

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA - DIMED

Direttore: Prof. Roberto Vettor

U.O.C. EMATOLOGIA ED IMMUNOLOGIA CLINICA

Direttore: Prof. Livio Trentin

TESI DI LAUREA

La macroglobulinemia di Waldenström nel paziente anziano (≥ 75) e nel paziente con disfunzione renale: caratteristiche cliniche, comorbidità ed outcomes.

Relatore: Prof. Francesco Piazza

Laureando: Nicolò Danesin

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	5
1.1 La macroglobulinemia di Waldenström	5
1.1.1 Definizione ed epidemiologia	5
1.1.2 Eziologia	6
1.1.3. Patogenesi cellulare	7
1.1.4 Anatomia patologica	11
1.1.5 Patogenesi molecolare.....	15
1.1.6 Clinica e decorso	28
1.1.7 Diagnosi	39
1.1.8 Stadiazione	41
1.1.9 Prognosi: IPSSWM, rIPSSWM.....	42
1.1.10 Terapia	45
1.2 La macroglobulinemia di Waldenstrom nel paziente over 75	55
1.2.1 Stato dell'arte.....	55
1.2.2 Neoplasie associate.....	56
1.2.3 Possibili terapie	57
1.3 Macroglobulinemia di Waldenström e disfunzione renale	58
1.3.1 Generalità	58
1.3.2 Forme glomerulari amiloidotiche e non amiloidotiche	59
1.3.3 Forme tubulo-interstiziali.....	60
1.3.4 Nefrotossicità da terapia.....	60
1.3.5 Prognosi ed outcomes: studi a confronto.....	61
2. SCOPO DELLO STUDIO	63

2.1 Popolazione generale WM e comorbidità.....	63
2.2 Pazienti con disfunzione renale	64
2.3 Pazienti con età alla diagnosi ≥ 75	65
3. MATERIALI E METODI	67
3.1 Costruzione database generale	67
3.2 Tabelle e analisi statistiche	69
3.3 Grafici e curve di sopravvivenza	70
4. RISULTATI	71
4.1 Risultati della popolazione generale: database WM patavino (1990-2022)	71
4.1.1 Sopravvivenza e comorbidità della popolazione generale database WM patavino (1990-2022)	74
4.2 I risultati della popolazione con disfunzione renale: database WM patavino (1990-2022).	79
4.2.1 Sopravvivenza e risposta renale dei pazienti con disfunzione renale..	85
4.3 I risultati della popolazione ≥ 75 anni alla diagnosi: database WM patavino (1990-2022).	89
4.3.1 Terapie di prima linea e risposte a confronto: popolazioni over75/under75 alla diagnosi.....	94
4.3.2 Curve di sopravvivenza a confronto: popolazione over75/under75 alla diagnosi.	98
5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	101
5.1 WM e comorbidità	101
5.2 WM e disfunzione renale.....	103
5.3 WM nel paziente over75 alla diagnosi.....	106
6. BIBLIOGRAFIA	109

RIASSUNTO

Introduzione: La macroglobulinemia di Waldenström (WM) è un linfoma raro (2% dei LNH) a comportamento indolente, che può originare da una gammopatia monoclonale d'incerto significato (MGUS) IgM. Sono diagnostici l'infiltrato midollare da parte dei linfociti neoplastici superiore al 10% (LPL) e la presenza di componente monoclonale IgM nel sangue. Mutazioni a carico dei geni *MYD88* e *CXCR4* sono presenti nel 90-95% e 30-40% dei casi, rispettivamente. Il decorso della malattia vede spesso lo sviluppo di sintomi legati all'infiltrazione diretta delle cellule linfomatose o ad effetti specifici della componente monoclonale. La terapia si basa sulla chemioimmunoterapia e su strategie chemo-free. Il ruolo delle comorbilità, le caratteristiche cliniche del paziente over 75 anni alla diagnosi e l'incidenza di disfunzione renale nella WM sono argomenti poco noti in letteratura. Se il linfoma è la prima causa di morte nel paziente giovane, il paziente over75 muore principalmente di patologia non neoplastica o di altre neoplasie. Nonostante l'interessamento renale da WM sia meno frequente di quello da mieloma multiplo, *Vos et Al* riporta come una buona risposta della malattia alla terapia correli con un miglioramento del di filtrato glomerulare, suggerendo che i pazienti con WM e disfunzione renale possano avere in una certa percentuale di casi un interessamento d'organo da WM.

Scopo: gli obiettivi che questa tesi si pone sono caratterizzare per la prima volta la popolazione WM afferita all'Ematologia universitaria di Padova dal punto di vista clinico-biologico e delle comorbilità (ipertensione, diabete, altra neoplasia) in relazione alla sopravvivenza. In secondo luogo, la tesi vuole confrontare le sottopopolazioni con e senza disfunzione renale (definita come $eGFR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$); evidenziare differenze di sopravvivenza (OS, TFS) e comprendere quanto la compromissione renale dipenda dalla WM o da altri fattori utilizzando il dato "risposta renale". Infine, si vogliono rapportare le sottopopolazioni over75/under75 alla diagnosi, valutarne le differenze clinico-

biologiche e di sopravvivenza (OS,TFS), evidenziare divergenze in termini di terapie attuate e relative risposte. Dunque, informare il clinico sull'intensità della terapia nel paziente unfit over 75.

Materiali e metodi: La costruzione del database si basa sui dati raccolti alla diagnosi (pazienti non trattati) o ad inizio terapia (pazienti trattati) dei pazienti WM seguiti nell'Ematologia di Padova (1990-2022). Le sottopopolazioni sono create in base all'età alla diagnosi e al filtrato glomerulare. Le analisi statistiche riportano variabili continuative e categorizzate. Le curve di sopravvivenza confrontano l'overall survival (OS) e la treatment free survival (TFS).

Risultati: I pazienti WM con altra neoplasia vivono meno e recidivano di più (mediana OS 13,7 anni [IC 95% 5,3-22,1], mediana TFS 8,4 anni [0,2-16,6]) degli ipertesi (mediana OS non raggiunta; mediana TFS 29,8 anni [12,0-47,6]), dei diabetici (nr;nr) e di chi ha zero comorbidità (mediana OS 20,9 anni [14,9-26,9]; mediana TFS 14,4 anni [0,18-16,6]). Avere due o più comorbidità abbassa OS e TFS. I pazienti con WM e disfunzione renale sono più ipertesi ed anziani, presentano una malattia più aggressiva (livelli di Hb minori e CM IgM, B2-microglobulina, infiltrazione midollare maggiori) e più complicata (amiloidosi, CAD). Presentano OS (mediana 16,4 anni [10,4-22,5]) e TFS inferiori (mediana 7,1 anni [3,7-10,5]) rispetto a chi ha WM e funzionalità renale nella norma. Il filtrato glomerulare varia consensualmente alla risposta della malattia alla terapia di prima linea. Il paziente WM over75 alla diagnosi presenta un burden di neoplasia maggiore e disfunzione renale, ciò si riflette in una OS minore. La maggior aggressività biumorale e complessità citogenetica possono sottostare alla osservata minore TFS. I tassi di risposta alla terapia e gli schemi terapeutici adottati sono sovrapponibili a quelli del gruppo under75.

Discussione e conclusioni: Nella WM avere una seconda neoplasia e più di due comorbidità impatta negativamente sull'OS e TFS rispetto a ad avere ipertensione, diabete, meno di due comorbidità. La disfunzione renale nella WM comporta una malattia più aggressiva (OS,PFS inferiori) e potrebbe diventare criterio di trattamento dato che dopo terapia migliorano sia il linfoma che il filtrato glomerulare. Il paziente WM over75 probabilmente non muore primariamente di linfoma, visto l'incidenza delle comorbidità e viste le stesse risposte agli stessi

regimi di terapia adottati nel giovane. La WM nell'anziano richiederebbe intensità di trattamento minori e una più attenta supervisione delle comorbidità.

ABSTRACT

Introduction: Waldenström Macroglobulinemia (WM) is a rare indolent lymphoma (2% of NHLs), which can take origin from monoclonal gammopathy of uncertain significance (MGUS) IgM. The bone marrow infiltration from the neoplastic lymphocytes over 10% and the presence of serum IgM monoclonal paraprotein are diagnostic. *MYD88* and *CXCR4* mutations occur respectively in the 90-95% and 30-40% of the cases. Most of patients develops symptoms during the follow up due to direct infiltration of the neoplasia or to specific effects related to paraproteinemia. Therapy is mainly based on chemoimmunotherapy regimen (Rituximab-based) but on the chemo-free regimen as well. The role of comorbidities, the over75 aged patient condition, and the renal dysfunction in WM are topics really untouched in literature. If lymphoma is the first cause of mortality in the young patient, the over75 one dies most of all due to no malignant pathologies or to other neoplasia. Although renal involvement in WM is less common than myeloma, *Vos et Al* underlines as a good WM response is associated with a good renal response in terms of glomerular filtration rate, making stronger the hypothesis of WM's renal involvement in some patients.

Aim: This work analyzes for the first time the population of WM diagnosed in the Hematology Unit of Padua, from clinical-biological perspective focusing on the role of comorbidities (hypertension, diabetes, other neoplasia) on the survival. On the other hand we try to compare the subpopulation with and without renal dysfunction (defined as $eGFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$), discussing survival differences (OS, TFS) and understanding if renal dysfunction depends on WM or not, using the "renal response" evidence. Finally, we also compare the subpopulation over75/under75 at diagnosis, studying clinical-biological features and differences in terms of survival (OS, TFS), therapy and its response. In this perspective we want to let the physician know how to moderate therapy intensity in the unfit patient.

Material and methods: Our database contains data collected at diagnosis for untreated WM patients and at starting therapy moment for treated WM patients. They're followed at the Hematology of Padua between 1990 and 2022. Subpopulations are created considering age at diagnosis and glomerular filtration rate. Statistical analysis compares continuous and categorical variables. Survival analysis compares overall survival (OS) and treatment free survival (TFS) between groups.

Result: WM individuals with other neoplasia has shorter survival and stronger relapse (median OS 13,7 years [IC 95% 5,3-22,1], median TFS 8,4 years [0,2-16,6]) than patients with zero comorbidities (median OS 20,9 years [14,9-26,9]; median TFS 14,4 years [0,18-16,6]), hypertension (median OS not reached; median TFS 29,8 years [12,0-47,6]), or diabetes (nr;nr). OS,TFS is shorter in those with two or more comorbidities as well. WM patients with renal dysfunction are more hypertensive and elderly, presenting more complicated (amyloidosis, CAD) and aggressive disease (lower Hb level; higher CM IgM, B2-microglobulin level and bone marrow infiltration). Besides, they have OS (median 16,4 years [10,4-22,5]) and TFS (median 7,1 years [3,7-10,5]) shorter than whom with WM and normal renal function. The glomerular filtration rate changes consesually to the lymphoma response after the first line therapy. The very elderly patient (≥ 75 at diagnosis) is more afflicted by renal dysfunction and presents a major incidence of neoplasia burden conditioning his shorter OS. Anyway the biological and cytogenetic features maybe tell us why there's a shorter TFS as well. Adopted therapy regimens and their response reproduce those observed in the under75 patients.

Discussion and conclusions: Having a second neoplasia in WM and two or more comorbidities impact in a negative way to OS,TFS as compared to suffering from hypertension, diabetes and having less than two comorbidities. Renal dysfunction in WM, especially in the elderly, needs to be studied because of the shorter OS,PFS and the aggressive disease. By the way, for the reason why disease response and glomerular filtration rate increase after therapy, renal involvement perhaps might be considered as a criteria of treatment. Probably over75y patient at diagnosis doesn't die primarily because of lymphoma, remembering the higher incidence of comorbidities and notifying that he presents the same response at the same

therapy regimens adopted in the younger WM patient. Therapies with low toxicity and an increasing attention on comorbidities may be preferable on the elderly and unfit WM individual.

1. INTRODUZIONE

1.1 La macroglobulinemia di Waldenström

1.1.1 Definizione ed epidemiologia

La malattia prende il nome dal medico svedese Joan Gosta Waldenstrom che la descrisse per la prima volta nel 1944 (1).

Per Macroglobulinemia di Waldenstrom (WM) si intende un raro disordine linfoproliferativo di tipo B ad andamento indolente. Si caratterizza per l'interessamento del midollo osseo da parte di piccoli linfociti a differenziazione linfoplasmocitoide/plasmocellulare con un pattern d'infiltrazione tipico (linfoma linfoplasmocitico, LPL) e per la presenza di paraproteinemia IgM nel sangue (2).

La definizione di WM e la sua relazione con il linfoma linfoplasmocitico (LPL) sono state da sempre problematiche. Per tentare di trovare una soluzione comune, la classificazione WHO 2008 ha adottato l'approccio del secondo International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia, che definisce la WM come la contemporanea presenza di una gammopatia monoclonale IgM (senza cut-off di concentrazione sierica) e di un interessamento midollare da parte del LPL ($\geq 10\%$ della cellularità). Dunque LPL e WM non sono sinonimi. La presenza di una importante paraproteina IgM nel sangue in assenza di LPL nel midollo non depone per WM, così come la presenza di LPL nel midollo in assenza di un paraproteina IgM dosabile a livello ematico (3).

Fra tutti i Linfomi non Hodking (LNH) i casi stimati di WM nel 2016 negli US sono stati il 2 % (4) . Ogni anno in USA vengono diagnosticati circa 1000-1500 nuovi casi di WM basandosi su un registro aperto dal 1988 al 2005 (5). Globalmente possiamo parlare per i maschi di 3,4 casi per milione di abitanti per anno, 1,7 per

le femmine. Mentre in Europa ci si attesta per maschi sui 7,3 casi per milione di abitanti per anno, e sui 4,2 per le femmine (6). Ad ogni modo il tasso d'incidenza per anno aggiustato per età, considerando i database di 9 registri corrispondenti al 10% della popolazione statunitense, si è attestato su 0,38/100.000 persone per anno, anche qui con un sostanziale differenza tra maschi (0,54) e femmine (0,27), pari sostanzialmente al doppio. Uno studio successivo basato sulla popolazione europea ha confermato il dato, con un tasso d'incidenza di 0,42/100.000 persone per anno nelle femmine e un 0,73/100.000 persone per anno nei maschi (7). Contrariamente al mieloma multiplo i tassi d'incidenza sono sensibilmente più alti negli americani di etnia caucasica (0,41/100.000) se rapportati agli americani d'origine africana (0,18/100.000) e altre etnie (0,20/100.000). E' altresì importante sottolineare come il rischio relativo di WM sia circa 36 volte superiore nella fascia d'età compresa fra i 60 i e 69 anni, fino a quasi 96 volte superiore nella fascia d'età maggiore o uguale agli 80 anni, se rapportato a pazienti con età uguale ed inferiore a 50 anni (8). A suggello di quanto esposto, su una coorte analitica di 5784 pazienti americani affetti seguiti dal 1991 al 2010, l'età media alla diagnosi è risultata essere di 70 anni (9). A causa della sua natura cronicizzante e dell'età avanzata alla diagnosi, la WM porta al decesso solo nella metà dei casi, l'altra metà è imputabile a secondi tumori o eventi cardiovascolari. Questo si riflette sulla necessità di sviluppare terapie che siano a bassa tossicità sul lungo periodo (10).

1.1.2 Eziologia

Data la bassa incidenza del WM e le scarse conoscenze sui fattori di rischio che generalmente partecipano alla genesi del linfoma, risulta approssimativo stilare una lista di accertati agenti cancerogeni. Tuttavia una marginale disamina dei fattori di rischio della WM può essere fatta servendosi dello studio dell'International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph) che ha raccolto dati da 11 studi di popolazione caso-controllo comprendenti 374 pazienti LPL/WM su un totale di 23096 pazienti provenienti da Nord America, Europa, e Australia ai fini di esaminare anamnesi, familiarità, rischi occupazionali della WM standardizzando per età, sesso, etnia.

Alcuni risultati già emersi da precedenti studi sono stati confermati. Su tutti, la spiccata associazione dei casi rispetto ai controlli, con la Sindrome di Sjogren OR = 13.2 (3.42 - 50.9) P .003 e con il LES OR = 8.73 (2.91 - 26.2) P .002. Un po' meno solida l'associazione con HCV OR = 2.70 (1.11 - 6.56) P .05 , sebbene sia noto il ruolo di HCV nell'indurre crioglobulinemia di tipo II e nell'indurre MGUS, entrambi fattori coinvolti nella patogenesi della WM. Inoltre la terapia antiretrovirale si è dimostrata terapia di prima linea nel HCV related-LPL (11).

Più studi hanno evidenziato una forte familiarità per la WM, con un rischio 20 volte superiore tra i familiari di primo grado di un paziente affetto (6).

Anche la familiarità per neoplasia ematologica in generale è stata confermata come fattore di rischio OR = 1.65 (1.03 - 2.65) P .05 , specificando come tale rischio sussista solo in questo caso e in caso di leucemie OR = 2.19 (1.21 - 3.96) P .018, ma non in pregressi casi familiari di LH, LNH o mieloma multiplo.

Una nuova associazione inversa è stata riscontrata in individui con un BMI sopra la media, probabilmente frutto di qualche *bias*, data la nota azione infiammatoria cronica del tessuto adiposo viscerale. Altrettanto nuova e debole l'associazione positiva con la dipendenza da fumo di tabacco > 40 anni OR = 1.49 (1.06 - 2.09) P .145. Curioso il lieve effetto protettivo che sembra fornire la febbre da fieno OR = 0.70 (0.51 - 0.96) P .022 ed il rischio aumentato fra la categoria dei medici in servizio da più di 10 anni, probabilmente dettato dalla povertà di altri pazienti con altre mansioni da includere nello studio volontario. OR = 5.23 (2.11 - 12.9) P 0.03. (12) (13)

1.1.3. Patogenesi cellulare

Nell'iter diagnostico della Macroglobulinemia di Waldenstrom la presenza di infiltrazione midollare da parte del clone cellulare neoplastico dovrebbe essere routinariamente confermata da studi immunofenotipici (citofluorimetria e/o immunoistochimica). La combinazione di citomorfologia, pattern di infiltrazione midollare e immunofenotipo permette la diagnosi definitiva in molte circostanze (2).

WM non è un mieloma, ma non è un linfoma convenzionale: sono valide entrambe le ipotesi di categorizzazione.

Ciò è legato alla descrizione del linfoma linfoplasmocitico (LPL) come una neoplasia dei piccoli linfociti, dei linfociti plasmocitoidi e delle plasmacellule.

La WHO ha riconosciuto come la diagnosi differenziale fra LPL e gli altri linfomi, su tutti il linfoma della zona marginale, non sia sempre così evidente e talvolta porti ad una generalizzazione diagnostica secondo la formula "linfoma dei piccoli linfociti B con differenziazione plasmocitica". Il panorama si complica ulteriormente quando consideriamo i linfomi che non rispettano i criteri diagnostici della WM ma sono capaci di produrre paraproteina IgM, ad es. la leucemia linfatica cronica. Così facendo la diagnosi differenziale di WM con le malattie legate alle IgM, il linfoma linfoplasmocitico puro, il linfoma della zona marginale e la leucemia linfatica cronica diventa difficile. Non solo, sarà problematico anche l'inquadramento in MGUS, WM asintomatica e WM sintomatica. Tutto ciò può essere superato soltanto dopo un'adeguata disamina della cellula originante la patologia, la quale è chiaramente un linfocita B altamente differenziato, del quale purtroppo ancora sfuggono alcuni meccanismi di transdifferenziazione.

Inoltre a tal proposito dev'essere chiarito anche quale sia il ruolo della gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS) di tipo IgM nella genesi di questa neoplasia, che per definizione riguarda la presenza di componente monoclonale di tipo IgM dosabile nel sangue e la concomitante assenza di sintomi relativi alla sottostante condizione oltre che l'assenza di evidente infiltrazione midollare da parte del linfoma (2).

MGUS viene vista come un precursore neoplastico con un rischio pari al 1% annuo di degenerare in WM, amiloidosi AL o raramente in mieloma plasmacellulare IgM (14). Nonostante ciò molti di questi pazienti possono rimanere asintomatici per tutta la vita (15). E' stato visto che almeno il 50% delle MGUS IgM porta già con sé la mutazione di MYD88, quindi una mutazione addizionale di CXCR4 che si vede in circa il 15-20% dei pazienti MGUS potrebbe rappresentare un possibile fattore genetico di progressione neoplastica nei pazienti MYD88 mutati (16)

Analogamente al mieloma multiplo e suoi precursori, il numero di anomalie genetiche cresce con il passaggio da IgM MGUS, WM asintomatica fino a WM sintomatica. Questi aspetti suggeriscono un processo di carcinogenesi multistep dove l'evento patogenetico comune (la mutazione di MYD88) interviene in uno stadio della maturazione della B-cellula corrispondente con quello della cellula B della memoria presentante un fenotipo altamente specifico e arricchito di IgM le quali evitano l'apoptosi, upregolano la crescita cellulare e la proliferazione genica. Anomalie genetiche addizionali serviranno ad espandere questo piccolo clone, fargli produrre livelli maggiori di IgM e in extremis a causare manifestazioni cliniche di malattia. Così come la delezione del cromosoma 6q, anche l'espansione clonale e l'incremento dei livelli di IgM sono fattori prognostici che predicano il rischio di trasformazione dell'IgM MGUS e della WM smoldering nella WM sintomatica (17,18)

Come ben descritto dal lavoro di *Garcia-Sanz R et Al*(18), tipico da parte delle cellule dei pazienti Waldenstrom è l'espressione di marker panB (CD19+, CD20+, CD22+), l'espressione monoclonale di IgM sulla membrana superficiale (smlgM) e l'espressione di catene leggere delle immunoglobuline kappa o lambda con ratio kappa/lambda solitamente attorno 5:1 (v.n. 0.25-1.65). Rispetto alle cellule B mature il cluster di differenziazione linfocitaria 22 è meno presente (CD22^{low+}). Circa nel 70% dei casi è espresso il CD25, indicativo della cooperazione tra cellule B e T e marker distintivo di cellule B della memoria a differenza delle cellule B naive. CD103 e CD10, rispettivamente associati alla leucemia a cellule capellute e al linfoma follicolare sono negativi nella macroglobulinemia di Waldenstrom. CD5, CD23 tipicamente espressi nella leucemia linfatica cronica sono presenti nel meno del 20% dei pazienti affetti da WM. Il 50% dei casi esprime il CD38 con una minore espressione rispetto alle cellule progenitrici (CD38^{het}) e un'ancor minore espressione rispetto alle plasmacellule. Bcl-2 è tipicamente positivo mentre il CD27, classico marker acquisito dalle cellule B della memoria che hanno attraversato le reazioni del centro germinativo è positivo in modo eterogeneo (het). I marker di maturità della cellula B come CD79b e CD81 sono consistentemente positivi, mentre il CD200 è atipicamente positivo. La definizione

immunofenotipica è chiaramente dirimente in chiave diagnostica per distinguere WM da HCL, MZL, CLL, FL, MM.

Riassumendo, la maggior presentazione immunofenotipica della macroglobulinemia di Waldenstrom consiste nella positività di CD19/CD20/CD22^{low}/CD25/CD27^{het}/CD38^{het}/CD79b/CD81/CD200^{het}/FMC7/Bcl2 oltre che delle IgM di superficie e/o citoplasmatiche; coerentemente a quanto detto vi sarà le negatività di CD5/CD10/CD23/CD103/CD305, seppure con qualche variazione, vedi [Figura 1].

Differences between Waldenstrom macroglobulinaemia (WM) cells and B cells that could be their potential origin.

Markers	Germinal centre cells	WM cells	Memory B cells
CD20	++	++	++
CD10	++	-	-
CD22	++	+w	+w
CD25	-	+	+
CD38	++	-/+	-/+
CXCR4	++	+	+
CD27	-	+/-	+/-
Repertoire	VH4-34, 3-23, 3-48	VH3-23, 3-30, 3-21	VH3-23, 3-30, 3-21
Complementary Determining Region (CDR) length	14 AA	13 AA	14-15 AA
Somatic hypermutation			
<2%	0%	9%	10%
>2%	100% (5.3%)	91% (8%)	90% (7%)
Ongoing mutation	Yes	No	No

Figura 1: Differenza tra immunofenotipi WM, cellule B del centro germinativo, cellule B della memoria. (18)

Tra i marker più significativi per discriminare WM e MZL abbiamo smlgM, CD79b e CD305. I primi due sono overespressi nel smlgM MGUS/WM, mentre il CD305 è upregolato nel MZL.

In aggiunta le plasmacellule clonali derivanti da IgM MGUS e WM frequentemente esprimono CD20 e smlgG, ergo un fenotipo plasmablastico, questo le differenzia dalle plasmacellule clonali del mieloma multiplo.

In conclusione, i dati immunofenotipici non supportano un'origine dal centro germinativo. A parte qualche eccezione, le cellule WM non esprimono fortemente CD10, CD22, CD38 o CXCR4 come fanno le cellule del centro germinativo, questa ipotesi è rafforzata dal fatto che quest'ultime non condividono nessun tipo di espressione di fattori di trascrizione o anomalie genetiche tipici della macroglobulinemia di Waldenstrom.

Se quindi queste cellule non originano dal centro germinativo, perché è stata proposta un'origine neoplastica da parte delle cellule B della memoria?

Nello schema classico dei disordini linfoproliferativi di tipo B proposto da *Kuppers et al.* le neoplasie con cellule post-centro germinativo follicolare sono caratterizzate da marker che esprimono un completamento delle reazioni del centro germinativo (19)

Nel caso in questione l'origine della WM viene posta nel contesto delle cellule post-centro germinativo che stanno per attivarsi a plasmacellule, prossimalmente all'origine del mieloma multiplo.

Per esempio, di solito si riscontra la positività a CD27 che implica una certa capacità differenziativa.

E' probabile che nel suo iter maturativo, la sottopopolazione di cellule B della memoria affette da WM (**CD27+ IgM+ IgD+ CD25+ CD22^{low+}**) sia targettata dalla mutazione MYD88 L265P in partenza e che successivamente faccia esperienza delle reazioni del centro germinativo nel contesto di una risposta immunitaria primaria laddove acquisirà le anomalie genetiche addizionali sufficienti a completare la trasformazione maligna (18)

Va ricordato che le cellule di LPL mostrano riarrangiamento delle catene leggere e una clonalità per quanto riguarda la catena pesante delle immunoglobuline (IGH), la quale subisce ipermutazione somatica sulla regione variabile ma senza segni di swithing isotipico. Tutto ciò ad ulteriore supporto del concetto di cellule B della memoria IgM+ come cellula d'origine neoplastica (20).

1.1.4 Anatomia patologica

1.1.4.1 Midollo osseo e sangue periferico

L'infiltrato midollare osseo da cellule affette da WM è sostanzialmente rappresentato da un pattern diffuso o interstiziale [Figura 2 C,D], meno frequentemente nodulare. Gli aggregati paratrabecolari o l'infiltrato sinusoidale possono essere ugualmente osservati, nonostante siano più presenti nel MZL. A

composizione dell'infiltrato abbiamo soprattutto piccoli linfociti commisti con un numero variabile di linfociti plasmocitoidi e plasmacellule, raramente si notano grandi linfociti a meno che non vi sia stata una trasformazione a DLCBL.

Non è infrequente che siano descritti mastociti, depositi di emosiderina o qualche accenno di fibrosi midollare, restano tuttavia reperti aspecifici ma indicativi di malattia linfoproliferativa B.

Similmente al mieloma le plasmacellule possono contenere corpi di Dutcher (pseudoinclusi nucleari) e di Russell (inclusioni citoplasmatiche). In taluni casi questi possono essere talmente abbondanti, specie dopo terapia, da far considerare la diagnosi differenziale con il mieloma. Nello striscio di sangue periferico la morfologia è molto simile anche se i pazienti di soliti non hanno leucocitosi, diversamente da MZL o CLL. Le emazie possono anche disporsi a rouleaux per l'elevata paraproteinemia [Figura 2 A,B] (14,21)

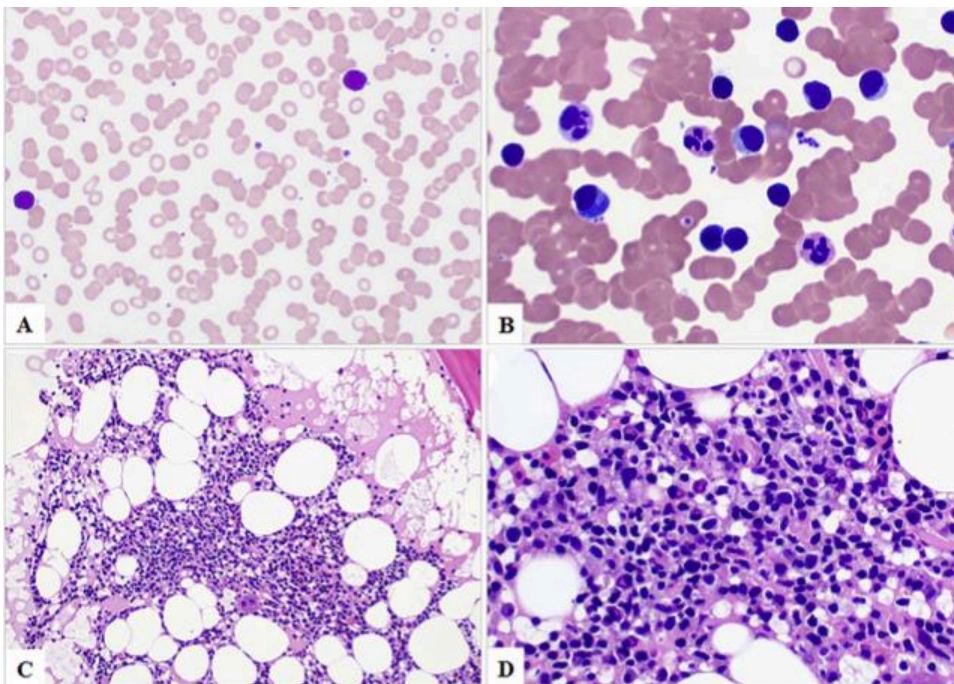


Figura 2: Pattern di infiltrazione midollare WM diffuso (C), interstiziale (D). Striscio periferico WM (A) con emazie a Rouleaux (B). (21)

1.1.4.2 Linfonodi e sedi extramidollari

Nei casi di WM interessante i linfonodi, questi mantengono pressoché intatta la loro struttura con le cellule linfomatose proliferanti nelle aree midollare, interfollicolare o paracorticale. Nei linfonodi non si vede crescita della zona marginale. Ciò che è importante specificare sono le tre varianti istologiche della macroglobulinemia di Waldenstrom descritte in letteratura(22):

- Variante linfoplasmocitoide (numerosi piccoli linfociti con minima differenziazione plasmocitoide)
- Variante linfoplasmocitica (piccoli linfociti e plasmacellule mature)
- Variante polimorfa (almeno 5% di grandi linfociti)

quest'ultima si accompagna ad un incremento di anomalie cromosomiche e aggressività clinica, quasi a rappresentare una fase precoce di progressione a DLCBL. Solitamente quando LPL interessa le sedi extranodali il linfoma mostra una proliferazione diffusa composta da linfociti e plasmacellule; nella fattispecie il pattern di crescita splenico non è stato ben studiato (14,21)

1.1.4.3 Diagnosi differenziale istologica

1.1.4.3.1 MGUS

IgM MGUS viene definito come la presenza di paraproteina IgM dosabile nel siero a concentrazione inferiore di 30g/L; infiltrazione midollare di malattia < 10% e assenza di anemia, sintomi costituzionali, iperviscosità, linfadenopatia o epatomegalia attribuibili alla condizione di fondo. Il suo rischio di progressione a malattia neoplastica è del 1% annuo. Più del 50% delle MGUS è MYD88 mutata. La distinzione fondamentale con la macroglobulinemia di Waldenstrom riguarda proprio il livello di infiltrazione (<10%) e l'assenza di sintomi. Un concetto recentemente introdotto è quello della smoldering WM, vale a dire infiltrato midollare > 10% e paziente asintomatico (14,21)

1.1.4.3.2 Linfoma della zona marginale

Il linfoma della zona marginale splenico rispetto al nodale ed extranodale coinvolge più frequentemente il midollo osseo e può portare con sé la mutazione di MYD88. Similarmente alla WM, i pazienti con MZL splenico possono presentare alti livelli di componente monoclonale. Inoltre nella WM la linfocitosi non è un

parametro usualmente rilevato, tuttavia nel MZL splenico spesso i linfociti hanno più citoplasma. Anche i pattern d'infiltrazione midollare differiscono dato che WM spesso presenta pattern di crescita interstiziale, diffuso o nodulare mentre la presenza di pattern trabecolare o sinusoidale depongono più per il linfoma della zona marginale splenico. Il dato clinico della splenomegalia è più rilevante negli stadi avanzati della WM, specialmente nella malattia di alto grado ed è dimensionalmente maggiore nei pazienti con linfoma della zona marginale splenico. Immunofenotipicamente CD25 è espresso di più nel LPL che nel MZL. (14,21)

1.1.4.3.3 Leucemia linfatica cronica e Linfoma follicolare

Alcune forme di CLL atipiche possono essere CD5- con lieve espressione di marker B tipo catene leggere di superficie o un immunofenotipo simile a quello della macroglobulinemia di Waldenstrom. Per giunta la paraproteina IgM può essere riscontrata in alcuni casi di CLL. Se LPL esprime CD10 la diagnosi differenziale con linfoma follicolare può diventare complessa, ci si aiuterà in tal caso con altri marker del centro germinativo quali BCL6, ma anche con MYD88. (14,21)

1.1.4.3.4 Neoplasie plasmocellulari

Se quest'ultime sono malattie composte da plasmacellule, la macroglobulinemia di Waldenstrom all'opposto è una neoplasia della cellula B. In alcune situazioni, specie dopo terapia, le plasmacellule possono essere predominanti anche nella WM pur dimostrando una dimensione minore, maturità e basso grado istologico. Immunofenotipicamente le plasmacellule delle neoplasie plasmocellulari sono negative a CD19, CD45, CD27 con CD81, CD56, CD117 positivi in alcune di esse. Diversamente le plasmacellule della WM esprimono spesso CD19, CD45 così come CD27 (50%), CD81 ma sono negative per CD56 e CD117.

Le neoplasie plasmocellulari presentano paraproteina IgG o IgA con maggior frequenza rispetto alle IgM, sono MYD88 WT e più spesso accompagnate da lesioni osteolitiche. (14,21)

1.1.4.3.5 Malattia delle catene pesanti gamma

Trattasi di un raro tipo di neoplasia B-cellulare con differenziazione plasmocitica caratterizzata dalla produzione di una proteina IgM monoclonale tronca che manca del sito di legame per le catene leggere. Morfologicamente questa patologia condivide alcune caratteristiche con il LPL non WM e il MZL ma non porta con sé la mutazione di MYD88. (14,21)

1.1.5 Patogenesi molecolare

1.1.5.1 Generalità: mutazioni e anomalie citogenetiche.

Le tecniche di Next Generation Sequencing hanno rilevato negli anni mutazioni somatiche ricorrenti nella WM: MYD88 (95-97% dei casi), CXCR4 (30-40% dei casi), ARID1A (17%), CD79A/CD79B (8-12%), TP53 (2-3%) e traslocazioni. I pazienti MYD88 Wild type (WT), ovvero circa il 3-7%, hanno un maggior rischio di progressione e di morte. Le implicazioni molecolari hanno portato all'elaborazione di numerosi algoritmi terapeutici "genomic-based" validati da contestuali trial (23) Per quanto riguarda le anomalie un recente lavoro del 2021 di un gruppo di Parigi ha identificato, su una coorte di circa 289 pazienti, anomalie che ripercorrono in parte quelle già note da lavori come quello di *Yun et al (Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2017) (24)*

Notiamo infatti come il gruppo francese abbia riscontrato la delezione del braccio lungo del cromosoma 6 (del6q) nel 20-40% dei casi, seguita dalla delezione del braccio lungo del cromosoma 13 (del13q) nel 10-15% dei casi, trisomia 18 (10%), trisomia 4 (8%) e delezione del braccio corto del cromosoma 7 (del7p) nel 8% dei casi (25). Le delezioni del braccio lungo del cromosoma 6 (del6q) sono abbastanza frequenti nei pazienti MYD88 mutati (23)

Classicamente la del6q sembra essere presente nel 50% dei pazienti con diagnosi di WM, nonostante ciò non può essere usata per la diagnosi, considerata la sua ampia espressione anche in altre malattie linfoproliferative di tipo B come linfoma della zona marginale, mieloma multiplo e leucemia linfatica cronica (26,27)

1.1.5.1.1 Il ruolo di MYD88

MYD88 (myeloid differentiation factor 88) è una proteina adattatrice che interferisce con i Toll like receptors (TLR) e con il recettore dell'interleuchina 1, 6, 8 (citochine pro-infiammatorie) dimerizzando in seguito all'attivazione recettoriale (23).

