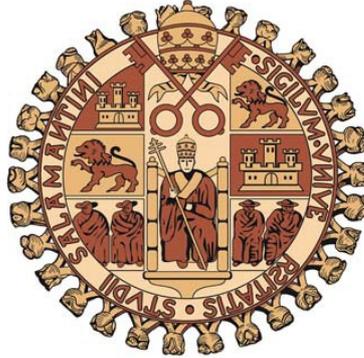


**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**TRATAMIENTO DE RESCATE EN LINFOMAS  
AGRESIVOS: EFICACIA DEL TRASPLANTE  
AUTÓLOGO DE PROGENITORES  
HEMATOPOYÉTICOS Y EVALUACIÓN DE  
NUEVOS FÁRMACOS**

Memoria que presenta **Dña. Alba María Redondo Guijo** para optar al Título de Doctor por la  
Universidad de Salamanca

Salamanca, 21 de julio de 2014



**D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> DOLORES CABALLERO BARRIGÓN, PROFESORA ASOCIADA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA Y DOCTORA EN MEDICINA Y CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA:**

**CERTIFICA:**

Que el trabajo doctoral realizado bajo mi dirección por D<sup>a</sup>. Alba María Redondo Guijo titulado “TRATAMIENTO DE RESCATE EN LINFOMAS AGRESIVOS: EFICACIA DEL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS Y EVALUACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS” reúne las condiciones de originalidad requeridas para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste a todos los efectos oportunos, firmo la siguiente certificación en Salamanca a 21 de julio de 2014.

Fdo: Dra. M<sup>a</sup> Dolores Caballero Barrigón



**D ALEJANDRO MARTÍN GARCÍA-SANCHO, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA:**

**CERTIFICA:**

Que el trabajo doctoral realizado bajo mi dirección por D<sup>a</sup>. Alba María Redondo Guijo titulado “TRATAMIENTO DE RESCATE EN LINFOMAS AGRESIVOS: EFICACIA DEL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS Y EVALUACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS” reúne las condiciones de originalidad requeridas para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste a todos los efectos oportunos, firmo la siguiente certificación en Salamanca a 21 de julio de 2014.

Fdo: Dr. Alejandro Martín García-Sancho

- Parte de los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral han sido publicados como artículo, en la siguiente revista científica:

Redondo AM, Pomares H, Vidal MJ et al. Impact of prior rituximab on outcomes of autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphoma: a multicentre retrospective Spanish group of lymphoma/autologous bone marrow transplant study. *Br J Haematol.* 2014 Mar;164(5):668-74. Epub 2013 Nov 26.

- En forma de abstract, en las siguientes revistas científicas:

-A. M. Redondo Guijo, A. Martín, M. González, N. Gutiérrez, B. Vidriales, E. Sebastián, A. A. Martín, L. A. Guardado, S. Rojas, J. F. San Miguel, D. Caballero. Influence of prior exposure to rituximab on results of autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphoma: single-centre experience. 11th International Conference on Malignant Lymphoma, 15-18 June, 2011, Lugano, Switzerland *Ann Oncol* 2011; 22 (suppl 4): abstr 252.

-Alba María Redondo, Alejandro Martín, Helena Pomares, María Jesús Vidal, María Jesús Pascual, Beatriz Quereda, Juan Manuel Sancho Sr., MD, Joaquín Díaz-Mediavilla, Javier López, Eulogio Conde, MD, PhD, Isidro Jarque, MD, Natalia Alonso, María José Ramírez, María José Sayas, María José Requena, Antonio Salar, MD, José David González, MD, Eva González-Barca, MD, PhD, Reyes Arranz, Jesús F San Miguel and Dolores Caballero, MD. Efficacy of Autologous Stem-Cell Transplantation in Patients with Relapsed or Refractory Aggressive B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era. A Multicenter Geltamo Study. *Blood (ASH Annual Meeting Abstract)*, Nov2012; 120:3142.

-Alejandro Martín, Alba María Redondo, David Valcárcel, Ana Pilar González, Armando López-Guillermo, José Luis Bello, Miguel Canales, Jorge Gayoso, Eulogio Conde, Isidro Jarque, Raquel del Campo, Reyes Arranz, M<sup>a</sup> José Terol, José Rifón, M<sup>a</sup> José Rodríguez, María José Ramírez, Carlos Grande, Andrés Sánchez, Javier López-Jiménez and Dolores Caballero. Bendamustin as part of conditioning regimen for autologous stem cell transplantation (ASCT) in patients with aggressive lymphomas: A phase 2 study from Spanish GELTAMO group. 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 19-22 June, 2013, Lugano, Switzerland. *Ann Oncol* 2013; (suppl ): abstr nr 020.

-Alba María Redondo, Alejandro Martín, Helena Pomares, María Jesús Vidal, María Jesús Pascual, Beatriz Quereda, Juan-Manuel Sancho, M. Polo, Javier López-Jiménez, Eulogio Conde, Isidro Jarque, Natalia Alonso, María José Ramírez, Pascual Fernández, M<sup>a</sup> Luz Juan, María José Requena, Antonio Salar, José David González, Eva González-Barca and Dolores Caballero. Influence of prior rituximab on the results of Autologous Stem-Cell Transplantation in patients with aggressive B-cell lymphoma: A GELTAMO study 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 19-22 June, 2013, Lugano, Switzerland. *Ann Oncol* 2013; (suppl ): abstr nr 220.

- Y han sido presentados en los siguientes Congresos:

-A. M. Redondo Guijo, A. Martín, M. González, N. Gutiérrez, B. Vidriales, E. Sebastián, A. A. Martín, L. A. Guardado, S. Rojas, J. F. San Miguel, D. Caballero. Influence of prior exposure to rituximab on results of autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphoma: single-centre experience. 11th International Conference on Malignant Lymphoma, 15-18 June, 2011, Lugano, Switzerland. *Ann Oncol* 2011; 22 (suppl 4): PO- 252. Tipo de comunicación: póster.

-A. Redondo, A. Martín, S. Rojas, L. Guardado, A.A. Martín, N. Gutiérrez, B. Vidriales M. González, J.F. San Miguel, D. Caballero. Influencia del tratamiento previo con rituximab sobre los resultados del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en pacientes con linfoma B agresivo en recaída o refractario. LIII Reunión Nacional de la SEHH (Zaragoza, 27-29 de octubre de 2011). *Haematologica* (ed. esp.) 2011; 96 (Extra 2): 6 (CO-002). Tipo de comunicación: oral.

-A Redondo, A Martín, L Guardado, A Martín, S Rojas, N Gutiérrez, B Vidriales, M González, J San Miguel, D Caballero. Autologous stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphoma: influence of prior exposure to rituximab on outcomes. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Geneva, Switzerland. 1-4 April 2012. *Bone Marrow Transplant* 47 (supplement 1s): P1155. Tipo de comunicación: póster.

-A. Redondo, A. Martín, M.J. Vidal, M.J. Pascual, J.M. Sancho, J. Díaz, J. López, I. Jarque, M.J. Requena, R. Andreu, J.D. González, S. Rojas, L. Guardado, A.A. Martín, J.F. San Miguel, D. Caballero. Eficacia del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en pacientes con linfoma B agresivo en recaída o refractario en la era del rituximab. