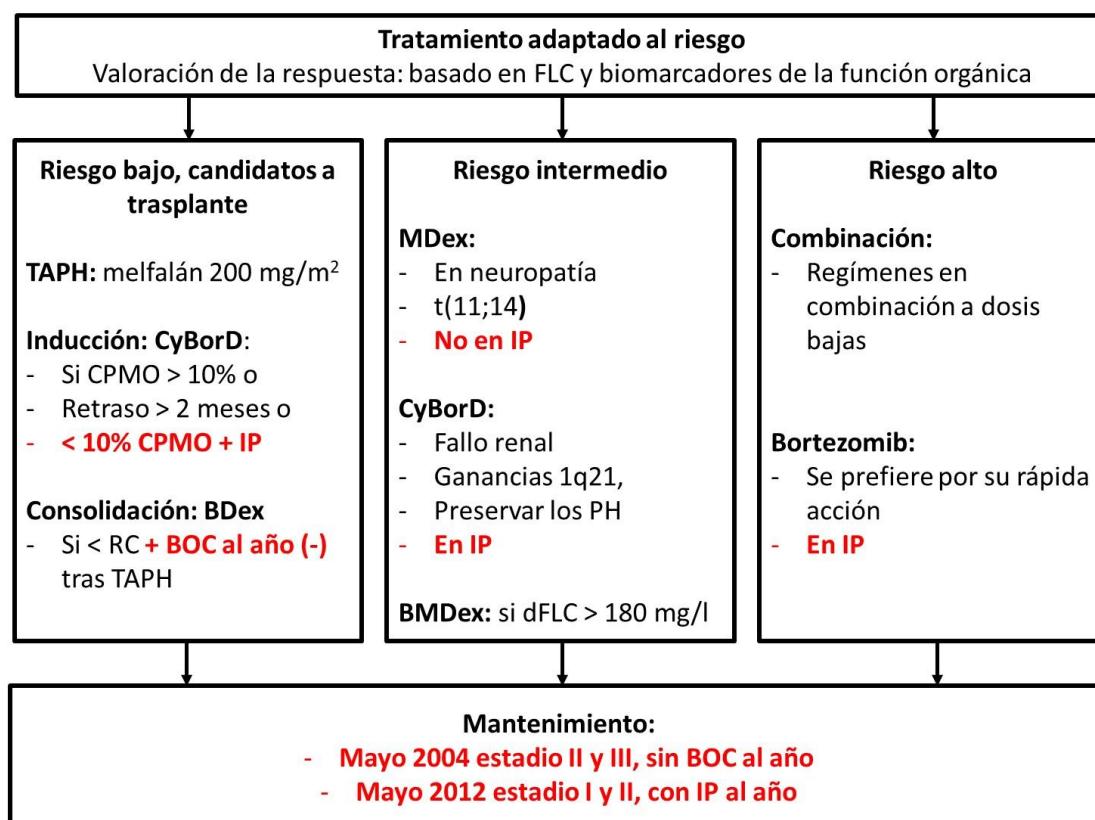
Por otra parte, actualmente se encuentra en estudio el papel de la citometría de flujo en la amiloidosis AL. Dos grupos internacionales han demostrado el papel que tiene durante el diagnóstico, ya que puntos de corte de 1% a 2,5% de CPMO clonales se han asociado a peor pronóstico (Mughtar *et al.*, 2017b; Paiva *et al.*, 2011). En cuanto

el papel de la citometría de flujo para detectar enfermedad residual mínima tras el tratamiento, la presencia de $\geq 0,1\%$ de CPMO clonales se asocian a peor pronóstico en términos de SLP y SG (Mughtar *et al.*, 2017b). Estos resultados sugieren que el papel del porcentaje de infiltración de CPMO podría tener un papel más importante al diagnóstico y en la evaluación de la respuesta al término del tratamiento. El impacto pronóstico del porcentaje de CPMO ha sido evaluado por el grupo de la Clínica Mayo, quienes han demostrado que las tasas de RC o MBRP son significativamente mayores en pacientes con $\leq 10\%$ CPMO al diagnóstico, por lo que muy probablemente aquellos pacientes que presenten $>10\%$ CPMO se podrían beneficiar de tratamientos de inducción previo al TAPH. Los autores sugieren que los pacientes con alta carga tumoral pueden comportarse como MM y por lo tanto podrían ser candidatos a tratamientos de inducción y mantenimiento (Bochtler *et al.*, 2016; Hwa *et al.*, 2016; Kourelis *et al.*, 2013). En cambio, el grupo de Boston no encontró diferencias en la supervivencia en función del grado de infiltración de CPMO al diagnóstico, ni tampoco observó diferencias en aquellos pacientes que recibieron tratamiento de inducción con melfalán y prednisona previo al TAPH (Sancharawala *et al.*, 2004). En este sentido, cabe destacar que el grupo de Boston únicamente analizó aquellos pacientes que tenían $<30\%$ CPMO, ya que un porcentaje superior fué catalogado como MM, a diferencia del estudio de la Clínica Mayo que incluía pacientes con un mayor porcentaje de CPMO, explicando las diferencias encontradas. Con la intención de dar un paso más allá en el tratamiento de los pacientes candidatos a TAPH, se han publicado tres series donde se demuestra la utilidad del tratamiento de inducción (principalmente con inhibidores del proteasoma) previo al trasplante en aquellos pacientes que tengan $>10\%$ CPMO (Cowan *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2014; Hwa *et al.*, 2016). Nuestros resultados sugieren que el tratamiento incorporando nuevos agentes, como bortezomib y los IMiDs, pueden vencer el impacto pronóstico negativo de una mayor infiltración de CPMO. Se precisan más estudios para determinar si el

TAPH, con o sin inducción previa, puede vencer el pronóstico adverso que tiene un porcentaje elevado de CPMO.

Aunque no existen recomendaciones definitivas respecto a la consolidación y mantenimiento en pacientes con amiloidosis AL después del tratamiento, es posible que las estrategias que incrementan o fortalezcan la reconstitución inmune sean de utilidad. Existen datos que demuestran el posible papel de talidomida y bortezomib como terapia de consolidación ajustada al riesgo de cada paciente (Cohen *et al.*, 2007; Landau *et al.*, 2013, 2017). Los datos obtenidos del primer estudio publicado sugieren que en pacientes con estadios avanzados según los criterios de clasificación de la Clínica Mayo del 2004 y en aquellos que no lograron una RC, la ausencia de BOC al año, podría considerarse como marcador para iniciar alguna estrategia de mantenimiento. Aplicando las conclusiones de los trabajos objeto de esta tesis doctoral, se proponen posibles cambios sugeridos en la estrategia terapéutica en amiloidosis sistémica AL, siempre con las limitaciones de tratarse de estudios de un único centro hospitalario y con un número limitado de pacientes.

Figura 7. Propuesta de tratamiento en amiloidosis sistémica AL.



BDex: bortezomib y dexametasona; BMDex: bortezomib, melfalán y dexametasona; BOC: bandas oligoclonales; CPMO: células plasmáticas en médula ósea; CyBorD: ciclofosfamida, bortezomib y dexametasona; FLC: cadenas ligeras libres; IP: inmunoparesia; MDex: melfalán y dexametasona; RC: remisión completa; TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

En color rojo se pueden observar las modificaciones al tratamiento sugeridas por este trabajo.

Las propuestas de mantenimiento deberán explorarse como variables dentro de ensayos clínicos.

VI. CONCLUSIONES

1. La incidencia de BOC en pacientes con amiloidosis sistémica AL tras el tratamiento de primera línea es más elevada que en los pacientes con MM. Dicho fenómeno humoral oligoclonal es más frecuente en los pacientes que alcanzan la RC y su persistencia durante más de un año se asocia con un mejor pronóstico, incluso en pacientes con factores pronósticos adversos, lo que reflejaría una reconstitución inmune humoral más profunda.
2. La presencia de IP al diagnóstico tiene un impacto negativo sobre la supervivencia, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad, y podría ser un indicador pronóstico discriminatorio adicional. La recuperación de la IP un año tras el inicio del tratamiento constituye un marcador de supervivencia independiente a largo plazo.
3. La infiltración de CPMO >10% en amiloidosis sistémica AL al diagnóstico se asocia a un mayor daño orgánico sistémico, particularmente a nivel cardíaco, y rara vez a una evolución a MM. El uso de nuevos fármacos podría superar este factor pronóstico negativo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Abraham, R.S., Ballman, K.V., Dispenzieri, A., Grill, D.E., Manske, M.K., Price-Troska, T.L., Paz, N.G., Gertz, M.A., and Fonseca, R. (2005). Functional gene expression analysis of clonal plasma cells identifies a unique molecular profile for light chain amyloidosis. *Blood* 105, 794–803.

Alejandre, M.E., Madalena, L.B., Pavlovsky, M.A., Facio, M.L., Corrado, C., Milone, G., Bresciani, P.D., Fraind, S.A., Pavlovsky, S., and Pizzolato, M.A. (2010). Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myeloma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48, 727–731.

Andrade-Campos, M., Murillo-Flórez, I., García-Sanz, R., and Giraldo, P. (2017). Immunoparesis in IgM gammopathies as a useful biomarker to predict disease progression. *Clin. Chem. Lab. Med.* 55, 1598–1604.

Arbustini, E., Morbini, P., Verga, L., Concardi, M., Porcu, E., Pilotto, A., Zorzoli, I., Garini, P., Anesi, E., and Merlini, G. (1997). Light and electron microscopy immunohistochemical characterization of amyloid deposits. *Amyloid.* 4, 157–170.

Bashir, Q., Langford, L.A., Parmar, S., Champlin, R.E., and Qazilbash, M.H. (2011). Primary systemic amyloid light chain amyloidosis decompensating after filgrastim-induced mobilization and stem-cell collection. *J. Clin. Oncol.* 29, e79-80.

Bladé, J., Fernández de Larrea, C., Rosiñol, L., Cibeira, M.T., Jiménez, R., and Powles, R. (2011). Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: incidence, mechanisms of extramedullary spread, and treatment approach. *J. Clin. Oncol.* 29, 3805–3812.

Bochtler, T., Hegenbart, U., Cremer, F.W., Heiss, C., Benner, A., Hose, D., Moos, M., Bila, J., Bartram, C.R., Ho, A.D., *et al.* (2008). Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood* 111, 4700–4705.