I TLR sono espressi da tutte le cellule, ma a maggior ragione dalle cellule effettrici dell'immunità innata quali macrofagi, neutrofili, cellule dendritiche. Riconoscendo i prodotti dei microrganismi (LPS, acido lipoteicoico, flagellina, acidi nucleici) sono in grado di trasdurre vie del segnale per la produzione di molecole pro-infiammatorie e antimicrobiche. Tutti i TLR, eccezion fatta per il TLR-3, utilizzano MYD88 e sono dunque capaci di attivare Nf-Kb inducendo una risposta infiammatoria e pro-survival. Come si diceva, TLR-3 diversamente utilizza TRIF e per poi attivare IRF-3 e in ultima analisi trascrivere molecole antivirali come gli interferoni di tipo 1 (28)

La omodimerizzazione di MYD88 permette la formazione di uno scaffold per poi richiamare le proteine della famiglia IRAK chinasi (interleukin-1 receptor associated kinase) e generare il cosiddetto Myddosoma complex (IRAK1/2;IRAK4;MYD88) [Figura 3] (29).

Sarà anche la Bruton chinasi (BTK) a partecipare alla via d'attivazione del segnale di Nf-Kb; su questo tema studi di coimmunoprecipitazione hanno identificato una legame preferenziale tra MYD88 e BTK fosforilata (pBTK), la quale a sua volta è più frequente nel MYD88 mutato (L265P) piuttosto che nel MYD88 WT. Ne consegue che l'inibizione di BTK o di IRAK1/4 sarà in grado di indurre apoptosi nelle cellule neoplastiche affetti da WM, soprattutto se sarà presente la mutazione MYD88 (30).

La mutazione MYD88 tramite IL-6 sovraesprime la proteina HCK della famiglia SRC, che a sua volta attiva vie pro-survival come: MAPK/ERK1/ERK2, BTK e PI3K/AKT/mTOR. [Figura 3]

Sembra inoltre che in caso di MYD88 mutato sia iperattivata la proteina SYK, la quale sta a valle della via del BCR (B cell-receptor) e dunque vi sia una stimolazione nei confronti dei segnali mediati da STAT3 e AKT. Anche il microambiente si

modifica con il rilascio di vescicole extracellulari di MYD88 da parte delle cellule neoplastiche, le quali creano un substrato infiammatorio cronico. [Figura 3]
 Infine le delezioni al cromosoma 6 braccio lungo esitano in una perdita di importanti regolatori del signaling di MYD88 quali: inibitori BTK (BTKi) e i regolatori di Nf-Kb quali HIVEP2 e TNFAIP3. [FIGURA 3] (23)

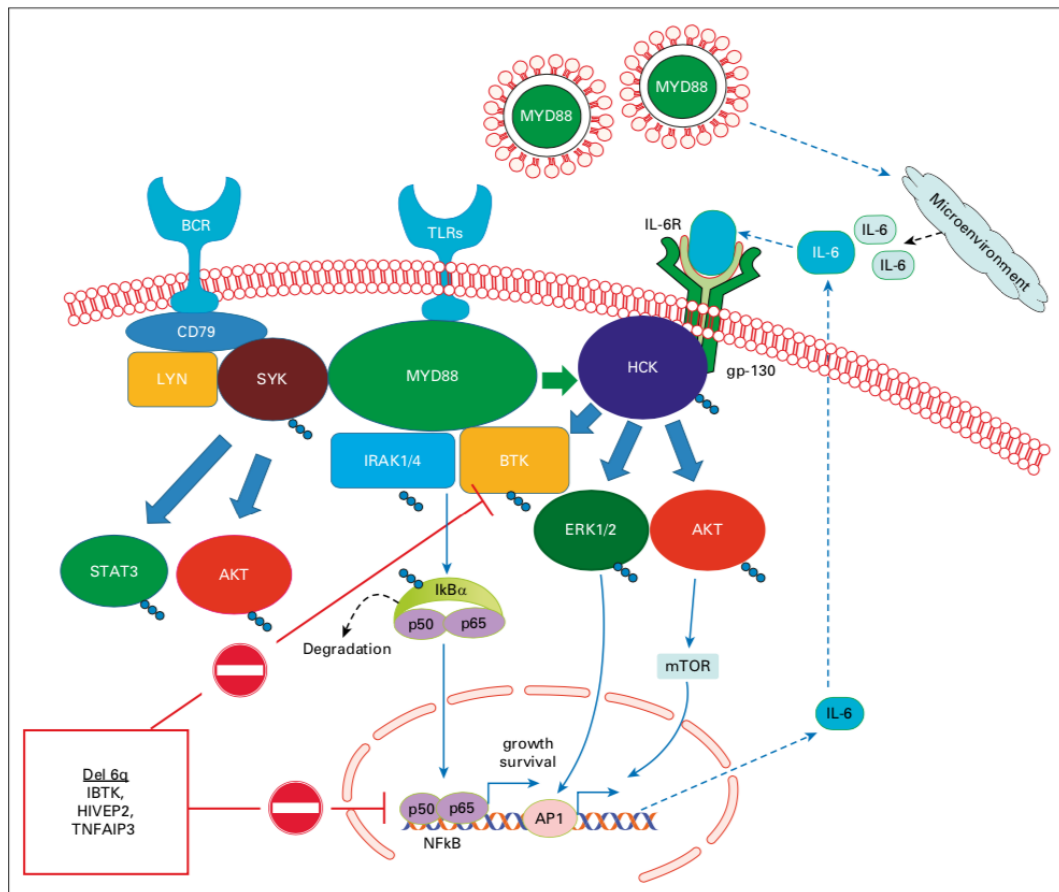


Figura 3: Vie del segnale associate a Myd88. (23)

La via Nf-Kb mediata da MYD88

E' senz'altro la pathway più conosciuta a valle di MYD88. Va ricordato come la sequenza di MYD88 sia tripartita e sussista in una estremità N-terminale dov'è presente il death domain (DD), un dominio intermedio di struttura indefinita (ID) e una estremità C-terminale costituita dal Toll/IL-1R domain (TIR) (31)

Dopo che il TLR-1 o IL1R vengono attivati dai loro ligandi, i domini recettoriali intracellulari attivano a sua volta il TIR domain in C-terminale di MYD88. Questo omodimerizza e tramite il suo death domain (DD) in N-terminale, richiama e fosforila IRAK4 (interleukin-1 receptor associated kinase), con il successivo

reclutamento e fosforilazione di IRAK1/IRAK2. Si è così formato il complesso multiproteico denominato "Myddosoma" (IRAK1/2, IRAK4, MYD88). Questo comporta il rilascio citosolico del tumor necrosis factor receptor associated factor 6 (TRAF6) da parte di IRAK1 fosforilato. Da qui TGF- β activated kinase (TAK1) legando le proteine TAB1, TAB2 stimola il legame del TRAF6 con TAK1, che a sua volta porta alla fosforilazione del complesso eterotrimerico IKK (IKK α , IKK β , NEMO/IKK γ). Solo allora potrà avvenire la fosforilazione di I κ B α con relativa ubiquitinizzazione e il rilascio di Nf- κ B (p65, p 50) finalmente attivato, il quale traslocherà nel nucleo per la trascrizione di proteine a significato pro-survival. [Figura 4]. E' chiaro che una mutazione con guadagno di funzione quale L265P comporterà un iperattivazione di questa pathway che assumerà un ruolo oncogenico (32)

Va ricordato, vedi [Figura 3], come il Myddosoma cooperi con la Bruton Chinasi (BTK) stimolando non solo la via di Nf- κ B, ma anche la via di crescita cellulare del B cell receptor da un lato e la via di IL-6 receptor dall'altro.

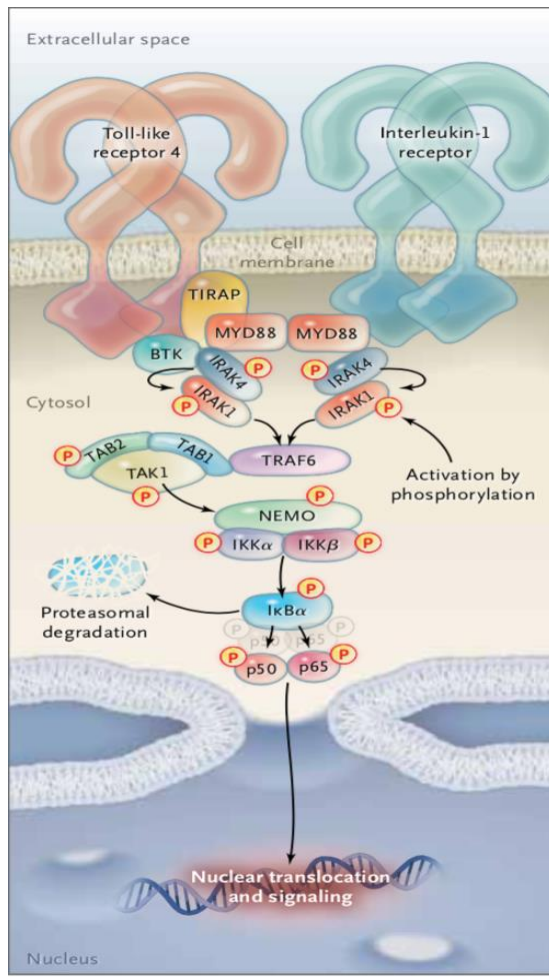


Figura 4: Via di Nf-Kb (32)

La via PI3K/AKT/mTOR mediata da MYD88

Trattasi di una tra le vie più implicate nel mondo delle emopatie maligne, ma non molto approfondita nella macroglobulinemia di Waldenstrom. Come già visto in [Figura 3] la via di PI3K/AKT/mTOR può venire coattivata dal Myddosoma e dalla BTK, potenziando o la via del BCR o la via dell'IL6R.

L'attivazione della classe IA fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI3K) richiede la stimolazione di un recettore tirosin-chinasico (RTK) e l'assemblaggio di un complesso recettoriale PI3K, il quale catalizza la conversione PIP2 a PIP3. A questo punto il reclutamento di ulteriori chinasi PDK1 e PDK2 permettono l'attivazione di AKT. Quest'ultima con la fosforilazione stimola o inibisce un'enormità di target provocando crescita cellulare, sopravvivenza e proliferazione attraverso svariati meccanismi. Su tutti il target più noto risulta essere la serin-treonin chinasi mTOR

(mammalian target of rapamycin), la quale regola l'accrescimento cellulare mediante l'assunzione di glucosio a seconda della disponibilità di nutrienti. mTOR può formare principalmente due complessi distinti: mTORC1 che incrementa la sintesi proteica ed mTORC2 che attiva nuovamente AKT (33) [Figura 5].

Data la scarsa letteratura a tal proposito va specificato come questa via venga attivata solo nella sua ultima parte nel WM e come probabilmente il RTK sia nella fattispecie sostituito dalle due chinasi HCK e SYK, si veda [Figura 3].

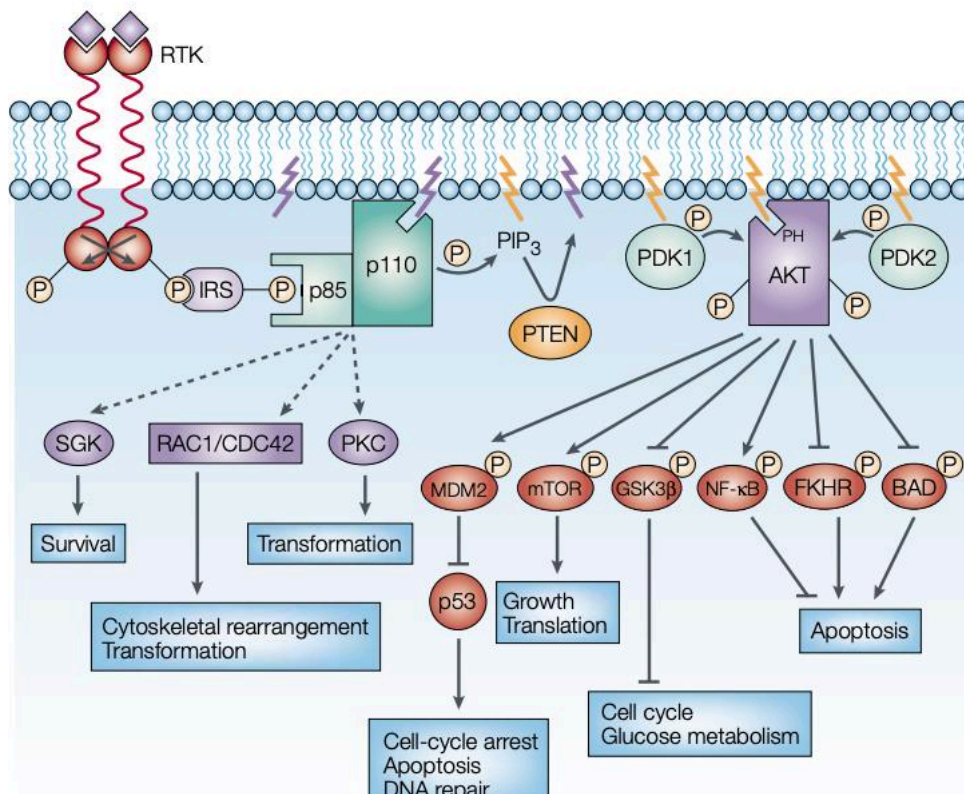


Figura 5: La via PI3K/AKT/mTOR (33)

1.1.5.1.2 Il ruolo di CXCR4

Il recettore delle chemochine con struttura CXC ("X" indica un amminoacido fra due residui cisteinici "C") di tipo 4 appartiene alla famiglia dei GPCR (G-protein coupled receptors). Fisiologicamente è attivato in processi come lo sviluppo della blastocisti oppure viene espresso dalle cellule stromali midollari costituendo una "nicchia protettiva" funzionale all'ematopoiesi. Tuttavia in corso di mutazione, nella sfera dello emopatia maligne induce la sopravvivenza delle cellule affette da

WM, nonché la loro migrazione ed adesione allo stroma del midollo osseo grazie all'interazione con il suo ligando CXCL12 (34)

Proprio questo legame darà vita ad un'ampia rete di segnali di trasduzione mediante la dissociazione del complesso eterotrimerico di proteine G associato al recettore a sette eliche transmembrana CXCR4.

Infatti sia GTPalpha da una parte che il dimero Gbeta/Ggamma dall'altra interagiranno con diverse proteine intracellulari attivando molteplici vie del segnale [Figura 6] (35). Tra le più importanti sicuramente annoveriamo l'attivazione della fosfolipasi C (PLC) con i suoi due secondi messaggeri IP2 e DAG, il quale attiverà PKC e in ultima analisi la chemiotassi. Un'altra via è quella di PI3K seguita da Pyk2, Crk e Paxillin da un lato e soprattutto da AKT-NFkB dall'altro, quest'ultima ha un ruolo di primordine nella modulazione della trascrizione genica e dalla proliferazione. Ulteriori vie sono quelle delle protein chinasi ad attività mitogenica: RHO e RAS-MEK1/2-ERK1/2 (36)

Il signaling cellulare di CXCR4 è rapidamente spento in quanto il legame con CXCL12 porta a subire una fosforilazione nel dominio C-terminale intracellulare ad opera della proteina GRK. A sua volta questo processo recluta la Beta-arrestina la quale stimola l'endocitosi del recettore CXCR4 mediata da clatrina. Per esempio la neutropenia dei pazienti affetti da WHIM (sindrome da immunodeficienza congenita caratterizzata da verruche, ipogammaglobulinemia, infezioni e mielocatessi) è spiegabile con la mutazione che interessa il C-terminale di CXCR4, il quale è insensibile alla fosforilazione di GRK e in ultima analisi al suo spegnimento (35)

Nei pazienti affetti da macroglobulinemia di Waldenström circa il 30% avrà CXCR4 iperfunzionante perché muta una regione del dominio C-terminale rendendo il recettore insensibile alla sua endocitosi, come visto poc'anzi per la sindrome WHIM, motivo per il quale tale mutazione sarà definita "WHIM like". Entrando nello specifico la regione più frequentemente mutata è quella codificante amminoacido S338X, la sostituzione porta nella maggioranza dei casi ad un codone di stop o ad una mutazione frameshit. Gli assi maggiormente coinvolti e potenziati saranno quello di AKT e della via MAPK, esitando dunque in segnali di sopravvivenza cellulare (36)

La quasi totalità dei pazienti CXCR4 S338X mutati è anche L265P MYD88 mutato, mentre è molto raro che presentino CXCR4 mutato pazienti che sono WT per MYD88. Le combinazioni fra le due mutazioni in oggetto avranno un'importante rilevanza prognostica, predittiva e clinica e nel soggetto affetto da macroglobulinemia di Waldenstrom, come sarà descritto nel paragrafo 1.1.5.1.5 (34)

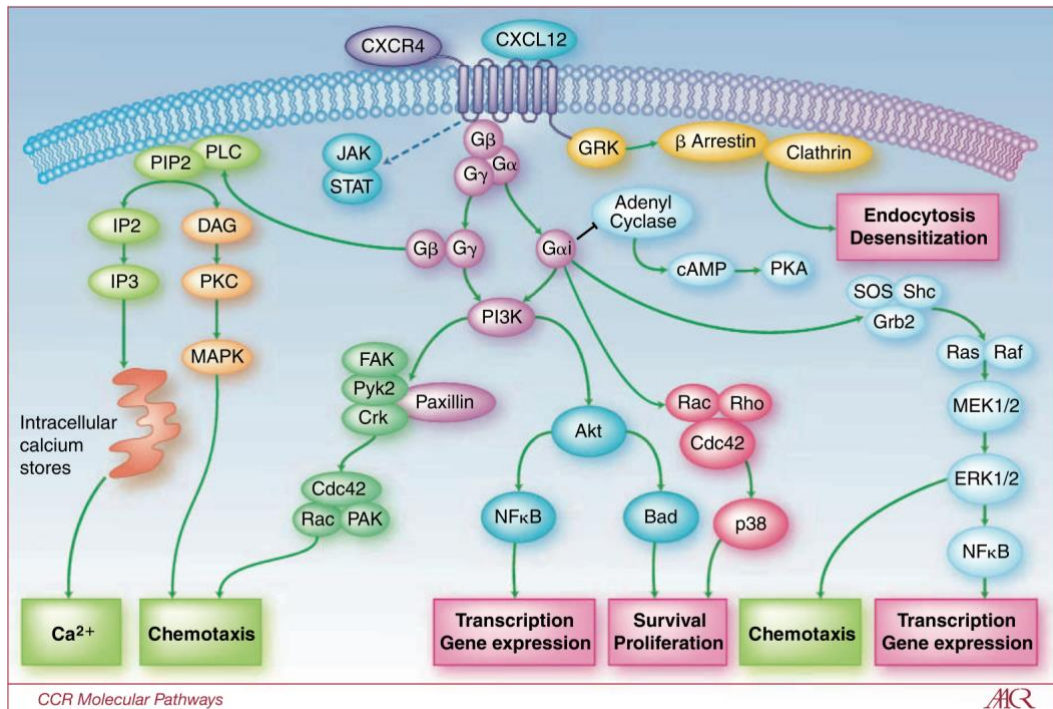


Figura 6: Vie del segnale associate a CXCR4. (35)

1.1.5.1.3 Le altre mutazioni: ARID1A, CD79A/CD79B, TP53.

Il 17% dei casi di WM presenta mutazioni frameshift o mutazioni non senso di ARID1A (AT-rich interaction domain 1A). Se la mutazione è concomitante alla L265P di MYD88 risulta una malattia più impegnativa e con livelli piastrinici più bassi (23). ARID1A e il suo omologo ARID1B sovente deleti, si trovano nel braccio lungo del cromosoma 6 (6q) (37)

Il 8-12% dei pazienti con WM sono mutati CD79A/CD79B. Sono entrambi componenti del BCR e possono formare eterodimeri tra di loro. Mutazioni di questi due geni, con caratteristica attivazione di SYK e BTK sono state riscontrate nel DLCBL ABC. Questo a suggerire un possibile cross talk su SYK in caso di MYD88 mutato e CD79A/CD79B mutato (38) Non a caso queste due mutazioni sono più frequenti nei soggetti Waldenstrom portatori della L265P su MYD88. Sembra

anche che CD79A/CD79B siano mutualmente esclusivi con CXCR4, a sottolinearne il ruolo indipendente nella progressione oncologica dei pazienti MYD88 (39) Le mutazioni TP53 sono quasi aneddotiche (3% dei casi) e associate a scarsa sopravvivenza.

La mutazione del gene KMT2D è fra le più comuni mutazioni dei geni rimodellanti la cromatina osservate nei pazienti MYD88WT. Inoltre tale mutazione si trova nel 30% dei pazienti con DLBCL, e secondo *Varettoni et al* (40) è stato recentemente riportato che KMT2D si trova anche nel 24% dei MYD88 mutati, nonostante siano mutazioni subclonali e il loro decorso clinico rapportato ai pazienti WT non sia ancora chiarito (41)

1.1.5.1.4 Anomalie citogenetiche

Recentemente un lavoro francese del 2021 su 289 pazienti WM ha ben esaminato le varie anomalie citogenetiche correlandole con l'assetto mutazionale e con la presentazione di malattia.

Le tecniche di CBA (chromosome banding analysis) e/o FISH (fluorescent in situ hybridization) hanno ricavato i seguenti dati: del6q (27%), tri4 (12%), tri18 (11%), del13q (11%), tri12 (8%), del17p (7%), tri3 (6%) and del11q (5%). Le anomalie di p53 sono state notificate nel 15% dei casi, lo stesso dicasi per i cariotipi complessi (CK), i quali hanno visto nel 48% dei casi associata almeno una trisomia. Per cariotipo complesso intendiamo un numero maggiore uguale a 3 di anomalie cromosomiche aberranti. Non sono state riscontrate anomalie citogenetiche associate ai pazienti MYD88 WT. Sono invece significative le associazioni tra la mutazione S338 di CXCR4, il CK e le anomalie di p53. La del6q si associa praticamente a tutte le altre anomalie e sia a cariotipi complessi, che non complessi (25). Per il ruolo clinico-prognostico della citogenetica si legga il paragrafo successivo.

1.1.5.1.5 Significato clinico-prognostico-terapeutico dell'assetto mutazionale

La mutazione di gran lunga più frequente, secondo moltissimi lavori tra cui un'analisi del *NEJM del 2012*, è la sostituzione dell'amminoacido leucina con

prolina nella posizione 265 (L265P) nella proteina MYD88, portando ad un guadagno di funzione a favore della sopravvivenza cellulare. In questo contesto è stata isolata mediante sequenziamento Sanger in circa il 91% di tutti i pazienti con LPL. Tant'è che può essere utilizzata per differenziare la WM e il LPL non IgM da altre neoplasie di tipo B con caratteristiche simili quali: mieloma multiplo, MGUS (gammopatia monoclonale d'incerto significato) e linfoma della zona marginale. In realtà è presente in un 10% di pazienti MGUS (secondo altri addirittura nel 50%) i quali sembra siano più soggetti alla progressione verso WM (32)

Il fatto che la mutazione MYD88 sia rilevabile nei pazienti gammopatia monoclonale d'incerto significato IgM ma non IgG o IgA, ne suggerisce un ruolo oncogenico, esponendoli ad un elevato rischio di progressione (23)

Non solo, bassi livelli di MYD88 mutato sono stati trovati anche nel linfoma diffuso a grandi cellule B activated B-cell type (DLCL-ABC) nel 14-29% dei casi, nel linfoma del tessuto linfoide associato alle mucose (MALT Linfoma) nel 9% dei casi e nella leucemia linfatica cronica (CLL) nel 3% dei casi.

Sempre da questo studio emerge come le forme familiari con base genetica di WM siano in realtà da rapportare ad una predisposizione allo sviluppo di MGUS, il quale nel tempo può evolvere a WM (32)

Lo studio di *Varettoni et Al* pubblicato su *Blood* nel 2013 ha messo ancora più in evidenza questi concetti, infatti MYD88 (L265P) è stata individuata con tecnica PCR allele specifica nel 100% dei soggetti con WM, nel 47% dei soggetti con MGUS-IgM, nel 6% dei soggetti con linfoma splenico della zona marginale (SMZL), nel 3% dei soggetti con disordine linfoproliferativo cronico di tipo B (B-CLPD). I pazienti MGUS-IgM con MYD88 mutato hanno dimostrato un elevato burden di malattia alla diagnosi con un valore significativamente alto di paraproteinemia IgM, soppressione delle frazioni policlonali IgG e IgA, elevata proteinuria di Bence-Jones alla diagnosi. Secondo un approccio caso-controllo l'evoluzione da MGUS-IgM a WM è stata superiore tra i MYD88 mutati rispetto ai MYD88 WT (OR=4.7, 95% IC 0.8 - 48.7, P .047).

Soltanto un piccolo gruppo di pazienti con WM (3-7%) è MYD88 WT, mancando della mutazione classica L265P. Questo rende la malattia più aggressiva, ne abbassa l'OS e conferisce resistenza alla terapia con Ibrutinib. Le mutazioni riscontrate nei pazienti MYD88 WT per L265P portano al potenziamento della via pro-survival Nf-Kb, disregolazione genomica e a difetti di riparazione del DNA. Va sottolineato come il 30% dei pazienti con sospetto WM MYD88 WT abbia ricevuto una diagnosi alternativa di Mieloma multiplo IgM. La presenza di alti livelli sierici di IgM, lesioni litiche e/o disfunzione renale dovrebbe aiutare nella diagnosi differenziale, così come la ricerca citogenetica della t(11;14) e della mutazione della ciclina-D1 (23)

Un lavoro del 2017 pubblicato su *Haematologica* in realtà identifica MYD88 ben nel 60% dei pazienti MGUS IgM, rispetto al 10% indicato poc'anzi. D'altro canto CXCR4 si trova nel <10% dei pazienti MGUS IgM, quasi a sottolineare il suo ruolo tardivo nell'insorgenza di malattia, differentemente da MYD88.

Fra i pazienti trattati, il tasso di mutazione MYD88 è significativamente inferiore e questo a supporto, proprio in quei pazienti, il buon esito dell'immunochemioterapia nel decorso della malattia.

Il soggetto MYD88 WT solitamente presenta maggiori livelli di B2-microglobulina (median 3109 mg/L versus 2480 mg/L; P=0.03), percentuali minori di infiltrato midollare (median 18% versus 35%; P=0.01) ma un maggior incidenza di malattia in sedi extramidollari (60% versus 12% of patients; P=0.001) rispetto ad un soggetto MYD88 mutato. Come già detto questi pazienti saranno più frequentemente CXCR4 WT e difficilmente avranno concomitanti alterazioni citogenetiche. Nonostante ciò, è noto il loro valore predittivo negativo alla risposta ai BTKi con conseguenze peggiorative sull'outcome di malattia. Inoltre, nonostante le caratteristiche cliniche dei pazienti WT sembrano meno aggressive rispetto al gruppo mutato: un elevato burden allelico di MYD88 non correla con una prognosi peggiore (40)

Invece il paziente con WM CXCR4 mutato necessiterà di un trattamento precoce, dato che la mutazione e il livello di componente monoclonale sono considerati fattori di rischio indipendenti per la progressione di malattia da asintomatica a

sintomatica, quindi richiedente terapia. Altri fattori di rischio fondamentali nella progressione di malattia sono: il livello di Hb e la percentuale di infiltrato midollare ad opera delle linfoplasmacellule neoplastiche (40).

Nell'oncoematologia l'elevata espressione di CXCR4 è osservata in grande insieme di patologie come: leucemie acute mieloidi e linfoblastiche (AML,ALL) , ma al contempo malattie linfoproliferative come leucemia linfatica cronica (CLL), linfoma diffuso a grandi cellule B (DLCL), linfoma follicolare (FL), linfoma della zona marginale (MZL), mieloma multiplo (MM), leucemia a cellule capellute (HCL), linfoma mantellare (MCL) (36)

La mutazione S338 di CXCR4 frequentemente correla con il cariotipo complesso e le anomalie di TP53.

Clinicamente e laboristicamente i pazienti CXCR4 mutati rispetto ai WT sembrano avere maggior percentuale di infiltrato midollare (56% vs. 41%, $p = .02$), di esordio con sindrome da iperviscosità (17% vs. 6%, $p = .04$), maggior concentrazione nel sangue di componente monoclonale (28 vs. 18 g/L, $p = .05$), e più frequentemente conta piastrinica $< 100.000 \times 10^9 / L$ (11/48 [23%] vs. 5/120 [4%], $p < .001$) (25)

Per quanto concerne le principali aberrazioni citogenetiche sappiamo che del6q è fondamentalmente la prevalente, oltre che essere associata a peggior prognosi e IPSSWM score high. Il lavoro di *Garcia-Sanz et Al* pubblicato su *BJH* mette in evidenza alcuni aspetti clinico-prognostici. Per esempio i pazienti con del6q affetti da MGUS IgM o MW asintomatico/sintomatico si sono presentati con livelli di B2-microglobulina più alti (68% vs. 36%, $P < 0.001$), anemia (68% vs. 36%, $P < 0.001$), livelli di paraproteina più elevati (median 31.1 g/l vs. 17.0 g/l, $P < 0.001$). Inoltre gli asintomatici hanno dimostrato un TT (time to transformation) minore se deleti 6q (median 30 vs. 199 months, $P < 0.001$). Dei pazienti che hanno fatto terapia in qualsiasi momento del follow up, la sopravvivenza libera da progressione (PFS) è risultata significativamente inferiore nei deleti 6q (median PFS 20 vs. 47 months, $P < 0.001$). In questo studio non si è trovata alcuna correlazione fra le mutazioni MYD88 / CXCR4 e la del6q (42)

Tuttavia, anche altre alterazioni citogenetiche hanno un dimostrato avere un impatto negativo sulla PFS come la presenza di cariotipo complesso, piuttosto che

le anomalie di p53. In particolare, i pazienti con “High-CK” sono associati ad una mediana di PFS fra le più brevi (appena 20 mesi) e un OS a 5 anni del 75%.

Per concludere del6q è associata a molte altre alterazioni citogenetiche presenti nella macroglobulinemia di Waldenstrom (del13q, del11q, del17p, tri4) e al cariotipo complesso tipo non-high-CK/high-CK ($p < .001$) (25).

In chiave prognostica ma altresì terapeutica è fondamentale per l’ematologo conoscere come si rapportano fra loro le mutazioni di MYD88 e CXCR4.

Sulla base di queste mutazioni sono stati descritti tre genotipi:

- MYD88^{L265P}/CXCR4^{WT}
- My88^{L265P}/CXCR4^{S338X(WHIM)}
- MYD88^{WT}/CXCR4^{WT}

Studi preliminari suggeriscono come pazienti con WM refrattario e MYD88WT/CXCR4 WT rispondano peggio ai BTK inibitori come ibrutinib rispetto agli altri genotipi (43)

La mediana della sopravvivenza libera da trattamento (treatment-free survival) è significativamente minore nei pazienti WM asintomatici con mutazione CXCR4 alla diagnosi (51 mesi) rispetto ai pazienti CXCR4 WT (mediana non raggiunta) ($P=0.007$).

Nelle analisi multivariate la mutazione CXCR4 e la quantità di componente monoclonale sono fattori prognostici indipendenti per la progressione da forma di malattia asintomatica a sintomatica richiedente terapia.

Sembra invece che lo stato mutazionale di MYD88 non influisca sul parametro “time to first treatment” ($P=0.19$). La sopravvivenza libera da trattamento (Treatment-free survival) è inferiore nei soggetti WM asintomatici MYD88mut/CXCR4mut se paragonati ai MYD88mut/CXCR4WT ($P=0.019$), confermando che è la mutazione di CXCR4 e non di MYD88 ad associarsi ad un precoce utilizzo delle strategie terapeutiche [Figura 7] (40)

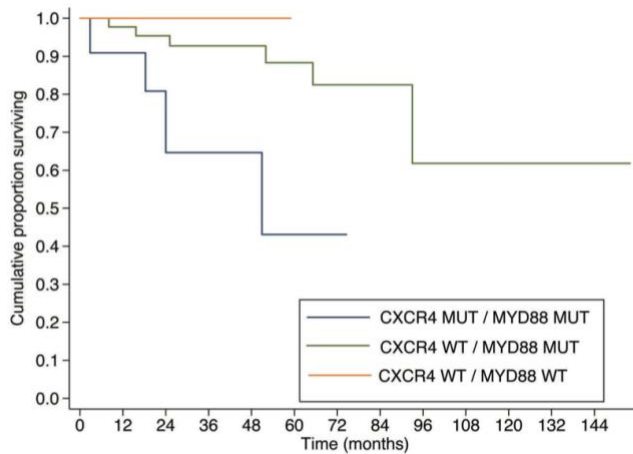


Figure 4. Treatment-free survival of asymptomatic patients with Waldenström macroglobulinemia according to MYD88 and CXCR4 mutational status.

Figura 7: Treatment free survival dei pazienti WM sintomatici categorizzati per analisi mutazionale. (40)

Sebbene le scelte terapeutiche saranno trattate adeguatamente [paragrafo 1.1.10], urge ricapitolare brevemente quali sono gli scenari genomici principali da tenere in considerazione in chiave interventistica.

Le mutazioni di MYD88 sono presenti in >95% casi WM e triggerano la sopravvivenza cellulare maligna attraverso BTK and HCK, entrambi target di Ibrutinib che si presenta come una molecola non molto target specifica (44)

Prendendo in considerazione due strategie di terapia utilizzatissime (BTKi e chemioimmunoterapia) viene specificato come negli studi prospettici, dinnanzi al ricorso ai BTKi non si sono verificate risposte complete alla terapia bensì una bassa PFS nei pazienti MYD88 WT, così come nei pazienti CXCR4 mutati. Leggermente diverso per gli schemi di chemioimmunoterapia a base di alchilanti (Bendamustina) e Rituximab dove non si sono verificate risposte complete alla terapia bensì una bassa PFS nei pazienti MYD88 WT, mentre lo stato di CXCR4 non sembra impattare sulla risposta a questo tipo di terapia (23)

1.1.6 Clinica e decorso

1.1.6.1 Classificazione dei disturbi dovuti alla paraproteina IgM e/o al LPL

Secondo il lavoro di *Gertz et Al* pubblicato su *Blood Cancer Journal* nel 2018 (45) i pazienti affetti da patologie IgM related si dividono in 4 gruppi:

- Pazienti con Gammopatia Monoclonale di Significato Indeterminato (MGUS); presentano livelli di IgM <3g/dL e infiltrazioni nel midollo osseo di LPL <10%.
- Pazienti con WM a lento decorso / smouldering WM; presentano infiltrazioni nel midollo osseo di LPL >10% o un picco di IgM >3g/dL, ma assenza di sintomatologia da infiltrazione tumorale o mediata da IgM.
- Pazienti con sintomatologia dovuta agli effetti immunologici delle proteine IgM monoclonali, ma non alla massa tumorale del linfoma linfoplasmacitico (pazienti con crioglobulinemia di tipo 2, agglutinine fredde, neuropatia periferica, amiloidosi, sindrome POEMS associate a gammopatia).
- Pazienti con sintomatologia dovuta all'infiltrazione nel midollo osseo, fegato, milza e linfonodi da parte di linfoplasmociti che causano anemia, iperviscosità, epatosplenomegalia, linfadenopatia significativa. Questi pazienti sono definiti come affetti da WM conclamata e necessitano di trattamento.

Ai fini di comprendere come queste entità cliniche compenetrano e si trasformano l'una nell'altra si cita uno studio di *Kyle et Al* del 2011 che ha analizzato il follow-up di pazienti MGUS e di pazienti con WM smoldering (46).

Più precisamente MGUS è stata riconosciuta in 213 pazienti seguiti nel centro Mayo Clinic dal 1960 al 1994. Di questi soltanto 29 (14%) hanno subito trasformazione di malattia: 17 in LNH, 6 in WM, 3 in AL amiloidosi. La probabilità cumulativa di progressione ad uno di questi disordini è risultata del 10% a 5 anni, 18% a 10 anni, 24% a 15 anni: approssimativamente si parla del 1,5% annuo.

Il livello di emoglobina, l'albumina sierica, il rate di sedimentazione sono considerati predittori di progressione significativi secondo analisi univariate. Viceversa le analisi multivariate hanno considerato predittori indipendenti di progressione il livello della componente monoclonale IgM e il valore di albumina sierica alla diagnosi. Concludendo, il rischio di progressione di MGUS è legato direttamente al livello di paraproteina IgM al momento della prima diagnosi.

