



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA IN
EMATOLOGIA

CICLO DEL CORSO DI DOTTORATO

XXII

“Gestione Domiciliare di pazienti con Mieloma Multiplo recidivato/refrattario sottoposti a terapia di salvataggio con Lenalidomide, Adriblastina e Desametazone (RAD): esempio di continuità assistenziale presso la Divisione di Ematologia dell'Ospedale S.Eugenio.”

dott.ssa Micaela Ales

A.A. 2009/2010

Docente Guida/Tutor: Prof. P. de Fabritiis

Coordinatore: Prof. S. Amadori

Introduzione

Mieloma Multiplo: cenni generali su diagnosi, prognosi e terapia

Il Mieloma multiplo è una neoplasia del sistema linfoide B caratterizzata dalla proliferazione ed accumulo nel midollo osseo di plasmacellule e dall'aumentata produzione di immunoglobuline monoclonali, complete o incomplete (Componente Monoclonale, CM), rilevabili nel siero e/o nelle urine.

Il MM rappresenta l'1% di tutte le neoplasie ed il 10% delle neoplasie ematologiche, colpisce prevalentemente l'età medio-avanzata [età mediana alla diagnosi 70 anni] con una lieve predilezione per il sesso maschile e per la razza nera, ha una incidenza complessiva di 5.6 nuovi casi anno su 100.000 persone, variabile dall'2.9/100.000 per le donne asiatiche al 14.4/100.000 per gli uomini di razza nera (1). L'etiologia è a tutt'oggi sconosciuta. Come tutte le neoplasie, però, anche il mieloma può essere considerato come una patologia ad etiologia multifattoriale alla cui insorgenza concorrono l'esistenza di una predisposizione genetica e l'esposizione ad agenti ambientali riconosciuti come cancerogeni (2)

Le manifestazioni cliniche sono estremamente variabili e sono riconducibili essenzialmente all'espansione della massa mielomatosa, alla produzione autocrina e paracrina di citochine, alle caratteristiche fisico-chimiche della CM e al deficit immunoglobulinico (tabella 1). Questo spiega come mai nelle fasi iniziali della malattia, quando il tumore è di piccola taglia, i sintomi sono assenti e la diagnosi può essere effettuata solo occasionalmente sulla base del rinvenimento, nel corso di esami di routine, di una VES aumentata o di una CM sierica associata o meno a proteinuria. Le recenti acquisizioni sulla biologia del MM e sui meccanismi patogenetici che sono alla base della progressione di malattia ed il miglioramento delle metodiche di laboratorio a nostra disposizione hanno permesso da un lato una migliore caratterizzazione della malattia, dall'altro lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. Allo stato attuale è importante non solo fare diagnosi di MM avvalendosi dei criteri classici, ma stabilirne la sintomaticità basata sulla presenza o meno di un danno d'organo associato (tabelle 2 e 3). (3).

Vi è infatti un generale accordo che, a differenza di quello che accade in altre patologie neoplastiche, la terapia del MM va iniziata solo quando la malattia diventa attiva o vi è evidenza di sintomi (anemia, ipercalcemia, lesioni ossee, insufficienza

renale, iperviscosità, amiloidosi, infezioni batteriche), in quanto non vi è evidenza che un trattamento chemioterapico precoce in pazienti con MM asintomatico determini un significativo aumento della sopravvivenza (4).

La terapia del MM ha preso formalmente avvio a partire dagli anni '50-'60 con l'introduzione del melfalan e prednisone, farmaci che sono rimasti essenziali per decenni e che rivestono ancora oggi un ruolo di rilievo nell'armamentario terapeutico. L'incapacità di altri agenti chemioterapici, da soli o in combinazione, di influire positivamente sul prolungamento della sopravvivenza, mediamente pari a circa 3 anni, ha portato ad un periodo di sostanziale stagnazione terapeutica per oltre 20 anni. Agli inizi degli anni '80 l'introduzione della chemioterapia con melfalan ad alte dosi seguito dal trapianto di progenitori emopoietici, autologhi e allogenici, ha aperto una nuova era terapeutica del MM.

In aggiunta, nuovi e ancora più promettenti scenari terapeutici sono andati delineandosi nell'arco degli ultimi 10 anni grazie alla disponibilità di farmaci non antiblastici in grado di esercitare la propria attività oltre che sulle cellule neoplastiche

anche sulle cellule del microambiente midollare, il cui ruolo è cruciale nel promuovere la crescita e la progressione del clone mielomatoso e nell'indurne la resistenza alla terapia (5).

Esempi paradigmatici di questa nuova classe di farmaci entrati nella pratica clinica quotidiana sono la talidomide ed i suoi analoghi immunomodulatori, in particolare la lenalidomide, e l'inibitore del proteasoma PS-341 (bortezomib). La dimostrazione dell'elevata efficacia dei nuovi farmaci nei pazienti con MM ricaduto/refrattario, non più responsivi alla chemioterapia, e dei loro peculiari meccanismi d'azione hanno fornito le basi razionali per lo sviluppo di recenti protocolli basati sull'impiego di talidomide, bortezomib, lenalidomide in combinazione con vecchie e consolidate terapie nelle fasi precoci di malattia, allo scopo di aumentare la citotossicità e di superare la farmacoresistenza, incrementando così le possibilità di prolungare la sopravvivenza globale (OS) sia all'esordio di malattia che in ricaduta (6).

Appare chiaro come, con l'introduzione dei nuovi farmaci, siano necessari nuovi studi per confermarne la validità o identificare altri fattori prognostici più adatti alle nuove terapie.

Attualmente i fattori prognostici universalmente accettati sono:

-l'International Staging System (ISS): modello di stratificazione molto semplice, potente e riproducibile che permette di classificare i pazienti in tre classi in base ai valori di β 2-microglobulina e albumina alla diagnosi (TABELLA 3). Oltre ad essere di facile esecuzione, questa classificazione prende in considerazione 2 diverse caratteristiche del tumore: la β 2-microglobulina sierica riflette la massa tumorale e la funzionalità renale mentre i valori di albumina sono correlati agli effetti dell'interleuchina-6 prodotta dal microambiente midollare osseo a livello del fegato (7).

-Le anomalie cromosomiche hanno dimostrato di avere un impatto sulla sopravvivenza dei pazienti con MM. Una prognosi peggiore è stata riscontrata nei pazienti con presenza di una traslocazione coinvolgente i geni della catena pesante delle immunoglobuline t(4,14), t(14,16), t(14,20), delezione del 17p13 o alla delezione del cromosoma 13. Al contrario, una prognosi migliore è stata osservata in presenza di t(11,14), t(6,14) o di iperdiploidia (8) (9) (10).