Bochtler, T., Hegenbart, U., Kunz, C., Granzow, M., Benner, A., Seckinger, A., Kimmich, C., Goldschmidt, H., Ho, A.D., Hose, D., *et al.* (2015). Translocation t(11;14)

is associated with adverse outcome in patients with newly diagnosed AL amyloidosis when treated with bortezomib-based regimens. *J. Clin. Oncol.* 33, 1371–1378.

Bochtler, T., Hegenbart, U., Kunz, C., Benner, A., Kimmich, C., Seckinger, A., Hose, D., Goldschmidt, H., Granzow, M., Dreger, P., *et al.* (2016). Prognostic impact of cytogenetic aberrations in AL amyloidosis patients after high-dose melphalan: a long-term follow-up study. *Blood* 128, 594–602.

Boldrini, M., Salinaro, F., Mussinelli, R., Raimondi, A., Alogna, A., Musca, F., Palladini, G., Merlini, G., and Perlini, S. (2013). Prevalence and prognostic value of conduction disturbances at the time of diagnosis of cardiac AL amyloidosis. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 18, 327–335.

Booth, D.R., Sunde, M., Bellotti, V., Robinson, C.V., Hutchinson, W.L., Fraser, P.E., Hawkins, P.N., Dobson, C.M., Radford, S.E., Blake, C.C., *et al.* (1997). Instability, unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis. *Nature* 385, 787–793.

Bradwell, A.R., Carr-Smith, H.D., Mead, G.P., Tang, L.X., Showell, P.J., Drayson, M.T., and Drew, R. (2001). Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem.* 47, 673–680.

Bradwell, A.R., Ph.D, H.D.C.-S., Ph.D, G.P.M., and Drayson, M.T. (2002). Serum free light chain immunoassays and their clinical application. *Clin. Appl. Immunol. Rev.* 3, 17–33.

Bradwell, A.R., Harding, S.J., Fourrier, N.J., Wallis, G.L.F., Drayson, M.T., Carr-Smith, H.D., and Mead, G.P. (2009). Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin. Chem.* 55, 1646–1655.

Brambilla, F., Lavatelli, F., Di Silvestre, D., Valentini, V., Rossi, R., Palladini, G., Obici, L., Verga, L., Mauri, P., and Merlini, G. (2012). Reliable typing of systemic amyloidoses through proteomic analysis of subcutaneous adipose tissue. *Blood* 119, 1844–1847.

Brenner, D.A., Jain, M., Pimentel, D.R., Wang, B., Connors, L.H., Skinner, M., Apstein, C.S., and Liao, R. (2004). Human amyloidogenic light chains directly impair

cardiomyocyte function through an increase in cellular oxidant stress. *Circ. Res.* *94*, 1008–1010.

Browning, S., Quillen, K., Sloan, J.M., Doros, G., Sarosiek, S., and Sanchorawala, V. (2017). Hematologic relapse in AL amyloidosis after high-dose melphalan and stem cell transplantation. *Blood* *130*, 1383–1386.

Brumshtein, B., Esswein, S.R., Salwinski, L., Phillips, M.L., Ly, A.T., Cascio, D., Sawaya, M.R., and Eisenberg, D.S. (2015). Inhibition by small-molecule ligands of formation of amyloid fibrils of an immunoglobulin light chain variable domain. *eLife* *4*, e10935.

Bryce, A.H., Ketterling, R.P., Gertz, M.A., Lacy, M., Knudson, R.A., Zeldenrust, S., Kumar, S., Hayman, S., Buadi, F., Kyle, R.A., *et al.* (2009). Translocation t(11;14) and survival of patients with light chain (AL) amyloidosis. *Haematologica* *94*, 380–386.

Caccialanza, R., Palladini, G., Klersy, C., Cena, H., Vagia, C., Cameletti, B., Russo, P., Lavatelli, F., and Merlini, G. (2006). Nutritional status of outpatients with systemic immunoglobulin light-chain amyloidosis 1. *Am. J. Clin. Nutr.* *83*, 350–354.

Caccialanza, R., Palladini, G., Klersy, C., Cereda, E., Bonardi, C., Cameletti, B., Montagna, E., Russo, P., Foli, A., Milani, P., *et al.* (2012). Nutritional status independently affects quality of life of patients with systemic immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis. *Ann. Hematol.* *91*, 399–406.

Caers, J., Fernández de Larrea, C., Leleu, X., Heusschen, R., Zojer, N., Decaux, O., Kastritis, E., Minnema, M., Jurczyszyn, A., Beguin, Y., *et al.* (2016). The Changing Landscape of Smoldering Multiple Myeloma: A European Perspective. *The Oncologist* *21*, 333–342.

Carroll, J.D., Gaasch, W.H., and McAdam, K.P. (1982). Amyloid cardiomyopathy: characterization by a distinctive voltage/mass relation. *Am. J. Cardiol.* *49*, 9–13.

Cesana, C., Klersy, C., Barbarano, L., Nosari, A.M., Crugnola, M., Pungolino, E., Gargantini, L., Granata, S., Valentini, M., and Morra, E. (2002). Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* *20*, 1625–1634.

Choufani, E.B., Sanchorawala, V., Ernst, T., Quillen, K., Skinner, M., Wright, D.G., and Seldin, D.C. (2001). Acquired factor X deficiency in patients with amyloid light-chain amyloidosis: incidence, bleeding manifestations, and response to high-dose chemotherapy. *Blood* 97, 1885–1887.

Cibeira, M.T., Sanchorawala, V., Seldin, D.C., Quillen, K., Berk, J.L., Dember, L.M., Segal, A., Ruberg, F., Meier-Ewert, H., Andrea, N.T., *et al.* (2011). Outcome of AL amyloidosis after high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation: long-term results in a series of 421 patients. *Blood* 118, 4346–4352.

Cohen, A.D., Zhou, P., Chou, J., Teruya-Feldstein, J., Reich, L., Hassoun, H., Levine, B., Filippa, D.A., Riedel, E., Kewalramani, T., *et al.* (2007). Risk-adapted autologous stem cell transplantation with adjuvant dexamethasone +/- thalidomide for systemic light-chain amyloidosis: results of a phase II trial. *Br. J. Haematol.* 139, 224–233.

Cohen, A.D., Landau, H., Scott, E.C., Liedtke, M., Kaufman, J.L., Rosenzweig, M., Gasparetto, C., Vesole, D.H., Sanchorawala, V., Lentzsch, S., *et al.* (2016). Safety and Efficacy of Carfilzomib (CFZ) in Previously-Treated Systemic Light-Chain (AL) Amyloidosis. *Blood* 128, 645–645.

Comenzo, R.L., Reece, D., Palladini, G., Seldin, D., Sanchorawala, V., Landau, H., Falk, R., Wells, K., Solomon, A., Wechalekar, A., *et al.* (2012). Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic light-chain amyloidosis. *Leukemia* 26, 2317–2325.

Cordes, S., Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Hayman, S.R., Buadi, F.K., Dingli, D., Kumar, S.K., Hogan, W.J., and Gertz, M.A. (2012). Ten-year survival after autologous stem cell transplantation for immunoglobulin light chain amyloidosis. *Cancer* 118, 6105–6109.

Cowan, A.J., Klippel, Z.K., Stevenson, P.A., Hyun, T.S., Tuazon, S., Becker, P.S., Green, D.J., Holmberg, L.A., Coffey, D.G., Gopal, A.K., *et al.* (2016). Pre-transplantation novel agent induction predicts progression-free survival for patients with immunoglobulin light-chain amyloidosis undergoing high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig.* 23, 254–259.

Dey, B.R., Chung, S.S., Spitzer, T.R., Zheng, H., Macgillivray, T.E., Seldin, D.C., McAfee, S., Ballen, K., Attar, E., Wang, T., *et al.* (2010). Cardiac transplantation

followed by dose-intensive melphalan and autologous stem-cell transplantation for light chain amyloidosis and heart failure. *Transplantation* 90, 905–911.

Dhakal, B., Strouse, C., D'Souza, A., Arce-Lara, C., Esselman, J., Eastwood, D., Pasquini, M., Saber, W., Drobyski, W., Rizzo, J.D., *et al.* (2014). Plerixafor and abbreviated-course granulocyte colony-stimulating factor for mobilizing hematopoietic progenitor cells in light chain amyloidosis. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 20, 1926–1931.

Dietrich, S., Schönland, S.O., Benner, A., Bochtler, T., Kristen, A.V., Beimler, J., Hund, E., Zorn, M., Goldschmidt, H., Ho, A.D., *et al.* (2010). Treatment with intravenous melphalan and dexamethasone is not able to overcome the poor prognosis of patients with newly diagnosed systemic light chain amyloidosis and severe cardiac involvement. *Blood* 116, 522–528.

Dingli, D., Tan, T.S., Kumar, S.K., Buadi, F.K., Dispenzieri, A., Hayman, S.R., Lacy, M.Q., Gastineau, D.A., Hogan, W.J., and Gertz, M.A. (2010). Stem cell transplantation in patients with autonomic neuropathy due to primary (AL) amyloidosis. *Neurology* 74, 913–918.

Dinner, S., Witteles, W., Afghahi, A., Witteles, R., Arai, S., Lafayette, R., Schrier, S.L., and Liedtke, M. (2013). Lenalidomide, melphalan and dexamethasone in a population of patients with immunoglobulin light chain amyloidosis with high rates of advanced cardiac involvement. *Haematologica* 98, 1593–1599.

Dispenzieri, A., and Merlini, G. (2016). Immunoglobulin Light Chain Systemic Amyloidosis. *Cancer Treat. Res.* 169, 273–318.

Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Kyle, R.A., Lacy, M.Q., Burritt, M.F., Therneau, T.M., McConnell, J.P., Litzow, M.R., Gastineau, D.A., Tefferi, A., *et al.* (2004b). Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 104, 1881–1887.

Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Kyle, R.A., Lacy, M.Q., Burritt, M.F., Therneau, T.M., Greipp, P.R., Witzig, T.E., Lust, J.A., Rajkumar, S.V., *et al.* (2004a). Serum cardiac

troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. *J. Clin. Oncol.* 22, 3751–3757.

Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Katzmann, J.A., Rajkumar, S.V., Abraham, R.S., Hayman, S.R., Kumar, S.K., Clark, R., Kyle, R.A., Litzow, M.R., *et al.* (2006). Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 107, 3378–3383.

Dispenzieri, A., Kyle, R., Merlini, G., Miguel, J.S., Ludwig, H., Hajek, R., Palumbo, A., Jagannath, S., Blade, J., Lonial, S., *et al.* (2009). International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 23, 215–224.

Dispenzieri, A., Katzmann, J.A., Kyle, R.A., Larson, D.R., Melton, L.J., Colby, C.L., Therneau, T.M., Clark, R., Kumar, S.K., Bradwell, A., *et al.* (2010a). Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet* 375, 1721–1728.

Dispenzieri, A., Dingli, D., Kumar, S.K., Rajkumar, S.V., Lacy, M.Q., Hayman, S., Buadi, F., Zeldenrust, S., Leung, N., Detweiler-Short, K., *et al.* (2010b). Discordance between serum cardiac biomarker and immunoglobulin-free light-chain response in patients with immunoglobulin light-chain amyloidosis treated with immune modulatory drugs. *Am. J. Hematol.* 85, 757–759.

Dispenzieri, A., Gertz, M.A., and Buadi, F. (2012a). What do I need to know about immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis? *Blood Rev.* 26, 137–154.

Dispenzieri, A., Buadi, F., Laumann, K., LaPlant, B., Hayman, S.R., Kumar, S.K., Dingli, D., Zeldenrust, S.R., Mikhael, J.R., Hall, R., *et al.* (2012b). Activity of pomalidomide in patients with immunoglobulin light-chain amyloidosis. *Blood* 119, 5397–5404.

Dispenzieri, A., Seenithamby, K., Lacy, M.Q., Kumar, S.K., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Dingli, D., Litzow, M.R., Gastineau, D.A., Inwards, D.J., *et al.* (2013). Patients with immunoglobulin light chain amyloidosis undergoing autologous stem cell transplantation have superior outcomes compared with patients with multiple myeloma:

a retrospective review from a tertiary referral center. *Bone Marrow Transplant.* 48, 1302–1307.

Dispenzieri, A., Buadi, F., Kumar, S.K., Reeder, C.B., Sher, T., Lacy, M.Q., Kyle, R.A., Mikhael, J.R., Roy, V., Leung, N., *et al.* (2015). Treatment of Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis: Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus Statement. *Mayo Clin. Proc.* 90, 1054–1081.

Dittrich, T., Bochtler, T., Kimmich, C., Becker, N., Jauch, A., Goldschmidt, H., Ho, A.D., Hegenbart, U., and Schönland, S.O. (2017). AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood* 130, 632–642.

Dittus, C., Uwumugambi, N., Sun, F., Sloan, J.M., and Sanchorawala, V. (2016). The Effect of Bone Marrow Plasma Cell Burden on Survival in Patients with Light Chain Amyloidosis Undergoing High-Dose Melphalan and Autologous Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* 22, 1729–1732.

D'Souza, A., Dispenzieri, A., Wirk, B., Zhang, M.-J., Huang, J., Gertz, M.A., Kyle, R.A., Kumar, S., Comenzo, R.L., Peter Gale, R., *et al.* (2015). Improved Outcomes After Autologous Hematopoietic Cell Transplantation for Light Chain Amyloidosis: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Study. *J. Clin. Oncol.* 33, 3741–3749.

Dubrey, S.W., Burke, M.M., Hawkins, P.N., and Banner, N.R. (2004). Cardiac transplantation for amyloid heart disease: the United Kingdom experience. *J. Heart Lung Transplant.* 23, 1142–1153.

Dubrey, S.W., Reece, D.E., Sanchorawala, V., Hegenbart, U., Merlini, G., Palladini, G., Femand, J.-P., Vescio, R.A., Bladé, J., Heffner, L.T., *et al.* (2011). Bortezomib in a phase 1 trial for patients with relapsed AL amyloidosis: cardiac responses and overall effects. *QJM Mon. J. Assoc. Physicians* 104, 957–970.

Duston, M.A., Skinner, M., Shirahama, T., and Cohen, A.S. (1987). Diagnosis of amyloidosis by abdominal fat aspiration. Analysis of four years' experience. *Am. J. Med.* 82, 412–414.

Duston, M.A., Skinner, M., Meenan, R.F., and Cohen, A.S. (1989). Sensitivity, specificity, and predictive value of abdominal fat aspiration for the diagnosis of amyloidosis. *Arthritis Rheum.* 32, 82–85.

Edwards, C.V., Gould, J., Langer, A.L., Mapara, M., Radhakrishnan, J., Maurer, M.S., Raza, S., Mears, J.G., Wall, J., Solomon, A., *et al.* (2017). Interim analysis of the phase 1a/b study of chimeric fibril-reactive monoclonal antibody 11-1F4 in patients with AL amyloidosis. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig.* 24, 58–59.

Falk, R.H. (2011). Cardiac amyloidosis: a treatable disease, often overlooked. *Circulation* 124, 1079–1085.

Falk, R.H., and Dubrey, S.W. (2010). Amyloid heart disease. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 52, 347–361.

Falk, R.H., Comenzo, R.L., and Skinner, M. (1997). The systemic amyloidoses. *N. Engl. J. Med.* 337, 898–909.

Fatih, E., Zahiri, K., Hachim, K., Fadel, H., Benghanem, G.M., Sqalli, S., Ramdani, B., and Zaïd, D. (1999). [Value of the biopsy of accessory salivary glands in amyloidosis]. *Rev. Med. Interne* 20, 759–761.

Fernández de Larrea, C.F., Cibeira, M.T., Elena, M., Arostegui, J.I., Rosiñol, L., Rovira, M., Filella, X., Yagüe, J., and Bladé, J. (2009). Abnormal serum free light chain ratio in patients with multiple myeloma in complete remission has strong association with the presence of oligoclonal bands: implications for stringent complete remission definition. *Blood* 114, 4954–4956.

Fernández de Larrea, C., Tovar, N., Cibeira, M.T., Aróstegui, J.I., Rosiñol, L., Elena, M., Filella, X., Yagüe, J., and Bladé, J. (2011). Emergence of oligoclonal bands in patients with multiple myeloma in complete remission after induction chemotherapy: association with the use of novel agents. *Haematologica* 96, 171–173.

Fernández de Larrea, C., Verga, L., Morbini, P., Klersy, C., Lavatelli, F., Foli, A., Obici, L., Milani, P., Capello, G.L., Paulli, M., *et al.* (2015). A practical approach to the diagnosis of systemic amyloidoses. *Blood* 125, 2239–2244.

Foli, A., Palladini, G., Caporali, R., Verga, L., Morbini, P., Obici, L., Russo, P., Sarais, G., Donadei, S., Montecucco, C., *et al.* (2011). The role of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of systemic amyloidosis: results of a prospective study in 62 patients. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig.* 18 Suppl 1, 80–82.

Freeman, R. (2008). Neurogenic Orthostatic Hypotension. *N. Engl. J. Med.* 358, 615–624.

Fumoux, F., Guigou, V., Blaise, D., Maraninchi, D., Fougereau, M., and Schiff, C. (1993). Reconstitution of human immunoglobulin VH repertoire after bone marrow transplantation mimics B-cell ontogeny. *Blood* 81, 3153–3157.

Furie, B., Voo, L., McAdam, K.P., and Furie, B.C. (1981). Mechanism of factor X deficiency in systemic amyloidosis. *N. Engl. J. Med.* 304, 827–830.

van Gameren, I.I., Hazenberg, B.P.C., Bijzet, J., and van Rijswijk, M.H. (2006). Diagnostic accuracy of subcutaneous abdominal fat tissue aspiration for detecting systemic amyloidosis and its utility in clinical practice. *Arthritis Rheum.* 54, 2015–2021.

Gerritsen, E.J., Van Tol, M.J., Van 't Veer, M.B., Wels, J.M., Khouw, I.M., Touw, C.R., Jol-Van Der Zijde, C.M., Hermans, J., Rümke, H.C., and Radl, J. (1994). Clonal dysregulation of the antibody response to tetanus-toxoid after bone marrow transplantation. *Blood* 84, 4374–4382.

Gertz, M.A., and Dispenzieri, A. (2012). Immunoglobulin light-chain amyloidosis: growing recognition, new approaches to therapy, active clinical trials. *Oncol.* 26, 152–161.

Gertz, M.A., and Kyle, R.A. (1994). Amyloidosis: prognosis and treatment. *Semin. Arthritis Rheum.* 24, 124–138.

Gertz, M.A., and Merlini, G. (2010). Definition of organ involvement and response to treatment in AL amyloidosis: an updated consensus opinion. *Amyloid* 17, 48–49.

Gertz, M.A., Falk, R.H., Skinner, M., Cohen, A.S., and Kyle, R.A. (1985). Worsening of congestive heart failure in amyloid heart disease treated by calcium channel-blocking agents. *Am. J. Cardiol.* 55, 1645.

Gertz, M.A., Kyle, R.A., and Greipp, P.R. (1989). The plasma cell labeling index: a valuable tool in primary systemic amyloidosis. *Blood* 74, 1108–1111.

Gertz, M.A., Kyle, R.A., and Greipp, P.R. (1991). Response rates and survival in primary systemic amyloidosis. *Blood* 77, 257–262.

Gertz, M.A., Lacy, M.Q., and Dispenzieri, A. (1999). Amyloidosis: recognition, confirmation, prognosis, and therapy. *Mayo Clin. Proc.* 74, 490–494.

Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Dispenzieri, A., Ansell, S.M., Elliott, M.A., Gastineau, D.A., Inwards, D.J., Micallef, I.N.M., Porrata, L.F., Tefferi, A., *et al.* (2004). Risk-adjusted manipulation of melphalan dose before stem cell transplantation in patients with amyloidosis is associated with a lower response rate. *Bone Marrow Transplant.* 34, 1025–1031.

Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Dispenzieri, A., Greipp, P.R., Litzow, M.R., Henderson, K.J., Van Wier, S.A., Ahmann, G.J., and Fonseca, R. (2005a). Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood* 106, 2837–2840.

Gertz, M.A., Comenzo, R., Falk, R.H., Fermand, J.P., Hazenberg, B.P., Hawkins, P.N., Merlini, G., Moreau, P., Ronco, P., Santhorawala, V., *et al.* (2005b). Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am. J. Hematol.* 79, 319–328.

Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Dispenzieri, A., Kumar, S.K., Buadi, F.K., Dingli, D., Leung, N., Hogan, W.J., and Hayman, S.R. (2011). Trends in day 100 and 2-year survival after auto-SCT for AL amyloidosis: outcomes before and after 2006. *Bone Marrow Transplant.* 46, 970–975.

Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Dispenzieri, A., Kumar, S.K., Dingli, D., Leung, N., Hogan, W.J., Buadi, F.K., and Hayman, S.R. (2013). Refinement in patient selection to reduce treatment-related mortality from autologous stem cell transplantation in amyloidosis. *Bone Marrow Transplant.* 48, 557–561.

Gertz, M.A., Landau, H., Comenzo, R.L., Seldin, D., Weiss, B., Zonder, J., Merlini, G., Schönland, S., Walling, J., Kinney, G.G., *et al.* (2016). First-in-Human Phase I/II Study of NEOD001 in Patients With Light Chain Amyloidosis and Persistent Organ Dysfunction. *J. Clin. Oncol.* *34*, 1097–1103.

Giannopoulos, K., Kaminska, W., Hus, I., and Dmoszynska, A. (2012). The frequency of T regulatory cells modulates the survival of multiple myeloma patients: detailed characterisation of immune status in multiple myeloma. *Br. J. Cancer* *106*, 546–552.

Gillmore, J.D., Wechalekar, A., Bird, J., Cavenagh, J., Hawkins, S., Kazmi, M., Lachmann, H.J., Hawkins, P.N., Pratt, G., and BCSH Committee (2015). Guidelines on the diagnosis and investigation of AL amyloidosis. *Br. J. Haematol.* *168*, 207–218.

Glenner, G.G. (1980). Amyloid deposits and amyloidosis. The beta-fibrilloses (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* *302*, 1283–1292.

González-Calle, V., Cerdá, S., Labrador, J., Sobejano, E., González-Mena, B., Aguilera, C., Ocio, E.M., Vidriales, M.B., Puig, N., Gutiérrez, N.C., *et al.* (2017). Recovery of polyclonal immunoglobulins one year after autologous stem cell transplantation as a long-term predictor marker of progression and survival in multiple myeloma. *Haematologica* *102*, 922–931.

Guan, J., Mishra, S., Qiu, Y., Shi, J., Trudeau, K., Las, G., Liesa, M., Shirihai, O.S., Connors, L.H., Seldin, D.C., *et al.* (2014). Lysosomal dysfunction and impaired autophagy underlie the pathogenesis of amyloidogenic light chain-mediated cardiotoxicity. *EMBO Mol. Med.* *6*, 1493–1507.

Guikema, J.E., Vellenga, E., Veeneman, J.M., Hovenga, S., Bakkus, M.H., Klip, H., and Bos, N.A. (1999). Multiple myeloma related cells in patients undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* *104*, 748–754.

Haan, J. (1994). Amyloid and peripheral nervous system disease. *Clin. Neurol. Neurosurg.* *96*, 332.

Hachulla, E., Janin, A., Flipo, R.M., Saïle, R., Facon, T., Bataille, D., Vanhille, P., Hatron, P.Y., Devulder, B., and Duquesnoy, B. (1993). Labial salivary gland biopsy is a

reliable test for the diagnosis of primary and secondary amyloidosis. A prospective clinical and immunohistologic study in 59 patients. *Arthritis Rheum.* 36, 691–697.

Hall, S.L., Tate, J., Gill, D., and Mollee, P. (2009). Significance of abnormal protein bands in patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Clin. Biochem.* 30, 113–118.

Harrison, C.J., Mazzullo, H., Ross, F.M., Cheung, K.L., Gerrard, G., Harewood, L., Mehta, A., Lachmann, H.J., Hawkins, P.N., and Orchard, K.H. (2002). Translocations of 14q32 and deletions of 13q14 are common chromosomal abnormalities in systemic amyloidosis. *Br. J. Haematol.* 117, 427–435.

Hawkins, P.N., Lavender, J.P., and Pepys, M.B. (1990). Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with 123I-labeled serum amyloid P component. *N. Engl. J. Med.* 323, 508–513.

Hayman, S.R., Bailey, R.J., Jalal, S.M., Ahmann, G.J., Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Greipp, P.R., Kyle, R.A., Lacy, M.Q., Rajkumar, S.V., *et al.* (2001). Translocations involving the immunoglobulin heavy-chain locus are possible early genetic events in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood* 98, 2266–2268.

Hegenbart, U., Iacobelli, S., Hoek, J., Rovira, M., Imhoff, G. van, Bandini, G., Mellqvist, U.-H., Leblond, V., Carlson, K., Zver, S., *et al.* (2013). Center Experience and Calendar Year Of Transplantation Strongly Influence Short Term Survival After Autologous Peripheral Blood Transplantation In 1315 Patients With Light Chain Amyloidosis: An EBMT Analysis. *Blood* 122, 417–417.

Hemminki, K., Li, X., Försti, A., Sundquist, J., and Sundquist, K. (2012). Incidence and survival in non-hereditary amyloidosis in Sweden. *BMC Public Health* 12, 974.

Hernández, M.D., del Cañizo, M.C., González, M., Caballero, M.D., López-Berges, M.C., Vázquez, L., Orfao, A., Corral, M., Nieto, M.J., and San Miguel, J.F. (1998). [Immune reconstitution after autologous progenitor hemopoietic cell transplantation. A study comparing autologous bone marrow and autologous peripheral blood transplantation]. *Med. Clin. (Barc.)* 110, 768–773.

Hovenga, S., de Wolf, J.T., Guikema, J.E., Klip, H., Smit, J.W., Smit Sibinga, C.T., Bos, N.A., and Vellenga, E. (2000). Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma after VAD and EDAP courses: a high incidence of oligoclonal serum Igs post transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 25, 723–728.

Huang, X., Wang, Q., Chen, W., Zeng, C., Chen, Z., Gong, D., Zhang, H., and Liu, Z. (2014). Induction therapy with bortezomib and dexamethasone followed by autologous stem cell transplantation versus autologous stem cell transplantation alone in the treatment of renal AL amyloidosis: a randomized controlled trial. *BMC Med.* 12, 2.

Hwa, Y.L., Kumar, S.K., Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Kourelis, T.V., Gonsalves, W.I., Rajkumar, S.V., Go, R.S., Leung, N., *et al.* (2016). Induction therapy pre-autologous stem cell transplantation in immunoglobulin light chain amyloidosis: a retrospective evaluation. *Am. J. Hematol.* 91, 984–988.

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

Jaccard, A., Moreau, P., Leblond, V., Leleu, X., Benboubker, L., Hermine, O., Recher, C., Asli, B., Lioure, B., Royer, B., *et al.* (2007). High-dose melphalan versus melphalan plus dexamethasone for AL amyloidosis. *N. Engl. J. Med.* 357, 1083–1093.

Jantunen, E., Itälä, M., Lehtinen, T., Kuittinen, O., Koivunen, E., Leppä, S., Juvonen, E., Koistinen, P., Wiklund, T., Nousiainen, T., *et al.* (2006). Early treatment-related mortality in adult autologous stem cell transplant recipients: a nation-wide survey of 1482 transplanted patients. *Eur. J. Haematol.* 76, 245–250.

Jo, J.-C., Yoon, D.H., Kim, S., Lee, K., Kang, E.H., Jang, S., Park, C.-J., Chi, H.-S., Huh, J., Park, C.-S., *et al.* (2014). Clinical significance of the appearance of abnormal protein band in patients with multiple myeloma. *Ann. Hematol.* 93, 463–469.

Kastritis, E., and Dimopoulos, M.A. (2016). Recent advances in the management of AL Amyloidosis. *Br. J. Haematol.* 172, 170–186.

Kastritis, E., Wechalekar, A.D., Dimopoulos, M.A., Merlini, G., Hawkins, P.N., Perfetti, V., Gillmore, J.D., and Palladini, G. (2010). Bortezomib with or without dexamethasone in primary systemic (light chain) amyloidosis. *J. Clin. Oncol.* 28, 1031–1037.

Kastritis, E., Terpos, E., Roussou, M., Gavriatopoulou, M., Pamboukas, C., Boletis, I., Marinaki, S., Apostolou, T., Nikitas, N., Gkortzolidis, G., *et al.* (2012). A phase 1/2 study of lenalidomide with low-dose oral cyclophosphamide and low-dose dexamethasone (RdC) in AL amyloidosis. *Blood* 119, 5384–5390.

Kastritis, E., Terpos, E., Mouloupoulos, L., Spyropoulou-Vlachou, M., Kanellias, N., Eleftherakis-Papaiakovou, E., Gkotsamanidou, M., Migkou, M., Gavriatopoulou, M., Roussou, M., *et al.* (2013). Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 27, 947–953.

Kastritis, E., Zagouri, F., Symeonidis, A., Roussou, M., Sioni, A., Pouli, A., Delimpasi, S., Katodritou, E., Michalis, E., Michael, M., *et al.* (2014). Preserved levels of uninvolved immunoglobulins are independently associated with favorable outcome in patients with symptomatic multiple myeloma. *Leukemia* 28, 2075–2079.

Kastritis, E., Leleu, X., Arnulf, B., Zamagni, E., Cibeira, M.T., Kwok, F., Mollee, P., Hajek, R., Moreau, P., Jaccard, A., *et al.* (2016). A Randomized Phase III Trial of Melphalan and Dexamethasone (MDex) Versus Bortezomib, Melphalan and Dexamethasone (BMDex) for Untreated Patients with AL Amyloidosis. *Blood* 128, 646–646.

Katodritou, E., Terpos, E., Symeonidis, A.S., Pouli, A., Kelaidi, C., Kyrtsolis, M.-C., Kotsopoulou, M., Delimpasi, S., Christoforidou, A., Giannakoulas, N., *et al.* (2014). Clinical features, outcome, and prognostic factors for survival and evolution to multiple myeloma of solitary plasmacytomas: a report of the Greek myeloma study group in 97 patients. *Am. J. Hematol.* 89, 803–808.

Kaufman, G.P., Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Leung, N., Dingli, D., Lust, J.A., Lin, Y., *et al.* (2015). Kinetics of organ response and survival following normalization of the serum free light chain ratio in AL amyloidosis. *Am. J. Hematol.* 90, 181–186.

Kaufman, G.P., Schrier, S.L., Lafayette, R.A., Arai, S., Witteles, R.M., and Liedtke, M. (2017). Daratumumab yields rapid and deep hematologic responses in patients with heavily pretreated AL amyloidosis. *Blood* 130, 900–902.