Un lavoro simile è stato presentato all'interno dello stesso studio anche per quanto riguarda la progressione da SWM a WM. Di 48 pazienti affetti da SWM al centro Mayo Clinic 36 (71%) sono progrediti a: WM (34 pazienti), AL amiloidosi (1), linfoma (1). La probabilità cumulativa di progressione a WM, amiloidosi o linfoma è del 6% al primo anno, 39% al terzo anno, 59% al quinto anno: complessivamente è del 12% annuo.

I fattori di rischio per la progressione riscontrati nell'analisi univariata sono: emoglobina, livello della proteina M, tipo di catena leggera, rapporto fra le catene leggere, proteinuria BJ, valore sierico albuminico e numero di linfoplasmociti nel midollo. Secondo le analisi multivariate il livello di proteina M, il valore emoglobinico, il numero di linfoplasmociti nel midollo osseo alla diagnosi sono fattori di rischio indipendenti per la progressione di malattia. (46,47)

1.1.6.2 Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni della WM sono estremamente eterogenee. (48)

Una quota di pazienti affetti da WM non presentano segni o sintomi e la diagnosi viene posta nell'ambito degli accertamenti conseguenti al riscontro di una MGUS (25%). La maggior parte dei pazienti, tuttavia, sviluppa segni e sintomi durante la storia naturale della malattia: 40% entro 3 anni dalla diagnosi, 70% entro 10 anni dalla diagnosi (49,50). Questi possono essere non specifici (sintomi B) come: febbre > 38° indipendente da infezione; perdita di peso > 10% dell'attuale negli ultimi 6 mesi; sudorazioni notturne(24). Inoltre possono essere sintomi specifici conseguenti alla infiltrazione da parte della massa neoplastica oppure imputabili alle paraproteinemia IgM (45)

1.1.6.2.1 Manifestazioni cliniche legate all'infiltrazione tumorale: le citopenie.

L'infiltrazione midollare da parte delle cellule del linfoma linfoplasmacitico può comportare citopenia unilineare per esempio con anemia o, se molto marcata, multilineare con anche leuco-piastriopenia.

L'anemia è la più frequente presentazione clinica nella malattia sintomatica e può non dipendere strettamente dalla sostituzione midollare linfomatosa, ma anche dalla flogosi cronica derivante dalla secrezione tumorale di citochine in particolare l'IL6 con iperproduzione di epcidina e difettoso utilizzo del ferro (51) (52)

In caso di sospetta anemia emolitica si prosegue con un'analisi diagnostica *ad hoc* vedi titolazione delle agglutinine fredde, il test di Coombs diretto, il livello di aptoglobina, il livello di lattico deidrogenasi (LDH), la conta dei reticolociti. Si necessita dunque di procedere all'esecuzione di esami mirati alla diagnosi differenziale dell'anemia. È anche possibile l'infiltrazione degli organi ipocondriaci e dei linfonodi (circa nel 30% dei pazienti) con epatosplenomegalia e linfadenopatia. (48)

1.1.6.1.2 Manifestazioni cliniche legate alla CM IgM circolante: sindrome da iperviscosità, crioglobulinemia, CAD.

Sappiamo che le IgM si organizzano in strutture pentametiche e che la loro distribuzione è per due terzi nello spazio intravascolare, ciò comporta che un aumento della loro concentrazione possa risultare in un aumento della viscosità e del volume plasmatici. Alti livelli sierici di IgM (in genere > 3000-4000 mg/dL) rappresentano un fattore di rischio per lo sviluppo della sindrome da iperviscosità sintomatica, condizione particolare causata da un aumento delle viscosità del siero (in genere per valori superiori a 4-5 centipoise, con valori normali compresi tra 1,4-1,8 centipoise). Questa complicanza si verifica nel 10%-20% dei pazienti al momento della diagnosi e può richiedere l'esecuzione di una plasmaferesi (52)

L'iperviscosità si può manifestare con sintomi eterogenei: sanguinamento mucocutaneo, disturbi visivi e uditivi come visione offuscata, vertigini, cefalea, acufeni. La sindrome da iperviscosità, soprattutto quando coinvolge il microcircolo del sistema nervoso centrale, può determinare quadri clinici d'emergenza quali alterazione dello stato di coscienza o stroke (53). Per questo motivo un livello di IgM >3000mg/dL, anche se in assenza di sintomi, raccomanda l'utilizzo di un esame fundoscopico allo scopo di individuare per tempo eventuali danni al microcircolo oppure l'esecuzione di una viscosimetria ematica (48)

La retina esaminata potrà mostrare vene retiniche dilatate e tortuose, emorragia retinica, o papilledema come risultato di trombosi della vena retinica (48,54) [Figura 8].

I sanguinamenti possono dipendere, anche se raramente, dal legame che la IgM contrae con le piastrine o con il fattore di Von Willebrand, simulando di fatto una malattia di von Willebrand acquisita o una porpora trombocitopenica immune (ITP) (53)

La crioglobulinemia tipo I e tipo II è sintomatica in meno del 5 % dei casi e asintomatica in più del 20%, può esprimersi clinicamente con alterazioni cutanee, quali porpora, ulcere, lividi soprattutto agli arti inferiori, fenomeno di Raynaud, acrocianosi e necrosi acrale, interessamento renale con glomerulonefrite membranosa ed ematuria, neuropatia, artralgie. Spesso la presenza di crioglobulinemia peggiora i sintomi dell'iperviscosità. (48)

Ulteriore condizione è l'anemia emolitica da crioagglutinine (CAD), causata dal riconoscimento e legame di antigeni eritrocitari da parte della IgM a basse temperature (<30°). Le manifestazioni cliniche sono caratterizzate da disturbi associati al freddo come acrocianosi e fenomeno di Raynaud oltre che da segni e sintomi di anemia (48,52).

La malattia può essere cronica o acuta con crisi emolitiche associata a dolore lombare/arti inferiori, cefalea, nausea, diarrea, emissione di urine scure (emoglobinuria), epatosplenomegalia. Laboristicamente si vedono i parametri emolitici alterati (LDH aumentato, aptoglobina consumata, iperbilirubinemia indiretta e schistociti nello striscio di sangue periferico) e test dell'antiglobulina diretto (DAT) / test di Coombs diretto positivo per IgM anti-C3 ma non anti-IgG, talvolta anticorpi a bassa affinità possono dare un DAT falsamente negativo, sarebbe auspicabile effettuare in tal caso un DDAT (test dell'antiglobulina diretto duale) che identifichi le IgM sul globulo rosso (55).

Questa condizione la si riscontra nel 10% dei pazienti WM e tipicamente si presenta con Hb > 7 g/dL. Nonostante il 10% dei pazienti abbia un test di Coombs positivo, un'emolisi significativa è piuttosto rara, soltanto nel 3% dei casi (53)

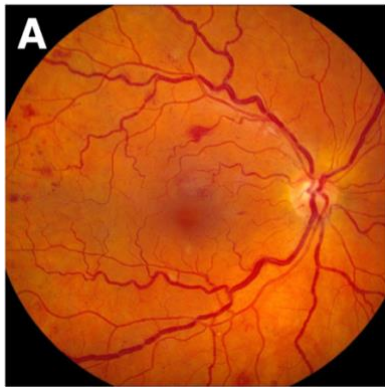


Figura 8: Fundus oculi con segni di iperviscosità.(53)

1.1.6.1.3 Manifestazioni cliniche legate al deposito nei tessuti della CM IgM: neuropatia periferica, amiloidosi

La neuropatia periferica è la principale complicanza neurologica della WM che interessa circa il 40-50% dei pazienti nel lungo decorso di malattia. Di solito si tratta di una forma sensitiva che progredisce lentamente e progressivamente dalle estremità distali in modo simmetrico, con qualche eccezione (56)

Oltre al classico interessamento della patologia sul SNP in senso stretto di cui discuteremo, incidono sulla neuropatia anche l'utilizzo di farmaci (bortezomib, alcaloidi della vinca e lenalidomide); la presenza di crioglobulinemia di tipo I (monoclonale) e tipo II (mista); la presenza di vasculite crioglobulinemica (57)

I Test come gli studi di condizione nervosa (NCS) e elettromiografia (EMG) devono essere considerati come un'estensione dell'esame clinico ai fini di caratterizzare natura, pattern ed estensione del danno nervoso.

Il workshop internazionale che si è tenuto a Londra nel 2014 (IWWM-8) ha identificato entità distinte di neuropatia associata a paraproteina IgM (56):

- polineuropatia senza anticorpi associata ad IgM MGUS, una forma distale, acquisita, sensitivo-motoria, demielinizzante che trova giovamento con trattamento immunomodulante. La si riscontra nel 30-50% delle MGUS IgM.
- polineuropatia associata ad anticorpi autoreattivi, i quali sono presenti in circa il 50% dei pazienti affetti da MGUS-IgM o WM sottoforma di anti-MAG, più spesso IgMkappa. Viene infatti colpita la glicoproteina nervosa associata a mielina (MAG) esitando in un quadro di

demielinizzazione e rallentamento della conduzione, che clinicamente sfocia in una polineuropatia distale simmetrica ad andamento cronico, spesso associata ad atassia sensitiva, tremore degli arti superiori e nelle fasi avanzate sintomi motori. Nel caso gli anti-MAG dovessero risultare negativi, è opportuno richiedere gli anticorpi anti-ganglioside nervoso GM1 (neuropatia motoria multifocale) oppure gli anticorpi antiganglioside diversi da GM1 (neuropatia distale progressiva sensitiva). Gli alti titolo di anti-MAG possono rafforzare il sospetto diagnostico, ma non sono predittivi di risposta alla terapia né tantomeno prognostici (48,56)

- polineuropatia da infiltrazione linfoplasmocitica, può trovare spiegazione nell'infiltrato linfoplasmocellulare sul SNP, così come accade per i LNH in generale (neuroinfomatosi) (57)
- CANOMAD syndrome, ovvero una neuropatia cronica atassica con oftalmoplegia, paraproteina M, agglutinine fredde e anticorpi contro i gangliosidi desialati. (GQ1b, GT1a, GT1b, GD1b, GD2, GD3)
- polineuropatia da amiloidosi catene leggere IgM (AL), è una rara neuropatia assonale dolorosa che può complicare WM, spesso associata a dolore, disfunzione autonoma (ipotensione ortostatica, dismotilità gastrointestinale, anomalie pupillari, genitourinarie e sessuali) ; coinvolgimento sistemico con insufficienza d'organo (cuore, rene, fegato) e calo ponderale. La condizione è dovuta a depositi di fibrille di amiloide sull'endonervio, la quale può creare un vero e proprio danno con anche concomitanti sindrome da entrapment. Dunque sarà importante evidenziare quando prima i segni di iniziale coinvolgimento d'organo con NT-proBNP e albuminuria. La colorazione rosso Congo positiva su biopsia del grasso periombelicale è diagnostica (57)
- polineuropatia a piccole fibre, lunghezza dipendente ad andamento disto-proximale, urente, con sintomi peggiori la notte. La diagnosi è clinica e il trattamento sintomatico (Gabapentin, antidepressivi) (56)

In generale la neuropatia in sé costituisce un criterio di terapia nella macroglobulinemia di Waldenstrom, conoscere i meccanismi alla base è cruciale per pianificare il trattamento più appropriato. Rituximab ha dimostrato su 200 pazienti trattati in 15 anni di migliorare i sintomi nel 30-50% dei casi, anche se associato ai classici chemioterapici (Bendamustina, Ciclofosfamida) (58). Bortezomib e Ibrutinib possono essere utilizzati nei casi di trattamento nel lungo termine di WM associata a polineuropatia. A questi regimi risponde anche la polineuropatia associata ad amiloidosi AL da WM e la polineuropatia da crioglobulina, che si giova inoltre delle terapie corticosteroidi (57)

L'amiloidosi da paraproteina IgM costituisce circa il 5-8% delle amiloidosi a catene leggere delle immunoglobuline (AL) (59). L'amiloidosi AL IgM presenta alcune differenze cliniche rispetto alla controparte non IgM emerse da uno studio multicentrico effettuato su 250 pazienti con amiloidosi AL IgM: è meno frequente l'interessamento cardiaco (45%), mentre è più frequente quello nervoso (28%), linfonodale (20%) (60).

Questi pazienti hanno più spesso livelli di componente monoclonale IgM superiore a 10 g/L, meno frequentemente coinvolgimento della catena leggera lambda. Dalle indagini multivariate sembra che i fattori indipendenti di impatto sulla sopravvivenza siano: coinvolgimento cardiaco, interessamento neuropatico, interessamento epatico e uno score Mayo advanced per amiloidosi AL. Regimi a base di ASCT e Bortezomib sembrano ottenere risposte migliori di terapia, ricordando che il target deve essere sempre la CR/VGPR (59,60). La causa principale di morte per amiloidosi è cardiaca, sia dovuta alla progressiva cardiopatia congestizia sia dovuta alla morte improvvisa dovuta alla fibrillazione ventricolare o all'asistolia. L'outcome clinico dei pazienti e la loro capacità di rispondere al trattamento è, in larga parte, determinata dall'estensione di malattia cardiaca alla diagnosi (61).

Nell'amiloidosi AL da IgM con interessamento nervoso (che colpisce circa il 50% dei pazienti con amiloidosi da IgM), i sintomi sono dovuti al deposito di fibrille di amiloide nel nervo e nella parete dei vasa nervorum endoneurali e sono progressivi, con neuropatia asimmetrica o simmetrica di tipo sensitivo-motorio e

manifestazioni dolorose ad inizio tipicamente agli arti inferiori (piedi e gambe). Tipiche le disfunzioni autonome come ipotensione ortostatica, diarrea, impotenza, disfunzioni vescicali(52)

Il work up diagnostico prevede la ricerca del clone amiloidotico con elettroforesi delle proteine sieriche ed immunofissazione sierica ed urinaria, dosaggio delle catene leggere e test quantitativi per IgG,IgA,IgM. In seguito, BOM con analisi citogenetiche e FISH (MYD88), sommato a TC torace, addome e pelvi, Ecocardiografia, ECG, MRI cardiaca per vedere eventuali depositi d'organo. La diagnostica sui tessuti va fatta prima con biopsia del grasso periombelicale, poi su ciascuno dei tessuti coinvolti. Va tipizzato il deposito con spettrometria di massa o microscopia elettronica e richiesti i biomarker d'interessamento d'organo (NT-proBNP o BNP se vi è insufficienza renale, Troponina T per il cuore; ALP, AST, bilirubina per il fegato; proteinuria nelle 24, anche BJ, creatinina sierica e eGFR per il rene). Nel follow up sono fondamentali: NT-proBNP, albuminuria urinaria e fosfatasi alcalina (ALP) (59)

1.1.6.1.4 Manifestazioni da infiltrazione neoplastica e IgM-related: organomegalie, interessamento polmonare, cerebrale, renale, gastrointestinale, cutaneo.

Linfoadenopatia, epatomegalia e splenomegalia sono presenti nel 20-25% dei pazienti. Diversamente dal mieloma multiplo le lesioni osteolitiche sono rare, altrettanto infrequente è il coinvolgimento diretto dell'organo come risultato dell'infiltrato B-cellulare. Quest'ultimo può portare alla formazione di noduli parenchimali polmonari o coinvolgimento diffuso associato a versamento pleurico. Nonostante la proteinuria di BJ (presenza di catene leggere delle immunoglobuline nelle urine) si trovi in circa l'80% dei pazienti difficilmente sarà sopra a 1g/24h così come difficilmente sarà presente in un quadro di insufficienza renale. La sindrome nefrosica è un'evenienza rara e quando presente è usualmente secondaria ad una concomitante amiloidosi delle catene leggere (AL). Per quanto riguarda il tratto gastrointestinale il malassorbimento deriva dal deposito extracellulare di IgM e dall'infiltrato intestinale ad opera delle cellule maligne. A livello cutaneo aggregate densi di linfoplasmociti creano delle placche cutanee, nella fattispecie la sindrome di Schnitzler è caratterizzata da eruzioni

orticariodi ricorrenti, componente monoclonale IgM (raramente IgG), segni clinico-biologici-istologici di infiammazione (VES e PCR elevate, leucocitosi, infiltrato cutaneo neutrofilico, febbre, dolori osteo-articolari, linfadenopatia, epato-splenomegalia). I pazienti hanno un aumentato rischio a lungo termine di sviluppare amiloidosi AA e una malattia linfoproliferativa (62). Un'ulteriore rara complicanza (1% dei pazienti WM) è la sindrome di Bing-Neel causata dall'invasione diretta del SNC da parte dei linfoplasmociti neoplastici. Questa consiste in una varietà di sintomi quali confusione, convulsioni, cefalea e interessamento dei nervi cranici. La sua caratterizzazione richiede imaging e analisi del liquor (48).

Le caratteristiche cliniche largamente descritte sono ben riassunte nella figura seguente adattata da un lavoro di *Kapoor et Al* (53)

Characteristics of Immunoglobulin M or direct WM cell infiltration related morbidities.

Pathophysiology		Clinical feature
Cell infiltration related	Bone Marrow (100%)	Anemia Thrombocytopenia Neutropenia
	Extra-medullar hematopoietic tissues (25%)	Lymphadenopathy Hepatomegaly Splenomegaly
	Lung (4%)	Nodules or diffuse infiltrates Pleural effusion
	CNS (rare)	Bing-Neel syndrome
Cell infiltration + IgM paraprotein mediated	Kidney (4%)	Infiltration of neoplastic cells Perirenal mass Bence Jones proteinuria
	GI (4%)	Malabsorption Diarrhea Mucosal bleeding
	Skin (3%)	Cutaneous plaques Schnitzler syndrome
IgM paraprotein mediated	Hyperviscosity (35%)	Bleeding Abnormal fundoscopy Visual symptoms Headaches, Altered mental status (rare) Stroke (rare)
	IgM-related neuropathy (up to 40%)	Typical phenotype includes peripheral symmetric predominantly sensory with pronounced vibration but mild pin prick loss, ataxia and tremor
	Cryoglobulinemia (Asymptomatic in up to 20% of WM; symptomatic ≤5%)	Raynaud phenomenon / acrocyanosis Peripheral neuropathy Purpura Skin ulceration or necrosis, Arthralgia Glomerulonephritis-related hematuria
	Cold agglutinin hemolytic anemia (10%)	Hemolytic anemia (usually hemoglobin is >7 g/dL)

Figura 9: Caratteristiche cliniche legate alla paraproteina M o all'infiltrazione diretta di malattia. (53)

1.1.6.2 Decorso aggressivo e trasformazione istologica (HT)

La trasformazione istologica (HT) della WM a linfoma diffuso a grandi cellule B (DLCLB) è una complicanza rara, prognosticamente infausta e poco descritta in letteratura. In generale nel campo delle emopatie maligne la HT è stata ben collocata nella storia naturale dei pazienti con linfoma follicolare (linfoma follicolare trasformato) e con leucemia linfatica cronica (sindrome di Richter). In uno studio di *Durot et Al* pubblicato su *BJH* nel 2017, circa il 91% dei pazienti che hanno subito trasformazione ha dimostrato un interessamento extranodale di malattia, precisamente di SNC (14%), cute (12%) e testicolo (4%). Questa spiccata caratteristica a coinvolgere sedi extranodali è in disaccordo con il comportamento classico della macroglobulinemia di Waldenström dove la patologia si localizza quasi esclusivamente nel midollo osseo, linfonodi e milza (63)

A tal proposito il rischio di recidiva cerebrale nella WM trasformata sembra simile rispetto a quello osservato nei pazienti DLCLB appartenenti al gruppo SNC-IPI high risk. Gli outcomes associati sono poveri, in linea con la prognosi della WM HT ma differenti rispetto alla sindrome di Bing-Neel pura (rate di sopravvivenza del 71% contro l'86% a 5 anni) (64)

Un importante studio di *Castillo et Al* pubblicato su *AJH* nel 2016 ha identificato: interessamento extranodale in più dell'80% dei pazienti WM HT, un IPI high nel 65%, una maggior espressione di BCL2 e BCL6 rispetto al CD10. In un recente studio di popolazione, l'outcome dei pazienti WM che hanno sviluppato DLCLB era significativamente peggiore rispetto agli individui con diagnosi di DLCLB de novo, matched per età e sesso.

In chiave terapeutica la raccomandazione è quella di eliminare la componente trasformata con i regimi R-CHOP oppure R-EPOCH, sommata alla soppressione della componente WM con rituximab e trapianto autologo di staminali. La mutazione Bcl-2 potrebbe offrire un'opportunità di trattamento a base di Venetoclax, mentre la mutazione L265P di MYD88 sia nella WM che nel DLCLB potrebbe suggerire l'opzione Ibrutinib (65).

1.1.7 Diagnosi

Come già descritto nel paragrafo 1.1.5.1 la macroglobulinemia di Waldenstrom sintomatica e papabile di trattamento può essere preceduta, similmente al mieloma, dalla condizione di MGUS (in questo caso IgM) e successivamente dalla diagnosi di WM asintomatica/smoldering.

Al contempo la diagnosi differenziale con MM IgM, amiloidosi IgM e soprattutto MZL va sicuramente tenuta in considerazione ed eventualmente effettuata grazie a parametri clinici, immunofenotipici, molecolari e istologici [Figura 10] (53).

Primary differential diagnoses of IgM monoclonal gammopathies.^a

	IgM MGUS	Smoldering/Asymptomatic WM	WM	IgM multiple myeloma	IgM amyloidosis	Splenic marginal zone lymphoma
Serum IgM gammopathy	<3 g/dL	≥3 g/dL	Any level	Any level	Any level	Low level
Bone marrow LPL infiltrate (%)	<10%	≥10%	≥10%	≥10%; predominantly plasmacytic PCs,	Normal or slight increase of PC or LPL	Intertrabecular and intrasinusoidal infiltrate
End organ damage/symptoms	No	No	Yes ^b	Yes ^c	Yes ^d	Yes ^e
Hyperviscosity	No	No	Yes	Uncommon	Uncommon	Uncommon
Differentiating genetic features and markers	6q deletion absent, MYD88 L265P (upto 80%)	6q deletion, MYD88 L265P (90%), CD56—	6q deletion (30–50%), IgH translocations absent, MYD88 L265P (90%), CD56—, CD25+ (88%), CD103—	May have t(11;14) or other IgH translocations, MYD88 L265P negative, CD56+, CD138+, CD19—, CD45—	May have t(11;14)	+3q (19%) and +5q (10%); MYD88 L265P negative, CD22+, CD11c+, CD25—, Del 7q (19%), CD25+ (44%), CD103+ (40%)
Risk of transformation	1.5% per year	12% per year for the first 5 years, 68% within 10 years	5%–10% risk for DLBCL	N/A	N/A	13–19% life-time risk in small series

Abbreviations: IgM, Immunoglobulin M; LPL, lymphoplasmacytic lymphoma; MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance; N/A, not applicable; PC, plasma cells; WM, Waldenström macroglobulinemia.

^a The table lists a few important differential diagnoses of IgM monoclonal gammopathies. IgM paraprotein can be present in virtually all B cell lymphoproliferative disorders.

^b Constitutional symptoms: hepatosplenomegaly, lymphadenopathy, anemia, hyperviscosity, solid organ involvement, and rarely lytic lesions.

^c CRAB features (hypercalcemia, renal failure, anemia and bone lesions).

^d Organs typically involved are kidneys, heart, nerves, tongue, GI tract, and liver. Patients with IgM Amyloid Light-chain (AL) amyloidosis have higher frequency of pulmonary, lymph node, peripheral nerve, and lower cardiac involvement. Concentration of free light-chain tends to be lower compared to non-IgM AL amyloidosis.

^e Primarily involves spleen; lymphadenopathy is rare.

Figura 10: diagnosi differenziale delle gammopatie monoclonali IgM. (53)

1.1.7.1 Work up diagnostico

1.1.7.1.1 BOM e aspirato midollare

Secondo il secondo workshop internazionale la diagnosi di macroglobulinemia di Waldenstrom(2) viene definita mediante la verifica di infiltrazione midollare ad opera del LPL almeno del 10% e la presenza di un qualsiasi livello di componente monoclonale IgM dosabile nel sangue (2). Per fare ciò ci si serve della biopsia osteomidollare e/o dell'aspirato midollare associato rispettivamente all'immunostichimica o alla citofluorimetria per caratterizzare l'immunofenotipo (si veda capitolo patogenesi cellulare). Sullo stesso campione si ricercano anche le mutazioni L265P sul gene MYD88, quasi patognomica, e la meno frequente mutazione S338X sul gene CXCR4 avvalendosi della tecnica reazione della catena

polimerasica allele specifica (allele specific PCR) . L'alto quantitativo di risultati falsi negativi nelle analisi molecolari sul sangue periferico sconsiglia l'utilizzo di questa matrice. Talvolta anche la ricerca di aberrazioni citogenetiche mediante analisi citogenetiche può essere richiesta (6,54)

1.1.7.1.2 Anamnesi ed esame obiettivo

Include la storia familiare di WM o altre malattie linfoproliferative B. Vanno esaminati i vari apparati perché il paziente può avere sintomi B (febbre, sudorazione notturna, calo ponderale > 10% del proprio peso in 6 mesi); organomegalie; sintomi da iperviscosità; neuropatia; fenomeno di Raynaud; rash diffuso, edemi periferici, anomalie cutanee, dispnea. Inoltre andrà effettuato un esame del fundus oculare se le IgM sono particolarmente elevate e si sospetta iperviscosità (6,54)

1.1.7.1.3 Esami bioumorali

Sempre fondamentale richiedere un esame emocromocitometrico completo assieme ad un pannello metabolico completo. Vanno studiati i livelli sierici di immunoglobuline IgA, IgG, IgM e di catene leggere libere delle immunoglobuline (FLC) e va ricercata la componente con elettroforesi delle proteine sieriche / urinarie seguita da immunofissazione per tipizzare l'eventuale clone. A livello prognostico sono importanti anche la B2-microglobulina e LDH. Non va dimenticata la sierologia virale (HBV, HCV, HIV) (6,54)

1.1.7.1.4 Imaging

Consiste in una TAC torace, addome e pelvi per motivi clinici o ai fini terapeutici. Talvolta anche l'ecografia può essere utile come prima linea d'indagine (6,54)

1.1.7.1.5 Esami aggiuntivi (indicati dalla clinica)

Alle volte la clinica può indirizzare verso il sospetto di alcune complicanze di malattia che devono essere adeguatamente studiate. Infatti l'ematologo può considerare la ricerca delle crioglobuline, del titolo di crioagglutinine fredde (CAD) piuttosto che richiedere una viscosimetria o uno screening per la malattia di Von Willebrand acquisita. Sicuramente la quantificazione della proteinuria nelle 24h

(anche con ricerca della proteinuria di Bence-Jones) può essere indicativa soprattutto di un aumento della componente monoclonale e in misura minore di un'iniziale disfunzione renale. L'eventuale presenza di catene leggere libere prodotte dal clone va tipizzata e identificata anche con l'ausilio del Kappa/Lambda ratio. Lo screening di interessamento cardiaco guidato dal sospetto clinico viene effettuato con NT-proBNP, troponina cardiaca, ecocardiografia, ECG; piuttosto che EMG, anti-MAG, anti-GM1 e consulenza neurologica per la polineuropatia. Non ultima la biopsia del grasso periombelicale o dei tessuti interessati da infiltrazione del clone amiloidotico (se presente) con colorazione rosso-Congo (6,54)

1.1.8 Stadiazione

La nuova classificazione WHO del 2016(14) definisce WM come un LNH e in quanto tale risponde alle regole di stadiazione di tale categoria (14).

La stadiazione ancora in vigore è quella di Ann Arbor del 1971 nonostante vi sia stata un'importante rivisitazione recente (Lugano classification)(66)

Tale sistema, oltre a considerare i siti anatomici coinvolti dalla malattia, riflette anche la localizzazione degli stessi in rapporto al diaframma. Vengono pertanto considerati quattro stadi di malattia [Figura 11]. I pazienti vengono ulteriormente suddivisi in due sottogruppi sulla base dell'assenza (A) o presenza (B) di sintomi sistemici. La presenza di massa bulky viene indicata con "X" mentre il coinvolgimento di un organo o sito extranodale viene identificato tramite la lettera "E" (67)

Stage	Features
I	Involvement of a single lymph node region or lymphoid structure (eg, spleen, thymus, Waldeyer's ring)
II	Involvement of two or more lymph node regions on the same side of the diaphragm
III	Involvement of lymph regions or structures on both sides of the diaphragm
IV	Involvement of extranodal site(s) beyond that designated E
For all stages	
A	No symptoms
B	Fever (>38°C), drenching sweats, weight loss (10% body weight over 6 months)
For Stages I to III	
E	Involvement of a single, extranodal site contiguous or proximal to known nodal site

Figura 11: Stadiazione di Ann Arbor. (67)

Gli esami di stadiazione constano di: TAC mdc total body; FD-PET-TAC (meno utilizzata nella WM se non nelle forme aggressive); una angiRMN e prelievo del liquor se si sospetta coinvolgimento del SNC; una

bronoscopia, colonscopia o EGDS per sospetto interessamento polmonare, gastrointestinale; BOM e agoaspirato midollare per localizzazione di malattia e indagini molecolari. (68)

Talvolta può essere sufficiente uno studio addominale o linfonodale mediante ecografia. E' fondamentale sottolineare quanto nella WM la localizzazione midollare è per definizione presente, quindi i pazienti dovrebbero essere tutti inquadrati nello stadio IV, per tale motivo assume maggior rilevanza nella pratica clinica il calcolo dello score prognostico IPPSWM nei pazienti candidati a terapia.

1.1.9 Prognosi: IPSSWM, rIPSSWM.

L'International Prognostic Scoring System per WM deve essere utilizzato solo per i pazienti che richiedono un trattamento. Il sistema non deve però mai essere utilizzato per determinare se iniziare o meno una terapia, poiché questa decisione resta una valutazione clinica (45)

I cinque parametri prognostici inclusi nell'International Prognostic Scoring System for WM (IPSSWM) (69) presentano i seguenti cut-off:

- Età > 65 anni
- Hb ≤ 11,5 g/dL
- Conta piastrinica ≤ 100.000 x10⁹/L
- β2-microglobulina > 3 mg/L
- IgM monoclonali > 7 g/dL

Questo sistema è basato su pazienti trattati con agenti alchilanti e analoghi nucleosidici. Vede assegnati 1 punto per ogni parametro, eccezion fatta per l'età a cui sono attribuiti 2 punti in quanto prognosticamente più influente. Lo score totale calcolato al momento dell'inizio della terapia stratifica i pazienti in tre gruppi:

- Low (score ≤ 1)
- Intermediate (score = 2)
- High (score ≥ 3)

Con un distinto 5-year survival rate rispettivamente di 87%, 68% and 36% (70)

Risk group	Stage 1 (low risk)	Stage 2 (intermediate risk)	Stage 3 (high risk)
Risk factors present ^a	0 or 1 (except age)	Age or 2	≥ 3
5-year OS (%)	87	68	36

^aRisk factors for IPSSWM include: age ≥ 65 years, Hb ≤ 11.5 g/dL, platelets ≤ 100 × 10⁹/L, B2M > 3 mg/L and IgM > 70 g/L. Other risk factors not included in IPSSWM include elevated serum LDH and low serum albumin.
B2M, β2 microglobulin; Hb, haemoglobin; IgM, immunoglobulin M; IPSSWM, International Prognostic Scoring System for Waldenström's macroglobulinaemia; LDH, lactate dehydrogenase; OS, overall survival; WM, Waldenström's macroglobulinaemia.

Figura 12: OS a 5 anni per stage IPSSWM. (6)

Per la WM esiste anche uno score revisionato (rIPSSWM) che si basa su età, albumina, albumina sierica e β2-microglobulina attribuendo i punteggi di cui in [Figura 13].

LDH è un fattore prognostico nel mieloma che è emerso avere ruolo prognostico anche nella WM.

Spesso i pazienti affetti da tale patologia sono anziani e tendono ad andare peggio se l'età è importante, per questo motivo i soggetti > 75 anni pesano 2 punti. Rispetto all'IPSSWM classico non sono inclusi emoglobina, piastrine e componente monoclonale. Questo perché la gran parte dei pazienti affetti è anemico e l'anemia stessa rappresenta un'indicazione alla terapia. Le percentuali di overall survival a 5-10 anni sono riportate in [Figura 14] e sono ovviamente diverse per le 5 categorie individuate:

- Very low (score 0)
- Low (score 1)
- Intermediate (score 2)
- High (score 3)
- Very high (score 4-5).

Questo score è stato sviluppato in pazienti che hanno subito chemioimmunoterapia Rituximab-based o regimi a base di inibitori del

proteasoma in prima linea. Quindi si tratta di un score innovativo e più vicino ai regimi attualmente in uso, differentemente dall'IPSSWM classico. Anche questo tuttavia non contiene parametri molecolari e citogenetici, che a differenza del mieloma, non sono ancora stati ben caratterizzati dal punto di vista prognostico e questo ne limita il loro utilizzo. (71)

	Points
Age < 65	0
Age 66–75	1
Age > 75	2
B2microglobulin > 4 mg/L	1
LDH > 250 IU/L	1
Serum albumin < 3.5 gr/dl	1

Figura 13: rIPSSWM. (71)

Stage	Score	% of patients	3-year WM related mortality	5-year OS	10-year OS
Very low	0	13%	0%	95%	84%
Low	1	33.5%	10%	86%	59%
Intermediate	2	25.5%	14%	78%	37%
High	3	16%	38%	47%	19%
Very high	4–5	12%	48%	36%	9%

Figura 14: OS a 5 e 10 anni rIPSSWM score. (71)

I pazienti affetti da WM, nonostante la loro incurabilità, vivono a lungo e con una buona qualità di vita.

Castillo et Al revisionando 5784 pazienti dal database SEER divisi in due decenni di età alla diagnosi 1991-2000 e 2000-2010 ha riscontrato una mediana di OS rispettivamente di 6 e 8 anni. Più precisamente nell'ultima decade c'è stato un 27% di rischio in meno di morire per tutte le cause e un 43% in meno di morire per cause WM-related. Una spiegazione sicuramente è legata ad un miglior capacità di trattare WM, oltre alle

comorbilità dei pazienti (patologie cardiovascolari e altre neoplasie in primis) (5).

1.1.10 Terapia

1.1.10.1 Indicazioni alla terapia

I pazienti con malattia asintomatica devono essere monitorati, ma senza iniziare una terapia. Il tempo mediano per il manifestarsi dei sintomi in questi pazienti può variare dai 5 ai 10 anni (51)

I pazienti con bassi livelli di emoglobina, alto livello di infiltrazione cellulare linfoplasmacitico, picchi di IgM e alti livelli di β 2M sono ad alto rischio di sviluppare i sintomi della WM. Non sono disponibili dati che supportino un inizio della terapia precoce, rispetto alla strategia di *watch and wait* (6)

I pazienti in questo setting possono essere visti ogni 3 mesi per valutazioni di tipo clinico, includendo il riferimento di eventuali sintomi, esame obiettivo e esami laboratoristici come l'esame emocromocitometrico comprensivo di pannello metabolico ed immunoglobuline sieriche. L'esame del fundus oculi sarebbe raccomandato annualmente in persone con IgM sieriche > 30 g/L, per l'elevato rischio di sindrome da iperviscosità (72)

I livelli di IgM monoclonali da soli non sono un'indicazione all'inizio della terapia [III,C], anche se recenti studi hanno dimostrato che livelli di IgM >60 g/L sono associati a imminente rischio di sviluppare iperviscosità e spesso sono considerati una indicazione per l'inizio del trattamento.