Risultati preliminari sembrano mostrare come sia il bortezomib che la lenalidomide possano superare la cattiva prognosi legata alla delezione del 13 ed alla traslocazione t(4;14). Il bortezomib sembra essere più attivo della lenalidomide in presenza della delezione del cromosoma 17p13 mentre l'impatto negativo di queste alterazioni cromosomiche sull'andamento clinico non sembra essere modificato dalla chemioterapia intensiva con autotrapianto (11).

Le indagini di gene expression profiling, hanno migliorato la stratificazione dei pazienti e la stadiazione prognostica ma non sono ancora da considerare esami di routine (12) (13).

Altri parametri che si associano ad una prognosi peggiore sono costituiti da un indice di proliferazione delle plasmacellule maggiore del 3%, il riscontro di cellule con morfologia plasmoblastica, gli alti livelli di LDH e un alterato rapporto delle catene leggere (14).

Alla luce di quanto esposto, è fortemente raccomandato che in tutti i pazienti con una nuova diagnosi di MM siano ricercate le traslocazioni t(4;14) e t(14-16), la delezione del 17p13, e che sia effettuata la misurazione del valore di β 2-microglobulina e di albumina (15).

Nonostante i significativi miglioramenti terapeutici ottenuti negli ultimi anni con l'introduzione dei "nuovi farmaci", il mieloma è destinato a recidivare, le risposte alla terapia sono, a tutt'oggi, poco durature nel tempo e non vi sono dati definitivi su quale sia il regime di salvataggio terapeutico migliore (16).

La terapia va ripresa quando ricompaiono i segni e i sintomi del danno d'organo secondo i criteri CRAB. Il solo aumento della percentuale di plasmacellule a livello midollare non giustifica l'inizio della terapia, così come un lento incremento della componente monoclonale. Se la risposta alla terapia precedente è stata superiore ai 18 mesi e l'ultimo ciclo è stato ben tollerato, è considerato opportuno sottoporre il paziente al medesimo trattamento (5). In alternativa, nel paziente anziano si procede all'uso dei farmaci di nuova generazione che permettono di ottenere buoni risultati sia in termini di risposta sia di intervallo libero da malattia. I regimi terapeutici più utilizzati prevedono l'uso dei corticosteroidi in associazione a talidomide, lenalidomide o bortezomib. Eventualmente, al fine di incrementare il tasso di risposta pur tenendo in considerazione la maggior tossicità, è possibile aggiungere alle combinazioni suddette una chemioterapia, con agenti alchilanti o antraciclinici.

Lenalidomide nel trattamento del Mieloma Multiplo

La lenalidomide (CC-5013) è un analogo immunomodulatore di talidomide che in studi preclinici (bibliografia) ha dimostrato possedere una maggiore attività rispetto al farmaco capostipite con un diverso profilo di tossicità, soprattutto per la sostanziale assenza di neurotossicità (IMMAGINE 1). A seguito di due studi di fase III (MM 009 e MM 010) nei quali veniva dimostrato il significativo vantaggio offerto dall'associazione lenalidomide-desametasone (len-dex) rispetto al solo desametasone

nel trattamento dei pazienti con MM ricaduto dopo una singola linea di terapia, la lenalidomide è stata recentemente approvata con questa indicazione negli USA ed in Europa (17)(18). Il primo studio ha arruolato complessivamente 353 pazienti e si è svolto in USA e Canada, il secondo, effettuato in Europa, Israele e Australia complessivamente 351. In entrambi lenalidomide ha dimostrato di aumentare significativamente il tempo alla progressione di malattia (parametro primario) anche nei pazienti precedentemente trattati con talidomide. Una significativa superiorità è stata rilevata anche relativamente alla sopravvivenza totale (TABELLA 4).

Studi in vitro hanno dimostrato che l'azione antitumorale di lenalidomide si esplica su vari fronti:

- favorendo l'apoptosi delle cellule tumorali (effetto citotossico diretto);
- inibendo il microambiente che sostiene lo sviluppo e la sopravvivenza delle cellule tumorali attraverso una azione anti-angiogenetica ed anti-osteoclastogenica (effetto citotossico indiretto);
- modificando l'attività delle cellule T ed NK (effetto immunomodulante).

Questo ne spiega il possibile impiego sia nelle neoplasie ematologiche che in quelle solide.

Gli effetti collaterali più frequentemente descritti sono: neutropenia, affaticamento, astenia, stipsi, crampi muscolari, trombocitopenia, anemia, diarrea ed esantema. La neutropenia, anche di grado IV, ed un significativo aumento del rischio di eventi tromboembolici sono risultati gli eventi più gravi e preoccupanti. A differenza della talidomide, le neuropatie periferiche non risultano significativamente aumentate.

Gli effetti teratogeni del farmaco non sono conosciuti e, pertanto, al fine di minimizzare i potenziali rischi e di monitorare gli altri effetti collaterali gravi è stato attivato dalla Ditta un programma di risk management.

Allo stato attuale delle conoscenze, la lenalidomide rappresenta una valida alternativa a cortisonici, talidomide o bortezomib nel trattamento del mieloma multiplo in recidiva. La carenza di studi di confronto con le alternative disponibili sia relativamente all'efficacia che alla tollerabilità non consente di collocare con sicurezza il farmaco in terapia.

Studi recenti hanno evidenziato una correlazione significativa tra il raggiungimento della CR dopo la terapia ed il prolungamento sia della TTP che della OS (19)(20). Pertanto, per migliorare la risposta alla terapia e prolungare l'intervallo libero da malattia, anche nei pazienti con MM recidivato/refrattario, negli ultimi anni sono stati proposti diversi studi che prevedono l'uso di Lenalidomide in associazione con polichemioterapia (TABELLA 4).

Knop et al. hanno dimostrato che l'associazione Lenalidomide, Adriamicina e Desametazone (RAD), può indurre remissioni consistenti e durature con un profilo di tossicità accettabile in pazienti pesantemente pretrattati. (21)

Nella scheda di trattamento di Knop l'Adriamicina veniva somministrata in infusione continua di oltre 96 ore con conseguente necessità di ricovero ospedaliero

del paziente e spesso con l'esigenza di dover posizionare un catetere venoso centrale; abbiamo quindi proposto uno schema modificato del RAD con l'Adriamicina in una singola dose in bolo ev ai gg 1 e 4 (SCHEMA 1).