Kaul, E., Shah, G., Chaulagain, C., and Comenzo, R.L. (2014). Plerixafor and G-CSF for autologous stem cell mobilization in AL amyloidosis. *Bone Marrow Transplant.* 49, 1233.

Kawano, M., Iwato, K., Asaoku, H., Tanabe, O., Tanaka, H., Ishikawa, H., and Kuramoto, A. (1989). Altered cytokine activities are related to the suppression of synthesis of normal immunoglobulin in multiple myeloma. *Am. J. Hematol.* 30, 91–96.

Kourelis, T.V., Kumar, S.K., Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Zeldenrust, S., Leung, N., Kyle, R.A., Russell, S., *et al.* (2013). Coexistent multiple myeloma or increased bone marrow plasma cells define equally high-risk populations in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *J. Clin. Oncol.* 31, 4319–4324.

Kourelis, T.V., Dasari, S., Theis, J.D., Ramirez-Alvarado, M., Kurtin, P.J., Gertz, M.A., Zeldenrust, S.R., Zenka, R.M., Dogan, A., and Dispenzieri, A. (2017a). Clarifying immunoglobulin gene usage in systemic and localized immunoglobulin light-chain amyloidosis by mass spectrometry. *Blood* 129, 299–306.

Kourelis, T.V., Kyle, R.A., Dingli, D., Buadi, F.K., Kumar, S.K., Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Kapoor, P., Go, R.S., Gonsalves, W.I., *et al.* (2017b). Presentation and Outcomes of Localized Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis: The Mayo Clinic Experience. *Mayo Clin. Proc.* 92, 908–917.

Koyama, J., Ikeda, S., and Ikeda, U. (2015). Echocardiographic assessment of the cardiac amyloidoses. *Circ. J.* 79, 721–734.

Kumar, S., Dispenzieri, A., Katzmann, J.A., Larson, D.R., Colby, C.L., Lacy, M.Q., Hayman, S.R., Buadi, F.K., Leung, N., Zeldenrust, S.R., *et al.* (2010). Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood* 116, 5126–5129.

Kumar, S., Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Hayman, S.R., Buadi, F.K., Colby, C., Laumann, K., Zeldenrust, S.R., Leung, N., Dingli, D., *et al.* (2012a). Revised prognostic

staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J. Clin. Oncol.* 30, 989–995.

Kumar, S.K., Hayman, S.R., Buadi, F.K., Roy, V., Lacy, M.Q., Gertz, M.A., Allred, J., Laumann, K.M., Bergsagel, L.P., Dingli, D., *et al.* (2012b). Lenalidomide, cyclophosphamide, and dexamethasone (CRd) for light-chain amyloidosis: long-term results from a phase 2 trial. *Blood* 119, 4860–4867.

Kyle, R.A., and Gertz, M.A. (1995). Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin. Hematol.* 32, 45–59.

Kyle, R.A., Greipp, P.R., and O'Fallon, W.M. (1986). Primary systemic amyloidosis: multivariate analysis for prognostic factors in 168 cases. *Blood* 68, 220–224.

Kyle, R.A., Linos, A., Beard, C.M., Linke, R.P., Gertz, M.A., O'Fallon, W.M., and Kurland, L.T. (1992). Incidence and natural history of primary systemic amyloidosis in Olmsted County, Minnesota, 1950 through 1989. *Blood* 79, 1817–1822.

Kyle, R.A., Gertz, M.A., Greipp, P.R., Witzig, T.E., Lust, J.A., Lacy, M.Q., and Therneau, T.M. (1997). A trial of three regimens for primary amyloidosis: colchicine alone, melphalan and prednisone, and melphalan, prednisone, and colchicine. *N. Engl. J. Med.* 336, 1202–1207.

Kyle, R.A., Gertz, M.A., Witzig, T.E., Lust, J.A., Lacy, M.Q., Dispenzieri, A., Fonseca, R., Rajkumar, S.V., Offord, J.R., Larson, D.R., *et al.* (2003). Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin. Proc.* 78, 21–33.

Kyle, R.A., Larson, D.R., Therneau, T.M., Dispenzieri, A., Melton, L.J., Benson, J.T., Kumar, S., and Rajkumar, S.V. (2014). Clinical course of light-chain smouldering multiple myeloma (idiopathic Bence Jones proteinuria): a retrospective cohort study. *Lancet Haematol.* 1, e28–e36.

Lachmann, H.J., Gallimore, R., Gillmore, J.D., Carr-Smith, H.D., Bradwell, A.R., Pepys, M.B., and Hawkins, P.N. (2003). Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br. J. Haematol.* 122, 78–84.

Landau, H., Hassoun, H., Rosenzweig, M.A., Maurer, M., Liu, J., Flombaum, C., Bello, C., Hoover, E., Riedel, E., Giralt, S., *et al.* (2013). Bortezomib and dexamethasone consolidation following risk-adapted melphalan and stem cell transplantation for patients with newly diagnosed light-chain amyloidosis. *Leukemia* 27, 823–828.

Landau, H., Smith, M., Landry, C., Chou, J.F., Devlin, S.M., Hassoun, H., Bello, C., Giralt, S., and Comenzo, R.L. (2017). Long-term event-free and overall survival after risk-adapted melphalan and SCT for systemic light chain amyloidosis. *Leukemia* 31, 136–142.

Lebovic, D., Hoffman, J., Levine, B.M., Hassoun, H., Landau, H., Goldsmith, Y., Maurer, M.S., Steingart, R.M., Cohen, A.D., and Comenzo, R.L. (2008). Predictors of survival in patients with systemic light-chain amyloidosis and cardiac involvement initially ineligible for stem cell transplantation and treated with oral melphalan and dexamethasone. *Br. J. Haematol.* 143, 369–373.

Leung, N., Nasr, S.H., and Sethi, S. (2012). How I treat amyloidosis: the importance of accurate diagnosis and amyloid typing. *Blood* 120, 3206–3213.

Liao, R., Jain, M., Teller, P., Connors, L.H., Ngoy, S., Skinner, M., Falk, R.H., and Apstein, C.S. (2001). Infusion of light chains from patients with cardiac amyloidosis causes diastolic dysfunction in isolated mouse hearts. *Circulation* 104, 1594–1597.

Libbey, C.A., Skinner, M., and Cohen, A.S. (1983). Use of abdominal fat tissue aspirate in the diagnosis of systemic amyloidosis. *Arch. Intern. Med.* 143, 1549–1552.

Lin, G., Dispenzieri, A., Kyle, R., Grogan, M., and Brady, P.A. (2013). Implantable cardioverter defibrillators in patients with cardiac amyloidosis. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 24, 793–798.

Ludwig, H., Milosavljevic, D., Berlanga, O., Zojer, N., Hübl, W., Fritz, V., and Harding, S. (2016). Suppression of the noninvolved pair of the myeloma isotype correlates with poor survival in newly diagnosed and relapsed/refractory patients with myeloma. *Am. J. Hematol.* 91, 295–301.

Madan, S., Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Buadi, F., Hayman, S.R., Zeldenrust, S.R., Rajkumar, S.V., Gertz, M.A., and Kumar, S.K. (2010). Clinical features and treatment

response of light chain (AL) amyloidosis diagnosed in patients with previous diagnosis of multiple myeloma. *Mayo Clin. Proc.* 85, 232–238.

Mahmood, S., Venner, C.P., Sachchithanatham, S., Lane, T., Rannigan, L., Foard, D., Pinney, J.H., Gibbs, S.D.J., Whelan, C.J., Lachmann, H.J., *et al.* (2014a). Lenalidomide and dexamethasone for systemic AL amyloidosis following prior treatment with thalidomide or bortezomib regimens. *Br. J. Haematol.* 166, 842–848.

Mahmood, S., Palladini, G., Sanchorawala, V., and Wechalekar, A. (2014b). Update on treatment of light chain amyloidosis. *Haematologica* 99, 209–221.

Manson, G.V., Campagnaro, E., Balog, A., Kaplan, D., Sommers, S.R., Fu, P., Rajkumar, S.V., and Lazarus, H.M. (2012). Secondary MGUS after autologous hematopoietic progenitor cell transplantation in plasma cell myeloma: a matter of undetermined significance. *Bone Marrow Transplant.* 47, 1212–1216.

Mark, T., Jayabalan, D., Coleman, M., Pearse, R.N., Wang, Y.L., Lent, R., Christos, P.J., Lee, J.W., Agrawal, Y.P., Matthew, S., *et al.* (2008). Atypical serum immunofixation patterns frequently emerge in immunomodulatory therapy and are associated with a high degree of response in multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 143, 654–660.

Mehra, M.R., Canter, C.E., Hannan, M.M., Semigran, M.J., Uber, P.A., Baran, D.A., Danziger-Isakov, L., Kirklin, J.K., Kirk, R., Kushwaha, S.S., *et al.* (2016). The 2016 International Society for Heart Lung Transplantation listing criteria for heart transplantation: A 10-year update. *J. Heart Lung Transplant.* 35, 1–23.

Menke, D.M., Kyle, R.A., Fleming, C.R., Wolfe, J.T., Kurtin, P.J., and Oldenburg, W.A. (1993). Symptomatic gastric amyloidosis in patients with primary systemic amyloidosis. *Mayo Clin. Proc.* 68, 763–767.

Mereles, D., Buss, S.J., Hardt, S.E., Hunstein, W., and Katus, H.A. (2010). Effects of the main green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on cardiac involvement in patients with AL amyloidosis. *Clin. Res. Cardiol.* 99, 483–490.

Merlini, G. (2017). AL amyloidosis: from molecular mechanisms to targeted therapies. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2017, 1–12.

Merlini, G., and Bellotti, V. (2003). Molecular mechanisms of amyloidosis. *N. Engl. J. Med.* 349, 583–596.

Merlini, G., Seldin, D.C., and Gertz, M.A. (2011). Amyloidosis: pathogenesis and new therapeutic options. *J. Clin. Oncol.* 29, 1924–1933.

Merlini, G., Comenzo, R.L., Seldin, D.C., Wechalekar, A., and Gertz, M.A. (2014). Immunoglobulin light chain amyloidosis. *Expert Rev. Hematol.* 7, 143–156.