Le più comuni indicazioni per l'inizio del trattamento sono:

- anemia
- sintomi B e iperviscosità
- neuropatia
- organomegalia
- citopenia immuno-related (meno frequenti).(6)

Le indicazioni clinico-laboratoristiche ad iniziare una terapia sono meglio riassunte nella [Figura 15] (51)

Clinical indications for initiation of therapy
Recurrent fever, night sweats, weight loss, fatigue
Hyperviscosity
Lymphadenopathy: either symptomatic or bulky (≥ 5 cm in maximum diameter)
Symptomatic hepatomegaly and/or splenomegaly
Symptomatic organomegaly and/or organ or tissue infiltration
Peripheral neuropathy because of WM
Laboratory indications for initiation of therapy
Symptomatic cryoglobulinemia
Symptomatic cold agglutinin anemia
Autoimmune hemolytic anemia and/or thrombocytopenia
Nephropathy that is related to WM
Amyloidosis that is related to WM
Hemoglobin ≤ 10 g/dL
Platelet count $< 100 \times 10^9/L$

Figura 15: Indicazioni clinico-laboratoristiche alla terapia. (51)

La scelta del protocollo terapeutico molto dipende dalla stratificazione del paziente in base a: età, performance status, comorbilità. Le linee guida ESMO del 2018 distinguono i pazienti *fit* dagli *unfit*, ma ad ogni modo mancano precisi criteri di classificazione, lasciando largo spazio al giudizio clinico. Nonostante ciò viene rimarcato come l'IPSSWM score affidi ai pazienti ≥ 65 un punteggio quantomeno intermedio (l'età pesa 2 punti) (70)

1.1.10.2 Terapia di prima linea nel soggetto "fit" o "unfit"

Le terapie Rituximab-based (anticorpo monoclonale anti-CD20) sono fra le terapie più accettate per il trattamento di pazienti in prima linea. Tuttavia nel 30-80% dei casi si registra un aumento transiente delle IgM sieriche, con annesso peggioramento delle patologie IgM correlate che può durare anche per mesi, il cosiddetto "Rituximab induced IgM flare". Infatti quando vi sono elevati livelli di

IgM, a rischio di iperviscosità, è consigliato un intervento iniziale con plasmateresi. [V, B] (6)

La combinazione di rituximab, desametasone e ciclofosfamide per via orale o endovenosa (DCR X 6 cicli) induce una response rate maggiore rispetto a rituximab da solo, ma la risposta completa è poco frequente. DCR è associato a una PFS di circa 3 anni, un intervallo libero da trattamento >4 anni e una OS di 8 anni circa, con un profilo di tollerabilità favorevole sia nel lungo sia nel medio periodo. DCR o combinazioni simili rappresentano la prima scelta terapeutica in pazienti con basso burden tumorale (no citopenia maggiore, iperviscosità o organomegalia) e comorbilità. [III,B] (6)

La combinazione bendamustina + rituximab (BR) è associata a PFS e OS maggiori rispetto a R-CHOP. L'intensità delle dosi di bendamustina deve essere modificata in base alle caratteristiche del paziente, riducendo quindi il numero di cicli (4 cicli) o il dosaggio di ogni ciclo. Questo soprattutto nel paziente con funzionalità renale ridotta e anziano, tenendo conto anche degli effetti mielotossici e dunque infettivi dell'agente chemioterapico (73)

Solitamente si fanno 6 cicli ogni 4 settimane, con al giorno 1 somministrazione di Bendamustina (dai 50 ai 90 mg/m²) e Rituximab (375 mg/m²) mentre al giorno 2 solo Bendamustina.

BR rappresenta la prima opzione di trattamento in pazienti con elevato burden tumorale, non è ancora stato confrontato col regime DCR, né tantomeno sono disponibili dati a supporto dell'uso di BR in pazienti con iperviscosità. [II,B] (6)

Bortezomib (inibitore del proteasoma) da solo o in combinazione con rituximab (VR) è una molecola molto attiva nella WM, si suggerisce la somministrazione sottocutanea, a intervalli settimanali (1,6 mg/m²). In uno studio di fase II a lungo termine su BDR x 6 cicli (bortezomib/desametasone/rituximab) è stata registrata una PFS di 3,5 anni, una durata della risposta maggiore mediana di 5,5 anni e un tasso di OS di 66% a 7 anni. L'aggiunta di desametasone a bortezomib può portare a migliorie, ma la scelta tra VR e BDR dovrebbe essere sempre personalizzata.

L'effetto collaterale maggiore nell'uso di bortezomib è la neurotossicità. E' stato quindi studiato l'inibitore del proteasoma "neuropathy-sparing" Carfilzomib, testato in un piccolo trial, ma è risultato associato a tossicità cardiache. Associazioni di farmaci a base di bortezomib rappresentano la scelta d'elezione in pazienti con livello di IgM molto elevati o iperviscosità o con interessamento renale. [III, B] (6)

La combinazione con agenti chemioterapici più aggressivi (R-CHOP) o analoghi nucleosidici come la fludarabina (FR) o fludarabina/ciclofosfamide/rituximab (FCR) posso indurre tassi di risposta maggiori, ma riportano significative tossicità, non rappresentando di conseguenza una scelta indicata per il trattamento di pazienti con WM in prima linea, eccetto che in pazienti non candidabili ad altre chemioimmunoterapie.

L'uso di rituximab da solo riporta un basso tasso di tossicità, ma anche un tasso di risposta modesto. [III,B] (6)

Ibrutinib, inibitore della Bruton tirosin-chinasi (BTK), ha un elevato response rate nei pazienti con WM pretrattati, caratterizzandosi come il singolo agente più attivo nella WM (43)

Recentemente l'European Medicines Agency (EMA) ha approvato Ibrutinib per i pazienti che sono ricaduti dopo terapia di prima linea e come trattamento di prima linea per i pazienti "non eleggibili a chemioimmunoterapia". Nello studio iNNOVATE (74) la combinazione Ibrutinib-Rituximab rispetto al solo Rituximab nei pazienti naive o pretrattati (sensibili al rituximab) ha dimostrato a 30 mesi un PFS rate rispettivamente del 82% versus 28% [(HR) 0.2, 95% (CI): 0.11–0.38]. I dati non dipendono dalle mutazioni MYD88, CXCR4. Gli effetti avversi rilevati sono stati reazioni trasfusionali (1% vs 16%) e IgM flare (8% vs 47%), maggiori nel secondo gruppo; la frequenza di eventi emorragici maggiori associati ad Ibrutinib (4% in ambedue i gruppi) ed infine la frequenza di eventi di FA (12% vs 1%) e ipertensione (13% vs 4%) maggiore nel primo gruppo. Gli effetti collaterali di Ibrutinib dipendono dalla sua scarsa selettività nei confronti del target BTK.

Nonostante il mantenimento con rituximab possa portare qualche beneficio, la mancanza di dati significativi al momento ne sconsiglia l'adozione.

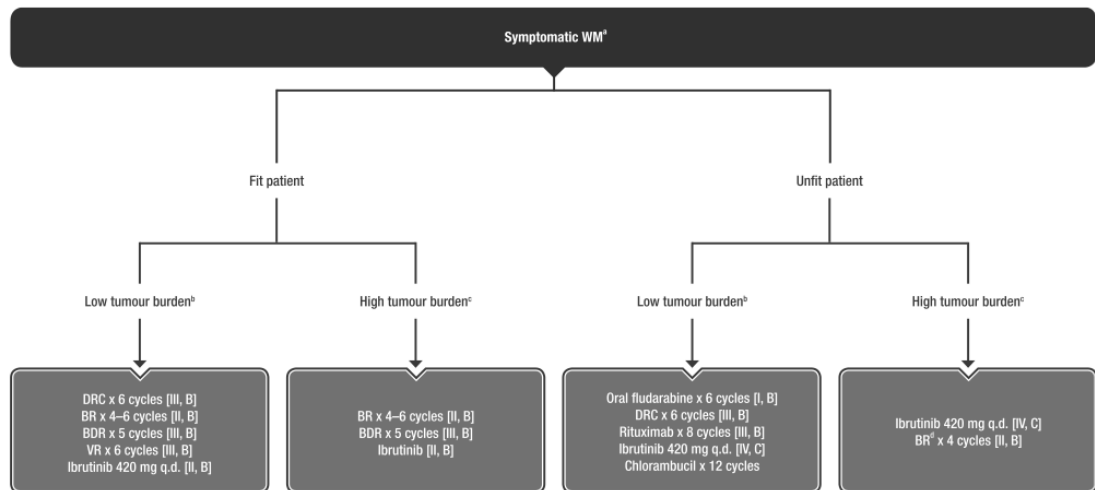


Figure 1. Treatment algorithm for patients with newly diagnosed WM.

^aIn case of hyperviscosity, plasmapheresis should be used concomitantly with systemic therapy [IV, A]. In case of high IgM levels and at risk for IgM-related complications, plasmapheresis may be used pre-emptively [IV, A].

^bNo major cytopaenias, hyperviscosity or organomegaly.

^cPresence of any of the following: severe cytopaenias, hyperviscosity, organomegaly.

^dBR for unfit patients may require dose reductions for bendamustine and use of G-CSF and/or antibacterial/antiviral prophylaxis.

BDR, bortezomib/rituximab/dexamethasone; BR, bendamustine/rituximab; DRC, rituximab/cyclophosphamide/dexamethasone; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; IgM, immunoglobulin M; q.d., once a day; VR, bortezomib/rituximab; WM, Waldenström's macroglobulinaemia.

Figura 16: terapia di prima linea nel soggetto con nuova diagnosi WM. (6)

1.1.10.3 Terapia nel soggetto "fit" o "unfit" recidivato/refrattario

Ibrutinib è raccomandato in pazienti con ricaduta inferiore ad 1 anno dall'ultima terapia, anche nei pazienti refrattari all'uso del rituximab [III, A] (75)

Pazienti wild type per MYD88 potrebbero non trarre un beneficio significativo dall'uso di ibrutinib, ma questa osservazione si basa su studi condotti su un numero esiguo di pazienti. In ogni caso, i pazienti con mutazioni non-MYD88^{L265P} possono beneficiare dell'uso di ibrutinib. Deve essere somministrato fino a progressione di malattia e in caso di discontinuazione della terapia le ricadute sono comuni. Il farmaco presenta una bassa tossicità, ma nel lungo periodo effetti collaterali come la fibrillazione atriale possono raggiungere il 10% (è quindi opportuna una valutazione ecocardiografica pre-terapia ed una maggiore attenzione nei pazienti ipertesi) (6)

In pazienti con ricaduta tra 1 e 3 anni ibrutinib rappresenta la scelta terapeutica più appropriata, ma in pazienti non candidabili a questo trattamento bisogna considerare l'uso di terapie a base di rituximab con ricaduta più lunga. (6)

In pazienti con ricaduta dopo i 3 anni, quindi, dopo una terapia a base di rituximab, si consiglia l'uso di una combinazione diversa sempre a base di rituximab: nel caso di una ricaduta dopo l'uso di DRC, si consiglia l'uso di BDR o VR [IV,B]. FC o FCR sono combinazioni efficaci, ma con elevate tossicità; l'uso è quindi consigliato in maniera molto cauta [III,C]. (6)

In pazienti con un periodo di remissione molto lungo (>4 anni) dopo la terapia di prima linea, si consiglia di riutilizzare la terapia della prima linea [IV,B].

Anche ibrutinib rappresenta una buona opzione terapeutica in pazienti con ricaduta in tempi molto lunghi. (6)

Il trapianto autologo di cellule staminali (ASCT) ha un ruolo nella gestione di un paziente giovane con malattia sensibile alla chemioterapia, ma anche con ricaduta precoce e un decorso clinico aggressivo. In pazienti con malattia che evolve a linfoma di alto grado, ASCT può essere parte della strategia di trattamento. Il ruolo del trapianto allogenico di cellule staminali è, invece, limitato ai trial clinici e può essere considerato solo in pazienti giovani ben selezionati, che hanno fallito al trattamento o che sono resistenti ai BTK inibitori. [IV,C](6)

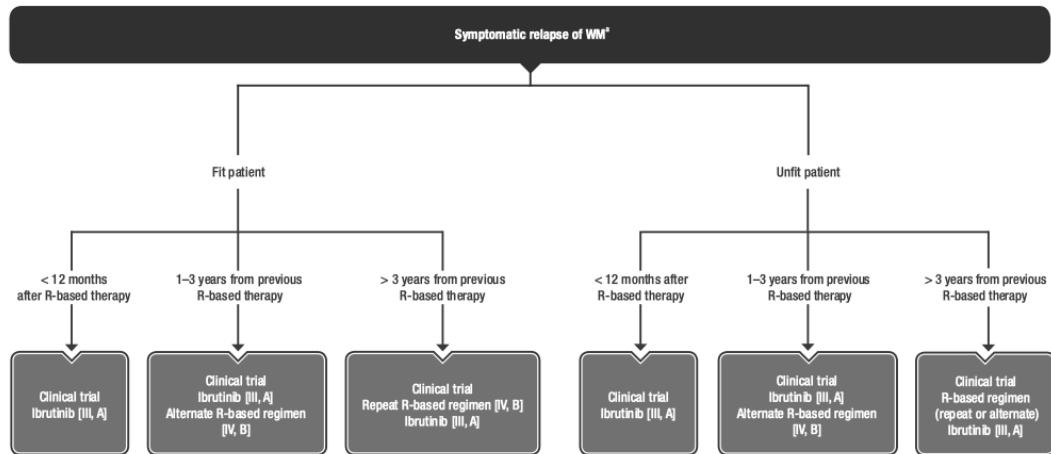


Figure 2. Treatment algorithm for patients with relapsed or refractory WM.

^aIn case of hyperviscosity, plasmapheresis should be used concomitantly with systemic therapy [IV, A]. In case of high IgM levels and at risk for IgM-related complications, plasmapheresis may be used pre-emptively [IV, A].

IgM, immunoglobulin M; R, rituximab; WM, Waldenström's macroglobulinaemia.

Figura 17: terapia nel soggetto recidivato/refrattario con diagnosi di WM.
(6)

1.1.10.4 Risposta alla terapia

La valutazione della risposta alle terapie si basa sulle misurazioni del livello di IgM monoclonali nel siero e sui relativi aumenti o diminuzioni, vedi [Figura 18]. Si suggerisce cautela nell'interpretare un picco di IgM come progressione di malattia. (76)

Diversamente il monitoraggio del midollo non rientra nella routine per la valutazione della risposta, tranne quando si cerca di definire una risposta completa.

La valutazione della risposta tramite imaging si può effettuare in pazienti con linfadenopatia/organomegalia o malattia extramidollare al basale, oppure nel caso in cui un riscontro clinico indica una ricaduta di malattia con trasformazione sospetta (TAC o MRI). La TAC-PET non è indicata in WM.(6)

Complete response (CR)	Absence of serum monoclonal IgM protein by immunofixation Normal serum IgM level Complete resolution of extramedullary disease, i.e., lymphadenopathy and splenomegaly if present at baseline Morphologically normal bone marrow aspirate and trephine biopsy specimen
Very good partial response (VGPR)	Monoclonal IgM protein is detectable ≥90% reduction in serum IgM level from baseline Complete resolution of extramedullary disease, i.e., lymphadenopathy/splenomegaly if present at baseline No new signs or symptoms of active disease
Partial response (PR)	Monoclonal IgM protein is detectable ≥50% but <90% reduction in serum IgM level from baseline Reduction in extramedullary disease, i.e., lymphadenopathy/splenomegaly if present at baseline No new signs or symptoms of active disease
Minor response (MR)	Monoclonal IgM protein is detectable ≥25% but <50% reduction in serum IgM level from baseline No new signs or symptoms of active disease
Stable disease (SD)	Monoclonal IgM protein is detectable <25% reduction and <25% increase in serum IgM level from baseline No progression in extramedullary disease, i.e., lymphadenopathy/splenomegaly No new signs or symptoms of active disease
Progressive disease (PD)	≥25% increase in serum IgM level from lowest nadir (requires confirmation) and/or progression in clinical features attributable to the disease

Note: Sequential changes in IgM levels may be determined either by M protein quantitation by densitometry or total serum IgM quantitation by nephelometry.

Figura 18: criteri di risposta alla terapia nel soggetto con diagnosi di WM. (76,77)

1.1.10.5 Follow up

Il follow up dovrebbe includere esami fisici, emocromo, esami chimici di routine ed elettroforesi del siero/quantificazione delle IgM ogni 3 mesi per i primi 2 anni, ogni 4-6 mesi per i 3 anni successivi e ogni 6-12 mesi successivamente. Particolare attenzione necessita una malattia che evolve e la presenza di tumori secondari. L'imaging non è raccomandato da routine. La sopravvivenza media in pazienti giovani super i 10 anni, nei pazienti più anziani la mediana di sopravvivenza è inferiore, ma la proporzione di pazienti che decede per cause dovute alla WM non è significativamente superiore. La comparsa di mielodisplasia (2-6%) e i tumori secondari si sviluppano (16-20%) soprattutto negli anziani (6,77)

1.1.10.6 Meccanismi di resistenza e nuovi scenari

La chemioterapia convenzionale in uso per WM è rappresentata pressochè dagli agenti alchilanti (ex: Ciclofosfamide), analoghi nucleosidici (ex: fludarabina) e soprattutto dalla bendamustina (strutturalmente contenente alchilanti e analoghi nucleosidici). Come per la maggior parte dei LNH indolenti, inizialmente c'è sensibilità alla chemioterapia ma ad ogni ricaduta e nuova linea di terapia tendono

a formarsi cloni neoplastici MDR per l'espressione di pompe di efflusso, mutazioni di p53, overespressione di pathway oncogeniche (MAPK o PI3K/AKT) (78)

La resistenza all'immunoterapia viene considerata come la mancanza di risposta alle terapia rituximab based oppure la progressione a 6 mesi dal trattamento. Il meccanismo di resistenza più studiato è il polimorfismo FcγRIIAR del gene codificante per il recettore che lega la porzione FC delle IgG , ciò affligge il legame all'anticorpo rendendo meno efficace il meccanismo ADCC. (78)

I meccanismi di resistenza agli inibitori del proteasoma (Bortezomib, Carfilzomi e le nuove molecole Ixazomib, Oprozomib) sono ancora poco conosciuti. (78)

Per quanto concerne i BTK inhibitors sappiamo che la risposta clinica viene influenzata dallo stato mutazionale di MYD88 e CXCR4. I pazienti MYD88 L265P WT hanno PFS minore rispetto ai mutati, indipendente da CXCR4 (79). Tuttavia le principali resistenze si sono evidenziate su CXCR4. In particolare le mutazioni nonsense sono associate a minor PFS rispetto al CXCR4 WT, a differenza delle mutazioni frameshit per cui non è stata vista differenza rispetto al CXCR4 WT (80). In vitro la mutazione S338X di CXCR4 comporta resistenza anche ai PI3K inhibitors (idelasib) e mTOR inhibitors (everolimus).

La resistenza all'Ibrutinib può essere aggirata mediante l'uso della piccola molecola "CXCR4 antagonist" Plerixafor e dell'IgG monoclonale CXCR4 antagonist Ulocuplumab. Mutazioni loss of function al sito del legame di Ibrutinib su CXCR4 (C481) o alla sua fosfolipasi C gamma2 a valle sono osservate nei pazienti vittime di progressione di malattia nonostante la terapia in Ibrutinib; lo stesso dicasi per Acalabrutinib e Zanubrutinib nei pazienti progrediti affetti da CLL. Quindi nonostante ibrutinib e BTKi di seconda generazione (Acalabrutinib e Zanubrutinib) servono nuove molecole, attualmente in studio, come Vecabrutinib, Pirtobrutinib, e MK1026: inibitori reversibili che non interagiscono sul sito C481 (78)

Venetoclax è un farmaco orale, inibitore della proteina antiapoptotica B-cell lymphoma-2 (BCL-2) e già approvato in Europa e US per il trattamento di CLL recidivata/refrattaria.

Uno studio di fase II sta validando efficacia e sicurezza di Venetoclax in monoterapia in pazienti WM precedentemente trattati. Si è riscontrato un ORR del 84% e un MRR del 81%, con mediana PFS di 30 mesi. Il trattamento è stato generalmente ben tollerato.

Nuovi agenti recentemente indagati sono checkpoint inhibitors come Pembrolizumab e anticorpi monoclonali anti-CD38 come Daratumomab (77)

1.1.10.7 Gestione farmacologica delle complicanze, terapie ancillari e profilassi nella WM.

Vengono proposte le nuove guidelines del BJH 2022 (77):

- La sindrome da iperviscosità è un'emergenza da trattare con plasmaferesi. [I,A]
- La CAD va trattata conservativamente, se è richiesta la terapia pensare a Rituximab o R-Bendamustina. [II,B]
- Il coinvolgimento d'organo da amiloidosi AL IgM è un'indicazione al trattamento con R-Bendamustina, se tollerato. [I,A]
- La crioglobulinemia sintomatica è indicazione al trattamento. [I,B]
- Il management della neuropatia deve seguire il IWWM-8 consensus.
- Il management della sindrome di Bing-Neel deve seguire le linee guida di *Minnema et Al.*
- La gestione del paziente deve interessare più specialisti e la clinica guida la terapia. [I,A]

Sempre BJH guidelines 2022 (77) sulle terapie ancillari e profilassi nella WM:

- Pazienti con anemia e saturazione transferrina bassa, basso burden di malattia, e assenza di sanguinamento GI rispondo al ferro parenterale. [II,B]
- La profilassi anti *Pneumocystis jiroveci* è raccomandata in chi fa terapia immunosoppressiva inclusi i BTKi. [I,B]

- La profilassi anti herpes zoster e anti varicella zoster è raccomandata in chi fa terapia immunosoppressiva, anche Bortezomib based. [I,B]
- Per tutti i pazienti WM sono raccomandati vaccinazioni contro influenza stagionale e Sars-CoV-2. [I,A]
- Per tutti i pazienti WM è raccomandato il vaccino antipneumococco. [I,B]
- Vaccini vivi come polio, herpes zoster, febbre gialla non sono raccomandati. [IB,]
- La profilassi antimicrobica è consigliata alle situazioni di ipogammaglobulinemia ed infezioni ricorrenti, eventualmente con supplemento delle immunoglobuline. [I,B]
- Prima di ogni linea di terapia i pazienti andrebbero testati per i virus epatitici ed andrebbe discusso con l'epatologo un'eventuale ripresa di terapia. [I,B]
- I pazienti che fanno Bendamustina e analoghi purinici dovrebbero ricevere emazie irradiate per tutta la vita. [I,B]

1.2 La macroglobulinemia di Waldenstrom nel paziente over 75

1.2.1 Stato dell'arte

L'età superiore ai 65 anni è un fattore prognosticamente negativo ampiamente riconosciuto nella WM. Tuttavia i dati relativi alla popolazione maggiore o uguale ai 75 anni sono piuttosto scarni. Un lavoro recente di *Zanwar et Al* basato sui dati di 949 pazienti con malattia attiva seguiti con una mediana di follow up di 8,4 anni ha riscontrato che il 19% dei pazienti è ≥ 75 , di questi il 98% ha svolto terapia. La mediana OS per la categoria ≥ 75 è risultata di 5.9 anni, significativamente diversa dagli 8.3 anni di una coorte della popolazione US matched per età, sesso e "calendar-year". Siccome l'età è un chiaro fattore confondente per le morti WM "unrelated" in questo studio è stato calcolato il cause-specific-survival (CSS) per pesare maggiormente le morti "WM". Per i pazienti ≥ 75 la CSS è di 10,9 anni rispetto ai 14,7 dei pazienti < 75 . L'impatto dell'età è quindi rappresentato da questa WM-specific survival minore della popolazione anziana rispetto alla

controparte giovane e per di più da un OS inferiore rispetto ad una coorte “matched” presa dalla popolazione generale (81)

La mortalità “non-WM related” bensì dipendente dalle comorbilità interessa maggiormente gli anziani rendendo complessa anche l’interpretazione dell’aggressività di malattia e dell’efficacia delle varie terapie sulla WM *sensu strictu*.

Uno studio multicentrico greco su 408 pazienti ha identificato che il 23% delle morti sono WM-unrelated quindi non dipendenti da progressione di malattia, trasformazione a DLCBL o MDS, infezioni o complicanze legate al trattamento, ma dipendenti soprattutto da eventi cardiovascolari o neoplasie non-ematologiche (polmone, prostata e colon) (82)

La mediana di OS per gli over 75 è risultata di 5,3 rispetto a 9,7 anni dei pazienti con o meno di 75 anni ($p < 0,001$). Il rate di mortalità “WM-unrelated” a 5 anni nella popolazione over 75 si è attestato al 17%, mentre il rate di mortalità “WM-related” al 22%, indicando che almeno il 40% dei pazienti > 75 non muore di macroglobulinemia di Waldenstrom. Questo ha estrema rilevanza nei trattamenti da applicare agli anziani e unfit, che quindi non dovranno unicamente incentrarsi sulla malattia neoplastica ed essere aggressivi, diversamente dallo scenario del paziente giovane affetto da WM. Questo studio sembra anche supportare l’ipotesi che la terapia rituximab-based (databile solitamente dopo il 2000) è associata ad una riduzione della mortalità WM-related e non accresce la mortalità WM-unrelated.

Resta tuttavia complesso comprendere se le seconde neoplasie solide nella mortalità WM debbano essere considerate un evento “related” o “unrelated”, essendo da un lato molto frequenti nell’anziano ma dall’altro riportate come anche possibile conseguenza della WM stesso o delle terapie (82)

1.2.2 Neoplasie associate

Per tentare di trovare una conclusione a quanto sostenuto nel paragrafo 2.1 *Castillo et Al* hanno pubblicato nel 2015 su *BJH* un’analisi di 681 seconde neoplasie

su un totale di 4676 pazienti affetti da WM registrati nel famoso SEER-13 database (83)

L'incidenza cumulativa di seconde neoplasie è 9.5% a 5 anni e 16.1% (circa 12% neoplasie solide e 4% per le ematologiche) a 10 anni.

Lo studio *Varettoni et Al*, in linea con i risultati, ha rilevato un'incidenza cumulativa di seconde neoplasie a 10 anni del 18% (12% solide, 6% ematologiche) (84)

Sempre secondo *Castillo et Al* le neoplasie solide crescono di incidenza nei primi 10 anni dalla diagnosi per poi diminuire, quelle ematologiche aumentano. Le seconde neoplasie ematologiche sembrano colpire maggiormente le donne.

I tumori associati non dipendono unicamente dalla terapia, ma anche da predisposizione genetica, terapia, disfunzione immunitaria e altri fattori ambientali. Per terminare, i pazienti con WM hanno un rischio del 49% più alto di seconde neoplasie rispetto alla popolazione generale US. Ricerche ulteriori sono richieste per spiegare questo trend, specialmente nel caso di LAM e DLCBL che rispettivamente possono derivare da terapia WM o trasformazione dello stesso. Al contempo tumori del polmone, melanoma, tratto urinario e tiroide risultano avere incidenze più elevate di altre forme solide probabilmente per un meccanismo di sorveglianza immunitaria difettoso nei pazienti Waldenstrom (83)

Un ulteriore studio ha esaminato l'insorgenza di neoplasie nei parenti di primo e secondo grado dei pazienti affetti da WM. Non sono state osservate differenze per quanto concerne i tumori solidi, ma curiosamente si è visto un aumento nel numero di LAM nei pazienti con familiarità per WM. Questo suggerisce come una cellula staminale ematopoietica difettosa possa predisporre a malignità linfoidi, tanto quanto mieloidi in questi cluster di pazienti (85)

1.2.3 Possibili terapie

Nei trial clinici attuali i pazienti anziani ed unfit sono sottorappresentati e mancano score adeguati a categorizzare i pazienti secondo una scala di fragilità, età, comorbilità. Si vedano [Figura 21] [Figura 22]. In virtù di ciò, nell'articolo *How i treat elderly patients with plasma cell dyscrasias (Aging,2018)* il gruppo di

Dimopoulos ha tentato di riassumere le principali strategie terapeutiche attuabili in questi casi. (86)

Per esempio la presenza di iperviscosità e malattia bulky nei pazienti fit è aggredibile con regimi Bortezomib based, controindicati in presenza di neuropatia. Al contempo la presenza di citopenie fa propendere verso regimi DRC, Bortezomib based, R-Bendamustina (BR) o Ibrutinib.

L'amiloidosi AL è responsiva a Bortezomib e BR.

Nei pazienti unfit invece fludarabina, clorambucile, DRC, rituximab monoterapia sono regimi accettabili con un burden di malattia low.

VR e ibrutinib sono preferibili in burden di malattia high.

Per le recidive precoci (inferiori ad 1 anno dopo terapia Rituximab based) è preferibile Ibrutinib.

Per le recidive tardive superiori a 2 anni dopo terapia Rituximab based è preferibile uno dei trattamenti di prima linea. (86)

1.3 Macroglobulinemia di Waldenström e disfunzione renale

1.3.1 Generalità

L'interessamento renale nei pazienti affetti da WM è un evento raro rispetto al mieloma (40%), forse dovuto alla ipercalcemia poco comune e allo scarso apporto di proteinuria Bence-Jones (87,88)

Uno studio retrospettivo esteso basato sull'esito delle biopsie renali in pazienti WM effettuate al Dana Farber Cancer Institute di Boston ha individuato una incidenza cumulativa di interessamento renale del 5,1% a 15 anni (89)

L'ampia varietà di manifestazioni renali sono per lo più legate alla proteina monoclonale, all'infiltrazione tissutale da parte della neoplasia linfoplasmocitica oppure ad una reazione immuno-mediata. Si esprimono clinicamente con ematuria microscopica, proteinuria (Bence-Jones positiva, in range nefrosico, o in range non nefrosico) e in misura minore con insufficienza renale acuta se vi è forte iperviscosità.

Istologicamente [Figura 19] prevalgono le forme glomerulari a loro volta divise in amiloidotiche (amiloidosi AL) e non amiloidotiche (come la glomerulonefrite crioglobulinemica) ; mentre tra le forme tubulo-interstiziali prevale l'infiltrazione diretta del rene da parte delle cellule neoplastiche. (87)

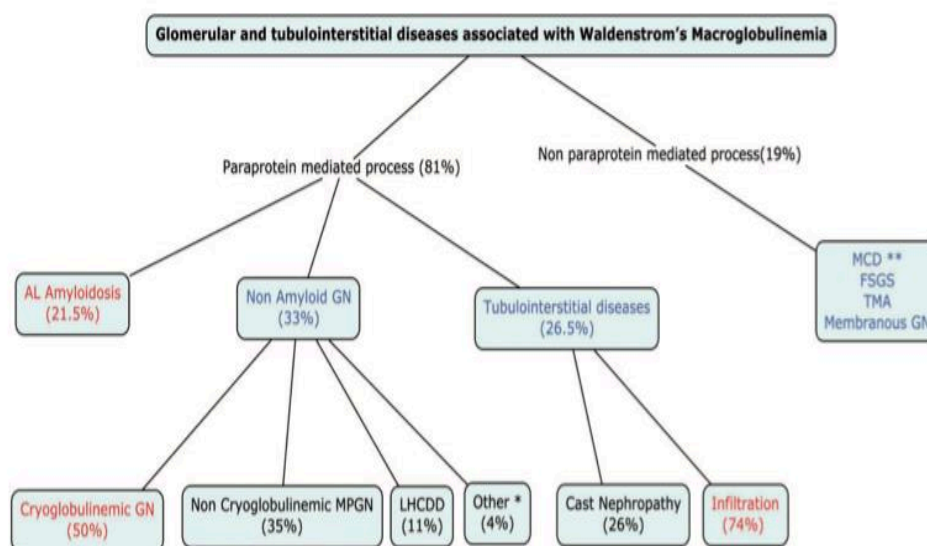


Figura 19: Panoramica sulle malattie renali glomerulari e tubulo-interstiziali associate a WM.(87)

1.3.2 Forme glomerulari amiloidotiche e non amiloidotiche

L'amiloidosi AL viene diagnosticata clinicamente e istologicamente con la presenza di depositi amorfi nel parenchima renale, positività alla colorazione rosso Congo con birifrangenza verde mela sotto luce polarizzata. Deve per altro sussistere un immunofenotipo con clonalità (kappa o lambda) (87)

La glomerulonefrite crioglobulinemica rimane la causa maggiore di pattern di interessamento renale glomerulare da WM non amiloidotico. *Morel-Maroger et Al* furono tra i primi ad identificare dei "trombi" intracapillari non ben definiti nei pazienti WM (90)

Si è oggi scoperto che la patogenesi dipende sostanzialmente da aggregati di IgM monoclonali che possono o meno precipitare con il freddo occludendo totalmente o parzialmente il lume capillare. Il pattern di malattia ricalca una glomerulonefrite

membranoproliferativa (MPGN) anche se tuttavia notiamo esistere una forma di MPGN non crioglobulinemica (87)

Tra le forme glomerulari non amiloidotiche esiste anche la malattia da deposito delle catene leggere e pesanti (LHCDD), assieme ad un gruppo di entità miste non fortemente dipendenti dalla WM, comprendenti: microangiopatia trombotica, nefropatia diabetica, glomerulosclerosi segmentaria, pattern membranosi (87)

1.3.3 Forme tubulo-interstiziali

L'infiltrazione diffusa interstiziale da parte delle cellule B clonali è sicuramente la forma preminente in questa sottocategoria e può portare all'incremento della pressione intratubulare con anche insufficienza renale acuta.

Un'altra lesione tubulare, più rara nella WM, è la cosiddetta "light chain cast nephropathy" ampiamente riconosciuta come causa maggiore di AKI nei pazienti affetti da mieloma multiplo, dove viene superata la capacità di riassorbimento tubulare delle FLCs precipitate che raggiungono l'ansa di Henle dove la proteina di Tamm-Horsfall viene prodotta. In tal luogo si formeranno dei "tubular cast" ostruenti e lesivi per il tubulo renale. Una proteinuria di Bence-Jones significativa è riscontrabile in meno del 5% dei pazienti Waldenstrom e questo spiega la bassa incidenza di cast nephropathy (87)

1.3.4 Nefrotossicità da terapia

Non sembrano esserci dati a sostegno di una nefrotossicità dei chemioterapici usati nella WM. Ad ogni modo i nuovi agenti come gli inibitori del proteasoma (Bortezomib) e gli inibitori della Bruton chinasi (Ibrutinib) sono stati associati ad un certo grado di nefrotossicità (87)

Se nel primo caso nei pazienti trattati per mieloma è stato riscontrata microangiopatia trombotica; analogamente per Ibrutinib nei pazienti trattati per leucemia linfatica cronica la FDA ha registrato casi di AKI, sindrome da lisi tumorale

e iponatremia. Per di più è stata evidenziata una chiara associazione tra Ibrutinib e Ipertensione (91–93)

1.3.5 Prognosi ed outcomes: studi a confronto.

Dal 1999 al 2015 1391 pazienti con diagnosi di WM sono stati visti al Bing Center del Dana Farber Cancer Institute di Boston. (89)

Di questi, 265 hanno dimostrato di avere un interessamento renale considerato come eGFR < 60 ml/min o proteinuria elevata in un momento qualsiasi del follow-up. A loro volta tra questi pazienti sono stati esclusi i soggetti con ipertensione e diabete cronici, con disfunzione renale non nota, con neoplasia del tratto urinario o per cui non era possibile svolgere la biopsia. Quindi di 52 biopsie renali effettuate, 44 hanno confermato una nefropatia WM related. Nella fattispecie il 25% con amiloidosi, 23% con glomerulonefrite crioglobulinemica, il 18% con infiltrazione diretta di malattia, il 9% con deposito delle catene leggere, il 9% con cast nephropathy. Tra le condizioni invece associate a WM con probabilità il 7% aveva microangiopatia trombotica, il 5% malattia a lesioni minime, il 2% nefropatia membranosa, il 2% tubulopatia a cristalli. Queste percentuali di fatto ricalcano lo studio di *Uppal et Al* (87)

La mediana di OS nei pazienti con biopsia che conferma una nefropatia WM related è di 11,5 anni, significativamente minore della mediana per la restante popolazione WM senza nefropatia WM-related che era di 16 anni (log rank P = 0,03) [Figura 20]. Tra l'altro l'OS è significativamente migliore in chi ha ottenuto un rialzo della velocità di filtrazione glomerulare dopo terapia, rispetto a chi è rimasto stabile o ha peggiorato la funzionalità renale. Non vi è invece distinzione in termini di OS per quanto concerne la sottocategoria di danno renale WM-related presente.

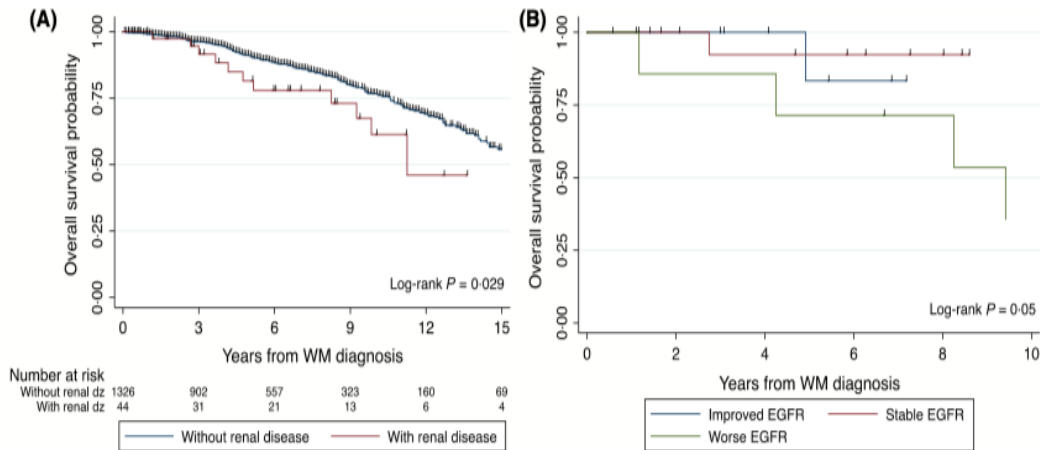


Figura 20: OS dei pazienti WM con o senza interessamento renale (A). OS dei pazienti WM in base al grado di risposta renale dopo terapia (B). (89)

E' importante sottolineare come lo studio di *Higgins et Al* abbia invece individuato una mancanza di correlazione tra risposta ematologica e outcome di risposta renale. Oltre al fatto che pazienti con glomerulopatia non amiloidotica hanno una mediana di OS maggiore (160,5 mesi) mentre quelli con glomerulopatia amiloidotica hanno una mediana di OS minore (64,4) seppur con una bassa significatività ($P=0,19$) (94)

Nei pazienti anziani la diagnostica differenziale di insufficienza renale include anche condizioni di danno renale WM-unrelated. Attribuire il danno alla malattia ematologica è fondamentale perché rappresenterebbe un potenziale indicatore di inizio terapia. La biopsia renale in questo contesto serve proprio a studiare con attenzione i pazienti WM con insufficienza renale e/o sindrome nefrosica di non chiara eziologia (95).