Gestione domiciliare dei pazienti ematologici

Le cure domiciliari consistono in trattamenti medici, infermieristici e riabilitativi prestati da personale qualificato per la cura e l'assistenza delle persone non autosufficienti ed in condizioni di fragilità, con patologie in atto o con esiti delle stesse, per stabilizzare il quadro clinico, limitare il declino funzionale e migliorare la qualità della vita quotidiana. (22).

Lo sviluppo del servizio di assistenza domiciliare per pazienti ematologici è stato prevalentemente supportato da AIL, la quale nella città di Roma ha una lunga tradizione di impegno e di successi. Le prime attività di gestione domiciliare sono state avviate nei primi anni novanta quando, compresa l'importanza del luogo di cura per i pazienti ematologici e per i loro familiari, è stato avviato il progetto di cure domiciliari che ha permesso a sanitari esperti nel settore dell'ematologia di poter assistere i pazienti presso il loro domicilio.

A partire dal 2006, grazie anche al rilancio delle attività di cure domiciliari erogate dall'UOC di Ematologia dell'Ospedale Sant'Eugenio, si sono poste le basi per la realizzazione dell'Ospedale Ematologico Domiciliare Romail "Giuseppe Papa", con cui la cui realizzazione l'attività di assistenza domiciliare è stata svolta in modo continuativo e strutturato, prevedendo modalità di intervento differenziate sulla base della tipologia clinica (patologia di base, fase della malattia, necessità terapeutiche...) e del profilo psico-sociale (età, sesso, grado di istruzione...) di ogni singolo paziente. (In generale, il paziente con mieloma multiplo deve essere considerato un paziente fragile ed a maggior ragione tale fragilità può essere presente in pazienti già pretrattati. Inoltre, deve essere preso in considerazione anche l'impatto psicologico e sociale che colpisce pazienti e familiari, provati dalle precedenti terapie che molto spesso hanno richiesto ricoveri ospedalieri di lunga durata. In questo contesto, la possibilità di una presa in carico globale del paziente e della famiglia attraverso un servizio di continuità assistenziale, che permetta di effettuare una strategia terapeutica efficace e senza la necessità di un ricovero ospedaliero per la gestione delle possibili complicanze ematologiche ed extra-ematologiche, assume un valore aggiunto dal punto di vista medico, sociale ed economico.

SCOPO DELLA TESI

Valutare la fattibilità di uno schema di terapia di salvataggio (RAD modificato), in termini di efficacia e gestione delle tossicità, in pazienti con mieloma multiplo recidivato/refrattario, attraverso una gestione integrata tra ospedale e servizio di assistenza domiciliare.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Tra Maggio e Dicembre 2008 abbiamo trattato 10 pazienti (4M/6F) affetti da MM recidivato/refrattario, le cui caratteristiche sono riportate nella Tab n.6 e sono le seguenti: l'età mediana di 69 anni (range 50-78), il performance status secondo la WHO compreso tra 0 e 3, il valore medio di Hgb era di 8,95 gr/dl (range 8,3-12,1) mentre quello della β 2M era di 4,4 mg/L (range 2,5-9,1), la mediana

di tempo dalla diagnosi di MM al trattamento da noi proposto era di 33 mesi (range 11-130); tutti i pazienti trattati avevano ricevuto precedenti schemi di terapia (range 1-6) e cinque di loro erano precedentemente stati sottoposti ad un trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche (23).

Terapia

La schedula di trattamento era la seguente: Revlimid è stato somministrato alla dose di 25 mg per os dal giorno 1 al giorno 21; Adriamicina alla dose di 40 mg/mq endovena nei giorni 1 e 4; Desametazone alla dose di 40 mg dose totale p.o. od e.v. dal giorno 1 al 4 e dal giorno 15 al giorno 18 nel primo ciclo di terapia, mentre nei cicli successivi il secondo blocco di terapia cortisonica non è stato contemplato. Al giorno +6 era prevista la somministrazione di Pegfilgrastim 6 mg s.c. (SCHEDA 1). Tutti i pazienti hanno ricevuto profilassi antibiotica con cotrimoxazolo e profilassi antitrombotica con aspirinetta. Profilassi antivirale era prevista solo in pazienti con anamnesi positiva per HZ.

Criteri di risposta e di tossicità

Per la valutazione della risposta sono stati utilizzati i criteri dell'International Myeloma Working Group, ed i criteri del National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria per definire il grado di tossicità (24) (25).

Gestione congiunta tra ambulatorio e Assistenza Domiciliare

Presso la UOC Ematologia dell'Ospedale S.Eugenio è operante dal 1 gennaio 2007 un servizio di Assistenza Domiciliare, nell'ambito dell'Ospedale Ematologico Domiciliare per la Città di Roma "Romail-Giuseppe Papa", dotata di personale specializzato (medico ematologo, infermiere professionale, psicologo, fisioterapista).

I pazienti selezionati presso il nostro ambulatorio/DH per i criteri ematologici (MM recidivato/refrattario), sono stati successivamente valutati dal team dell'AD per la presa in carico e la possibile gestione congiunta.

Le modalità di gestione sono state le seguenti: i pazienti accedevano al DH nei gg 1 e 4 per l'infusione dell'antraciclinico mentre eseguivano a domicilio il monitoraggio dei parametri clinici e di laboratorio previsti da protocollo durante il ciclo.

Ogni singolo paziente è stato affidato alla gestione domiciliare di un infermiere professionale e di un medico ematologo dedicati, che si impegnavano a garantire almeno due accessi settimanali a paziente, con possibili variazioni in funzione dei parametri ematologici registrati e delle condizioni cliniche.

Il team di assistenza domiciliare si impegnavano a fornire eventuale terapia parenterale e/o di supporto.

In accordo con le indicazioni del protocollo i pazienti sono stati sottoposti a controllo della funzionalità renale ed epatica nei giorni 0,7,14,21,28 del ciclo e della CM sierica ed urinaria nei giorni 14 e 28; qualora il valore piastrinico fosse risultato $\leq 20.000/uL$ e la conta dei GN $\leq 500/uL$ l'esame emocromocitometrico è stato eseguito ogni 48 ore.

Per eventuali esami strumentali i pazienti afferrivano al DH ematologico dell'Ospedale S. Eugenio dopo opportuna programmazione concordata dal medico del team dell'assistenza domiciliare e dal responsabile del progetto.