Mikhael, J.R., Schuster, S.R., Jimenez-Zepeda, V.H., Bello, N., Spong, J., Reeder, C.B., Stewart, A.K., Bergsagel, P.L., and Fonseca, R. (2012). Cyclophosphamide-bortezomib-dexamethasone (CyBorD) produces rapid and complete hematologic response in patients with AL amyloidosis. *Blood* 119, 4391–4394.

Milani, P., Basset, M., Russo, F., Foli, A., Merlini, G., and Palladini, G. (2017a). Patients with light-chain amyloidosis and low free light-chain burden have distinct clinical features and outcome. *Blood* 130, 625–631.

Milani, P., Schönland, S., Palladini, G., Kimmich, C., Basset, M., Russo, F., Foli, A., Perlini, S., Bochtler, T., Ho, A.D., *et al.* (2017b). Response to bendamustine is associated with a survival advantage in a heavily pretreated patients with AL amyloidosis. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig.* 24, 56–57.

Milburn, G.L., and Lynch, R.G. (1982). Immunoregulation of murine myeloma in vitro. II. Suppression of MOPC-315 immunoglobulin secretion and synthesis by idiotype-specific suppressor T cells. *J. Exp. Med.* 155, 852–862.

Mitus, A.J., Stein, R., Rappoport, J.M., Antin, J.H., Weinstein, H.J., Alper, C.A., and Smith, B.R. (1989). Monoclonal and oligoclonal gammopathy after bone marrow transplantation. *Blood* 74, 2764–2768.

Miyazaki, K., Kawai, S., and Suzuki, K. (2015). Abdominal subcutaneous fat pad aspiration and bone marrow examination for the diagnosis of AL amyloidosis: the reliability of immunohistochemistry. *Int. J. Hematol.* 102, 289–295.

Moreau, P., Jaccard, A., Benboubker, L., Royer, B., Leleu, X., Bridoux, F., Salles, G., Leblond, V., Roussel, M., Alakl, M., *et al.* (2010). Lenalidomide in combination with

melphalan and dexamethasone in patients with newly diagnosed AL amyloidosis: a multicenter phase 1/2 dose-escalation study. *Blood* 116, 4777–4782.

Muchtar, E., Buadi, F.K., Dispenzieri, A., and Gertz, M.A. (2016a). Immunoglobulin Light-Chain Amyloidosis: From Basics to New Developments in Diagnosis, Prognosis and Therapy. *Acta Haematol.* 135, 172–190.

Muchtar, E., Magen, H., Itchaki, G., Cohen, A., Rosenfeld, R. 'ama, Shochat, T., Kornowski, R., Iakobishvili, Z., and Raanani, P. (2016b). Uninvolved immunoglobulins predicting hematological response in newly diagnosed AL amyloidosis. *Leuk. Res.* 41, 56–61.

Muchtar, E., Dispenzieri, A., Kumar, S.K., Dingli, D., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Kapoor, P., Leung, N., Chakraborty, R., *et al.* (2016c). Immunoparesis status in immunoglobulin light chain amyloidosis at diagnosis affects response and survival by regimen type. *Haematologica* 101, 1102–1109.

Muchtar, E., Gertz, M.A., Kumar, S.K., Lacy, M.Q., Dingli, D., Buadi, F.K., Grogan, M., Hayman, S.R., Kapoor, P., Leung, N., *et al.* (2017a). Improved outcomes for newly diagnosed AL amyloidosis between 2000 and 2014: cracking the glass ceiling of early death. *Blood* 129, 2111–2119.

Muchtar, E., Jevremovic, D., Dispenzieri, A., Dingli, D., Buadi, F.K., Lacy, M.Q., Gonsalves, W., Hayman, S.R., Kapoor, P., Leung, N., *et al.* (2017b). The prognostic value of multiparametric flow cytometry in AL amyloidosis at diagnosis and at the end of first-line treatment. *Blood* 129, 82–87.

Muchtar, E., Dispenzieri, A., Kumar, S.K., Ketterling, R.P., Dingli, D., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Kapoor, P., Leung, N., *et al.* (2017c). Interphase fluorescence in situ hybridization in untreated AL amyloidosis has an independent prognostic impact by abnormality type and treatment category. *Leukemia* 31, 1562–1569.

Muchtar, E., Dispenzieri, A., Kumar, S.K., Buadi, F.K., Lacy, M.Q., Zeldenrust, S., Hayman, S.R., Leung, N., Kourelis, T.V., Gonsalves, W., *et al.* (2017d). Immunoparesis in newly diagnosed AL amyloidosis is a marker for response and survival. *Leukemia* 31, 92–99.

Mumford, A.D., O'Donnell, J., Gillmore, J.D., Manning, R.A., Hawkins, P.N., and Laffan, M. (2000). Bleeding symptoms and coagulation abnormalities in 337 patients with AL-amyloidosis. *Br. J. Haematol.* *110*, 454–460.

Muthu Raja, K.R., Rihova, L., Zahradova, L., Klincova, M., Penka, M., and Hajek, R. (2012). Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma. *PLoS One* *7*, e47077.

Nuvolone, M., and Merlini, G. (2017). Emerging therapeutic targets currently under investigation for the treatment of systemic amyloidosis. *Expert Opin. Ther. Targets* *21*, 1095–1110.

Ozsahin, M., Tsang, R.W., Poortmans, P., Belkacémi, Y., Bolla, M., Dinçbas, F.O., Landmann, C., Castelain, B., Buijsen, J., Curschmann, J., *et al.* (2006). Outcomes and patterns of failure in solitary plasmacytoma: a multicenter Rare Cancer Network study of 258 patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* *64*, 210–217.

Paiva, B., Vídriales, M.-B., Pérez, J.J., López-Berges, M.-C., García-Sanz, R., Ocio, E.M., de Las Heras, N., Cuello, R., García de Coca, A., Parda, E., *et al.* (2011). The clinical utility and prognostic value of multiparameter flow cytometry immunophenotyping in light-chain amyloidosis. *Blood* *117*, 3613–3616.

Paiva, B., Martínez-Lopez, J., Corchete, L.A., Sánchez-Vega, B., Rapado, I., Puig, N., Barrio, S., Sánchez, M.-L., Alignani, D., Lasa, M., *et al.* (2016). Phenotypic, transcriptomic, and genomic features of clonal plasma cells in light-chain amyloidosis. *Blood* *127*, 3035–3039.

Palladini, G., and Merlini, G. (2013). Systemic amyloidoses: what an internist should know. *Eur. J. Intern. Med.* *24*, 729–739.

Palladini, G., and Merlini, G. (2016). What is new in diagnosis and management of light chain amyloidosis? *Blood* *128*, 159–168.

Palladini, G., Campana, C., Klersy, C., Balduini, A., Vadacca, G., Perfetti, V., Perlini, S., Obici, L., Ascari, E., d'Eril, G.M., *et al.* (2003). Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation* *107*, 2440–2445.

Palladini, G., Perfetti, V., Perlini, S., Obici, L., Lavatelli, F., Caccialanza, R., Invernizzi, R., Comotti, B., and Merlini, G. (2005). The combination of thalidomide and intermediate-dose dexamethasone is an effective but toxic treatment for patients with primary amyloidosis (AL). *Blood* 105, 2949–2951.

Palladini, G., Russo, P., Nuvolone, M., Lavatelli, F., Perfetti, V., Obici, L., and Merlini, G. (2007). Treatment with oral melphalan plus dexamethasone produces long-term remissions in AL amyloidosis. *Blood* 110, 787–788.

Palladini, G., Russo, P., Bosoni, T., Verga, L., Sarais, G., Lavatelli, F., Nuvolone, M., Obici, L., Casarini, S., Donadei, S., *et al.* (2009). Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin. Chem.* 55, 499–504.

Palladini, G., Barassi, A., Klersy, C., Pacciolla, R., Milani, P., Sarais, G., Perlini, S., Albertini, R., Russo, P., Foli, A., *et al.* (2010). The combination of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) at presentation and changes in N-terminal natriuretic peptide type B (NT-proBNP) after chemotherapy best predicts survival in AL amyloidosis. *Blood* 116, 3426–3430.

Palladini, G., Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Kumar, S., Wechalekar, A., Hawkins, P.N., Schönland, S., Hegenbart, U., Comenzo, R., Kastiris, E., *et al.* (2012a). New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J. Clin. Oncol.* 30, 4541–4549.

Palladini, G., Foli, A., Milani, P., Russo, P., Albertini, R., Lavatelli, F., Obici, L., Perlini, S., Moratti, R., and Merlini, G. (2012b). Best use of cardiac biomarkers in patients with AL amyloidosis and renal failure. *Am. J. Hematol.* 87, 465–471.

Palladini, G., Russo, P., Milani, P., Foli, A., Lavatelli, F., Nuvolone, M., Perlini, S., and Merlini, G. (2013). A phase II trial of cyclophosphamide, lenalidomide and dexamethasone in previously treated patients with AL amyloidosis. *Haematologica* 98, 433–436.

Palladini, G., Hegenbart, U., Milani, P., Kimmich, C., Foli, A., Ho, A.D., Vidus Rosin, M., Albertini, R., Moratti, R., Merlini, G., *et al.* (2014a). A staging system for renal outcome

and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood* 124, 2325–2332.

Palladini, G., Milani, P., Foli, A., Obici, L., Lavatelli, F., Nuvolone, M., Caccialanza, R., Perlini, S., and Merlini, G. (2014b). Oral melphalan and dexamethasone grants extended survival with minimal toxicity in AL amyloidosis: long-term results of a risk-adapted approach. *Haematologica* 99, 743–750.

Palladini, G., Milani, P., Foli, A., Vidus Rosin, M., Basset, M., Lavatelli, F., Nuvolone, M., Obici, L., Perlini, S., and Merlini, G. (2014c). Melphalan and dexamethasone with or without bortezomib in newly diagnosed AL amyloidosis: a matched case-control study on 174 patients. *Leukemia* 28, 2311–2316.

Palladini, G., Sachchithanatham, S., Milani, P., Gillmore, J., Foli, A., Lachmann, H., Basset, M., Hawkins, P., Merlini, G., and Wechalekar, A.D. (2015). A European collaborative study of cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone in upfront treatment of systemic AL amyloidosis. *Blood* 126, 612–615.