2. SCOPO DELLO STUDIO

2.1 Popolazione generale WM e comorbidità

Il razionale alla base di questa tesi è innanzitutto quello di fare il punto sulle caratteristiche cliniche e biologiche della casistica padovana di 153 pazienti affetti da Macroglobulinemia di Waldenstrom con diagnosi racchiusa tra Gennaio 1990 e Gennaio 2022. Più in particolare si è voluto analizzare incidenza e ruolo delle comorbidità (ipertensione, diabete, seconda neoplasia) sulla sopravvivenza libera da trattamento e sulla sopravvivenza generale. Questo in virtù del fatto che i principali trial clinici su paziente naive e su paziente ricaduto/refrattario nella WM spesso inseriscono le comorbidità nei criteri di esclusione della popolazione arruolabile. In questo modo viene a mancare una disamina “real-life” che consideri l’impatto delle terapie in virtù delle principali comorbidità che affliggono la popolazione WM. Per esempio, *Treon et Al* nella revisione su utilizzo di Ibrutinib nel paziente già trattato utilizza questi criteri di esclusione: pregresso linfoma del SNC, malattia cardiovascolare significativa, utilizzo di warfarin o farmaci che prolunghino intervallo QT(96) . Questo a maggior ragione se si considera il peso delle malattie cardiovascolari e neurologiche nella mortalità non neoplastica nei pazienti WM, come dimostra il recente studio di *Dalal N et Al* su *BJH* che più si è avvicinato ad una situazione real-life. Il lavoro indaga la “cause-specific-mortality” nei pazienti con WM. Rispetto alla popolazione generale i pazienti con LPL/WM hanno un rischio di morire per cause non neoplastiche pari al 20% (l’eccesso riguarda le malattie infettive, respiratorie, digestive, ma non cardiovascolari), il rischio è più alto ad un anno dalla diagnosi e decade più tardivamente.

Curiosamente la causa principale di morte sotto ai 65 anni resta il linfoma, mentre sopra ai 75 anni il linfoma è secondo alle patologie non neoplastiche. (97)

In secondo luogo questa tesi porrà l'accento su due sottocategorie di pazienti: il paziente con disfunzione renale e il paziente con età alla diagnosi ≥ 75 .

2.2 Pazienti con disfunzione renale

Il motivo per il quale si è deciso di analizzare la funzionalità renale nella WM, che sappiamo essere molto meno compromessa rispetto al mieloma multiplo (30-40%), è da ascrivere alla lettura del lavoro di *Vos et al*, svoltosi su una larga popolazione di soggetti affetti da WM e con biopsia renale positiva per malattia renale. (88,89)

I criteri di inclusione utilizzati in questo studio per definire la disfunzione renale sono stati eGFR < 60 ml/min o proteinuria positiva "at some time point", così facendo hanno rilevato 265/1391 (19%) pazienti WM con disfunzione renale, eziologicamente da indagare a livello istologico.

Applicando gli stessi criteri al nostro database (eGFR < 60 ml/min o proteinuria > 150 mg/24h "at some time point") si riscontravano 91/153 (59,5%) pazienti WM con disfunzione renale: una percentuale ben maggiore, tenendo presente però che nella nostra casistica le comorbilità (ipertensione, diabete, seconde neoplasie) non costituivano un criterio d'esclusione. Data questa discordanza si è preferito restringere il criterio di inclusione ad unicamente eGFR < 60 ml/min "at some time point" non pesando il più il dato proteinuria, sebbene questa possa essere contemporaneamente spia di danno renale e causa di disfunzione renale tubulare. In realtà la proteinuria nelle 24h, specie se Bence-Jones positiva e se non persistente o incrementale nel tempo, va interpretata come la presenza di catene leggere libere nelle urine a causa di una loro elevata concentrazione nel sangue e per la loro capacità di oltrepassare la barriera glomerulare (98). Non va quindi intesa come espressione di danno renale da parte della WM *sensu strictu*; non a caso, quando inizialmente l'abbiamo considerata un criterio di disfunzione d'organo, le curve di sopravvivenza della popolazione WM con disfunzione renale

dimostravano una TFS minore ma una OS maggiore rispetto ai pazienti WM con il rene sano, contrariamente alla pratica clinica. In conclusione, restringendo i criteri si è arrivato ad identificare 43/153 (28,1%) pazienti WM con disfunzione renale. Obiettivo del lavoro sarà studiare dal punto di vista clinico, bioumorale, molecolare questa popolazione confrontandola con i pazienti WM senza disfunzione renale. Inoltre andrà capito quanto possano influire il dato anagrafico e le comorbilità sulla disfunzione renale (ipertensione, diabete, altra neoplasia), che sono invece state escluse nel lavoro di *Vos et Al*. In terzo luogo andrebbero caratterizzate OS e TFS per i pazienti WM con disfunzione renale, confrontandole con i pazienti WM senza rene compromesso. In ultima analisi sarà valutato lo score prognostico di questi pazienti, la risposta alla terapia di prima linea e la risposta alla terapia di prima linea in termini di variazioni della funzionalità renale (“renal response”). (89) Quest’ultimo dato, a fronte di una corretta ponderazione dei fattori confondenti, potrebbe indicarci un eventuale movimento della funzionalità renale coerente o meno con l’andamento di malattia post-terapia, e quindi una possibile correlazione fisiopatologica tra WM e disfunzione renale. Se l’evidenza fosse abbastanza forte, dal punto di vista pratico questo potrebbe enfatizzare il ruolo della WM sull’insufficienza renale e dunque si potrebbe stressare su uno stretto monitoraggio della funzionalità renale in corso di malattia linfoproliferativa; si potrebbe anche proporlo come potenziale criterio d’inizio terapia oltre che un “allarme” per riconsiderare il dosaggio di alcuni regimi terapeutici ad eliminazione renale.

2.3 Pazienti con età alla diagnosi ≥ 75

La popolazione che *Zanwar et Al* definisce “very elderly” e dunque con età alla diagnosi ≥ 75 anni è stata poco caratterizzata in letteratura dal punto di vista clinico, biologico e molecolare. Lo scopo di questa tesi è quello di confrontare le suddette variabili rapportandole al paziente con età alla diagnosi < 75 anni (81). In aggiunta, i principali trial clinici su paziente naive e su paziente ricaduto/refrattario nella WM sono tarati su mediane di età inferiori ai 75 anni e la percentuale di over 65 o over 75 è relativamente ristretta, vedi [Figura 21] e [Figura 22].

	Setting Type	N	Median Age (range)	% age > 65 years
Treon S et al. NEJM 2015	Relapsed/Refractory Phase II	63	63 (44-86)	31
Treon S et al. JCO 2020	Relapsed/Refractory Phase II	63	63 (44-86)	31
Treon S et al. JCO 2018	First-line Phase II	30	67 (43-83)	63
Castillo J et al. 2022 Leukemia	First-Line Phase II	30	67 (43-83)	63
Kyriakou et al. JCO 2010	Relapsed/refractory Phase II	158	At diagnosis 49 (20-67) At ASCT 53 (21-70)	At diagnosis 1% At ASCT 5
Treon et Al JCO 2009	First line, Phase II	23	66 (48-86)	
Castillo et Al JCO 2021	Relapsed/refractory Multicenter, prospective, Phase II	32	At diagnosis 58 (38-72) At Venetoclax initiation 66 (39-80)	At venetoclax initiation 56%
Dimopoulos et Al. JCO 2007	First line Phase II	72	At diagnosis 69 (33-89)	63

	Setting Type	N	Median Age (range)	age > 75 years
Dimopoulos MA et al. NEJM 2018	Phase III randomized blinded	150	70 and 68	40% and 27%
Trotman et al. Clinical cancer research 2021	R/R Phase III randomized blinded (substudy)	31	67 (47-90)	
Tam CS et Al. Blood 2020 (ASPEN)	R/R and TN Phase III randomized	201	R/R 69 (52-90) and 69 (45-87) TN 72 (38-89) and 74 (50-81)	R/R 33% and 33% TN 37% and 22%
Paludo et Al, Annals of hematology 2018	R/R and TN Phase III randomized	160	R/R and TN 66 (30-85) and 68 (37-95)	

Figura21,22: tabella riassuntiva dei principali trial clinici su WM, incentrata su setting dello studio, numero di pazienti arruolati, età mediana, percentuale pazienti over 65 o over 75. (99) (100) (101) (102,103)(104) (105) (106) (107) (108)(109)

Non è chiaro cosa determini l'eccesso di mortalità nella popolazione over 75, lo studio "real-life" di *Dalal et Al* ha identificato un ruolo preponderante delle patologie non neoplastiche (cardiovascolari, neurologiche e così via) rispetto alla patologia linfoproliferativa a differenza del paziente under 65 che vede prevalere la mortalità per linfoma(97). In questa tesi si cercherà di valutare OS/TFS della sottopopolazione ≥ 75 anni (33/153 pazienti, 21,6%), confrontando i valori della variabili tra gruppo over75 e under75 con attenzione alle comorbidità, coerentemente al peso che hanno sul nostro database generale. Inoltre verranno studiate le terapie proposte per la popolazione ≥ 75 anni e < 75 anni, i regimi di terapia, le risposte associate. In aggiunta, il nostro studio mira a comprendere se debba essere rivisto il modo di approcciare il linfoma nel paziente anziano, per esempio se si potrà attuare un progressivo abbandono delle terapie aggressive paragonabili al paziente under75 con un corrispettivo utilizzo di terapie a dosaggi inferiori, con minor tossicità, monitorando molto di più l'impatto delle comorbidità sulla mortalità anziché accanirsi sulla patologia linfoproliferativa.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Costruzione database generale

Il database su cui si è svolto il lavoro è composto da 153 pazienti affetti da Macroglobulinemia di Waldenstrom seguito presso l'U.O.C. Ematologia ed Immunologia dell'Azienda ospedaliera – Università di Padova. La diagnosi è stata fatta tra Gennaio 1990 e Gennaio 2022 compreso. L'ultimo follow up considerato per tutti i soggetti in questione risale al 31/01/2022.

I criteri diagnostici utilizzati sono quelli stabiliti durante il secondo Workshop internazionale sulla WM: presenza di qualsiasi concentrazione di componente monoclonale IgM nel siero e infiltrato midollare da parte del linfoma linfoplasmocitico, documentabile tramite BOM, per almeno il 10% della cellularità (2).

Non sono stati considerati pazienti con diagnosi di MGUS-IgM. Le caratteristiche bioumorali riportate risalgono all'epoca della diagnosi nei pazienti che non hanno

ricevuto terapia per tutto il follow up. Per i soggetti trattati, diversamente, i valori riportati risalgono al momento di inizio terapia. Questo perché si è cercato di valutare l'andamento di alcuni indici bioumorali tra il momento pre-terapia di prima linea e post-terapia (dopo tutte le linee) o comunque all'ultimo follow up utile (in caso di terapia ancora in atto). Su tutti, questo è stato fatto per stratificare l'andamento della eGFR e della proteinuria delle 24 ore pre e post terapie, sul modello del lavoro di *Vos J et Al.* (89)

Le caratteristiche molecolari (MYD88, CXCR4, anomalie citogenetiche) e istologiche (% infiltrato alla BOM) riportate sono da far risalire alla diagnosi; lo stesso vale per le caratteristiche cliniche e le comorbidità (eccezion fatta per le seconde neoplasie e la polineuropatia spesso insorte in corso di follow-up o trattamento).

A proposito delle caratteristiche molecolari, anch'esse rilevate alla diagnosi, la mutazione L265P di MYD88 è stata ricercata tramite PCR (polymerase chain reaction) allele specifica; la mutazione sul codone 338 di CXCR4 è stata riscontrata mediante sequenziamento Sanger e confermata da PCR allele specifica; le analisi di citogenetica classica sono state fatte sull'aspirato midollare dopo la stimolazione delle B cellule con il fattore di crescita CpG.

Oltre al database generale di 153 pazienti, sono state create altre due sottopopolazioni con questi criteri di inclusione: popolazione con disfunzione renale (eGFR < 60 ml/min/1,73m² in un qualsiasi momento del follow-up) e la popolazione con età alla diagnosi ≥75 (89,110).

eGFR (estimated glomerular filtration rate) è stato calcolato a partire dal valore di creatinina sierica, dall'età, e del sesso del soggetto secondo la formula CKD-EPI 2021 (111).

Tra i parametri più tecnici da interpretare che sono stati raccolti nel database annoveriamo la stratificazione secondo score IPSSWM, di cui si è già parlato nel paragrafo prognosi. Si è stressato anche sul dato "risposta renale" per individuare di quanto l'eGFR sia cambiato pre e post terapie nella sottopopolazione con disfunzione renale, rifacendosi al lavoro di *Vos J et Al.* Precisamente sono state individuate tre categorie di pazienti: better renal response, worse renal response,

stable renal response rispettivamente per aumento dell'eGFR $\geq 25\%$, diminuzione $\geq 25\%$, "stable" in tutti gli altri casi.

Anche il dato terapia è stato ben caratterizzato nelle varie linee di terapia con una suddivisione dei pazienti in "categorie di terapia":

- Chemo-free (principalmente pazienti che hanno svolto terapie a base di Rituximab, Bortezomib o Ibrutinib senza l'utilizzo di chemioterapici).
- Chemoimmunotherapy (la gran parte dei pazienti, i quali hanno svolto regimi anti CD20 + chemioterapico, su tutti Rituximab + Bendamustina)
- Chemotherapy (pazienti trattati per lo più in passato con regimi unicamente a base di chemioterapici, su tutti Clorambucile).

Inoltre è stato raccolto il dato Ibrutinib specificandone la collocazione temporale d'utilizzo nell'arco di malattia. La risposta alla terapia riportata ricalca i criteri elencati nel paragrafo dedicato. (77)

3.2 Tabelle e analisi statistiche

Le tabelle che verranno presentate riassumeranno per ogni popolazione:

- dati clinici (vale a dire sostanzialmente caratteristiche fisiologiche, manifestazioni di malattia, complicanze di malattia, comorbidità associate e un accenno alla terapia di prima linea con relativa risposta)
- dati biologici (parametri bioumorali e molecolari).

Le variabili qualitative sono riportate secondo frequenza assoluta e frequenza relativa, mentre per le variabili quantitative è riportato il valore mediano con associato range interquartile (IQR).

Le tabelle riguarderanno innanzitutto la popolazione generale, dopodiché verranno effettuati dei confronti tra le principali variabili cliniche e biologiche tra popolazioni. Più precisamente si è andati ad indagare la presenza o meno di differenza statisticamente significativa (intesa come P value $< 0,05$) per ciascuna variabile fra popolazione con disfunzione renale e senza disfunzione renale; successivamente fra popolazione con età ≥ 75 anni alla diagnosi e popolazione con età < 75 anni alla diagnosi.

Per confrontare le frequenze assolute delle variabili qualitative e le mediane delle variabili quantitative si è proceduto rispettivamente con l'applicazione del test del Chi-quadro e del Mann-Withney test. Le analisi statistiche sono state svolte utilizzando GraphPad 9.3.1 version (350).

Inoltre si è considerato anche di inserire una tabella relativa alle frequenze relative dei principali indicatori prognostici che compongono lo score IPSSWM confrontati con il lavoro originale, a rafforzare l'affidabilità del campione statistico in esame.

L'ultima tabella inserita riguarda lo studio del dato "risposta renale".

3.3 Grafici e curve di sopravvivenza

Sulla base delle differenze statisticamente significative e delle tendenze emerse dall'analisi si è andati a rendere visibile graficamente le variabili cliniche e biologiche che in qualche modo differiscono fra le popolazioni confrontate (under75 vs over75; disfunzione renale vs no disfunzione renale).

Dunque sono stati realizzati istogrammi e grafici a barre, rispettivamente per confrontare la distribuzione di frequenze assolute di variabili quantitative tra popolazioni e la distribuzione di frequenze relative di variabili qualitative fra popolazioni. Si è cercato anche di creare dei grafici a torta delle terapie svolte in prima linea, dei regimi di terapia attuati e della suddivisione delle risposte alla terapia di prima linea enfatizzando il confronto tra popolazione over75 e under75. Le analisi di sopravvivenza hanno analizzato la OS (overall survival) e la TFS (treatment free survival) della popolazione generale e delle sottopopolazioni under75/over75, disfunzione renale/no disfunzione renale.

Inoltre si è stressato sulle curve OS,TFS relative alle comorbidità, analizzandone sia il numero (zero, una, due, tre) che la tipologia (zero, ipertensione, diabete, altra neoplasia).

La curva di sopravvivenza OS descrive la percentuale di pazienti vivi in ordinata rapportato ai mesi trascorsi dalla diagnosi fino all'evento morte in ascissa.

Diversamente la curva TFS descrive la percentuale di pazienti liberi da trattamento di seconda linea in ordinata, rapportato all'intervallo di tempo trascorso dall'inizio della terapia di prima linea fino all'evento morte o inizio terapia di seconda linea, in ascissa. Si è preferito riportare una TFS anziché una PFS (progression free survival) per la maggior precisione del dato "data inizio terapia di seconda linea" rispetto al dato "data progressione di malattia" riportato nel database.

I programmi utilizzati sono Excel versione 16.54 (21101001) e GraphPad 9.3.1 version (350).

4. RISULTATI

4.1 Risultati della popolazione generale: database WM patavino (1990-2022)

Tabella 1: caratteristiche cliniche, bioumorali, molecolari della popolazione generale affetta da WM registrata nel database patavino (1990-2022). I valori risalgono alla diagnosi (pazienti non trattati) o ad inizio terapia (pazienti trattati).

Caratteristiche Cliniche (n=153)	Risultati	Caratteristiche Biologiche(n=153)	Risultati
Sesso, n (%) Maschio Femmina	102 (66,7) 51 (33,3)	Emoglobina, g/L, median (IQR)	119 (98-137)
Età, anni, mediana (IQR) ≥ 75, anni, n (%) >65, anni, n (%) <65, anni, n (%)	66 (56-73) 33 (21,6) 79 (51,6) 74 (48,4)	Piastrine, x10 ⁹ /L, median (IQR)	233 (182-302)
Adenopatia o splenomegalia, n (%) Sì No	78 (53,1) 69 (46,9)	Neutrofili, x10 ⁹ /L , median (IQR)	3,74 (2,87-4,87)
Polineuropatia, n (%) Sì No	33 (21,9) 118 (78,1)	Componente monoclonale IgM, g/L, median (IQR)	14,15 (6,3-23,2)
Amiloidosi, n (%) Sì No	7 (4,6) 144 (95,4)	B2-microglobulina, mg/L, median (IQR)	3,00 (2,23-4,23)
Deficit cQ1inibitore, n (%)		LDH, U/L, median (IQR)	179 (135-247)

Si No	1 (0,7) 152 (99,3)		
CAD, n (%) Si No	2 (1,3) 149 (98,7)	PCR, mg/L, median (IQR)	5,7 (2,9-15)
Disfunzione renale, n (%) Si No	43 (28,1) 110 (71,9)	FLCs, n (%) Kappa Lambda	105 (77,8) 30 (22,2)
Ipertensione, n (%) Si No	52 (45,6) 62 (54,4)	IgM, g/L , mediana (IQR) IgG IgA	17,2 (7,6-25,3) 8,4 (6,0-11,0) 1,17 (0,5-1,9)
Diabete, n (%) Si No	9 (6,0) 140 (94,0)	Infiltrato midollare, %, mediana (IQR)	0,4 (0,2-0,7)
Altra neoplasia, n (%) Si No	36 (25,7) 104 (74,3)	Myd88 L265P, n (%) Mutato WT	82 (91,1) 9 (8,9)
Terapia, n (%) Si No	91 (59,9) 61 (40,1)	CXCR4 S338X, n (%) Mutato WT	11 (24,4) 34 (75,6)
IPSSWM score, n (%) Low Intermediate High	24 (31,6) 27 (35,5) 25 (32,9)	Anomalie citogenetiche, n (%) Si No	26 (41,9) 36 (58,1)
Risposta alla terapia 1° linea, n (%) CR,VGPR,PR SD,MR,PD	56 (70,0) 24 (30,0)		

Legenda: CAD=cold agglutinine disease. IPSSWM=international prognostic scoring system on Waldenstrom macroglobulinemia. CR=complete response. VGPR=very good partial response. PR=partial response. SD=stable disease. MR=minor response. PD=progressive disease. LDH=lattato deidrogenasi. PCR=proteina C reattiva. FLC=free light chains. IQR=range interquartile.

Sono elencati in [Tabella I] i dati riguardanti la popolazione generale (153 pazienti) affetta da WM registrati nel database patavino, che ricordiamo estendersi dalle prime diagnosi fatte a Gennaio 1990 fino alle ultime diagnosi risalenti a Gennaio 2022, considerando come data di ultimo follow-up e chiusura del database il 31 Gennaio 2022. I valori sono riportati alla diagnosi per i pazienti non trattati e ad inizio terapia per i pazienti trattati. Per alcune variabili non sono riportati i dati di tutti i 153 pazienti, questo è motivato dalla mancata ricerca della suddetta variabile nella totalità dei casi. L'età mediana alla diagnosi di 66 anni riflette la caratteristica che ha la WM di colpire persone anziane. Puntualmente i maschi

(66,7%) sono più interessati delle femmine (33,3%). La frequenza relativa di pazienti “very elderly” ≥ 75 anni ammonta al 21,6%, con un’equa distribuzione dei pazienti sopra e sotto i 65 anni. Circa la metà dei pazienti hanno avuto linfadenomegalia o splenomegalia. Per quanto concerne le complicanze di malattia il 21,9% dei pazienti ha sviluppato polineuropatia (contro il 40-50% riportato negli studi); il 1,3% CAD (contro il 3% degli studi); il 4,6% amiloidosi AL (contro il 3% degli studi) (59) (53) (56). La disfunzione renale è stata documentata nel 28,1 % dei pazienti.

E’ stato trattato il 59,9% dei pazienti, e nel 70% dei casi c’è stata una risposta alla terapia di prima linea classificabile come “major response” quindi CR (complete response), VGPR (very good partial response) o PR (partial response) (77). La tipologia di terapia proposta verrà meglio affrontata nel paragrafo “Risultati della popolazione over75”.

Per quanto riguarda i parametri biumorali, considerando i valori che partecipano alla stesura dello score IPSSWM, sono state notificate le seguenti mediane: Hb 119 g/L (98-137), piastrine $233 \times 10^9/L$ (182-302), Beta2-microglobulina 3,00 mg/L (2,23-4,23), Componente monoclonale IgM 14,15 g/L (6,3-23,2), LDH 179 U/L (135-247). Inserendo gli opportuni cut-off e confrontando le nostre frequenze relative per ciascuna variabile con le frequenze relative dello studio IPSSWM di *Morel et Al*, non notiamo sostanziali differenze se non per quanto concerne la componente monoclonale, vedi [tabella II]. Questo a suggello dell’affidabilità dei dati ricavati dal database WM patavino. Inoltre, stratificando la popolazione in IPSSWM low (0,1), intermediate (2), high (≥ 3) rispettivamente si rilevano le seguenti incidenze: low 31,6%, intermediate 35,5%, high 32,9%; paragonabili a quelle relative descritte sempre nello studio *Morel et Al* (27%, 38%, 35%). (70)

Tabella II: Distribuzione dei fattori di rischio nei pazienti WM richiedenti terapia confrontati con lo studio IPSSWM di Morel et Al, Blood 2009.(70)

caratteristiche	Database WM	IPSSWM study
Hb < 11,5 g/dL , %	59,3%	65%
PLTs < 100 x10 ⁹ /L , %	5,4%	9%
B2-microglobulina > 3 mg/L, %	50%	56%
Componente monoclonale IgM > 70 g/L, %	0%	7%
Età > 65 anni, %	51,6%	57%

Legenda: Hb=hemoglobin. PLTs=platelets

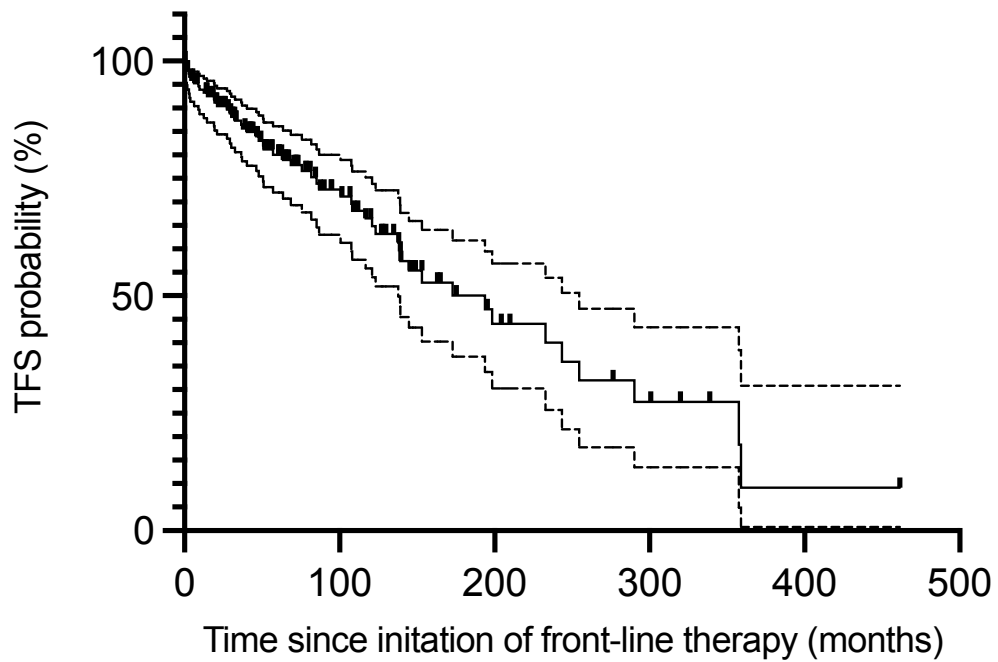
Il dato mediano d'infiltrato midollare si attesta attorno al 40% (20-70) ponendosi leggermente sotto al 60% riscontrato per esempio nello studio di *Castillo et Al* (112). La mutazione L265P del gene *MYD88* è risultata presente nel 91,1% (82/91) dei pazienti testati. Analogamente, il 24,4% (11/45) dei pazienti testati presentava la mutazione S338X del gene *CXCR4*. Pertanto, abbiamo osservato che si tratta di percentuali sovrapponibili ai dati presenti in letteratura (32) (36)(24).

Anomalie citogenetiche sono state documentate nel 41,9% (26/62) dei pazienti testati. La più frequente, come atteso, è la delezione del braccio lungo del cromosoma 6 (del6q) nel 13,7%, seguita dalla delY nel 11,7% e dalla del11q nel 9,8% dei casi.

4.1.1 Sopravvivenza e comorbilità della popolazione generale database WM patavino (1990-2022)

L'analisi delle curve di sopravvivenza dei 153 pazienti del database WM patavino evidenzia una mediana di overall survival (OS) pari a 247,1 mesi [IC 95% 184,5-309,7] quindi circa 20 anni. Per quanto riguarda la treatment free survival (TFS) la mediana risale a 193,7 mesi [IC 95% 132,2-255,3], quindi poco più di 16 anni. [Figura 23]

A



B

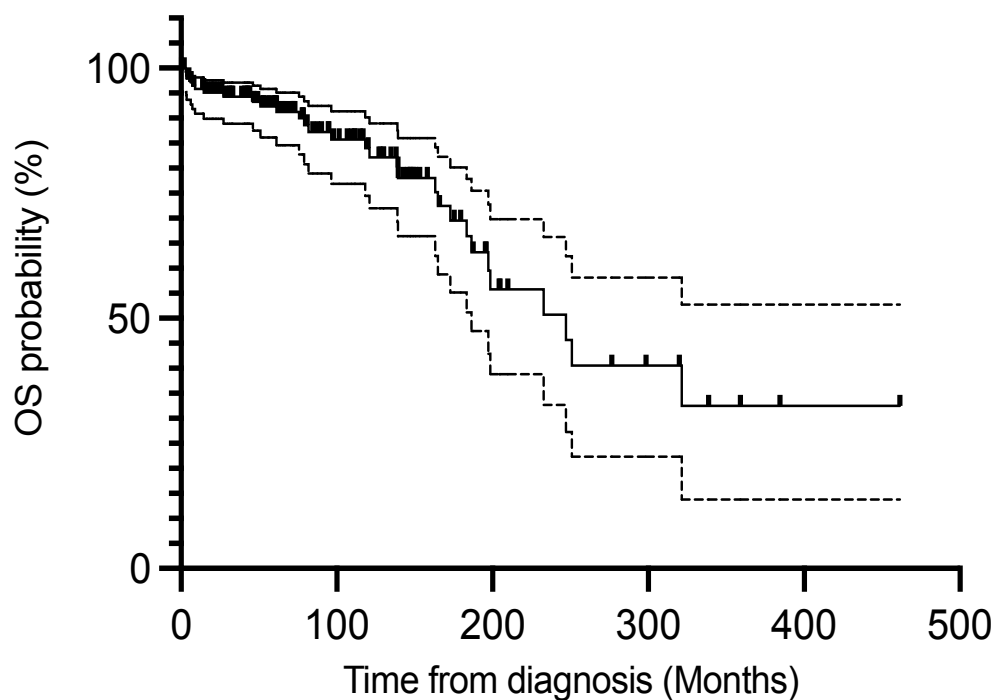


Figura 23: **A)** Treatment free survival (TFS) dei 153 pazienti affetti da Macroglobulinemia di Waldenstrom [Mediana TFS 193,7 mesi IC95% 132,2-255,3] **B)** Overall survival (OS) dei 153 pazienti affetti da Macroglobulinemia di Waldenstrom. [Mediana OS 247,1 mesi IC 95% 184,5-309,7].

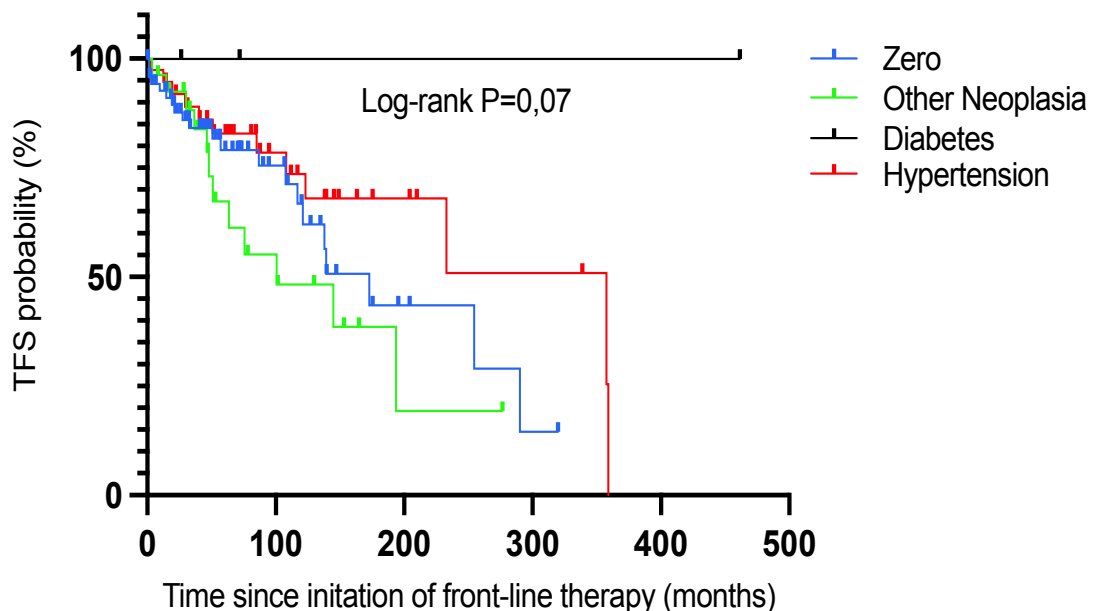
Inoltre, si è studiato l'impatto del dato comorbilità sulla sopravvivenza dei pazienti con WM. Più in particolare, sono state confrontate le singole comorbilità tra loro e successivamente sono state raggruppate in modo da ottenere informazioni sull'andamento dei pazienti con plurime patologie. E' opportuno precisare che si è osservata una importante differenza in termini di numerosità dei vari sottogruppi che in parte rende i dati successivamente presentati di limitata potenza statistica, D'altronde, i pazienti con zero comorbilità, ipertesi, diabetici e con seconda neoplasia presi per gruppi singoli sono rispettivamente 71, 37, 3, 27. Analogamente, pazienti con zero o una, due, tre comorbilità in contemporanea sono rispettivamente 71, 66, 13, 1. Ad ogni modo, dalle nostre analisi è emerso che vi è una tendenza per i pazienti WM con altra neoplasia ad avere una mediana di OS minore rispetto alla mediana di OS dei pazienti WM con zero comorbilità, ipertesi, diabetici (rispettivamente 164,9 mesi [IC 95% 64,1-265,8]; 251,1 mesi [179-323,1]; non raggiunta; non raggiunta; Log-rank $p = 0,085$). Lo stesso dicasi per la TFS, anche in questo caso si è osservata una mediana TFS minore nei pazienti con altra neoplasia se rapportata ai pazienti con zero comorbilità, ipertesi, diabetici (rispettivamente 100,7 mesi [IC 95% 2,2-199,2]; 173 mesi [114,2-231,8]; 357,7 mesi [143,7-571,7]; non raggiunta; Log-rank $p = 0,07$). Quindi il dato seconda neoplasia nella WM è una comorbilità poco frequente ma che sembra pesare di più in termini di sopravvivenza e di recidiva. Gli ipertesi WM sembrano avere mediane di TFS ed OS maggiori rispetto ai pazienti WM con zero comorbilità. [Figura 24]

Provando a confrontare le sopravvivenze dei pazienti con due comorbilità fra loro (neoplastici+ipertesi vs diabetici+ipertesi) non si sono ottenuti risultati significativi a causa della scarsa numerosità dei campioni in esame.

L'analisi dell'outcome dei pazienti affetti da WM e multiple comorbilità ha evidenziato che vi è differenza statisticamente significativa in termini di OS fra i pazienti con zero, una comorbilità e i pazienti con due o più comorbilità. Le mediane di OS risultano non raggiunta, 251,1 mesi [IC 95% 179-323,1], 183,5 mesi [67,9-299,0] con una Log-rank $p = 0,02$ rispettivamente per i pazienti con una, zero,

due comorbilità. Le mediane di TFS risultano rispettivamente per i pazienti con una, zero, due, tre comorbilità pari a 232,8 mesi [IC 95% 85,7-379,9], 173 mesi [114,2-231,8], 81,9 mesi [0-174,8], non raggiunta con una Log-rank $p = 0,094$. Avere multiple comorbilità pesa in termini di sopravvivenza globale, ma in misura minore se consideriamo la treatment free survival. Nuovamente, i pazienti con una comorbilità (per circa il 53% ipertesi) sembrano andare paradossalmente meglio in termini di OS rispetto a chi ha WM senza comorbilità. [Figura 25] Tuttavia la nostra analisi è limitata dall'assenza di dati completi sulle comorbilità che la letteratura ha dimostrato essere maggiormente coinvolte nella mortalità WM-unrelated (eventi cardiovascolari, infettivologici, gastroenterologici e così via). Infatti dal nostro punto di vista abbiamo considerato inizialmente le comorbilità che potevano costituire un fattore confondente nella patogenesi della disfunzione renale (diabete, ipertensione, altra neoplasia) estendendole successivamente all'analisi della popolazione globale.