Una reportistica aggiornata generale dell'andamento del protocollo è stata ottenuta grazie ai frequenti colloqui (almeno settimanali, secondo necessità anche giornalieri) tra il coordinatore del team di cure domiciliari ed il responsabile del protocollo.

RISULTATI

Due dei 10 pazienti inseriti nello studio non sono risultati valutabili per una precoce uscita dallo stesso dovuta a progressione di malattia sotto terapia (riscontrata dopo il I ciclo).

Al termine dello studio è stata riscontrata una risposta clinica significativa in 7 pazienti (4 VGPR e 3 CR) mentre una progressione di malattia è stata evidenziata in un paziente (dopo il III ciclo).

La risposta migliore è stata osservata dopo una mediana di trattamento di 8 settimane (range 4-12).

Tra gli effetti collaterali riscontrati la mielotossicità è stato il più importante, manifestatasi con leucopenia e trombocitopenia di grado 2 in 5/8 pazienti e di grado 4 in un paziente; tali condizioni ci hanno obbligati a ridurre la dose di farmaco somministrata. Quando il valore piastrinico scendeva al di sotto di 30.000/mcL la lenalidomide veniva sospesa per essere reintrodotta alla dose di 15 mg/die quando si raggiungeva/superava il valore di 30.000mcL; quando si sono manifestate ripetute oscillazioni del valore piastrinico, ad ogni recupero la lenalidomide veniva

reintrodotta alla dose di 5 mg inferiore alla precedente ma mai alla dose inferiore di 5 mg/die. Per una neutropenia inferiore a 1000/mcL la lenalidomide veniva sospesa e veniva somministrato GCSF; per valori di GN superiori a 1000/mcL la lenalidomide veniva somministrata alla dose di 15 mg/die; ad ogni oscillazione di valore dei GN la lenalidomide veniva reintrodotta alla dose di 5 mg inferiore alla precedente ma mai inferiore ai 5 mg/die. (TABELLA 5).

Un paziente è deceduto in remissione completa per complicanza infettiva (polmonite) dopo 5 giorni di febbre resistente a terapia antibiotica ad ampio spettro in condizione di pancitopenia, dopo il II ciclo di RAD.

Gli effetti collaterali non ematologici riscontrati sono stati febbre (in un caso), fatigue (in 3 casi) e diarrea (in 2 casi); non sono stati riscontrati sintomi neurologici significativi.

Dopo un follow up mediano di osservazione di 54 settimane (range 8-80), tutti e sei i pazienti hanno sviluppato una progressione di malattia, per cui hanno necessitato di una ulteriore terapia di salvataggio; il tempo mediano di progressione è stato di 16 settimane (range 12-24) (TABELLA 5).

La gestione delle complicanze è stata, quando possibile e quindi nella quasi totalità dei casi, domiciliare; per qualunque necessità acuta (come nel caso del paziente deceduto per polmonite) i pazienti hanno fatto riferimento al DEA dell'Ospedale S. Eugenio; i dati emersi da questa nostra esperienza hanno evidenziato come il maggiore numero di interventi medici ed infermieristici sia stato prevalentemente a causa di episodi di disidratazione (3/7 pazienti nel periodo di osservazione previsto tra luglio e settembre) e quindi per la necessità di mantenere un'idratazione e.v. di supporto e per lo stretto monitoraggio dei parametri vitali (pressione arteriosa, frequenza cardiaca, bilancio idrico); nei casi trattati 72 ore di supporto idrico sono state sufficienti per riequilibrare il paziente.

Nello specifico per ognuno dei 3 pazienti con stato di disidratazione sono stati eseguiti 2 accessi medici e 3 infermieristici.

Altre complicanze sono state sempre gestite a domicilio, in un caso di febbre (1/7 pz) sono stati, invece, eseguiti 3 accessi medici e 3 infermieristici.

L'assistenza domiciliare ci ha permesso di realizzare un meccanismo "a rete" di gestione del paziente che è stato accompagnato nel percorso della sua malattia attraverso un fitto dialogo fra diversi operatori che hanno erogato diversi aspetti della

cura nelle diverse fasi della malattia ematologica; il paziente, nel caso della nostra esperienza affetto da MM recidivato/refrattario, è stato seguito presso il proprio domicilio da personale sanitario esperto e dedicato che lavorava nel reparto/ambulatorio/dh di riferimento, era quindi già noto al malato ed ai suoi familiari e ciò ha contribuito ad assicurare continuità assistenziale e tranquillità per chi, da tempo, aveva instaurato un rapporto di fiducia con il personale che incontrava nei frequenti accessi ospedalieri e che, nella gestione domiciliare, è andato direttamente a casa del paziente .

Discussione

Lo scenario terapeutico dei pazienti con mieloma multiplo è drammaticamente cambiato in questi ultimi cinque anni, grazie all'introduzione di nuove terapie sempre più mirate alla cellula malata, permettendo di ottenere un significativo incremento della sopravvivenza libera da malattia e della sopravvivenza globale. Purtroppo,

nonostante questi notevoli successi terapeutici il mieloma rimane una malattia non eradicabile destinata a recidivare e pertanto è necessario il continuo sforzo di clinici e ricercatori, teso ad individuare nuovi farmaci e migliori associazioni terapeutiche. Tra i nuovi farmaci registrati per il trattamento del mieloma multiplo recidivato/refrattario, l'ultimo arrivato è rappresentato dalla lenalidomide che ha recentemente ottenuto l'approvazione al suo impiego in associazione con il desametasone, dalle autorità sanitarie americane ed europea. Studi di fase due stanno tuttora esplorando la possibilità di migliorare la risposta di questa associazione, mediante l'aggiunta di un terzo o quarto farmaco. Tra questi ultimi studi, di sicuro interesse è quello recentemente pubblicato da Knop, che ha utilizzato la lenalidomide ed il desametasone in associazione con la doxorubicina liposomiale in pazienti recidivati e già pesantemente pretrattati, ottenendo delle risposte significative con una tossicità ematologica ed extra-ematologica accettabili.

L'analisi dei dati del nostro studio mostra che lo schema RAD modificato utilizzato è efficace in termini di risposta, presentando dei dati sovrapponibili a quelli dello schema originale, anche se il tempo alla progressione è risultato di breve durata (21) (23).

Questo potrebbe essere dovuto sia ad una popolazione di pazienti in stadio particolarmente avanzato, sia alla scelta di non eseguire una terapia di mantenimento con lenalidomide. Pertanto, uno schema di terapia di questo tipo potrebbe avere una sua migliore collocazione in una fase di induzione in pazienti all'esordio, dove abbiamo visto come l'ottenimento di una risposta è particolarmente importante.