Palladini, G., Milani, P., Foli, A., Basset, M., Russo, F., Perlini, S., and Merlini, G. (2017). A phase 2 trial of pomalidomide and dexamethasone rescue treatment in patients with AL amyloidosis. *Blood* 129, 2120–2123.

Park, M.A., Mueller, P.S., Kyle, R.A., Larson, D.R., Plevak, M.F., and Gertz, M.A. (2003). Primary (AL) hepatic amyloidosis: clinical features and natural history in 98 patients. *Medicine (Baltimore)* 82, 291–298.

Pelosi, F., Capehart, J., and Roberts, W.C. (1997). Effectiveness of cardiac transplantation for primary (AL) cardiac amyloidosis. *Am. J. Cardiol.* 79, 532–535.

Pérez-Persona, E., Vidriales, M.-B., Mateo, G., García-Sanz, R., Mateos, M.-V., de Coca, A.G., Galende, J., Martín-Nuñez, G., Alonso, J.M., de Las Heras, N., *et al.* (2007). New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 110, 2586–2592.

Perfetti, V., Colli Vignarelli, M., Anesi, E., Garini, P., Quaglini, S., Ascari, E., and Merlini, G. (1999). The degrees of plasma cell clonality and marrow infiltration

adversely influence the prognosis of AL amyloidosis patients. *Haematologica* 84, 218–221.

Perfetti, V., Siena, S., Palladini, G., Bregni, M., Di Nicola, M., Obici, L., Magni, M., Brunetti, L., Gianni, A.M., and Merlini, G. (2006). Long-term results of a risk-adapted approach to melphalan conditioning in autologous peripheral blood stem cell transplantation for primary (AL) amyloidosis. *Haematologica* 91, 1635–1643.

Perfetti, V., Palladini, G., Casarini, S., Navazza, V., Rognoni, P., Obici, L., Invernizzi, R., Perlino, S., Klersy, C., and Merlini, G. (2012). The repertoire of λ light chains causing predominant amyloid heart involvement and identification of a preferentially involved germline gene, IGLV1-44. *Blood* 119, 144–150.

Pinney, J.H., Lachmann, H.J., Bansi, L., Wechalekar, A.D., Gilbertson, J.A., Rowczenio, D., Sattianayagam, P.T., Gibbs, S.D.J., Orlandi, E., Wassef, N.L., *et al.* (2011). Outcome in renal AL amyloidosis after chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 29, 674–681.

Pinney, J.H., Smith, C.J., Taube, J.B., Lachmann, H.J., Venner, C.P., Gibbs, S.D.J., Dungu, J., Banypersad, S.M., Wechalekar, A.D., Whelan, C.J., *et al.* (2013). Systemic amyloidosis in England: an epidemiological study. *Br. J. Haematol.* 161, 525–532.

Pratt, G., Mead, G.P., Godfrey, K.R., Hu, Y., Evans, N.D., Chappell, M.J., Lovell, R., and Bradwell, A.R. (2006). The tumor kinetics of multiple myeloma following autologous stem cell transplantation as assessed by measuring serum-free light chains. *Leuk. Lymphoma* 47, 21–28.

Pruzanski, W., Gidon, M.S., and Roy, A. (1980). Suppression of polyclonal immunoglobulins in multiple myeloma: relationship to the staging and other manifestations at diagnosis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 17, 280–286.

Radbruch, A., Muehlinghaus, G., Luger, E.O., Inamine, A., Smith, K.G.C., Dörner, T., and Hiepe, F. (2006). Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 741–750.

Rahlff, J., Trusch, M., Haag, F., Bacher, U., Horst, A., Schlüter, H., and Binder, M. (2012). Antigen-specificity of oligoclonal abnormal protein bands in multiple myeloma

after allogeneic stem cell transplantation. *Cancer Immunol. Immunother.* 61, 1639–1651.

Rajkumar, S.V., Gertz, M.A., and Kyle, R.A. (1998a). Primary systemic amyloidosis with delayed progression to multiple myeloma. *Cancer* 82, 1501–1505.

Rajkumar, S.V., Gertz, M.A., and Kyle, R.A. (1998b). Prognosis of patients with primary systemic amyloidosis who present with dominant neuropathy. *Am. J. Med.* 104, 232–237.

Rajkumar, S.V., Dimopoulos, M.A., Palumbo, A., Blade, J., Merlini, G., Mateos, M.-V., Kumar, S., Hillengass, J., Kastiris, E., Richardson, P., *et al.* (2014). International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 15, e538-548.

Reece, D.E., Hegenbart, U., Santhorawala, V., Merlini, G., Palladini, G., Bladé, J., Femand, J.-P., Hassoun, H., Heffner, L., Vescio, R.A., *et al.* (2011). Efficacy and safety of once-weekly and twice-weekly bortezomib in patients with relapsed systemic AL amyloidosis: results of a phase 1/2 study. *Blood* 118, 865–873.

Richards, D.B., Cookson, L.M., Berges, A.C., Barton, S.V., Lane, T., Ritter, J.M., Fontana, M., Moon, J.C., Pinzani, M., Gillmore, J.D., *et al.* (2015). Therapeutic Clearance of Amyloid by Antibodies to Serum Amyloid P Component. *N. Engl. J. Med.* 373, 1106–1114.

Rodríguez-Lobato, L.G., Fernández de Larrea, C., Cibeira, M.T., Tovar, N., Aróstegui, J.I., Rosiñol, L., Díaz, T., Lozano, E., Elena, M., Yagüe, J., *et al.* (2017a). Impact of Autologous Stem Cell Transplantation on the Incidence and Outcome of Oligoclonal Bands in Patients with Light-Chain Amyloidosis. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 23, 1269–1275.

Rodríguez-Lobato, L.G., Fernández de Larrea, C., Cibeira, M.T., Tovar, N., Isola, I., Aróstegui, J.I., Rosiñol, L., Díaz, T., Lozano, E., Yagüe, J., *et al.* (2017b). Prognostic impact of immunoparesis at diagnosis and after treatment onset in patients with light-chain amyloidosis. *Amyloid* 24, 245–252.

Rossi, A., Voigtlaender, M., Janjetovic, S., Thiele, B., Alawi, M., März, M., Brandt, A., Hansen, T., Radloff, J., Schön, G., *et al.* (2017). Mutational landscape reflects the biological continuum of plasma cell dyscrasias. *Blood Cancer J.* 7, e537.

Rowe, K., Pankow, J., Nehme, F., and Salyers, W. (2017). Gastrointestinal Amyloidosis: Review of the Literature. *Cureus* 9, e1228.

Ruberg, F.L., Appelbaum, E., Davidoff, R., Ozonoff, A., Kissinger, K.V., Harrigan, C., Skinner, M., and Manning, W.J. (2009). Diagnostic and prognostic utility of cardiovascular magnetic resonance imaging in light-chain cardiac amyloidosis. *Am. J. Cardiol.* 103, 544–549.

Rubinow, A., Skinner, M., and Cohen, A.S. (1981). Digoxin sensitivity in amyloid cardiomyopathy. *Circulation* 63, 1285–1288.

Rueff, J., Medinger, M., Heim, D., Passweg, J., and Stern, M. (2014). Lymphocyte subset recovery and outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation for plasma cell myeloma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 20, 896–899.

Russo, P., Palladini, G., Foli, A., Zenone Bragotti, L., Milani, P., Nuvolone, M., Obici, L., Perfetti, V., Brugnattelli, S., Invernizzi, R., *et al.* (2011). Liver involvement as the hallmark of aggressive disease in light chain amyloidosis: distinctive clinical features and role of light chain type in 225 patients. *Amyloid* 18 Suppl 1, 92–93.

Sachchithanatham, S., and Wechalekar, A.D. (2013). Imaging in systemic amyloidosis. *Br. Med. Bull.* 107, 41–56.

San Miguel, J.F., Schlag, R., Khuageva, N.K., Dimopoulos, M.A., Shpilberg, O., Kropff, M., Spicka, I., Petrucci, M.T., Palumbo, A., Samoilova, O.S., *et al.* (2008). Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 359, 906–917.

Santhorawala, V., Wright, D.G., Seldin, D.C., Falk, R.H., Finn, K.T., Dember, L.M., Berk, J.L., Quillen, K., Anderson, J.J., Comenzo, R.L., *et al.* (2004). High-dose intravenous melphalan and autologous stem cell transplantation as initial therapy or following two cycles of oral chemotherapy for the treatment of AL amyloidosis: results of a prospective randomized trial. *Bone Marrow Transplant.* 33, 381–388.

Santhorawala, V., Wright, D.G., Quillen, K., Finn, K.T., Dember, L.M., Berk, J.L., Doros, G., Fisher, C., Skinner, M., and Seldin, D.C. (2007). Tandem cycles of high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation increases the response rate in AL amyloidosis. *Bone Marrow Transplant.* 40, 557–562.

Santhorawala, V., Patel, J.M., Sloan, J.M., Shelton, A.C., Zeldis, J.B., and Seldin, D.C. (2013). Melphalan, lenalidomide and dexamethasone for the treatment of immunoglobulin light chain amyloidosis: results of a phase II trial. *Haematologica* 98, 789–792.

Santhorawala, V., Sun, F., Quillen, K., Sloan, J.M., Berk, J.L., and Seldin, D.C. (2015). Long-term outcome of patients with AL amyloidosis treated with high-dose melphalan and stem cell transplantation: 20-year experience. *Blood* 126, 2345–2347.

Santhorawala, V., Shelton, A.C., Lo, S., Varga, C., Sloan, J.M., and Seldin, D.C. (2016). Pomalidomide and dexamethasone in the treatment of AL amyloidosis: results of a phase 1 and 2 trial. *Blood* 128, 1059–1062.

Santhorawala, V., Palladini, G., Kukreti, V., Zonder, J.A., Cohen, A.D., Seldin, D.C., Dispenzieri, A., Jaccard, A., Schönland, S.O., Berg, D., *et al.* (2017). A phase 1/2 study of the oral proteasome inhibitor ixazomib in relapsed or refractory AL amyloidosis. *Blood* 130, 597–605.

Sattianayagam, P.T., Gibbs, S.D.J., Pinney, J.H., Wechalekar, A.D., Lachmann, H.J., Whelan, C.J., Gilbertson, J.A., Hawkins, P.N., and Gillmore, J.D. (2010). Solid organ transplantation in AL amyloidosis. *Am. J. Transplant.* 10, 2124–2131.