A



B

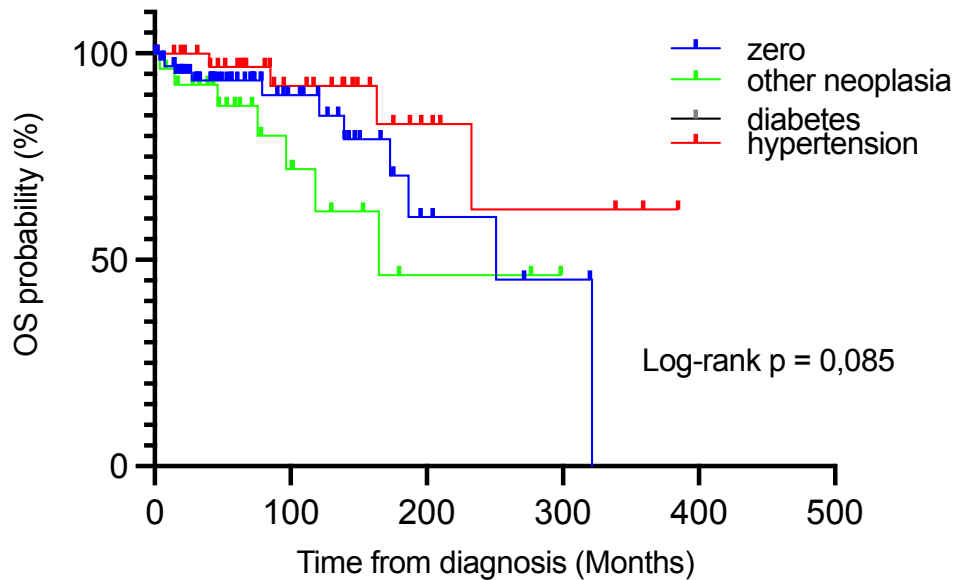
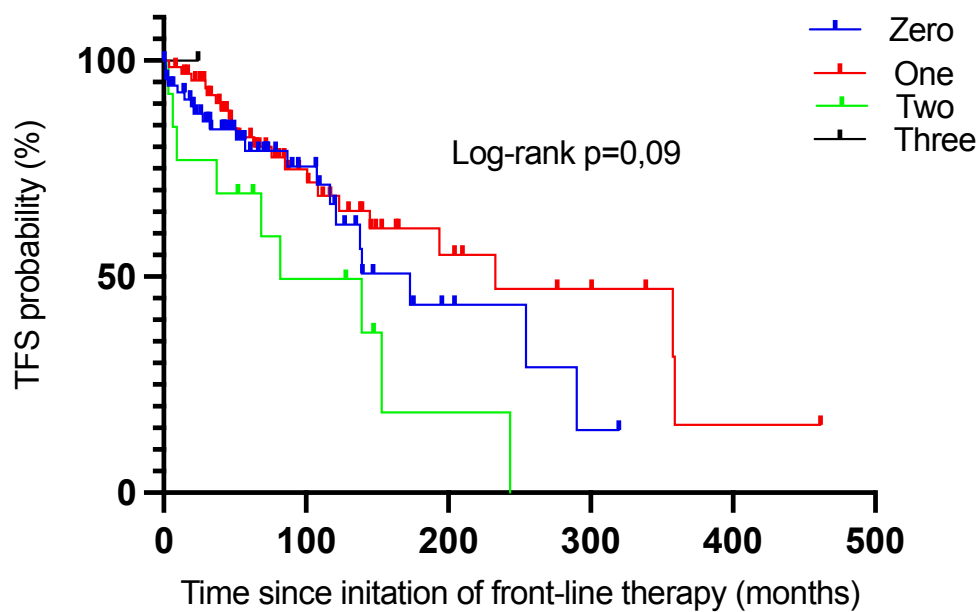


Figura 24: **A)** Treatment free survival (TFS) a confronto: pazienti con zero comorbidità, altra neoplasia, diabete o ipertensione. **B)** Overall survival (OS) a confronto: pazienti con zero comorbidità, altra neoplasia, diabete o ipertensione.

A



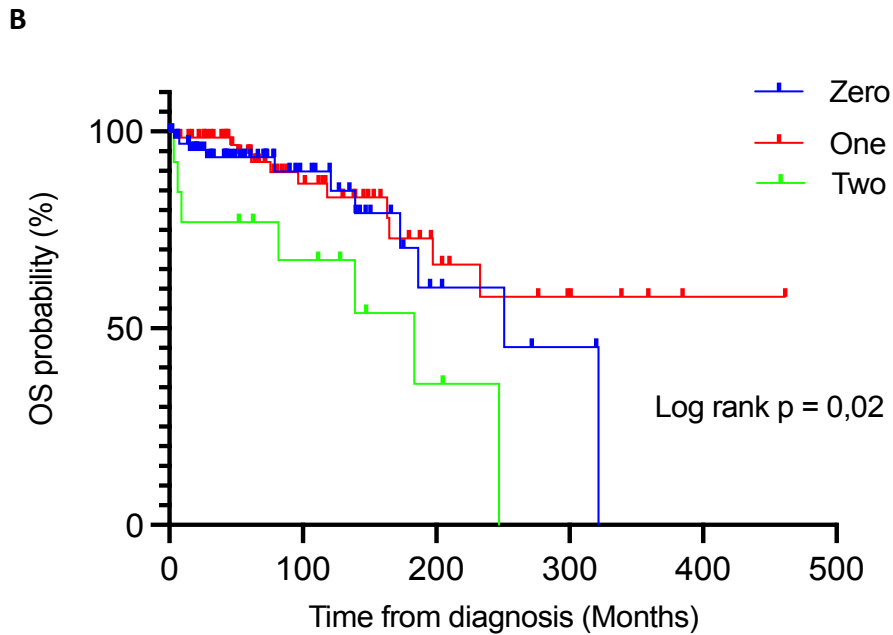


Figura 25: A) Treatment free survival (TFS) a confronto: pazienti con zero, una, due o tre comorbidità. **B)** Overall survival (OS) a confronto: pazienti con zero, una, due comorbidità.

4.2 I risultati della popolazione con disfunzione renale: database WM patavino (1990-2022).

Tabella III: caratteristiche cliniche a confronto fra le popolazioni con e senza disfunzione renale.

Caratteristiche cliniche	Disfunzione renale (n=43)	No disfunzione renale (n=106)	P value
Sesso, n (%)			
Maschio	28 (65,1)	74 (69,8)	0,6
Femmina	15 (34,9)	32 (30,2)	
Età, anni, mediana (IQR)			
≥ 75, anni, n (%)	14 (32,6)	19 (17,9)	0,051 < 0,0001
>65, anni, n (%)	37 (86,0)	46 (43,4)	
<65, anni, n (%)	6 (14,0)	60 (56,6)	
Adenopatia o splenomegalia, n (%)			

Si	26 (60,5)	40 (38,8)	0,02
No	17 (39,5)	63 (61,2)	
Polineuropatia, n (%)			
Si	7 (16,3)	26 (24,5)	0,3
No	36 (83,7)	80 (75,5)	
Amiloidosi, n (%)			
Si	6 (14,0)	1 (0,9)	0,0007
No	37 (86,0)	105 (91,1)	
CAD, n (%)			
Si	2 (4,7)	0 (0,0)	0,03
No	41 (95,3)	106 (100,0)	
Ipertensione, n (%)			
Si	21 (51,2)	30 (26,1)	0,003
No	20 (48,8)	85 (73,9)	
Diabete, n (%)			
Si	4 (9,8)	5 (4,8)	0,3
No	37 (90,2)	100 (95,2)	
Altra neoplasia, n (%)			
Si	13 (30,9)	23 (23,7)	0,4
No	29 (69,0)	74 (76,2)	
Terapia, n (%)			
Si	35 (81,4)	53 (50,0)	0,0004
No	8 (18,6)	53 (50,0)	
IPSSWM score, n (%)			
Low	5 (16,1)	19 (42,2)	0,02
Intermediate	10 (32,3)	17 (37,8)	0,6
High	16 (51,6)	9 (20,0)	0,004
Risposta alla terapia 1° linea, n (%)			
CR, VGPR, PR	20 (62,5)	35 (74,5)	0,3
SD, MR, PD	12 (37,5)	12 (25,5)	
Risposta renale alle terapie, % eGFR			
Better (>25% eGFR)	9 (28,1)	2 (5,0)	0,007
Stable	14 (43,8)	36 (90)	<0,0001
Worse (<25% eGFR)	9 (28,1)	2 (5,0)	0,007

Legenda: CAD=cold agglutinine disease. IPSSWM=international prognostic scoring system on Waldenstrom macroglobulinemia. CR=complete response. VGPR=very good partial response. PR=partial response. SD=stable disease. MR=minor response. PD=progressive disease. IQR=range interquartile. eGFR=estimated glomerular filtration rate.

Tabella IV: caratteristiche biologiche e molecolari a confronto fra le popolazioni con e senza disfunzione renale.

Caratteristiche biologiche	Disfunzione renale (n =43)	No disfunzione renale (n=106)	P value
Emoglobina, g/L, median (IQR)	107 (92-122)	124 (107,5-138,5)	0,004
Piastrine, $\times 10^9/L$, median (IQR)	245 (185-296)	232 (178,5-304,5)	0,97
Neutrofili, $\times 10^9/L$, median (IQR)	3,8 (2,5-5,1)	3,7 (2,9-4,9)	>0,99
Componente monoclonale IgM, g/L, median (IQR)	18,1 (9,7-30,2)	12,6 (5,7-20,9)	0,006
B2-microglobulina, mg/L, median (IQR)	4,5 (2,9-7,6)	2,7 (2,0-3,5)	<0,0001
LDH, U/L, median (IQR)	178,5 (127,5-249)	179,5 (136-246,8)	0,59
PCR, mg/L, median (IQR)	6,3 (2,9-22,8)	4,5 (2,9-13,7)	0,4
FLC ratio K/L, median (IQR)	2,8 (0,4-13,1)	2,9 (1,3-7,4)	0,7
Infiltrato midollare, %, mediana (IQR)	0,55 (0,2-0,8)	0,35 (0,15-0,7)	0,04
Myd88 L265P, n (%)			
Mutato	22 (88,0)	58 (89,2)	0,8
WT	3 (12,0)	7 (10,8)	
CXCR4 S338X, n (%)			
Mutato	3 (38,0)	8 (21,6)	0,3
WT	5 (62,0)	29 (78,4)	
Anomalie citogenetiche, n (%)			
Si	8 (47,0)	18 (40,9)	0,6
No	9 (53,0)	26 (59,1)	

Legenda: LDH=lattato deidrogenasi. PCR=proteina C reattiva. FLC=free light chains. IQR=range interquartile

Tra gli scopi del nostro studio vi è stato anche quello di definire le caratteristiche clinico-biumorali-molecolari dei 43 su 153 pazienti con disfunzione renale (ClCr < 60 ml/min) per capire in quale misura su quest'ultima incidessero età e comorbilità, piuttosto che la malattia linfoproliferativa in sé.

In termini di età, fra la popolazione con disfunzione renale la frequenza relativa di pazienti ≥ 75 anni è risultata del 32,6% contro il 17,9% della popolazione senza disfunzione renale, con una $p = 0,051$. L'evidenza di una maggior prevalenza di soggetti anziani laddove la clearance della creatinina è ridotta si fa ancora più solida se allarghiamo l'analisi ai pazienti ≥ 65 anni, costituendo l'86% dei casi tra i pazienti con disfunzione renale contro il 43,4% dei casi tra i pazienti senza disfunzione renale, con una p statisticamente significativa inferiore a 0,0001, vedi [Figura 26].

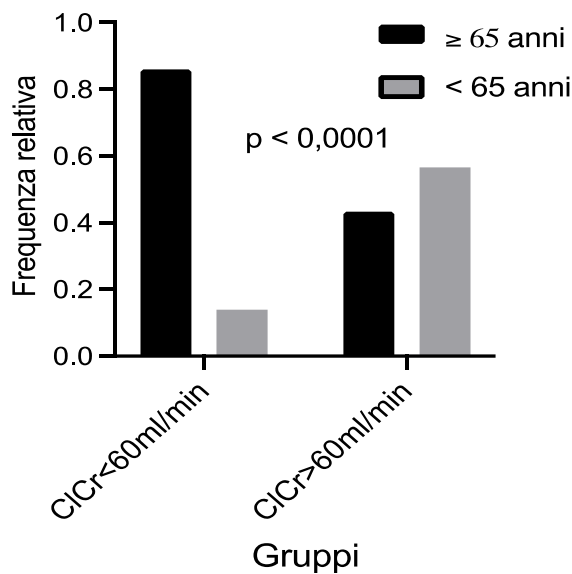


Figura 26: Grafico a barre delle frequenze relative dei soggetti ≥ 65 anni, <65 anni tra i gruppi con e senza disfunzione renale. **Legenda:** ClCr = clearance della creatinina.

L'ipertensione è tra le primissime cause mondiali di nefropatia: il 51,2% dei pazienti con WM e disfunzione renale è iperteso contrariamente al 26,1% dei pazienti con WM e senza disfunzione renale, con una $p = 0,003$. [Figura 27] Minore

è l'impatto statistico delle altre due comorbidità studiate (altra neoplasia e diabete), sebbene leggermente più frequenti nel sottogruppo $\text{ClCr}<60\text{ml/min}$.

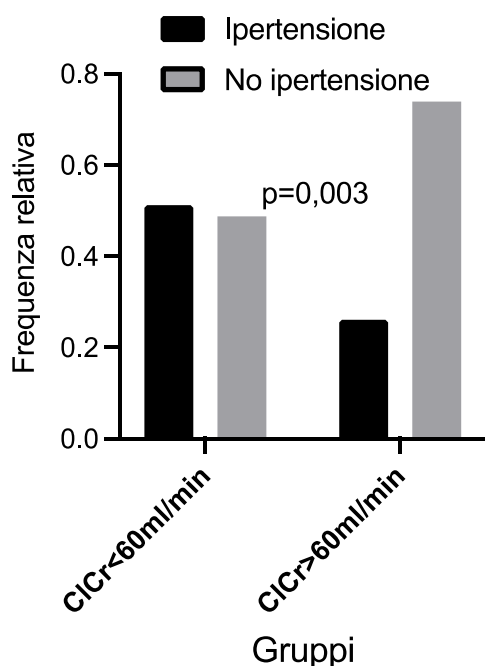


Figura 27: Grafico a barre delle frequenze relative dei soggetti con ipertensione e senza ipertensione tra i gruppi con e senza disfunzione renale. **Legenda:** ClCr = clearance della creatinina.

Chi ha disfunzione renale sembra avere più linfadenomegalie o splenomegalie (60,5% vs 38,8%, $p=0,02$) ed un tasso maggiore di complicanze di malattia come amiloidosi AL (14,0% vs 0,9%, $p=0,0007$) e malattia da agglutinine fredde (CAD) (4,7% vs 0,0%, $p=0,03$). L'elevata percentuale di anziani nel sottogruppo con disfunzione renale potrebbe spiegare anche la differenza percentuale rispetto alla controparte senza interessamento renale nei livelli dello score prognostico IPSSWM: rispettivamente Low, intermediate ed high (16,1% vs 42,2% $p=0,02$; 32,3% vs 37,8% $p=0,6$; 51,6% vs 20,0% $p=0,004$). Andando a valutare i parametri biomorali coinvolti nel calcolo dello score IPSSWM coerentemente troviamo livelli di emoglobina più bassi tra i pazienti con $\text{ClCr}<60\text{ml/min}$ (median 107 g/L vs 124 g/L, $p=0,004$), livelli di componente monoclonale IgM più alta (median 18,1 g/L vs 12,6 g/L, $p=0,006$), livelli di B2-microglobulina più alti (median 4,5 mg/L vs 2,7 mg/L, $p<0,0001$) e anche % infiltrato midollare più alto (median 0,55 vs 0,35, $p=0,04$). Vedi [Figura 28], [Figura 29], [Figura 30].

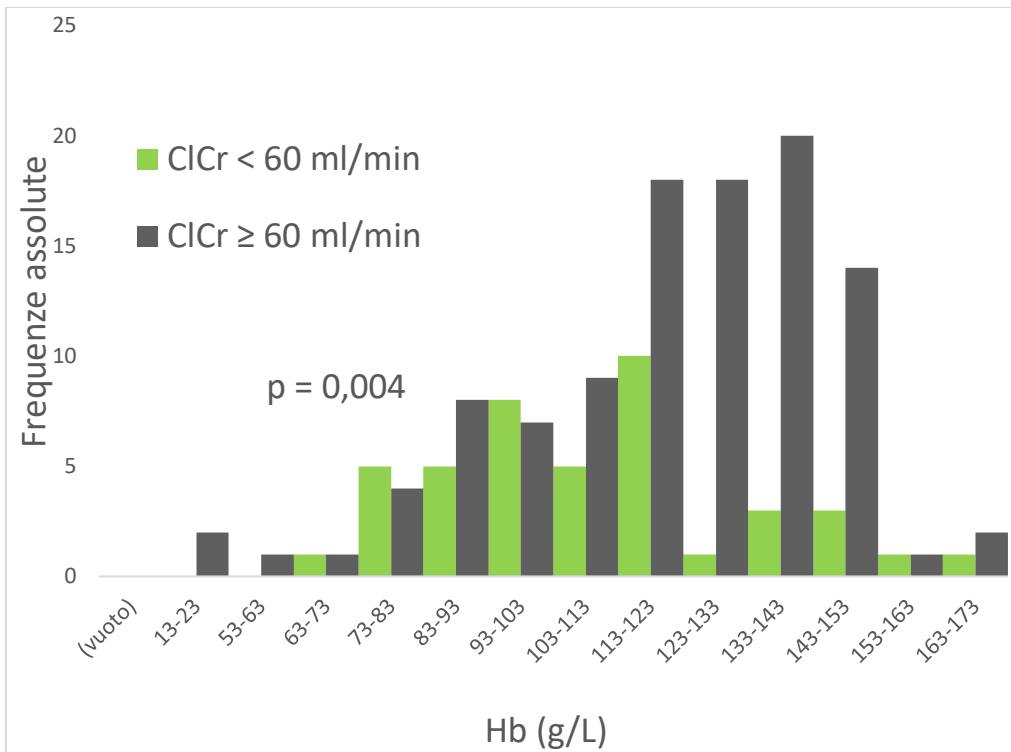


Figura 28: Istogramma ad evidenziare la differente distribuzione dei valori della variabile quantitativa emoglobina fra pazienti con e senza disfunzione renale.

Legenda: Hb=emoglobina, CrCl=clearance della creatinina.

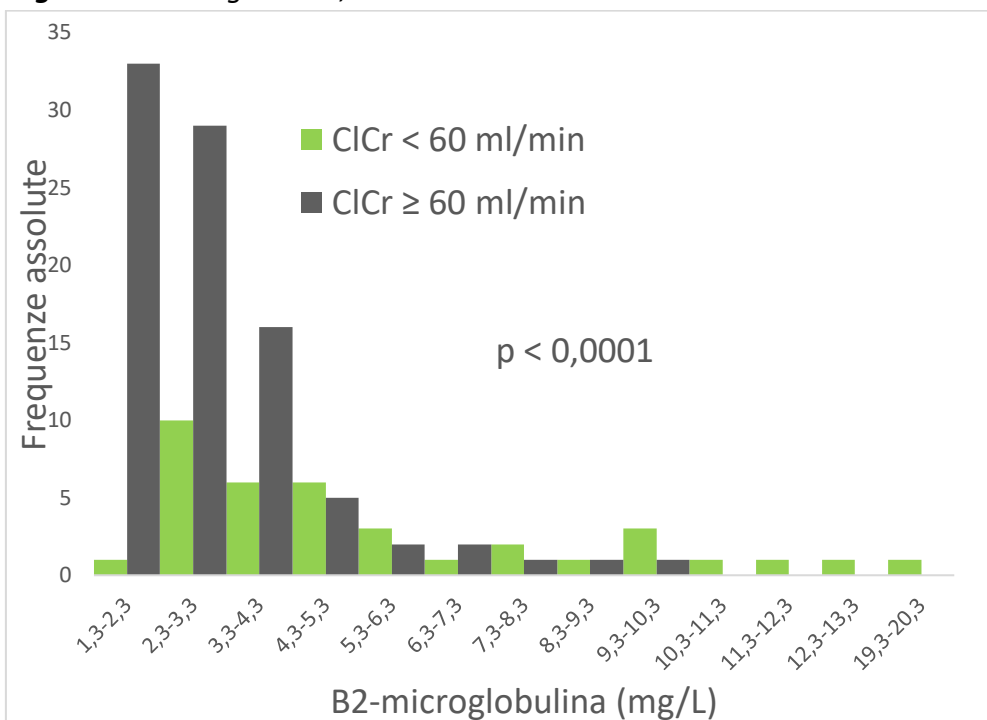


Figura 29: Istogramma ad evidenziare la differente distribuzione dei valori della variabile quantitativa B2-microglobulina fra pazienti con e senza disfunzione renale. **Legenda:** CrCl=clearance della creatinina.

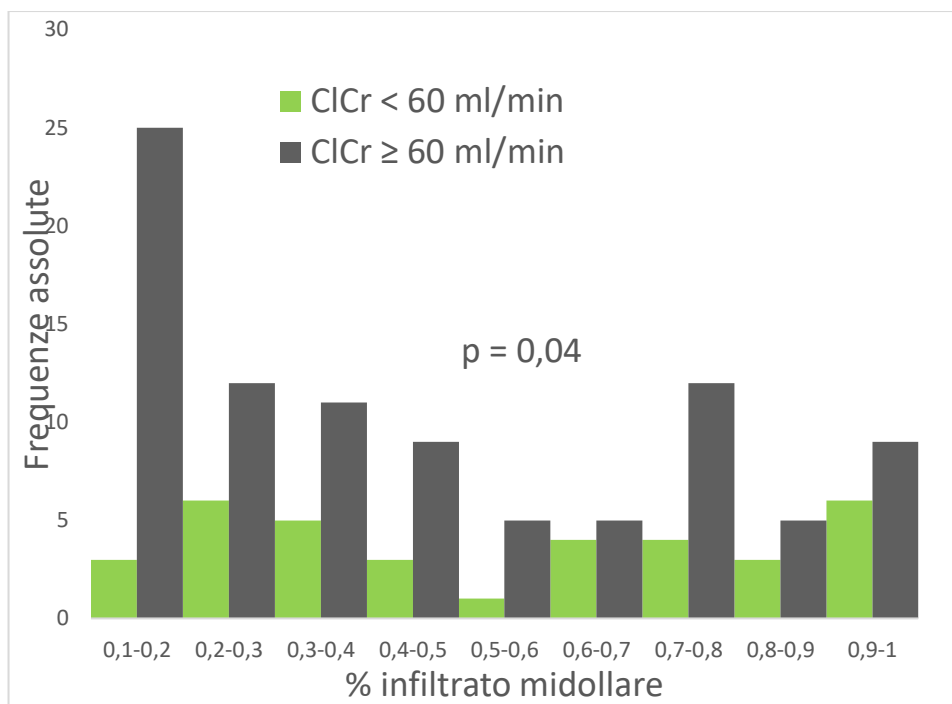


Figura 30: Istogramma ad evidenziare la differente distribuzione dei valori della variabile quantitativa percentuale di infiltrato midollare fra pazienti con e senza disfunzione renale. **Legenda:** ClCr=clearance della creatinina.

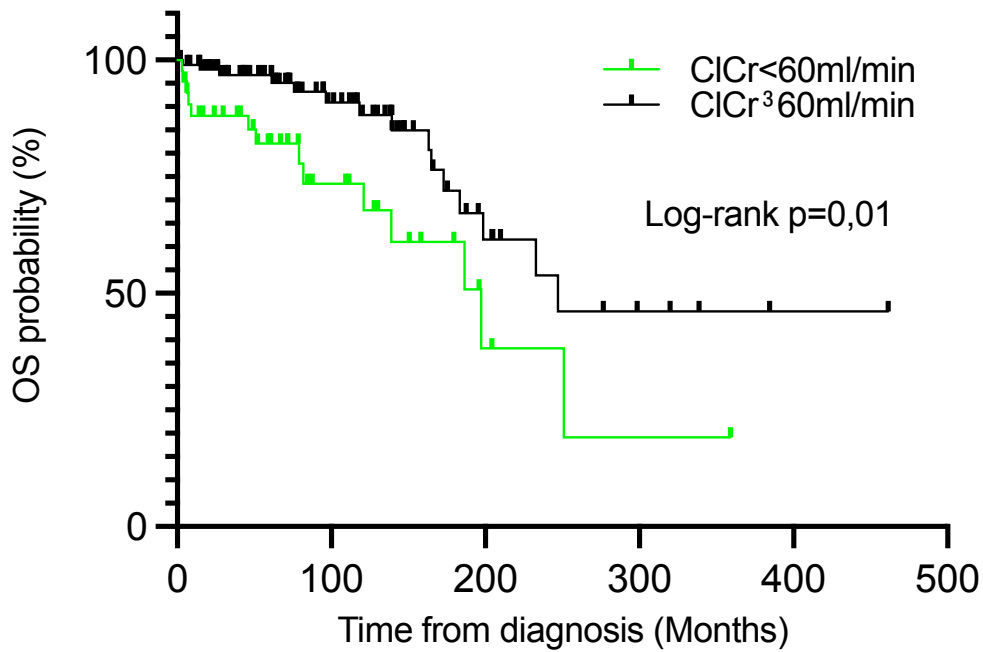
Rispetto alle alterazioni molecolari, non sono state riscontrate notevoli differenze tra le popolazioni relativamente alla mutazione L265P di *MYD88* e nelle anomalie citogenetiche. Per quanto concerne la mutazione S338X di *CXCR4*, i pazienti con ClCr<60ml/min sono risultati presentare la mutazione nel 38% dei casi in cui si è ricercata, contrariamente al 21,6% dei pazienti senza disfunzione renale, pur non rispettando la significatività statistica ($p=0,3$) e sottolineando la scarsa numerosità a disposizione.

4.2.1 Sopravvivenza e risposta renale dei pazienti con disfunzione renale

L'osservazione di una percentuale maggiore di pazienti anziani e di una maggiore incidenza di comorbidità (ipertensione in primis) nel sottogruppo WM con disfunzione renale potrebbe non essere sufficiente a spiegare il decorso più aggressivo della malattia dal punto di vista biumorale e la prognosi peggiore, in accordo a quanto è stato riportato in letteratura. Inoltre, un'età più avanzata e un aumento delle comorbidità potrebbero giustificare una mediana di OS più bassa fra

i pazienti con disfunzione renale (197,3 mesi [IC 95% 124,6-270] vs 247,1 mesi, Log-rank $p=0,01$), ma non una mediana di TFS più bassa (85,2 mesi [IC 95% 44,9-125,5] vs 232,8 mesi [IC 95% 179,2-286,4], Log-rank $p<0,0001$), che andrà dunque meglio inquadrata nel nostro database. Vedi [Figura 31].

A



B

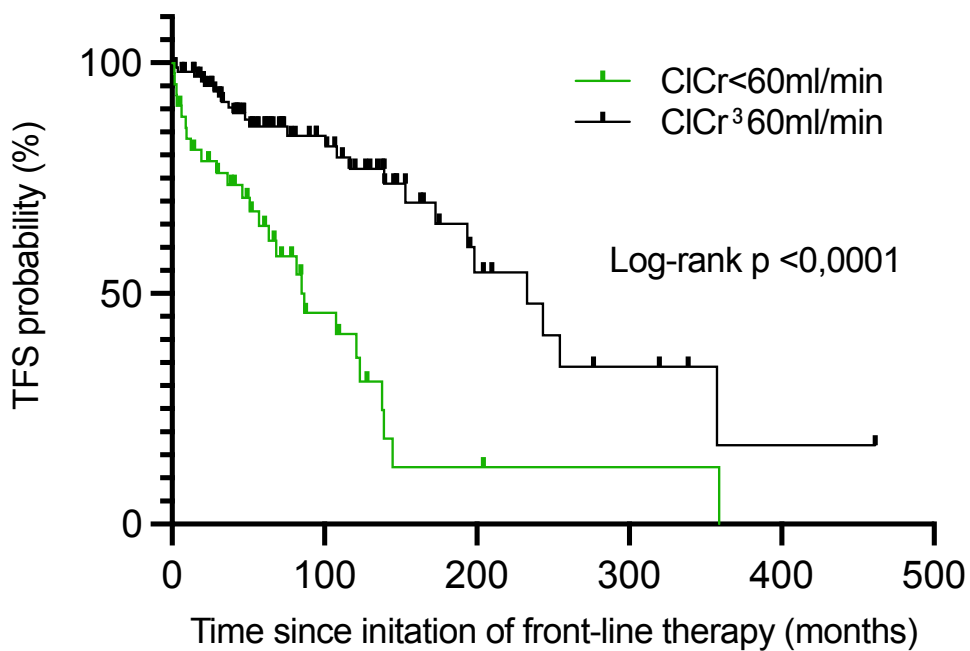


Figura 31: A) Overall survival (OS) a confronto: popolazione con $ClCr < 60 \text{ ml/min}$, popolazione con $ClCr \geq 60 \text{ ml/min}$. **B)** Treatment free survival (TFS) a confronto: popolazione con $ClCr < 60 \text{ ml/min}$, popolazione con $ClCr \geq 60 \text{ ml/min}$.

Legenda: $ClCr$ = clearance della creatinina sierica.

Come sopra anticipato (“Materiali e Metodi”) i nostri pazienti con disfunzione renale sono stati stratificati in base all’andamento del filtrato glomerulare, basandosi su un intervallo temporale che va da prima dell’inizio delle terapie fino alla loro conclusione o comunque alla conclusione del follow-up. I pazienti con risposta renale alle terapie di tipo “Better” e “Worse” sono di più tra coloro che hanno disfunzione renale rispetto a chi non ce l’ha (56,2% vs 10,0%, $p=0,007$). Al contempo sono molto di più i pazienti con risposta renale alle terapie di tipo “Stable” fra coloro non hanno disfunzione renale (90% vs 43,8%, $p < 0,0001$). Quindi chi viene trattato per WM e ha $ClCr < 60 \text{ ml/min}$ migliora o peggiora la funzionalità renale, rispetto a chi viene trattato per WM e ha $ClCr > 60 \text{ ml/min}$, evidenziando una variazione consensuale della funzionalità renale e del burden di malattia. Vedi [Tabella III]

Inoltre, l’analisi dei tipi di risposta alla terapia di prima linea per WM nelle varie popolazioni, divise in termini di risposta renale, ha permesso di identificare nelle categorie “Worse” e “Stable” solo 11/21 pazienti (52,4%) con una Major response (VGPR+PR) a fronte di una ben più alta percentuale 5/6 (83,8%) di Major response (VGPR+PR) nella categoria “Better”. Chi migliora dal punto di vista renale, migliora anche dal punto di vista della malattia linfoproliferativa. L’analisi della possibilità che nei gruppi “Worse” e “Stable” fossero presenti di più le comorbilità pertanto generando un potenziale effetto confondente, non ha in realtà evidenziato significative differenze. Vedi [Tabella V].

Tabella V: sottoanalisi gruppi di risposta renale in termini di risposta alla prima linea di terapia e in termini di comorbidità.

Sottogruppo analizzato	N°	Risposta alla terapia 1°linea	N°	Risposta alla terapia 1°linea	N°	Comorbidità	N°
Worse renal response (delta eGFR < 25%)	9	VGPR	3/8 (37,5%)	Major response (VGPR +PR) nei pz worse+stable	11/21 (52,4%)	Other neoplasia (WORSE+STABLE)	7/23 (30,4%)
		PR	1/8 (12,5%)			Hypertension (WORSE+STABLE)	8/23 (34,8%)
		MR	1/8 (12,5%)			Diabetes (WORSE+STABLE)	2/23 (8,7%)
		SD	1/8 (12,5%)				
		PD	2/8 (20,0%)				
Stable renale response	14	VGPR	2/13 (15,4%)				
		PR	5/13 (38,5%)				
		SD	4/13 (30,7%)				
		PD	2/13 (15,4%)				
Better renal response (delta eGFR > 25%)	9	VGPR	1/6 (16,6%)	Major response (VGPR +PR) nei pz better	5/6 (83,3%)	Other neoplasia	3/9 (30,0%)
		PR	4/6 (66,7%)			Hypertension	6/8 (75,0%)
		MR	1/6 (16,6%)			Diabetes	0/8 (0,0%)

Legenda: eGFR=estimated glomerular filtration rate. VGPR=very good partial response. PR=partial response. MR=minor response. SD=stable disease. PD=progressive disease.

4.3 I risultati della popolazione ≥ 75 anni alla diagnosi: database WM patavino (1990-2022).

Tabella VI: caratteristiche cliniche a confronto fra le popolazioni ≥ 75 anni alla diagnosi e <75 .

Caratteristiche cliniche	≥ 75 anni (n=33)	< 75 anni (n = 120)	P value
Sesso, n (%)			
Maschio	14 (63,6)	81 (67,5)	0,7
Femmina	8 (36,4)	39 (32,5)	
Adenopatia o splenomegalia, n (%)			
Si	13 (41,9)	66 (56,9)	0,1
No	18 (58,1)	50 (43,1)	
Polineuropatia, n (%)			
Si	6 (18,2)	27 (22,9)	0,6
No	27 (81,8)	91 (77,1)	
Amiloidosi, n (%)			
Si	2 (6,0)	5 (4,2)	0,7
No	31 (94,0)	113 (95,8)	
CAD, n (%)			
Si	1 (3,1)	1 (0,8)	0,3
No	32 (96,9)	117 (99,2)	
Disfunzione renale, n (%)			
Si	14 (42,4)	29 (25,0)	0,051
No	19 (57,6)	87 (75,0)	
Ipertensione, n (%)			
Si	10 (30,3)	42 (36,2)	0,5
No	23 (69,7)	74 (63,8)	
Diabete, n (%)			
Si	2 (6,0)	7 (6,0)	0,9
No	31 (94,0)	109 (94,0)	
Altra neoplasia, n (%)			
Si	11 (39,3)	25 (22,3)	0,06
No	17 (61,7)	87 (77,7)	
Terapia, n (%)			
Si	21 (63,6)	69 (58,5)	0,5
No	11 (33,3)	49 (41,5)	
IPSSWM score, n (%)			
Low	2 (12,5)	22 (36,7)	0,07
Intermediate	7 (43,75)	20 (33,3)	0,44
High	7 (43,75)	18 (30,0)	0,3
Risposta alla terapia 1° linea, n (%)			
CR, VGPR, PR	12 (60,0)	44 (73,3)	0,3
SD, MR, PD	8 (40,0)	16 (26,6)	

Legenda: CAD=cold agglutinine disease. IPSSWM=international prognostic scoring system on Waldenstrom macroglobulinemia. CR=complete response. VGPR=very good partial response. PR=partial response. SD=stable disease. MR=minor response. PD=progressive disease. IQR=range interquartile.

Tabella VII: caratteristiche biologiche e molecolari a confronto fra le popolazioni ≥ 75 anni alla diagnosi e <75 .

Caratteristiche biologiche	≥ 75 anni (n=33)	< 75 anni (n = 120)	P value
Emoglobina, g/L, median (IQR)	117 (97-132)	120 (97,5-138,5)	0,35
Piastrine, $\times 10^9/L$, median (IQR)	243 (202,5-288,5)	227 (174,5-310,0)	0,6
Neutrofili, $\times 10^9/L$, median (IQR)	3,6 (2,9-4,7)	3,7 (2,9-4,9)	0,96
Componente monoclonale IgM, g/L, median (IQR)	17,6 (11,0-26,2)	11,5 (5,9-21,7)	0,06
B2-microglobulina, mg/L, median (IQR)	4,1 (2,4-5,2)	2,9 (2,2-3,8)	0,04
LDH, U/L, median (IQR)	150 (133-199)	197 (138-259)	0,07
PCR, mg/L, median (IQR)	8,7 (2,9-21)	5,4 (2,9-13,7)	0,6
FLC ratio K/L, median (IQR)	2,8 (0,5-13,0)	3,0 (1,1-7,8)	0,6
Infiltrato midollare, %, mediana (IQR)	0,45 (0,17-0,75)	0,35 (0,2-0,7)	0,73
Myd88 L265P, n (%)			
Mutato	23 (95,8)	58 (85,3)	0,2
WT	1 (4,2)	9 (13,4)	
CXCR4 S338X, n (%)			
Mutato	1 (10,0)	10 (41,6)	0,2
WT	10 (90,0)	24 (58,4)	
Anomalie citogenetiche, n (%)			
Si	10 (66,7)	16 (33,3)	0,02
No	5 (33,3)	32 (66,7)	

Legenda: LDH=lattato deidrogenasi. PCR=proteina C reattiva. FLC=free light chains. IQR=range interquartile

La scarsa presenza di dati in letteratura in relazione alla popolazione WM over 75 e l'altrettanto esiguo arruolamento nei principali trials clinici ci ha spinto a studiare questo ristretto sottogruppo, che nel nostro database ammonta a 33/153 pazienti, soltanto il 21,6%. D'altronde anche il lavoro di *Zanwar et Al* presentava una percentuale sovrapponibile (18,6%) (81). Si è cercato un confronto con la

popolazione under 75 seppur limitato dalle diverse numerosità campionarie. Dal punto di vista clinico i pazienti più anziani hanno la tendenza a presentare una maggiore prevalenza di disfunzione renale (42,4% vs 25,0% $p=0,051$) e seconda neoplasia (39,3% vs 22,3% $p=0,06$); inoltre, essi ricevono terapia specifica per WM in misura maggiore, presentano un IPSSWM score peggiore ma dimostrano risposte sovrapponibili agli under 75 alla terapia di prima linea, tuttavia queste ultime tre variabili non differiscono in modo significativo tra le due popolazioni. Vedi [Tabella VII], [Figura 32], [Figura 33].