Peraltro, il paziente con mieloma multiplo deve essere considerato un paziente fragile ed a maggior ragione tale fragilità può essere presente in pazienti già pretrattati. Inoltre, deve essere preso in considerazione anche l'impatto psicologico e sociale che colpisce pazienti e familiari, provati dalle precedenti terapie che molto spesso hanno richiesto ricoveri ospedalieri di lunga durata.

In questo contesto, la possibilità di una presa in carico globale del paziente e della famiglia attraverso un servizio di continuità assistenziale, che permetta di effettuare una strategia terapeutica efficace e senza la necessità di un ricovero ospedaliero per la gestione delle possibili complicanze ematologiche ed extra-ematologiche, assume un valore aggiunto dal punto di vista medico, sociale ed economico. Le cure domiciliari consistono in trattamenti medici, infermieristici e riabilitativi prestati da personale

qualificato per la cura e l'assistenza delle persone non autosufficienti ed in condizioni di fragilità, con patologie in atto o con esiti delle stesse, per stabilizzare il quadro clinico, limitare il declino funzionale e migliorare la qualità della vita quotidiana (22).

L'assistenza domiciliare ci ha permesso di realizzare un meccanismo “a rete” di gestione del paziente che è stato accompagnato nel percorso della sua malattia attraverso un fitto dialogo fra diversi operatori che hanno erogato diversi aspetti della cura nelle diverse fasi della malattia ematologica; il paziente, nel caso della nostra esperienza affetto da MM recidivato/refrattario, è stato seguito presso il proprio domicilio da personale sanitario esperto e dedicato che lavorava nel reparto/ambulatorio/dh di riferimento, era quindi già noto al malato ed ai suoi familiari e ciò ha contribuito ad assicurare continuità assistenziale e tranquillità per chi, da tempo, aveva instaurato un rapporto di fiducia con il personale che incontrava nei frequenti accessi ospedalieri e che, nella gestione domiciliare, è andato direttamente a casa del paziente .

Pertanto, anche se gli studi di farmacoeconomia e di valutazione costo-efficacia effettuati fino ad ora non sono conclusivi rispetto ad un possibile risparmio sui costi

da parte dei Servizi di cure domiciliari, comunque questi ultimi possono sicuramente rappresentare un servizio integrativo dei servizi già esistenti, particolarmente per gruppi di pazienti selezionati, come quelli con mieloma multiplo in terapia di salvataggio.

Il paziente fragile con mieloma, quindi, è rappresentativo del paziente che potenzialmente potrebbe beneficiare di una presa in carico globale da parte della struttura che lo cura, realizzando una continuità assistenziale attraverso un approccio integrato tra ospedale e territorio. Questo è quello a cui si dovrebbe mirare per una razionalizzazione delle spese ed un'ottimizzazione dei processi di diagnosi e cura che sono così necessari nella medicina moderna dove, se da una parte si affinano sempre più rapidamente ed approfonditamente le conoscenze biologiche e terapeutiche, dall'altra le risorse economiche sono sempre più contingentate.

Conclusioni

La nostra esperienza rappresenta, nonostante la casistica ristretta, un valido esempio che ha permesso di verificare la fattibilità di uno schema RAD modificato in pazienti con MM recidivato/refrattario e realizzare, attraverso una stretta cooperazione tra medici del presidio ospedaliero e medici della AD, gli obiettivi preposti di una presa in carico globale del paziente, anche nelle fasi più delicate e impiegando le migliori risorse sanitarie disponibili.

E' auspicabile che nel prossimo futuro sia possibile implementare un servizio di assistenza sanitaria che coinvolga gli ematologi e tutti i medici del territorio, realizzando il “sogno” di una presa in carico totale del paziente ematologico, attraverso la definizione di percorsi di diagnosi e cura integrati tra ospedale e territorio. Studi di farmacoeconomia dovranno essere sviluppati per valutare, anche dal punto di vista economico, la superiorità di un approccio come quello proposto nel nostro studio.

TABELLA 1: SINTOMI ALLA DIAGNOSI

COMPONENTE MONOCLONALE (CM) NEL SIERO E/O URINE (97%)
INFILTRAZIONE PLASMACELLULARE (96%)
LESIONI OSTEOLITICHE, FRATTURE, OSTEOPOROSI (79%)
ANEMIA (HGB<12 GR/DL) (73%)
DOLORI OSSEI (66%)
AFFATICAMENTO (32%)
INSUFFICIENZA RENALE, CREATININA SIERICA \geq 2,0 MG/DL (19%)
INFEZIONI/SANGUINAMENTI (<15%)
IPERCALCEMIA >11MG/DL (13%)
PERDITA DI PESO (12%)
SINTOMI NEUROLOGICI (5%)
"FEBBRE DA TUMORE" (<1%)

TABELLA 2: CRITERI DIAGNOSTICI

1) PLASMACELLULE MIDOLLARI $\geq 10\%$ E/O PRESENZA DI PLASMOCITOMA CONFERMATO ISTOLOGICAMENTE
2) PRESENZA DI COMPONENTE MONOCLONALE NEL SIERO E/O NELLE URINE a
3) DISFUNZIONE D'ORGANO CORRELATA AL MM (1 O PIÙ)b: [C] CALCIO ELEVATO NEL SIERO (CALCEMIA $> 10,5$ MG/L O SUPERIORE AI VALORI NORMALI) [R] INSUFFICIENZA RENALE (CREATININA > 2 MG/DL) [A] ANEMIA (HGB < 10 GR/DL O 2 GR $<$ NORMALE) [B] LESIONI OSTEOLITICHE OD OSTEOPOROSIc

a) Salmon. Lo stadio Ia diventa MM indolente o smouldering. Se non è rilevabile una componente monoclonale (MM non secernente), è richiesta una infiltrazione plasmacellulare midollare $\geq 30\%$ e/o un plasmocitoma dimostrato istologicamente

b) Possono occasionalmente presentarsi altre disfunzioni d'organo: queste sono sufficienti a porre diagnosi di MM se dimostrate essere correlate al MM

c) Se è presente solo osteoporosi od una singola lesione e/o plasmocitoma solitario dimostrato istologicamente è necessaria una infiltrazione plasmacellulare midollare $\geq 10\%$