Sattianayagam, P.T., Lane, T., Fox, Z., Petrie, A., Gibbs, S.D.J., Pinney, J.H., Risom, S.S., Rowczenio, D.M., Wechalekar, A.D., Lachmann, H.J., *et al.* (2013). A prospective study of nutritional status in immunoglobulin light chain amyloidosis. *Haematologica* 98, 136–140.

Schönland, S.O., Lokhorst, H., Buzyn, A., Leblond, V., Hegenbart, U., Bandini, G., Campbell, A., Carreras, E., Ferrant, A., Grommisch, L., *et al.* (2006). Allogeneic and syngeneic hematopoietic cell transplantation in patients with amyloid light-chain amyloidosis: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 107, 2578–2584.

Schönland, S.O., Hegenbart, U., Bochtler, T., Mangatter, A., Hansberg, M., Ho, A.D., Lohse, P., and Röcken, C. (2012). Immunohistochemistry in the classification of systemic forms of amyloidosis: a systematic investigation of 117 patients. *Blood* 119, 488–493.

Sher, T., Dispenzieri, A., and Gertz, M.A. (2016). Evolution of Hematopoietic Cell Transplantation for Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 22, 796–801.

Shi, J., Guan, J., Jiang, B., Brenner, D.A., Del Monte, F., Ward, J.E., Connors, L.H., Sawyer, D.B., Semigran, M.J., Macgillivray, T.E., *et al.* (2010). Amyloidogenic light chains induce cardiomyocyte contractile dysfunction and apoptosis via a non-canonical p38alpha MAPK pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 4188–4193.

Sidana, S., Tandon, N., Dispenzieri, A., Gertz, M.A., Buadi, F.K., Lacy, M.Q., Dingli, D., Fonder, A.L., Hayman, S.R., Hobbs, M.A., *et al.* (2017). Clinical presentation and outcomes in light chain amyloidosis patients with non-evaluable serum free light chains. *Leukemia.* Sep 18. doi: 10.1038/leu.2017.286. [Epub ahead of print].

Sipe, J.D., Benson, M.D., Buxbaum, J.N., Ikeda, S., Merlini, G., Saraiva, M.J.M., and Westermark, P. (2014). Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig.* 21, 221–224.

Skinner, M., Sancherawala, V., Seldin, D.C., Dember, L.M., Falk, R.H., Berk, J.L., Anderson, J.J., O'Hara, C., Finn, K.T., Libbey, C.A., *et al.* (2004). High-dose melphalan and autologous stem-cell transplantation in patients with AL amyloidosis: an 8-year study. *Ann. Intern. Med.* 140, 85–93.

Sucker, C., Hetzel, G.R., Grabensee, B., Stocksclaeder, M., and Scharf, R.E. (2006). Amyloidosis and bleeding: pathophysiology, diagnosis, and therapy. *Am. J. Kidney Dis.* 47, 947–955.

Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Pileri, S.A., Stein, H., Thiele, J. and Vardiman, J.W. (2008). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition.

Tandon, N., Muchtar, E., Sidana, S., Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Dingli, D., Buadi, F.K., Hayman, S.R., Chakraborty, R., Hogan, W.J., *et al.* (2017a). Revisiting conditioning dose in newly diagnosed light chain amyloidosis undergoing frontline autologous stem cell transplant: impact on response and survival. *Bone Marrow Transplant.* 52, 1126–1132.

Tandon, N., Sidana, S., Gertz, M.A., Dispenzieri, A., Lacy, M.Q., Buadi, F.K., Dingli, D., Fonder, A.L., Hobbs, M.A., Hayman, S.R., *et al.* (2017b). Treatment patterns and outcome following initial relapse or refractory disease in patients with systemic light chain amyloidosis. *Am. J. Hematol.* 92, 549–554.

Tang, W., McDonald, S.P., Hawley, C.M., Badve, S.V., Boudville, N., Brown, F.G., Clayton, P.A., Campbell, S.B., de Zoysa, J.R., and Johnson, D.W. (2013). End-stage renal failure due to amyloidosis: outcomes in 490 ANZDATA registry cases. *Nephrol. Dial. Transplant.* 28, 455–461.

Tapan, U., Seldin, D.C., Finn, K.T., Fennessey, S., Shelton, A., Zeldis, J.B., and Sancharawala, V. (2010). Increases in B-type natriuretic peptide (BNP) during treatment with lenalidomide in AL amyloidosis. *Blood* 116, 5071–5072.

Terrier, B., Jaccard, A., Harousseau, J.-L., Delarue, R., Tournilhac, O., Hunault-Berger, M., Hamidou, M., Dantal, J., Bernard, M., Grosbois, B., *et al.* (2008). The clinical spectrum of IgM-related amyloidosis: a French nationwide retrospective study of 72 patients. *Medicine (Baltimore)* 87, 99–109.

Thomson, L.E.J. (2008). Cardiovascular magnetic resonance in clinically suspected cardiac amyloidosis: diagnostic value of a typical pattern of late gadolinium enhancement. *J. Am. Coll. Cardiol.* 51, 1031–1032.

Tovar, N., de Larrea, C.F., Aróstegui, J.I., Cibeira, M.T., Rosiñol, L., Rovira, M., Elena, M., Filella, X., Yagüe, J., and Bladé, J. (2013). Natural history and prognostic impact of oligoclonal humoral response in patients with multiple myeloma after autologous stem cell transplantation: long-term results from a single institution. *Haematologica* 98, 1142–1146.

Tovar, N., Fernández de Larrea, C., Pedrosa, F., Aróstegui, J.I., Cibeira, M.T., Rosiñol, L., Elena, M., Filella, X., Yagüe, J., and Bladé, J. (2014). Differential humoral

responses against heat-shock proteins after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Ann. Hematol.* 93, 107–111.

Tovar, N., Rodríguez-Lobato, L.G., Cibeira, M.T., Magnano, L., Isola, I., Rosiñol, L., Bladé, J., Fernández de Larrea, C. (2018). Bone marrow plasma cell infiltration in light chain amyloidosis: impact on organ involvement and outcome. *Amyloid*. 2018 Feb 26:1-7. doi: 10.1080/13506129.2018.1443439. [Epub ahead of print].

Turesson, I., Kovalchik, S.A., Pfeiffer, R.M., Kristinsson, S.Y., Goldin, L.R., Drayson, M.T., and Landgren, O. (2014). Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood* 123, 338–345.

Varr, B.C., Zarafshar, S., Coakley, T., Liedtke, M., Lafayette, R.A., Arai, S., Schrier, S.L., and Witteles, R.M. (2014). Implantable cardioverter-defibrillator placement in patients with cardiac amyloidosis. *Heart Rhythm* 11, 158–162.

Venner, C.P., Lane, T., Foard, D., Rannigan, L., Gibbs, S.D.J., Pinney, J.H., Whelan, C.J., Lachmann, H.J., Gillmore, J.D., Hawkins, P.N., *et al.* (2012). Cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone therapy in AL amyloidosis is associated with high clonal response rates and prolonged progression-free survival. *Blood* 119, 4387–4390.

Venner, C.P., Gillmore, J.D., Sachchithanatham, S., Mahmood, S., Lane, T., Foard, D., Rannigan, L., Gibbs, S.D.J., Pinney, J.H., Whelan, C.J., *et al.* (2014). A matched comparison of cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone (CVD) versus risk-adapted cyclophosphamide, thalidomide and dexamethasone (CTD) in AL amyloidosis. *Leukemia* 28, 2304–2310.

Vrana, J.A., Gamez, J.D., Madden, B.J., Theis, J.D., Bergen, H.R., and Dogan, A. (2009). Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood* 114, 4957–4959.

Vrana, J.A., Theis, J.D., Dasari, S., Mereuta, O.M., Dispenzieri, A., Zeldenrust, S.R., Gertz, M.A., Kurtin, P.J., Grogg, K.L., and Dogan, A. (2014). Clinical diagnosis and typing of systemic amyloidosis in subcutaneous fat aspirates by mass spectrometry-based proteomics. *Haematologica* 99, 1239–1247.

Wadhera, R.K., Kyle, R.A., Larson, D.R., Dispenzieri, A., Kumar, S., Lazarus, H.M., and Rajkumar, S.V. (2011). Incidence, clinical course, and prognosis of secondary monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with multiple myeloma. *Blood* 118, 2985–2987.

Warsame, R., Bang, S.M., Kumar, S.K., Gertz, M.A., Lacy, M.Q., Buadi, F., Dingli, D., Hayman, S.R., Kapoor, P., Kyle, R.A., *et al.* (2014). Outcomes and treatments of patients with immunoglobulin light chain amyloidosis who progress or relapse postautologous stem cell transplant. *Eur. J. Haematol.* 92, 485–490.

Wechalekar, A.D., and Whelan, C. (2017). Encouraging impact of doxycycline on early mortality in cardiac light chain (AL) amyloidosis. *Blood Cancer J.* 7, e546.

Wechalekar, A.D., Goodman, H.J.B., Lachmann, H.J., Offer, M., Hawkins, P.N., and Gillmore, J.D. (2007). Safety and efficacy of risk-adapted cyclophosphamide, thalidomide, and dexamethasone in systemic AL amyloidosis. *Blood* 109, 457–464.

Wechalekar, A.D., Lachmann, H.J., Offer, M., Hawkins, P.N., and Gillmore, J.D. (2008). Efficacy of bortezomib in systemic AL amyloidosis with relapsed/refractory clonal disease. *Haematologica* 93, 295–298.

Wechalekar, A.D., Schonland, S.O., Kastritis, E., Gillmore, J.D., Dimopoulos, M.A., Lane, T., Foli, A., Foard, D., Milani, P., Rannigan, L., *et al.* (2013). A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. *Blood* 121, 3420–3427.

Wechalekar, A.D., Gillmore, J.D., and Hawkins, P.N. (2016). Systemic amyloidosis. *Lancet Lond. Engl.* 387, 2641–2654.

Zent, C.S., Wilson, C.S., Tricot, G., Jagannath, S., Siegel, D., Desikan, K.R., Munshi, N., Bracy, D., Barlogie, B., and Butch, A.W. (1998). Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood* 91, 3518–3523.

Zhou, P., Ma, X., Iyer, L., Chaulagain, C., and Comenzo, R.L. (2014). One siRNA pool targeting the λ constant region stops λ light-chain production and causes terminal endoplasmic reticulum stress. *Blood* 123, 3440–3451.