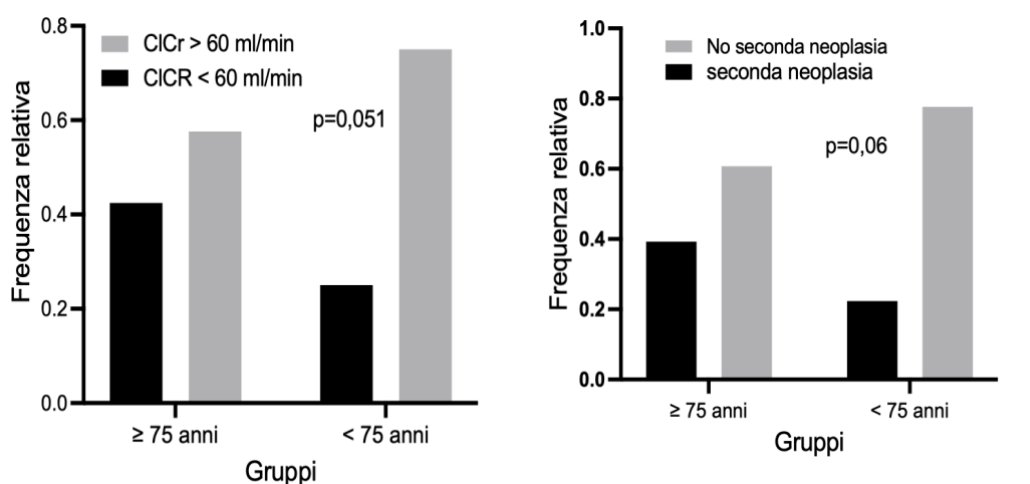


Figura 32: grafico a barre delle variabili categorizzate ClCr < 60 ml/min e ClCr > 60 ml/min nelle due popolazioni < 75 e ≥ 75 anni alla diagnosi.

Legenda: ClCr = clearance della creatinina.

Figura 33: grafico a barre delle variabili categorizzate presenza o assenza di seconda neoplasia nelle due popolazioni < 75 e ≥ 75 anni alla diagnosi.

Se invece andiamo ad analizzare le variabili biumorali/molecolari si riporta differenza statisticamente significativa, o tendenza alla significatività, tra le due popolazioni nei valori di: componente monoclonale IgM (mediana 17,6 g/L vs 11,5 g/L, $p=0,06$), B2-microglobulina (mediana 4,1 mg/L vs 2,9 mg/L, $p=0,04$), LDH (mediana 150 U/L vs 197 U/L, $p=0,07$). Vedi [Figura 34], [Figura 35] [Tabella VII].

Peraltro, queste differenze sono riscontrabili anche nel lavoro di *Zanwar et al*, con la distinzione di una componente monoclonale più alta negli under75 e un LDH più alto negli over75.

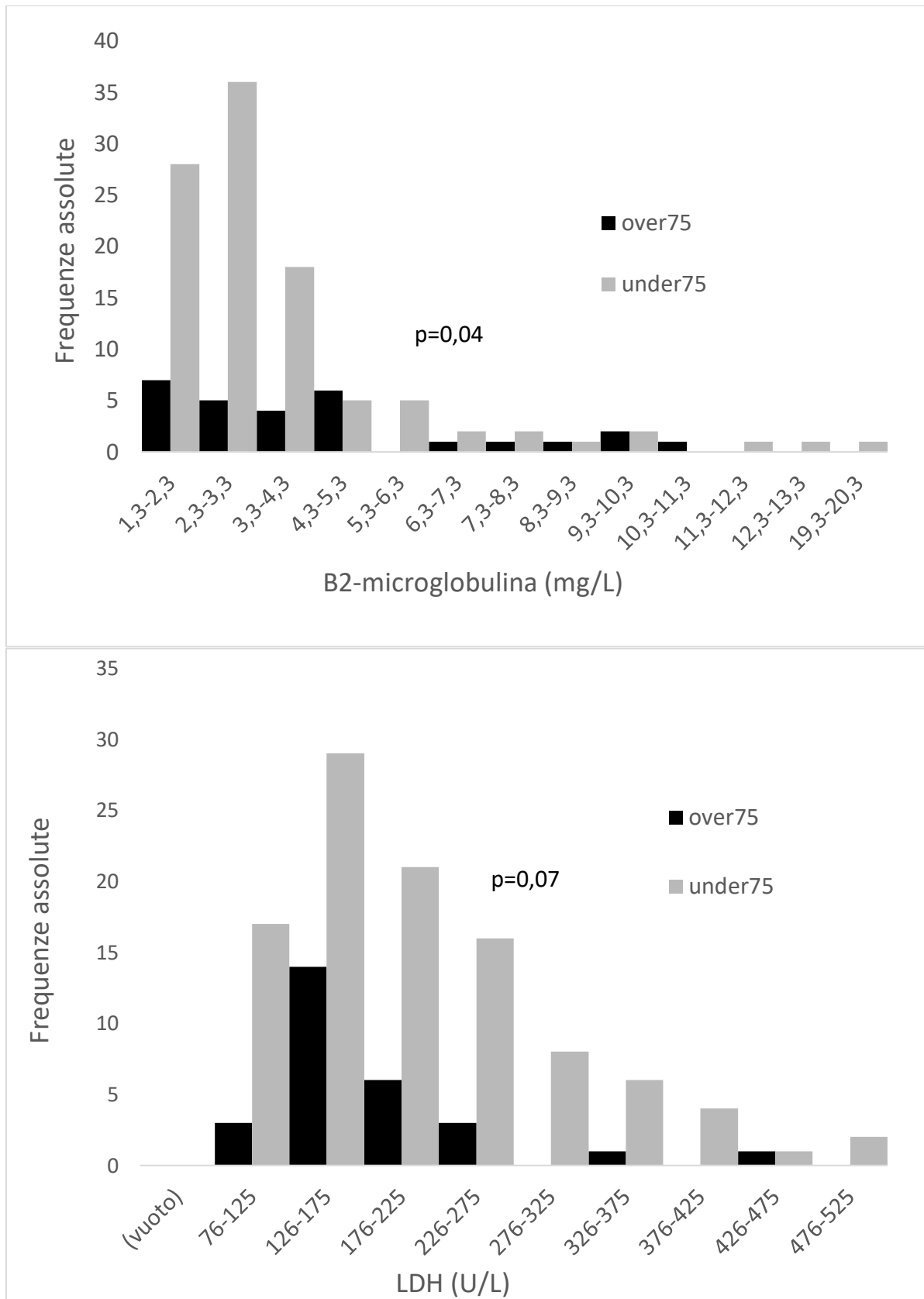


Figura 34: Istogramma della variabile continuativa valori ematici di B2-microglobulina distribuita nelle popolazioni < 75 e \geq 75 anni alla diagnosi.

Figura 35: Istogramma della variabile continuativa livelli ematici di Lattico deidrogenasi (LDH) distribuita nelle popolazioni < 75 e \geq 75 anni alla diagnosi.

Dal punto di vista delle alterazioni molecolari la prevalenza della mutazione L265P MYD88 non differisce particolarmente, quella S338X CXCR4 è risultata presente leggermente di più negli under75 (10,0% vs 41,6% $p=0,2$). Tuttavia il dato che più risalta è la differenza nell'incidenza di anomalia citogenetiche tra le due popolazioni (66,7% vs 33,3%, $p=0,02$). Vedi [Tabella VII], [Figura 36].

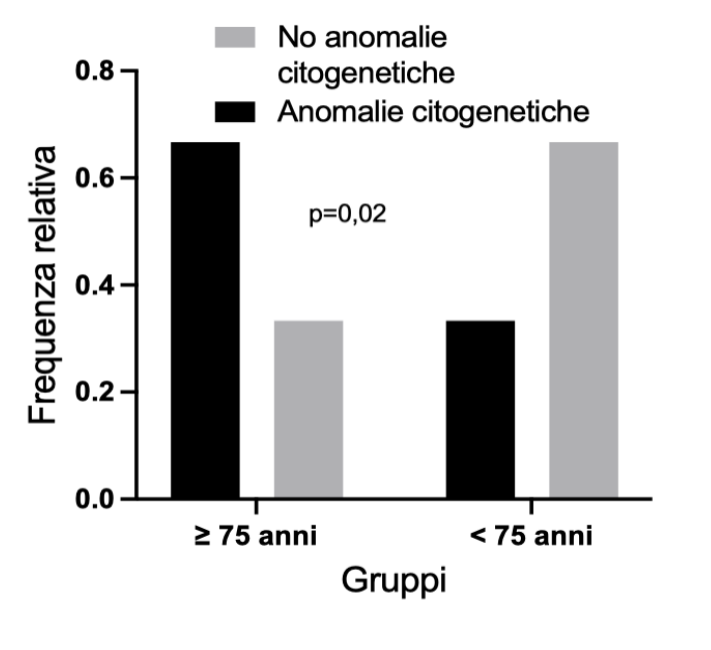


Figura 36: Grafico a barre delle variabili categorizzate presenza o assenza di anomalie citogenetiche nelle due popolazioni < 75 e ≥ 75 anni alla diagnosi.

Per quanto concerne le terapie di prima linea adottate nel paziente over75 rapportate al paziente under75 non abbiamo dati solidi in letteratura. Nel nostro database non notiamo grandi differenze nei regimi utilizzati e questo ha sicuramente un impatto clinico non trascurabile sul paziente anziano, specie in termini di tossicità. I regimi di chemioimmunoterapia sono stati applicati nel 55% dei pazienti under75, contro il 62% degli over75; la chemioterapia da sola ammonta al 21% nei pazienti under75 e al 19% nei pazienti over75; i regimi chemo-free (Rituximab e Bortezomib based) sono utilizzati nel 24% dei pazienti under 75 e nel 19% dei pazienti over 75. Vedi [Figura 37], [Figura 38].

4.3.1 Terapie di prima linea e risposte a confronto: popolazioni over75/under75 alla diagnosi.

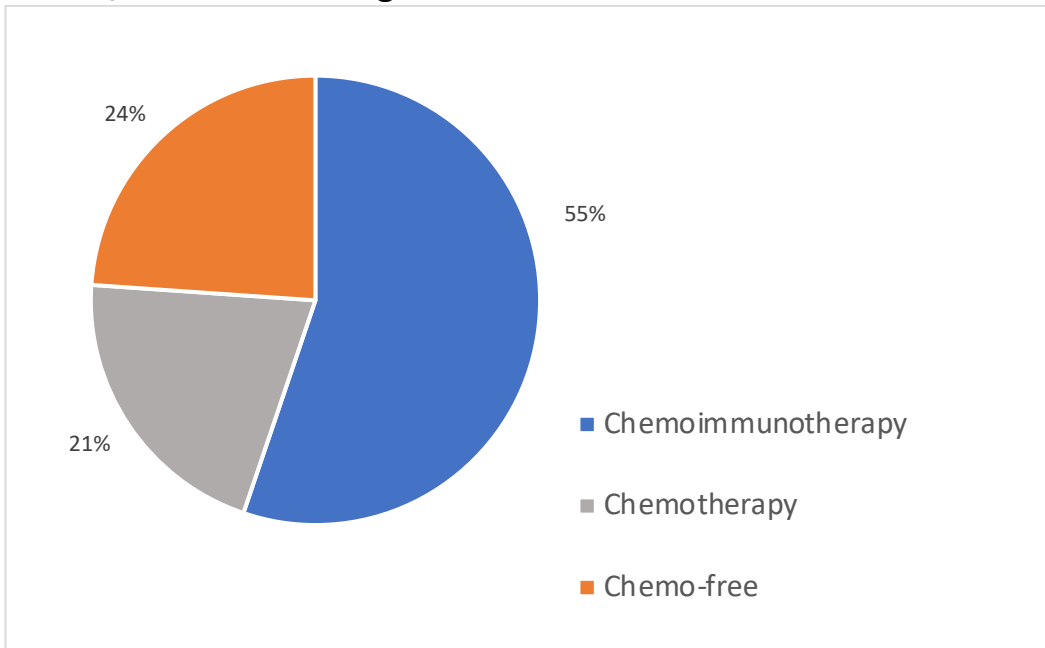


Figura 37: Regimi prima linea di terapia utilizzati nei pazienti < 75 anni alla diagnosi.

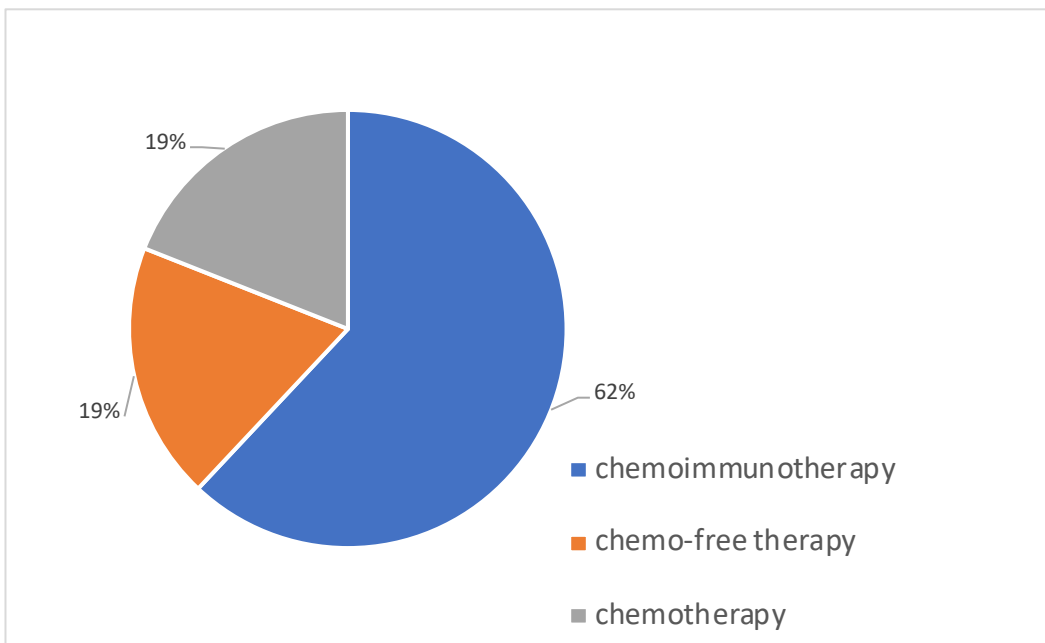


Figura 38: Regimi prima linea di terapia utilizzati nei pazienti ≥ 75 anni alla diagnosi.

Analizzando gli schemi più usati nell'over75 vediamo Rituximab+Bendamustina nel 47,6% delle terapie di prima linea, Clorambucile nel 14,2%, Rituximab 9,5%, Ibrutinib 9,5%. Analogamente gli schemi più usati nell'under75 sono Rituximab+bendamustina nel 38,8% delle terapie di prima linea, Rituximab nel 19,4%, Clorambucile nel 13,4%. Vedi [Figura 39], [Figura 40].

Un dato interessante riguarda i pazienti che nel nostro database, indistintamente dall'età alla diagnosi e dalla linea di terapia, durante la loro storia di WM hanno ricevuto Ibrutinib, ben 21 pazienti sui 90 trattati (23,3%).

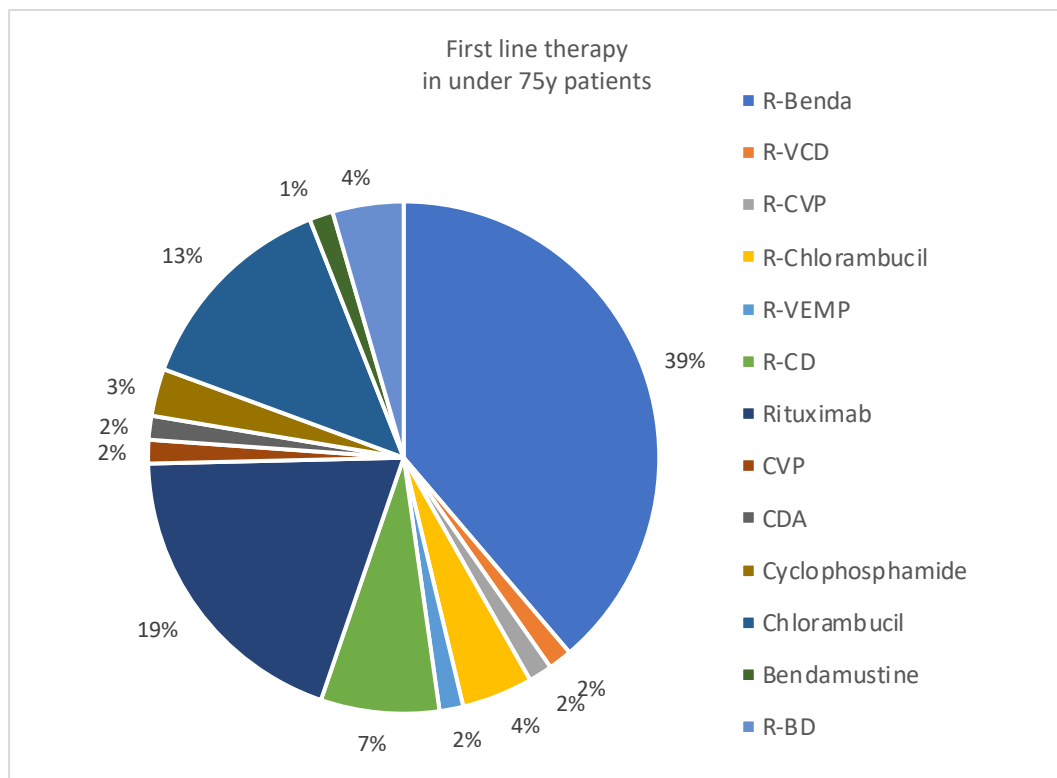


Figura 39: Schemi di terapia di prima linea nei pazienti <75 anni alla diagnosi.

Legenda:

RBenda=Rituximab+Bendamustina.

RVCD=Rituximab+Bortezomib+Ciclofosfamide+Desametasone.

RCVP=Rituximab+Bortezomib+Ciclofosfamide+Desametasone.

RChlorambucil=Rituximab+Clorambucile.

RVEMP=Rituximab+Etoposide+Ciclofosfamide+Mitoxantrone+Prednisone.

RCD=Rituximab+Ciclofosfamide+Desametasone.

CDA=Cladribina.

RBD=Rituximab+Bortezomib+Desametasone.

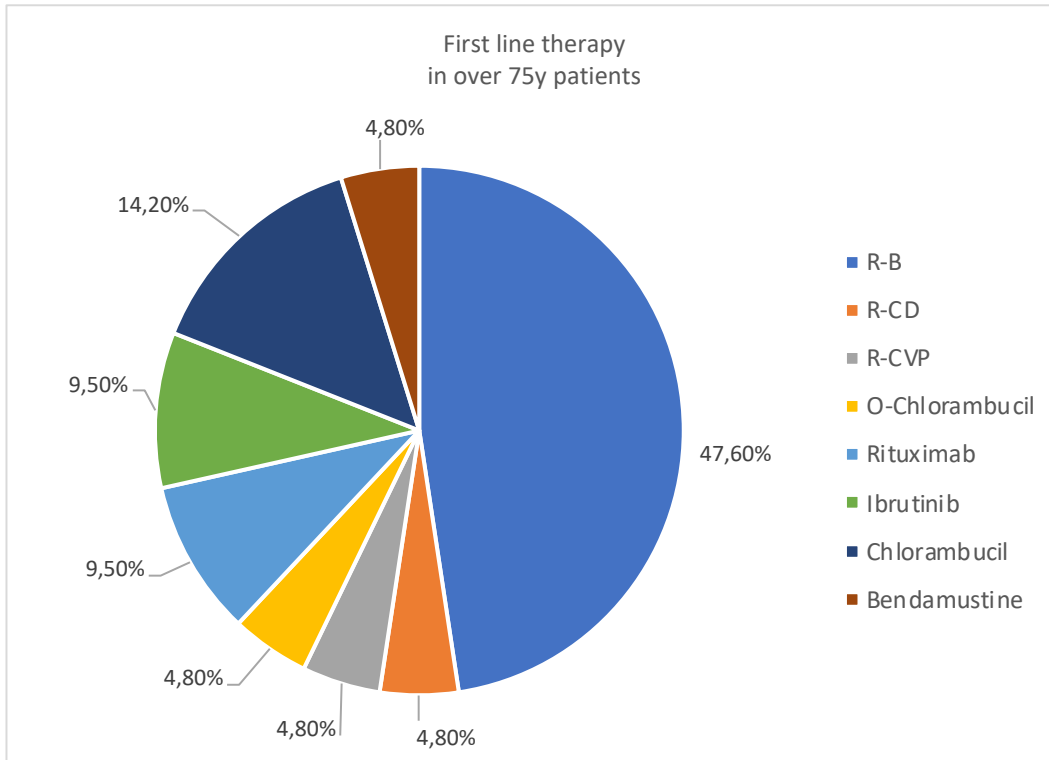


Figura 40: Schemi di terapia di prima linea utilizzati nei pazienti ≥ 75 anni alla diagnosi.

Legenda: RB=Rituximab+Bendamustina. RCD=Rituximab+Ciclofosfamide. RCVP=Rituximab+Bortezomib+Ciclofosfamide+Desametasone. Ochlorambucil=Obinutuzumab+Clorambucile

Analogamente ai regimi utilizzati, anche le risposte alla terapia di prima linea non variano molto fra le due popolazioni over75 e under75 rispettivamente (CR 5% vs 7%, VGPR 15% vs 15%, PR 40% vs 51%, MR 5% vs 7%, SD 15% vs 15%, PD 20% vs 5%). Vedi [Figura 41], [Figura 42].

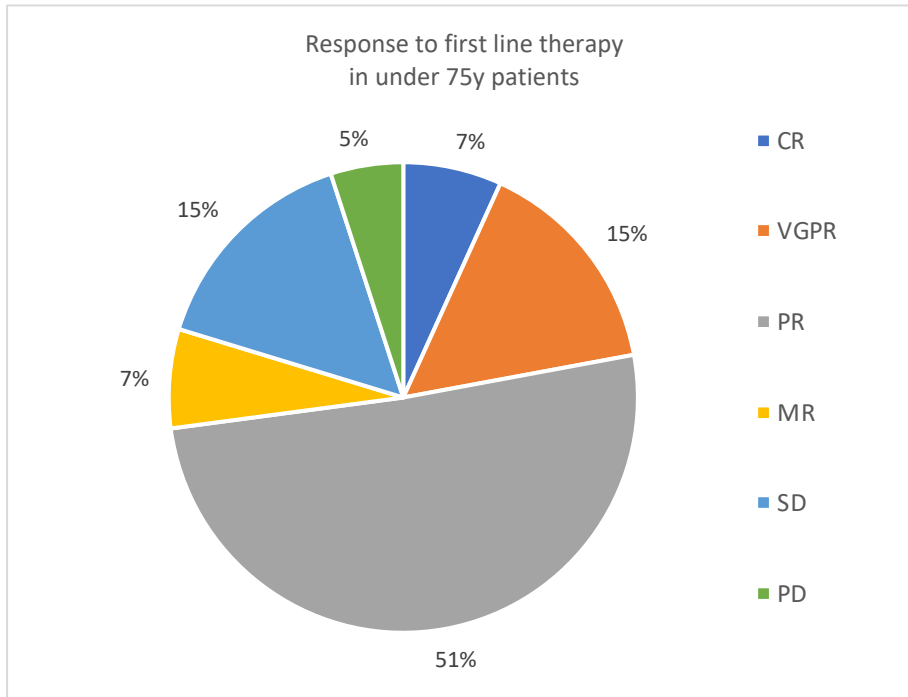


Figura 41: Risposte alla terapia di prima linea nel soggetto <75 anni alla diagnosi.
(76)

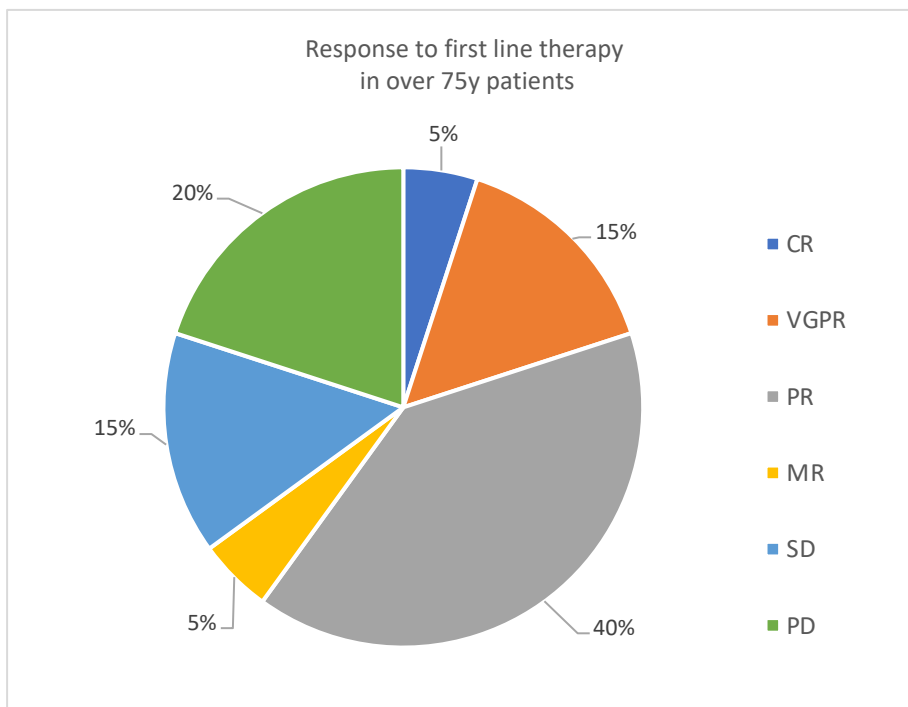


Figura 42: Risposte alla terapia di prima linea nel soggetto ≥ 75 anni alla diagnosi.
(76)

4.3.2 Curve di sopravvivenza a confronto: popolazione over75/under75 alla diagnosi.

Le curve di sopravvivenza ci dicono che l'anziano over75 con WM vive meno e recidiva prima rispetto allo stesso paziente under75.

La mediana OS è 81,9 mesi [IC 95% 76,2-87,6] vs 321,4 mesi [IC 95% 178,9-463,9],

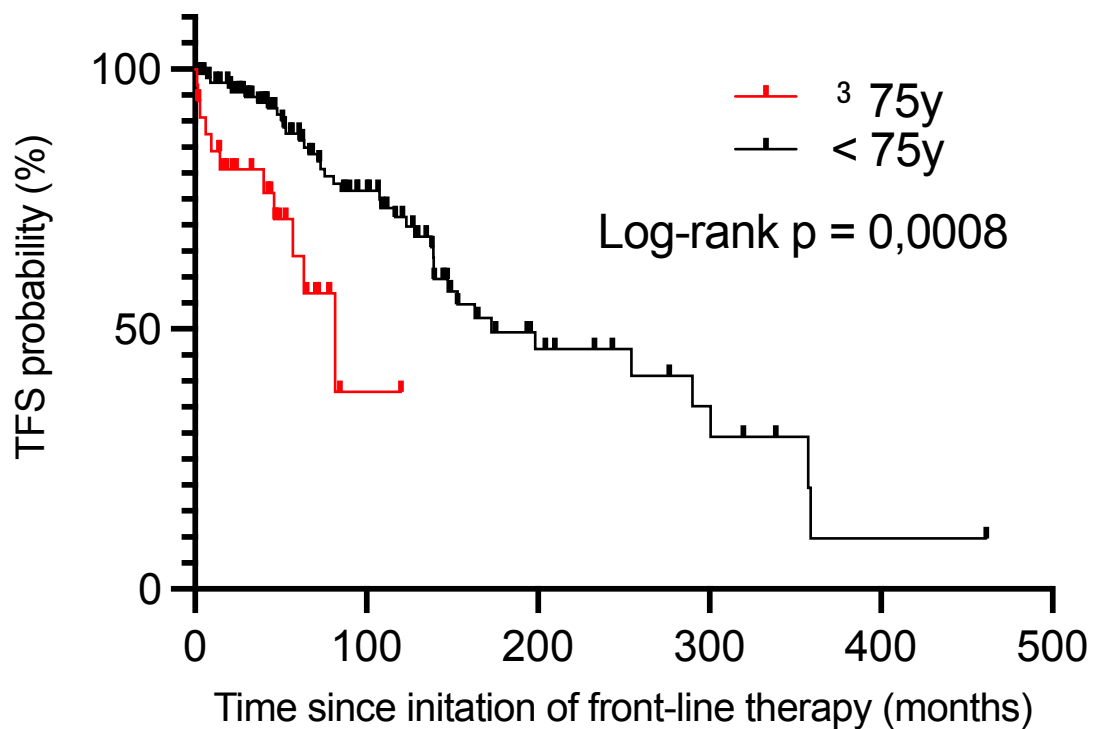
Log rank p=0,0008.

La mediana TFS è 81,9 mesi [IC 95% 49,2-114,6] vs 173,0 mesi [IC 95% 82,5-263,5]

Log rank p=0,001).

Vedi [Figura 43].

A



B

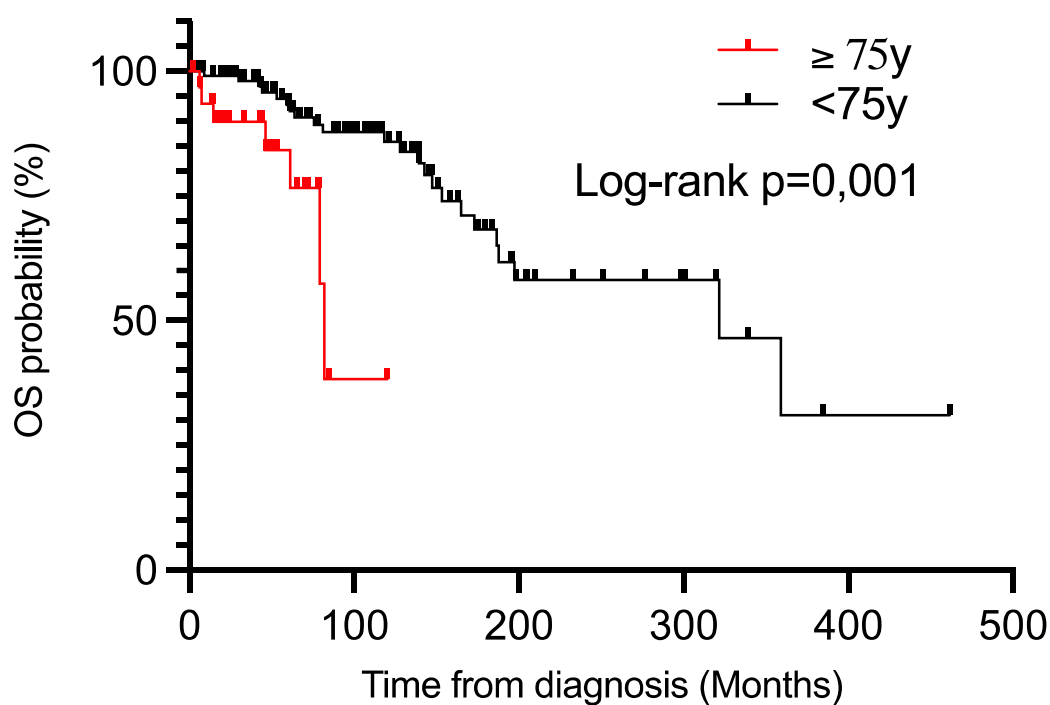


Figura 43: A) Treatment free survival (TFS) a confronto: popolazione < 75 anni, popolazione ≥ 75 anni **B)** Overall survival (OS) a confronto: popolazione < 75 anni, popolazione ≥ 75 anni

Da inquadrare il motivo di una differenza in termini di OS così netta, non giustificabile solo con una maggior aggressività di malattia linfoproliferativa vista la forte somiglianza nelle risposte alla terapia di prima linea tra le due popolazioni. Potrebbero giocare un ruolo non solo l'età ma anche la maggior incidenza nell'over75 di seconda neoplasia (visto anche il peso che ha sulla sopravvivenza della popolazione generale del database) e di disfunzione renale.

Tutt'al più, la maggior aggressività dei parametri biologici e la maggior incidenza di aberrazioni citogenetiche nell'over75, dati poco citati in letteratura, potrebbero rendere ragione di una TFS minore.

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

5.1 WM e comorbidità

Le caratteristiche clinico, bioumorali, molecolari della popolazione WM padovana sono pressoché in linea con quanto presentato in letteratura, come già descritto in [Risultati].

I principali trials clinici sulla WM descritti in [Figura 21,22] inseriscono le comorbidità fra i criteri di esclusione, solo ultimamente lavori come quello di *Dalal N et Al* hanno iniziato ad indagare le cause specifiche di mortalità anche “WM-unrelated” (97). Abbiamo dunque tentato di intuire l’andamento dei pazienti sulla base di quest’ultime. Studiando la singola comorbidità è emersa una tendenza da parte dei pazienti ipertesi ad avere OS, TFS sovrapposte o addirittura migliori dei pazienti con zero comorbidità. Pensiamo che questo aspetto sia giustificabile con il fatto che l’ipertensione è una condizione estremamente diffusa nella popolazione specie se anziana (il database generale WM ha una mediana di 66 anni alla diagnosi e conta un 45,6% di ipertesi). In quanto tale è difficile definirne il peso in termini di mortalità laddove essa sia presente nei pazienti con malattia linfoproliferativa. Inoltre i metodi di raccolta dati si sono limitati in questo caso solo alla diagnosi, non hanno tenuto conto dell’andamento della condizione ipertensiva nel decorso di malattia, infatti questa potrebbe essere stata ben controllata così come potrebbe essere insorta in un paziente non iperteso. Per lo stesso motivo anche le curve che confrontano il numero di comorbidità vedono una sovrapposizione tra i pazienti con zero e quelli con una comorbidità, in quanto in larga parte questi appartengono al gruppo degli ipertesi. Rispetto ad un altro aspetto, sappiamo che il paziente WM ha un 49% di rischio in più di sviluppare seconde neoplasie (83). Sebbene *Dalal et Al* identifichi come prima causa di morte nell’anziano con WM le patologie non neoplastiche e identifichi il linfoma nel paziente giovane, nella nostra analisi ci sentiamo comunque

di attribuire alla comorbidità “altre neoplasie” un peso importante rispetto alle altre due studiate (diabete, ipertensione). Questo è motivato dai dati emersi dalle curve di sopravvivenza, i pazienti con neoplasia hanno una tendenza ad avere mediana di OS e di TFS minore rispetto a chi ha zero comorbidità, ipertensione o diabete. In ordine abbiamo OS mediana 13,7 anni (neoplasia) , 20,9 anni (zero comorbidità) , nr (ipertensione) , nr (diabete) con Log-rank $p=0,08$; TFS median 8,4 anni (neoplasia), 14,4 anni (zero comorbidità), 29,8 anni (ipertensione), nr (diabete) con Log-rank $p=0,07$. Parimenti, chi ha due o più comorbidità (spesso una delle due è la neoplasia) presenta OS e TFS minori di chi ne ha una o due. Anche qui in ordine OS median 20,9 anni (zero), nr (una), 15,3 anni (due) Log-rank $p = 0,02$; TFS median 14,4 anni (zero), 19,4 anni (una), 6,8 anni (due), nr (tre) con Log-rank $p = 0,094$.