TABELLA 3 INTERNATIONAL STAGING SYSTEM

STADIO	CRITERI	SOPRAVVIVENZA MEDIANA(MESI)
I	β 2-microglobulina <3,5 mg/L albumina>3,5 mg/L	62
II	pazienti in stadio non I e non III (*)	44
III	β 2-microglobulina>5,5 mg/L	29

(*) due categorie: β 2-microglobulina <3,5 mg/L ma albumina <3,5 mg/L; β 2-microglobulina 3,5÷5,5 mg/L indipendentemente dal valore di albumina

IMMAGINE 1: MECCANISMO D'AZIONE DELLE LENALIDOMIDE

L'attività antitumorale della lenalidomide contro le cellule del MM nel microambiente del midollo osseo. A: citotossicità diretta su cellule mielomatose provocata dall'arresto di crescita in G1 o per apoptosi B: inibizione dell'adesione delle cellule del MM alle cellule stromali del midollo osseo C: inibizione dell'espressione o della bioattività dell'interleuchina (IL)-6 e di altre citochine (ad esempio: VEGF, IGF-1, SDF-1 α) necessaria per la crescita mediata da citochine, sopravvivenza (proliferazione, progressione del ciclo cellulare), resistenza farmacologica (anti-apoptosi) e migrazione delle cellule del MM nell'ambiente midollare D: inibizione della produzione di VEGF e del fattore di crescita per i fibroblasti (bFGF) necessario per l'angiogenesi E) fornisce azione co-stimolatoria sulle cell-T umane, che induce attività antitumorale, mediata dai linf T-helper1, citochine IL-2, interferon- γ ed incrementa il numero e la funzione delle cellule NK, dei linf-T citotossici e delle cellule dendritiche.

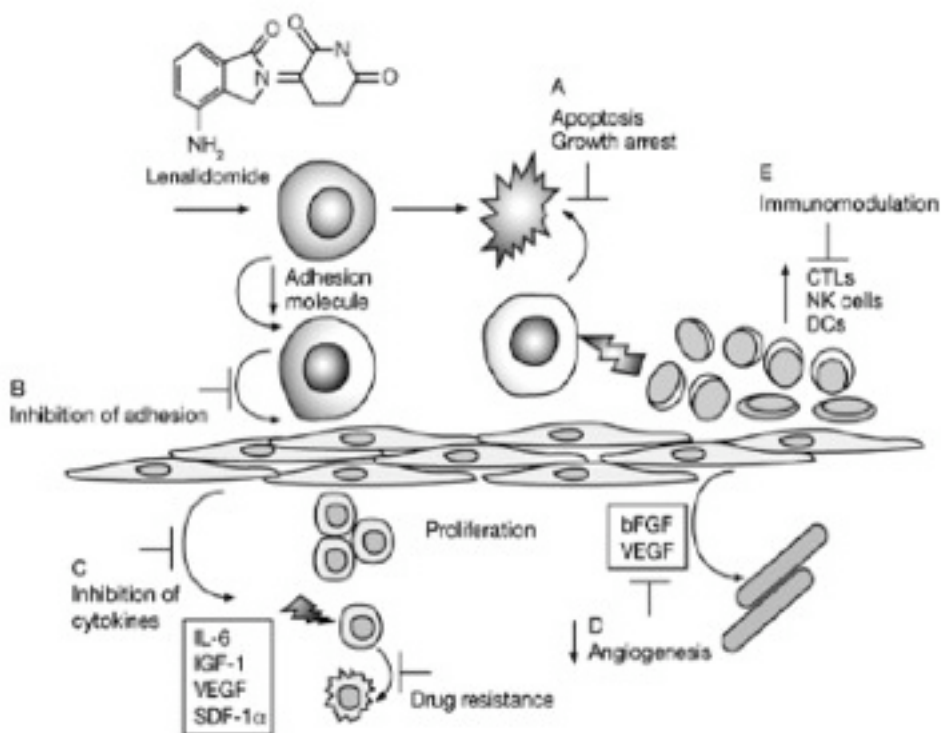


TABELLA 4: SOMMARIO DI TRIALS CLINICI DI TRATTAMENTI CON LENALIDOMIDE IN ASSOCIAZIONE NEL MM RECIDIVATO/REFRATTARIO

terapia	Len-Dex15	Len-dex16	Len-DVd41	RAD42	RCD43	Len-Bort44
n	177	176	62	61	21	38
età mediana, in anni (range)	64 (36÷86)	63 (33÷84)	62	64 (44÷77)	59 (34÷76)	60 (37÷79)
≥PR,%	61	60	75	82	65	39
CR,%	14	16	15	8	5	3
PFS mediana, in mesi			12			
OS mediana, in mesi	30	NR	NR			
neuropatia periferica, grado 3-4, %	2		5	0		
grado di VTE 3-4,%	15	11	9	2		
neutropenia, grado 3-4, %	41	30	32	*		
trombocitopenia, grado 3-4,%	15	11	13	*		
infezione, grado 3-4,%	22	10	13	8		

*NEUTROPENIA/TROMBOCITOPENIA: 13
GRADO 4: 38

proseguo tabella n 4:

Bort= bortezomib;

CR= remissione completa;

Dex: desametasone;

DVd: doxorubicina liposomiale peghilata, vinvristina, desametasone;

Len: lenalidomide;

NR: non rilevato;

OS: overall survival;

PFS: sopravvivenza libera da progressione;

PR: risposta parziale;

RAD: lenalidomide, adriamicina, desametasone;

RCD: lenalidomide, ciclofosfamide, desametasone;

VTE: tromboembolia venosa;

* la conta dei neutrofili è stata regolata con fattore di crescita granulocitario in 12 pazienti, è stata necessaria una riduzione di dose/ interruzione di ciclofosfamide in 10 pazienti e di lenalidomide in 5 pazienti.

TABELLA 5: RACCOMANDAZIONI PER L'AGGIUSTAMENTO DELLA DOSE DEL LEN NEI PAZIENTI CITOPENICI

TROMBOCITOPENIA	
quando le piastrine:	raccomandazioni:
<30.000/mcL	interrompere LEN, emocromo settimanale
≥30.000mcL	riassumere LEN a 15 mg/die
per ogni oscillazione <30.000/mcL	interrompere LEN
recupero ≥30.000/mcL	riassumere LEN alla dose di 5 mg inferiore alla precedente, mai <5mg/die
NEUTROPENIA	
quando i neutrofilo:	raccomandazioni:
<1000/mcL	interrompere LEN, somministrare GCSF, emocromo settimanale
≥1000/mcL ed unica tossicità	riassumere LEN a 15 mg/die
≥1000/mcL ed altre tossicità	riassumere LEN a 15 mg/die
per ogni oscillazione <1000/mcL	interrompere LEN
recupero ≥1000/mcL	riassumere LEN alla dose di 5 mg inferiore alla precedente, mai <5mg/die

SCHEMA 1: RAD ADATTATO

Ciclo 1

Adriamicina	20 mg/m ² e.v.	gg 1 e 4
Revlimid	25 mg p.o.	gg 1÷21
Desametazone	40 mg/die p.o./e.v.	gg 1-4 e 15÷18
Peg-Filgrastim	6 mg s.c.	g +6

Dal **2° ciclo** Desametazone solo gg 1-÷4, mentre il resto dei farmaci

rimane invariato.

Ciclare ogni 28 gg, tossicità permettendo.

TABELLA 5: CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI e RISULTATI OTTENUTI

pazienti	età (anni)	precedenti linee di terapia	no. RAD	risposta	tempo risposta migliore in settimane	TTP(a) in settimane	FUP(b) in settimane
LP	61	1	2	VGPR	4	morto in remission	8
AMM	69	2	3	PG	8	12	32
VF	74	4	6	RC	12	16	80
LC	66	3	6	VGPR	8	12	52
GS	70	3	6	RC	8	24	60
AC	78	3	6	VGPR	8	16	56
CA	76	1	5	RC	12	18	68
RM	78	7	1	VGPR	12	14	40
LT	40	1	1	PG	-	-	-
AL	54	5	1	PG	-	-	-

TABELLA 6: COMPLICANZE DA RAD

complicanza	no. pazienti	no.accessi medici x complicanza	no. accessi infermieristici x complicanza	UEC trasfuse	terapia eseguita
febbre	1/7	3	5	-	TAB
fatigue	3/7	2	1	1	emotrasf.
diarrea	2/7	2	2	-	idrataz/TAB
disidratazione	3/7	2	3	-	idratazione
anemizzazione severa	3/7	1	2	2	emotrasf.

TABELLA 7: Protocollo Gestione Domiciliare e/o Residenziale (GDR) Protocollo RAD per

Mieloma Multiplo

Fase Trattamento	Setting	Note
Valutazione basale e richiesta di presa in carico al team di cure domiciliari per gestione congiunta	Ambulatorio / DH	Prescrizioni aggiuntive (profilassi antinfettiva, fattori di crescita eritropoietici trattamenti individualizzati etc.) ed indicazioni su farmaci e misure non consentite dal protocollo: responsabile protocollo. La dotazione di farmaci della categoria OSP sarà garantita dal responsabile del protocollo.
Giorno 1 (Antraciclino)	DH	
Giorno 2 (Desametasone)	Opzionale: DH o GDR	In caso di GDR: indicazione responsabile protocollo se Dex per os o ev
Giorno 3 (Desametasone)	Opzionale: DH o GDR	In caso di GDR: indicazione responsabile protocollo se Dex per os o ev
Giorno 4 (Antraciclino)	DH	
Giorno 5	GDR	
Giorno 6 (Pegfilgrastim)	GDR	Su prescrizione responsabile protocollo
Giorni 7 - 28	GDR	Gestione congiunta team cure domiciliari ^o e responsabile protocollo.

° Il paziente sarà affidato alla gestione congiunta, in prima istanza di un medico e di un IP che risponderanno direttamente al coordinatore del servizio; **il team di cure domiciliari eseguirà:**

📞📞📞Contatto telefonico (giornaliero)

📞📞📞Visita Infermieristica per cure alla persona, rilevazione dei sintomi e dei parametri vitali, medicazioni, sorveglianza e cura del cavo orale, saturimetria, gestione eventuali accessi venosi ed erogazione di eventuali terapie parenterali: come richiesto (anche giornaliero se necessario), in ogni caso non meno di due interventi settimanali.

📞📞📞Visita Infermieristica per prelievi ematici: mandatoria nei giorni stabiliti dallo schema di trattamento e su indicazione stretta del responsabile del protocollo cui sarà riferita in prima istanza la consegna dei referti degli esami; a giudizio clinico; esame emocromocitometrico ogni 48 ore per conta dei GN < 500/uL e/o PLT < 20.000/uL, due volte a settimana per GN>500/uL e PLT > 20.000/uL; **controllo settimanale funzioni renale ed epatica (G 0, 7,14,21 e 28) e della CM sierica ed urinaria a settimane alterne (G 14 e 28).**

📞📞📞Visita medica di monitoraggio: quotidiana per GN< 100/uL e PLT < 10.000/uL; bisettimanale per valori superiori (esame obiettivo, parametri vitali, saturimetria, reportistica); **valutazione clinica ed esame obiettivo con particolare riferimento a: TVP valutazione clinica), mucositi (scala WHO), dolore (scala numerica: 0 – 10), neuropatia periferica [Neuropathy Symptom Score (NSS) 1 e Neurological Disability Scale (NDS) 1], disabilità motoria (Barthel Index), livello di attività quotidiana e di qualità di vita (questionario MDASI).**

📞📞📞Visita medica per erogazione supporto emotrasfusionale. Attuale politica istituzionale del team di cure domiciliari per pazienti in terapia causale:

A)trasfusione di emazie concentrate: mandatoria per valori di Hb < 8 gr / dl; a giudizio clinico del team di cure domiciliari per valori di Hb > 8 gr/dl.

B)trasfusione di concentrati piastrinici: mandatoria per PLT < 10.000/uL; a giudizio clinico del team di cure domiciliari per valori di PLT > 10.000 / uL.

C)Altri emocomponenti (compresi i preparati a base di albumina umana): a giudizio clinico.

📞📞📞Reportistica aggiornata generale (istituzionale team cure domiciliari) e specifica (su indicazioni del responsabile protocollo).

📞📞📞Colloquio almeno settimanale del coordinatore team cure domiciliare e responsabile protocollo per aggiornamento di tutti i casi.