I limiti della nostra analisi sono la natura retrospettiva e quindi la difficoltà nel reperire i dati, non aver applicato la funzione “cause specific survival” che ci avrebbe permesso di filtrare il fattore confondente età sulla mortalità WM-unrelated; soprattutto non aver considerato altre comorbidità più implicate nelle cause di morte non-WM related (malattie cardiovascolari, neurologiche, infettive, gastroenterologiche, respiratorie) e il non aver studiato le singole cause di morte per i limiti dei nostri registri (97).

Concludendo, nella popolazione WM padovana il dato seconda neoplasia è meno frequente delle altre comorbidità ma pesa di più in termini di sopravvivenza e recidiva, diventando un aspetto non trascurabile nel processo di cura come vedremo anche nel paziente over75. Avere multiple comorbidità pesa molto in termini di sopravvivenza globale, soprattutto se è presente un'altra neoplasia, ma meno in termini di treatment free survival.

5.2 WM e disfunzione renale

Applicando gli stessi criteri di definizione di disfunzione renale dello studio *Vos et Al* al database patavino (“*eGFR < 60ml/min/1,73m² and/or proteinuria at any time point*”) si è osservato che si otteneva un 59,5% di pazienti WM con disfunzione renale, ben superiore del 19% dello studio. E’ anche vero che in quest’ultimo caso non sono stati compresi i pazienti con comorbilità fondamentali (ipertensione, diabete, altra neoplasia) a differenza della nostra popolazione che per forza di cose risultava più numerosa. (89). Tuttavia, considerando anche il dato della proteinuria nelle 24h sopra il cut-off fisiologico abbiamo ottenuto curve di sopravvivenza OS in cui la popolazione con disfunzione renale viveva più di quella senza, contrariamente a quanto accade in pratica clinica. Per questi due principali motivi si è deciso di restringere il criterio di disfunzione renale unicamente a $ClCr < 60$ ml/min, non valutando più la proteinuria 24h. Così facendo è diminuito il numero dei pazienti WM con disfunzione renale (28,1%). Con questa definizione abbiamo notato una mediana OS e TFS inferiore laddove il rene è compromesso, rispettivamente 16,4 (IC 95% 10,4-22,5) vs 20,6 anni Log-rank $p=0,01$; 7,1 (3,7-10,5) vs 19,4 anni (14,9-23,9) Log-rank $p<0,0001$. La mediana OS dei pazienti con WM e malattia renale riscontrata da *Vos et Al* è più bassa della nostra, 11,5 anni, però considera unicamente la malattia renale “WM related” confermata da biopsia e non le comorbilità (ipertensione, diabete) (89). Nella casistica padovana una mediana di OS inferiore nella popolazione con disfunzione renale può essere spiegabile con l’incidenza maggiore di over 65 alla diagnosi che ricordiamo essere un potente fattore prognostico nella WM (86% vs 43,4%, $p<0,0001$), viceversa il dato di una mediana TFS minore è meno intuitivo.

Dal nostro punto di vista in parte si può motivare con una malattia più aggressiva nel sottogruppo renale: livelli di emoglobina più bassi, componente monoclonale IgM nel sangue più alta, B2-microglobulina sierica più alta e un maggior infiltrato midollare. Oltre a questo, sono anche

più frequenti complicanze come amiloidosi AL e malattia da agglutinine fredde. Non pensiamo però che una compromissione renale nella WM comporti un decorso più impegnato della malattia linfoproliferativa solo a causa dell'età avanzata e delle comorbilità che concorrono al danno renale. I motivi che ci spingono a non identificare la compromissione renale da WM come un'eccezione bensì considerarla un possibile interessamento d'organo sono almeno tre:

- Nella popolazione generale US l'incidenza di chronic kidney disease (CKD) nell'over 65 si aggira sui 35-40%, la percentuale è leggermente più bassa se consideriamo la popolazione italiana e i dati Istat del 2011. Il cut off che si è utilizzato per definire la CKD è eGFR < 90ml/min quindi più ampio di quello utilizzato nella costruzione del nostro database di 60 ml/min. Nonostante ciò, l'incidenza di CKD nell'over65 che abbiamo riscontrato è addirittura maggiore, 43,5%. Quindi, è possibile che il solo dato anagrafico non possa essere sufficiente per giustificare la disfunzione renale dal punto di vista eziopatologico. (113–115)
- Il sottogruppo con rene compromesso e WM presenta un'alta frequenza di ipertesi (51,2% vs 26,1% p=0,003), tuttavia non avendo considerato l'albuminuria ma solo eGFR come criterio di CKD non possiamo con certezza avanzare l'ipotesi di un'alta frequenza di nefropatia ipertensiva nel nostro campione. Infatti, questa, così come la nefropatia diabetica, innalza albuminuria (indicativo di danno renale) ed abbassa eGFR(113).
- Come già sottolineato nel paragrafo 1.3 lo studio di *Vos et Al*, a differenza di *Higgins et Al*, correla l'andamento di risposta renale alla terapia di prima linea all'andamento di risposta della malattia linfoproliferativa (89,94). La sottoanalisi svolta in [Tabella V] e descritta nel capitolo [Risultati] concorderebbe con *Vos et Al*. Chi ha disfunzione renale varia il suo filtrato dopo le linee di terapia, rispetto a chi non ha disfunzione renale (43,8% vs 90% di risposte renali di tipo "Stable" p<0,0001). I pazienti della casistica padovana

con disfunzione renale e filtrato che varia dopo la terapia per il linfoma presentano in coloro i quali hanno risposta renale "Worse" e "Stable" una percentuale minore di Major response (VGPR+PR) se confrontati con chi ha una risposta renale positiva "Better" (52,4% vs 83,3%). Le comorbilità non influiscono troppo diversamente tra i due sottogruppi "Worse/Stable" e "Better" renal response. Risposte positive alle linee di terapia dal punto di vista renale correlano con risposte positive alla prima linea di terapia dal punto di vista della malattia linfoproliferativa, forse l'associazione WM-disfunzione non è dunque un evento così eccezionale nel lungo decorso.

Considerando che il sottogruppo in questione è stato sottoposto a terapia in larga parte (81,4% vs 50,0%, $p=0,0004$) resta aperta anche l'ipotesi di nefrotossicità alla base del danno renale, sebbene poco documentata nelle terapie adottate nella WM. Anche per la popolazione renale vengono rimarcati alcuni limiti generali, ovvero la retrospettività dell'indagine ed il fatto che ci sia basati su una sottopopolazione ristretta di una casistica unicentrica, per lo più di una patologia rara come WM. Non poter disporre di sufficienti biopsie renali ovviamente ha limitato di molto il corretto inquadramento eziopatogenetico. Inoltre, i dati di ipertensione e diabete sono stati raccolti unicamente alla diagnosi senza seguirne l'andamento in corso di follow up, al più si è confrontato il dato risposta renale a tutte le linee di terapia con il dato risposta delle malattia linfoproliferativa alla prima linea di terapia. In conclusione, nel paziente anziano (over75 ma soprattutto over65 alla diagnosi) valutare sempre la presenza di disfunzione renale perché potrebbe rappresentare una malattia più aggressiva dal punto di vista dei parametri bioumorali e delle complicanze, anziché essere considerata una comorbilità eziopatologicamente distinta dettata unicamente da età e ipertensione. Questo potrebbe rappresentare addirittura un'indicazione a trattare il paziente, ma al contempo andrebbe prestata attenzione alla posologia dei farmaci ad eliminazione renale utilizzati per la WM e non solo.

5.3 WM nel paziente over75 alla diagnosi

Le caratteristiche clinico-biologiche di malattia nel paziente over75 alla diagnosi sono poco note in letteratura, abbiamo analizzato la nostra popolazione di 33 pazienti WM over75 (21,6%) e confrontato i loro parametri con quelli degli studi noti. Rispetto a *Zanwar et Al* - per esempio - la nostra popolazione mostra ugualmente aumenti di B2-microglobulina nell'anziano, ma diversamente LDH minore e componente monoclonale maggiore (81). Non sono state riscontrate grosse differenze sull'incidenza di complicanze e comorbilità nell'over 75 rispetto all'under 75 con qualche eccezione. Si evidenziano una maggior incidenza di disfunzione renale (42,4% vs 25,0% $p=0,051$), di altra neoplasia (39,3% vs 22,3% $p=0,06$) e soprattutto di anomalie citogenetiche (66,7% vs 33,3% $p=0,02$). Quest'ultimo dato costituisce una novità e andrebbe meglio approfondito in chiave prognostica e predittiva, forse potrebbe spiegarci la precocità nella recidiva della nostra popolazione over75, TFS di 6,8 (IC 95% 4,1-9,6) vs 14,4 anni (6,9-22,0), Log Rank $p = 0,0008$. Non ci stupisce che la mediana OS sia minore nella popolazione over75, perché come già visto nello studio delle comorbilità sulla popolazione generale [paragrafo 5.1] è troppo importante il peso del dato "altra neoplasia" sulla sopravvivenza e gli anziani ne presentano di più, mentre diabete ed ipertensione incidono ed influiscono meno. Abbiamo in particolare identificato una mediana OS di 6,8 anni (IC 95% 6,4-7,3) contro i 26,8 (14,9-38,7) degli under 75 Log Rank $p=0,001$, abbastanza in linea con le mediane degli altri studi sull'over75 (5,3 anni *Kastritis et Al*; 5,9 anni *Zanwar et Al*) (81,82). Il lavoro di *Dalal et Al* ci dice che la principale causa di morte nella WM over75 non è il linfoma o le seconde neoplasie ma le altre comorbilità non neoplastiche; la nostra casistica non prende in considerazione quest'ultime ed evidenzia tuttavia un impatto considerevole del dato "altra neoplasia" e "disfunzione renale" sulla sopravvivenza (97). Va sottolineato come i principali trial clinici sulle terapie WM tengano poco conto dei pazienti over65 e degli over75 [Figura 21,22]. Osservando la terapia di prima linea adottata tra over75 e under75 non si notano grandi differenze né in termini di regimi né in termini di risposta, consentendo di ipotizzare che il linfoma in sé non tenda ad essere più aggressivo nell'anziano

coerentemente anche alla letteratura, dato che risponde praticamente allo stesso modo agli stessi regimi di terapia usati nel giovane. Ci sentiamo dunque di concordare con *Kastritis et Al* sul fatto che buona parte degli over75 non muore di WM ma di altre comorbilità, qui non meglio specificate per i limiti della nostra analisi statistica, numerosità campionaria e raccolta dati. Chiaramente un “finding” di questo tipo avrebbe un grosso risvolto clinico perché spingerebbe l’ematologo ad essere molto meno aggressivo terapeuticamente nell’anziano over75 con diagnosi di WM e si limiterebbe a controllare l’evoluzione della malattia e soprattutto delle comorbilità (neoplastiche e non) in rapporto con gli altri specialisti. Come sottolineano i dati sulla terapia, ad oggi il paziente anziano viene trattato come il paziente giovane con lo scopo di eradicare la malattia linfoproliferativa ed ottenere una remissione prolungata al prezzo di tossicità farmacologiche e complicanze non trascurabili a maggior ragione in soggetti unfit.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Uppal NN, Monga D, Vernace MA, Mehtabdin K, Shah HH, Bijol V, et al. Kidney diseases associated with Waldenström macroglobulinemia. Vol. 34, *Nephrology Dialysis Transplantation*. Oxford University Press; 2019. p. 1644–52.
2. Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, Fonseca R, Greipp PR, McMaster ML, et al. Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: Consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. In: *Seminars in Oncology*. W.B. Saunders; 2003. p. 110–5.
3. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications.
4. Teras LR, DeSantis CE, Cerhan JR, Morton LM, Jemal A, Flowers CR. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2016 Nov 12;66(6):443–59.
5. Jorge J. Castillo, Adam J. Olszewski, Angel M. Cronin, Zachary R. Hunter, Steven P. Treon; Survival trends in Waldenström macroglobulinemia- an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Blood* 2014; 123 (25)- 3999–4000.
6. Kastritis E, Leblond V, Dimopoulos MA, Kimby E, Staber P, Kersten MJ, et al. Waldenström's macroglobulinaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2018 Oct 1;29:iv41–50.
7. Phekoo KJ, Jack RH, Davies E, Møller H, Schey SA. The incidence and survival of Waldenström's Macroglobulinaemia in South East England. *Leukemia Research*. 2008 Jan;32(1):55–9.
8. Wang H, Chen Y, Li F, Delasalle K, Wang J, Alexanian R, et al. Temporal and geographic variations of Waldenström macroglobulinemia incidence: A large population-based study. *Cancer*. 2012 Aug 1;118(15):3793–800.
9. Castillo JJ, Olszewski AJ, Kanan S, Meid K, Hunter ZR, Treon SP. Overall survival and competing risks of death in patients with Waldenström macroglobulinaemia: An analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *British Journal of Haematology*. 2015 Apr 1;169(1):81–9.
10. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018 Apr 1;8(4).

11. Mazzaro C, Franzin F, Tulissi P, Pussini E, Crovatto M, Carniello GS, et al. Regression of Monoclonal B-Cell Expansion in Patients Affected by Mixed Cryoglobulinemia Responsive to Interferon Therapy BACKGROUND. Several authors have reported on the effectiveness of α -interferon.
12. Morton LM, Slager SL, Cerhan JR, Wang SS, Vajdic CM, Skibola CF, et al. Etiologic heterogeneity among non-hodgkin lymphoma subtypes: The InterLymph non-hodgkin lymphoma subtypes project. *Journal of the National Cancer Institute - Monographs*. 2014;(48):130–44.
13. Vajdic CM, Landgren O, McMaster ML, Slager SL, Brooks-Wilson A, Smith A, et al. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström's macroglobulinemia: The InterLymph non-Hodgkin lymphoma subtypes project. *Journal of the National Cancer Institute - Monographs*. 2014;(48):87–97.
14. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. Review Series THE UPDATED WHO CLASSIFICATION OF HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms, *Blood*.
15. Kyle RA, Dispenzieri A, Kumar S, Larson D, Therneau T, Vincent Rajkumar S. IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering Waldenström's macroglobulinemia (SWM). In: *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2011. p. 74–6.
16. Xu L, Hunter ZR, Tsakmaklis N, Cao Y, Yang G, Chen J, et al. Clonal architecture of CXCR4 WHIM-like mutations in Waldenström Macroglobulinaemia. *British Journal of Haematology*. 2016 Mar 1;172(5):735–44.
17. Nguyen-Khac F, Lambert J, Chapiro E, Grelier A, Mould S, Barin C, et al. Chromosomal aberrations and their prognostic value in a series of 174 untreated patients with Waldenström's macroglobulinemia. *Haematologica*. 2013 Apr;98(4):649–54.
18. García-Sanz R, Jiménez C, Puig N, Paiva B, Gutiérrez NC, Rodríguez-Otero P, et al. Origin of Waldenström's macroglobulinaemia. Vol. 29, *Best Practice and Research: Clinical Haematology*. Bailliere Tindall Ltd; 2016. p. 136–47.
19. Üppers AK, Lein LK, Artin L, Eo M, Ansmann H, Laus K, Ajewsky R. Mechanisms of Disease CELLULAR ORIGIN OF HUMAN B-CELL LYMPHOMAS THE HUMAN PERIPHERAL B-CELL REPERTOIRE AND ITS GENERATION Antibody Specificity and Selection of B Cells. 1999.
20. Wagner SD, Martinelli V, Luzzatto L. From the Department of Haematology, Royal Postgraduate Medi-Submitted. 1994.

21. Wang W, Lin P. Lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenström macroglobulinaemia: clinicopathological features and differential diagnosis. Vol. 52, Pathology. Elsevier B.V.; 2020. p. 6–14.
22. Mansoor A, Medeiros LJ, Weber DM, Alexanian R, Hayes K, Jones D, et al. Hematopathology / WALDENSTRÖM MACROGLOBULINEMIA AND CYTOGENETIC ABNORMALITIES Cytogenetic Findings in Lymphoplasmacytic Lymphoma/Waldenström Macroglobulinemia Chromosomal Abnormalities Are Associated With the Polymorphous Subtype and an Aggressive Clinical Course. Vol. 116, Am J Clin Pathol. 2001.
23. Treon SP, Xu L, Luisa Guerrero M, Jimenez C, Hunter ZR, Liu X, et al. Genomic Landscape of Waldenström Macroglobulinemia and Its Impact on Treatment Strategies. J Clin Oncol 2020;38:1198–208.
24. Yun S, Johnson AC, Okolo ON, Arnold SJ, McBride A, Zhang L, et al. Waldenström Macroglobulinemia: Review of Pathogenesis and Management. Vol. 17, Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia. Elsevier Inc.; 2017. p. 252–62.
25. Krzisch D, Guedes N, Boccon-Gibod C, Baron M, Bravetti C, Davi F, et al. Cytogenetic and molecular abnormalities in Waldenström's macroglobulinemia patients: Correlations and prognostic impact. American Journal of Hematology. 2021 Dec 1;96(12):1569–79.
26. Braggio E, Dogan A, Keats JJ, Chng WJ, Huang G, Matthews JM, et al. Genomic analysis of marginal zone and lymphoplasmacytic lymphomas identified common and disease-specific abnormalities. Modern Pathology. 2012 May;25(5):651–60.
27. Armut H, Öhner D, Tephani S, Tilgenbauer S, Xel A, Enner B, et al. The New England Journal of Medicine GENOMIC ABERRATIONS AND SURVIVAL IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA A BSTRACT Background Fluorescence in situ hybridization has. 2000.
28. Kawai T, Akira S. Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. Vol. 34, Immunity. 2011. p. 637–50.
29. Lin SC, Lo YC, Wu H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling. Nature. 2010 Jun 17;465(7300):885–90.
30. Yang G, Zhou Y, Liu X, Xu L, Cao Y, Manning RJ, et al. A mutation in MYD88 (L265P) supports the survival of lymphoplasmacytic cells by activation of Bruton tyrosine kinase in Waldenström macroglobulinemia. Blood 2013;122(7):1222–32.

31. Motshwene PG, Moncrieffe MC, Grossmann JG, Kao C, Ayaluru M, Sandercock AM, et al. An Oligomeric Signaling Platform formed by the toll-like receptor signal transducers MyD88 and IRAK-4. *Journal of Biological Chemistry*. 2009 Sep 11;284(37):25404–11.
32. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2012 Aug 30;367(9):826–33.
33. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in humancancer. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2(7):489–501.
34. Hunter ZR, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood*. 2014;123(11):1637–46.
35. Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. Vol. 16, *Clinical Cancer Research*. 2010. p. 2927–31.
36. Kaiser LM, Hunter ZR, Treon SP, Buske C. CXCR4 in Waldenström's Macroglobulinemia: chances and challenges. Vol. 35, *Leukemia*. Springer Nature; 2021. p. 333–45.
37. Guerrera ML, Tsakmaklis N, Xu L, Yang G, Demos M, Kofides A, et al. MYD88 mutated and wild-type waldenström's macroglobulinemia: Characterization of chromosome 6q gene losses and their mutual exclusivity with mutations in CXCR4. Vol. 103, *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation; 2018. p. e408–11.
38. Munshi M, Liu X, Chen JG, Xu L, Tsakmaklis N, Demos MG, et al. SYK is activated by mutated MYD88 and drives pro-survival signaling in MYD88 driven B-cell lymphomas. *Blood Cancer Journal*. 2020 Jan 1;10(1).
39. Poulain S, Roumier C, Venet-Caillault A, Figeac M, Herbaux C, Marot G, et al. Genomic landscape of CXCR4 mutations in Waldenström macroglobulinemia. *Clinical Cancer Research*. 2016 Mar 15;22(6):1480–8.
40. Varettoni M, Zibellini S, Defrancesco I, Ferretti VV, Rizzo E, Malcovati L, et al. Pattern of somatic mutations in patients with Waldenström macroglobulinemia or IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica*. 2017 Nov 30;102(12):2077–85.
41. Hunter ZR, Xu L, Tsakmaklis N, Demos MG, Kofides A, Jimenez C, et al. Insights into the genomic landscape of MYD88 wild-Type Waldenström macroglobulinemia. *Blood Advances*. 2018 Nov 13;2(21):2937–46.

42. García-Sanz R, Dogliotti I, Zaccaria GM, Ocio EM, Rubio A, Murillo I, et al. 6q deletion in Waldenström macroglobulinaemia negatively affects time to transformation and survival. *British Journal of Haematology*. 2021 Mar 1;192(5):843–52.
43. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2015 Apr 9;372(15):1430–40.
44. Hematological Oncology PIVOTAL STUDY IBRUTINIB- 2019 - Treon - IBRUTINIB MONOTHERAPY PRODUCES LONG-TERM DISEASE CONTROL IN PREVIOUSLY TREATED.
45. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018 Apr 1;8(4).
46. Kyle RA, Dispenzieri A, Kumar S, Larson D, Therneau T, Vincent Rajkumar S. IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering Waldenström's macroglobulinemia (SWM). In: *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2011. p. 74–6.
47. Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar S v., Landgren O, Blade J, Merlini G, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. Vol. 24, *Leukemia*. Nature Publishing Group; 2010. p. 1121–7.
48. Mazzucchelli M, Frustaci AM, Deodato M, Cairoli R, Tedeschi A. Waldenstrom's macroglobulinemia: An update. Vol. 10, *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. Universita Cattolica del Sacro Cuore; 2018.
49. Kyle RA, Benson JT, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, et al. Progression in smoldering Waldenström macroglobulinemia: Long-term results. *Blood*. 2012 May 10;119(19):4462–6.
50. Â Garcõ Âa-Sanz R, Montoto S, Ân Torrequabrada A, Garcõ Âa de Coca A, Â Petit J, Sureda A, et al. Waldenstro Èm macroglobulinaemia: presenting features and outcome in a series with 217 cases. Vol. 115, *British Journal of Haematology*. 2001.
51. Dimopoulos MA, Kastritis E. How I treat Waldenström macroglobulinemia, *Blood* 2019.

52. Dimopoulos MA et Al. Waldenstrom's Macroglobulinemia: clinical features, complications and management. *Journal of clinical oncology*. 2000 Jan;18(1):214–26.
53. Kapoor P, Paludo J, Vallumsetla N, Greipp PR. Waldenström macroglobulinemia: What a hematologist needs to know. *Blood Reviews*. 2015 Sep 1;29(5):301–19.
54. Hobbs, DNP, APRN, CNP M, Fonder, PA-C A, L. Hwa, DNP, APRN, CNP Y. Waldenström Macroglobulinemia: Clinical Presentation, Diagnosis, and Management. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology*. 2020 Jun 1;11(4).
55. Jäger U, Barcellini W, Broome CM, Gertz MA, Hill A, Hill QA, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. Vol. 41, *Blood Reviews*. Churchill Livingstone; 2020.
56. D'Sa S, Kersten MJ, Castillo JJ, Dimopoulos M, Kastiris E, Laane E, et al. Investigation and management of IgM and Waldenström-associated peripheral neuropathies: recommendations from the IWWM-8 consensus panel. *British Journal of Haematology*. 2017 Mar 1;176(5):728–42.
57. Briani C, Visentin A, Campagnolo M, Salvalaggio A, Ferrari S, Cavallaro T, et al. Peripheral nervous system involvement in lymphomas. Vol. 24, *Journal of the Peripheral Nervous System*. Blackwell Publishing Inc.; 2019. p. 5–18.
58. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, immunopathogenesis and therapies of igma-anti-mag antibody-mediated neuropathies. Vol. 11, *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. SAGE Publications Ltd; 2018.
59. Milani P, Merlini G. Monoclonal IgM-related AL amyloidosis. Vol. 29, *Best Practice and Research: Clinical Haematology*. Bailliere Tindall Ltd; 2016. p. 241–8.
60. Sachchithanatham S, Roussel M, Palladini G, Klersy C, Mahmood S, Venner CP, et al. European collaborative study defining clinical profile outcomes and novel prognostic criteria in monoclonal immunoglobulin M-related light chain amyloidosis. *Journal of Clinical Oncology*. 2016 Jun 10;34(17):2037–45.
61. Gertz MA, Merlini G, Treon SP. Amyloidosis and Waldenström's Macroglobulinemia ASHpublications, Hematology. 2004.
62. Simon A, Asli B, Braun-Falco M, de Koning H, Femand JP, Grattan C, et al. Schnitzler's syndrome: Diagnosis, treatment, and follow-up. Vol. 68, *Allergy*:

European Journal of Allergy and Clinical Immunology. Blackwell Publishing Ltd; 2013. p. 562–8.

63. Durot E, Tomowiak C, Michallet AS, Dupuis J, Hivert B, Leprêtre S, et al. Transformed Waldenström macroglobulinaemia: clinical presentation and outcome. A multi-institutional retrospective study of 77 cases from the French Innovative Leukemia Organization (FILO). *British Journal of Haematology*. 2017 Nov 1;179(3):439–48.
64. Durot Hôpital Robert Debré CHU de Reims E, Lukshe Kanagaratnam Hôpital Robert Debré F, Alcoceba M, Robert Debré CHU de Reims H, Jehan Dupuis Hopital Henri Mondor F, Patel A, et al. High frequency of central nervous system involvement in transformed Waldenström macroglobulinemia Clinical trial registration information (if any). ASHpublications 2022.
65. Castillo JJ, Gustine J, Meid K, Dubeau T, Hunter ZR, Treon SP. Histological transformation to diffuse large B-cell lymphoma in patients with Waldenström macroglobulinemia. *American Journal of Hematology*. 2016 Oct 1;91(10):1032–5.
66. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of hodgkin and non-hodgkin lymphoma: The lugano classification. Vol. 32, *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology; 2014. p. 3059–67.
67. Armitage JO. Staging Non-Hodgkin Lymphoma. Available from: <http://CAonline.AmCancerSoc.org>
68. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F. Non-Hodgkin lymphoma. Vol. 390, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2017. p. 298–310.
69. Kyle RA, Treon SP, Alexanian R, Barlogie B, Björkholm M, Dhodapkar M, et al. Prognostic markers and criteria to initiate therapy in Waldenstrom's macroglobulinemia: Consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. In: *Seminars in Oncology*. W.B. Saunders; 2003. p. 116–20.
70. Morel P, Duhamel A, Gobbi P, Dimopoulos MA, Dhodapkar M v, Mccoy J, et al. International prognostic scoring system for Waldenström macroglobulinemia. 2009;113:4163–70. ASHpublications, Blood.
71. Kastritis E, Morel P, Duhamel A, Gavriatopoulou M, Kyrtsionis MC, Durot E, et al. A revised international prognostic score system for Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia*. 2019 Nov 1;33(11):2654–61.

72. JJ Castillo and Steve P. Treon. Management of Waldenström Macroglobulinemia in 2020. Hematology ASH educational program. 2020;
73. Leblond V, Kastiris E, Advani R, Ansell SM, Buske C, Castillo JJ, et al. Treatment recommendations from the Eighth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. Vol. 128, Blood. American Society of Hematology; 2016. p. 1321–8.
74. Dimopoulos MA, Tedeschi A, Trotman J, García-Sanz R, Macdonald D, Leblond V, et al. Phase 3 Trial of Ibrutinib plus Rituximab in Waldenström's Macroglobulinemia. New England Journal of Medicine. 2018 Jun 21;378(25):2399–410.
75. Dimopoulos MA, Trotman J, Tedeschi A, Matous J v., Macdonald D, Tam C, et al. Ibrutinib for patients with rituximab-refractory Waldenström's macroglobulinaemia (iNOVATE): an open-label substudy of an international, multicentre, phase 3 trial. The Lancet Oncology. 2017 Feb 1;18(2):241–50.
76. Owen RG, Kyle RA, Stone MJ, Rawstron AC, Leblond V, Merlini G, et al. Response assessment in Waldenström macroglobulinaemia: Update from the VIth International Workshop. British Journal of Haematology. 2013 Jan;160(2):171–6.
77. Pratt G, El-Sharkawi D, Kothari J, D'Sa S, Auer R, McCarthy H, et al. Guidelines on the diagnosis and management of Waldenström macroglobulinaemia—A *British Society for Haematology* guideline. British Journal of Haematology 2022 Jan 12.
78. Piazza F, di Paolo V, Scapinello G, Manni S, Trentin L, Quintieri L. Determinants of Drug Resistance in B-Cell Non-Hodgkin Lymphomas: The Case of Lymphoplasmacytic Lymphoma/Waldenström Macroglobulinemia. Frontiers in Oncology. 2022 Jan 11;11.
79. Treon SP, Meid K, Gustine J, Yang G, Xu L, Liu ; Xia, et al. Long-Term Follow-Up of Ibrutinib Monotherapy in Symptomatic, Previously Treated Patients With Waldenström Macroglobulinemia. J Clin Oncol 2020;39:565–75.
80. Castillo JJ, Xu L, Gustine JN, Keezer A, Meid K, Dubeau TE, et al. CXCR4 mutation subtypes impact response and survival outcomes in patients with Waldenström macroglobulinaemia treated with ibrutinib. British Journal of Haematology. 2019 Nov 1;187(3):356–63.
81. Zanwar S, Abeykoon JP, Ansell SM, Gertz MA, Paludo J, King RL, et al. Waldenström Macroglobulinemia in the Very Elderly (≥75 years): Clinical Characteristics and Outcomes. Blood. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):44–5.

82. Kastritis E, Kyrtsolis MC, Morel P, Gavriatopoulou M, Hatjiharissi E, Symeonidis AS, et al. Competing risk survival analysis in patients with symptomatic waldenström macroglobulinemia: The impact of disease unrelated mortality and of rituximab-based primary therapy. Vol. 100, *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation; 2015. p. e448–9.
83. Castillo JJ, Olszewski AJ, Hunter ZR, Kanan S, Meid K, Treon SP. Incidence of secondary malignancies among patients with Waldenström macroglobulinemia: An analysis of the SEER database. In: *Cancer*. John Wiley and Sons Inc.; 2015. p. 2230–6.
84. Morra E, Varettoni M, Tedeschi A, Arcaini L, Ricci F, Pascutto C, et al. Associated cancers in Waldenström macroglobulinemia: Clues for common genetic predisposition. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2013 Dec;13(6):700–3.
85. Hanzis C, Ojha RP, Hunter Z, Manning R, Lewicki M, Brodsky P, et al. Associated malignancies in patients with Waldenström's macroglobulinemia and their kin. In: *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2011. p. 88–92.
86. Gavriatopoulou M, Kastritis E, Dimopoulos MA. How I treat elderly patients with plasma cell dyscrasias. *Aging*. 2018;10(12).
87. Uppal NN, Monga D, Vernace MA, Mehtabdin K, Shah HH, Bijol V, et al. Kidney diseases associated with Waldenström macroglobulinemia. Vol. 34, *Nephrology Dialysis Transplantation*. Oxford University Press; 2019. p. 1644–52.
88. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, Leung N, Ludwig H, Jagannath S, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 20;28(33):4976–84.
89. Vos JM, Gustine J, Rennke HG, Hunter Z, Manning RJ, Dubeau TE, et al. Renal disease related to Waldenström macroglobulinaemia: incidence, pathology and clinical outcomes. *British Journal of Haematology*. 2016 Nov 1;175(4):623–30.
90. Morel-Maroger L, Basch A, Danon F, Verroust P, Richet G. Pathology of the kidney in Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 1970 Jul 16;283(3):123–9.
91. Wanchoo R, Ramirez CB, Barrientos J, Jhaveri KD. Renal involvement in chronic lymphocytic leukemia. Vol. 11, *Clinical Kidney Journal*. Oxford University Press; 2018. p. 670–80.

92. Dickerson T, Wiczer T, Waller A, Philippon J, Porter K, Haddad D, et al. Hypertension and incident cardiovascular events following ibrutinib initiation 2019 ASH publications, Blood.
93. Wanchoo R, Abudayyeh A, Doshi M, Edeani A, Glezerman IG, Monga D, et al. Renal Toxicities of Novel Agents Used for Treatment of Multiple Myeloma. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(1):176–89.
94. Higgins L, Nasr SH, Said SM, Kapoor P, Dingli D, King RL, et al. Kidney involvement of patients with Waldenström macroglobulinemia and other IgM-producing B cell lymphoproliferative disorders. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2018 Jul 6;13(7):1037–46.
95. Dimopoulos MA, Kastritis E, Owen RG, Kyle RA, Landgren O, Morra E, et al. Treatment recommendations for patients with Waldenström macroglobulinemia (WM) and related disorders: IWWM-7 consensus. Vol. 124, *Blood*. American Society of Hematology; 2014. p. 1404–11.
96. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2015 Apr 9;372(15):1430–40.
97. Dalal NH, Dores GM, Curtis RE, Linet MS, Morton LM. Cause-specific mortality in individuals with lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinaemia, 2000–2016. *British Journal of Haematology*. 2020 Jun 1;189(6):1107–18.
98. Haider MZ, Aslam A. Proteinuria. 2022.
99. Treon SP, Gustine J, Meid K, Yang G, Xu L, Liu X, et al. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY Ibrutinib Monotherapy in Symptomatic, Treatment-Naïve Patients With Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2018;36:2755–61.
100. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2015 Apr 9;372(15):1430–40.
101. Treon SP, Meid K, Gustine J, Yang G, Xu L, Liu ; Xia, et al. Long-Term Follow-Up of Ibrutinib Monotherapy in Symptomatic, Previously Treated Patients With Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2020;39:565–75.
102. Castillo JJ, Meid K, Gustine JN, Leventoff C, White T, Flynn CA, et al. Long-term follow-up of ibrutinib monotherapy in treatment-naïve patients with Waldenström macroglobulinemia. *Leukemia*. 2022 Feb 1;36(2):532–9.

103. Castillo JJ, Allan JN, Siddiqi T, Advani RH, Meid K, Leventoff C, et al. Venetoclax in Previously Treated Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2022;40:63–71.
104. Kyriakou C, Canals C, Sibon D, Cahn JY, Kazmi M, Arcese W, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation in Waldenström macroglobulinemia: The lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *Journal of Clinical Oncology*. 2010 May 1;28(13):2227–32.
105. Treon SP, Ioakimidis L, Soumerai JD, Patterson CJ, Sheehy P, Nelson M, et al. Primary therapy of Waldenström macroglobulinemia with bortezomib, dexamethasone, and rituximab: WMCTG clinical trial 05-180. *Journal of Clinical Oncology*. 2009 Aug 10;27(23):3830–5.
106. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Kyrtsolis MC, Zervas K, Tsatalas C, Kokkinis G, et al. Primary treatment of Waldenström macroglobulinemia with dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide. *Journal of Clinical Oncology*. 2007 Aug 1;25(22):3344–9.
107. Dimopoulos MA, Tedeschi A, Trotman J, García-Sanz R, Macdonald D, Leblond V, et al. Phase 3 Trial of Ibrutinib plus Rituximab in Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2018 Jun 21;378(25):2399–410.
108. Trotman J, Buske C, Tedeschi A, Matous J v., MacDonald D, Tam CS, et al. Single-agent ibrutinib for rituximab-refractory waldenström macroglobulinemia: Final analysis of the substudy of the phase III innovate™ trial. *Clinical Cancer Research*. 2021 Nov 15;27(21):5793–800.
109. Paludo J, Abeykoon JP, Shreders A, Ansell SM, Kumar S, Ailawadhi S, et al. Bendamustine and rituximab (BR) versus dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide (DRC) in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Annals of Hematology*. 2018 Aug 1;97(8):1417–25.
110. Zanwar S, Abeykoon JP, Ansell SM, Gertz MA, Paludo J, King RL, et al. Waldenström Macroglobulinemia in the Very Elderly (≥75 years): Clinical Characteristics and Outcomes. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):44–5.
111. Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, Tighiouart H, Wang D, Sang Y, et al. New Creatinine- and Cystatin C–Based Equations to Estimate GFR without Race. *New England Journal of Medicine*. 2021 Nov 4;385(19):1737–49.
112. Castillo JJ, Sarosiek SR, Gustine JN, Flynn CA, Leventoff CR, White TP, et al. Response and survival predictors in a cohort of 319 patients with Waldenström macroglobulinemia treated with ibrutinib monotherapy. *Blood Advances*. 2022 Feb 8;6(3):1015–24.

113. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of Chronic Kidney Disease in the United States. JAMA Network.
114. Mallappallil M, Friedman EA, Delano BG, Mcfarlane SI, Salifu MO. Chronic kidney disease in the elderly: Evaluation and management. Vol. 11, Clinical Practice. Future Medicine Ltd.; 2014. p. 525–35.
115. de Nicola L, Donfrancesco C, Minutolo R, Io Noce C, de Curtis A, Palmieri L, et al. EPIDEMIOLOGIA DELLA MALATTIA RENALE CRONICA IN ITALIA: STATO DELL'ARTE E CONTRIBUTO DELLO STUDIO CARHES Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri e Fondazione per il Tuo Cuore-Heart Care Foundation. G Ital Nefrol. 2011;28(4):401–7.