Gestione delle complicanze: a giudizio del team di cure domiciliari secondo atteggiamento di massima precauzione; riferimento a DEA dell'Ospedale S.Eugenio per tutte le complicanze legate ad aplasia o di carattere generale ma di potenziale gravità. In caso di pazienti clinicamente stabili e di complicanze emendabili a domicilio, a giudizio del team di cure domiciliari, il ricovero in reparto degenza o DH (ad esempio per esami strumentali) potrà essere gestito con modalità differita.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Mieloma, Attualità diagnostiche e strategie terapeutiche MEDICAL TEAM MAGAZINE anno 7-nr 2-mag/ago 2008;
- 2) Lopez M: "Cancro: conoscerlo per imparare a sconfiggerlo", MSEU, 2003;
- 3) Patriarca F, Petrucci MT, Brighen S, Baldini L, Caravita T, Corradini P, Corso A, Di Raimondo F, Falcone F, Morabito F; Musto P, Offidani M, Petrini M, Rizzi R, Semenzato G, Tosi P, Vacca A, Cavo M, Boccaadoro M, Palombo A (2009) Consideratione in the treatment of multiple myeloma: a consensus statement from Italian experts. Eur J Haematol 82:93-105;
- 4) Durie BGM, Kyle R, Belch A. et al., Myeloma management guidelines: a consensus from the scientific advisors of the international myeloma foundation. The hematology Journal. 2003; 4: 379-98;
- 5) Seminari di Ematologia Oncologica, Mieloma Multiplo; vol.6, nr.1- 2009;

- 6) Kumar SK, et al., Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008; 111: 2516-2;
- 7) Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 3412-20;
- 8) Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Greipp PR, Litzow MR, Henderson KJ, et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood*. 2005; 106: 2837-40;
- 9) Zhan F, Huang Y, Colla S, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S, et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood*. 2006; 108: 2020-8;
- 10) Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*. 2007; 109: 3489-95;
- 11) San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2008; 359: 906-17;

- 12) Carrasco DR, Tonon G, Huang Y, Zhang Y, Sinha R, Feng B, et al. High-resolution genomic profiles define distinct clinico-pathogenetic subgroups of multiple myeloma patients. *Cancer Cell*. 2006; 9: 313-25 ;
- 13) Shaughnessy JD Jr, Zhan F, Burington BE, Huang Y, Colla S, Hanamura I, et al. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosomes 1. *Blood*. 2007; 109: 2276-84;
- 14) Fonseca R, San Miguel J. Prognostic factors and staging in multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007; 21:1115-40;
- 15) Stewart AK, Bergsagel PL, Greipp PR, Dispenzieri A, Gertz MA, Hayman SR, et al. A practical guide to defining high-risk myeloma for clinical trials, patient counseling and choice of therapy. *Leukemia*. 2007; 21: 529-34;
- 16) Richardson P, Mitsiades C, Schlossman R, Ghobrial I, Hideshima T, Chauhan D, et al. The treatment of relapsed and refractory multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007; 2007: 317-23;
- 17) Weber DM, Chen C, Niesvizky R, Wang M, Belch A, Stadtmauer EA, Siegel D, Borrello I, Rajkumar SV, Chanan-Khan AA, Lonial S, Yu Z, Patin J, Olesnyckyj M, Zeldis JB, Knight RD;Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America; Multiple Myeloma (009) Study Investigators; *N Engl J Med*. 2007 Nov 22;357(21):2123-32;

18) Dimopoulos M, Spencer A, Attal M, Prince HM, Harousseau JL, Dmoszynska A, San Miguel J, Hellmann A, Facon T, Foà R, Corso A, Masliak Z, Olesnyckyj M, Yu Z, Patin J, Zeldis JB, Knight RD; Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma.; Multiple Myeloma (010) Study Investigators;

19) Harousseau JL, Dimopoulos MA, Wang M, Corso A, Chen C, Attal M, Spencer A, Yu Z, Olesnyckyj M, Zeldis JB, Knight RD, Weber DM, [Epub ahead of print] The quality of response to lenalidomide plus dexamethasone is associated with improved clinical outcomes in patients with relapsed or refractory multiple myeloma, Haematologica. 2010 May 11.;

20) Chanan-Khan AA, Giralt S, Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. J Clin Oncol. 2010 May 20;28(15):2612-24. Epub 2010 Apr 12;

21) Knop S, Gerecke C, Liebisch P, Topp MS, Platzbecker U, Sezer O, Vollmuth C, Falk K, Glasmacher A, Maeder U, Einsele H, Bargou RC, (2009) Lenalidomide, aramycin, and dexamethasone (RAD) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma: a report from the German Myeloma study group DSMM (Deutsche Studiengruppe Multiple Myelom). Blood 113:4137-4143;

22) MS L.E.A. 2007, Università degli Studi Milano-Bicocca- Valutazione dei percorsi assistenziali domiciliari. Anno accademico 2006/2007;

23) Caravita T, Siniscalchi A, Tendas A, Cupelli L, Ales M, Perrotti A, Niscola P, de Fabritiis P, Safety and efficacy of a combination therapy with Revlimid, Adryamicin and dexamethasone (RAD) in relapsed/refractory multiple myeloma (MM): a single-centre experience; *Ann Hematol* DOI 10.1007/s00277-010-0967-4;

24) Palumbo A, Sezer O, Kyle R, Miguel JS, Orłowski RZ, Moreau P, Niesvizky R, Morgan G, Comenzo R, Sonneveld P, Kumar S, Hajek R, Giralt S, Brinchen S, Anderson KC, Richardson PG, Cavo M, Davies F, Bladé J, Einsele H, Dimopoulos MA, Spencer A, Dispenzieri A, Reiman T, Shimizu K, Lee JH, Attal M, Boccadoro M, Mateos M, Chen W, Ludwig H, Joshua D, Chim J, Hungria V, Turesson I, Durie BG, Lonial S; IMWG; International Myeloma Working Group guidelines for the management of multiple myeloma patients ineligible for standard high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation. *Leukemia*. 2009 Oct;23(10):1716-30. Epub 2009 Jun 4;

25) Trotti A, Byhardt R, Stetz J, Gwede C, Corn B, Fu K, Gunderson L, McCormick L, Morris M, Rich T, Shipley W, Curran W, Radiation Therapy Oncology Group; Common toxicity criteria: version 2.0. an improved reference for grading the acute effects of cancer treatment: impact on radiotherapy, *Radiation Oncology* Volume 47, Issue 1, Pages 13-47 (1 April 2000).

INDICE

pagina 2: INTRODUZIONE;
pagina 14: SCOPO DELLA TESI;
pagina 14: MATERIALI E METODI;
pagina 18: RISULTATI;
pagina 21: DISCUSSIONE;
pagina 26: CONCLUSIONI;
pagina 27: TABELLE/ SCHEMA/ FIGURA;
pagina 39: BIBLIOGRAFIA;
pagina 44: INDICE.

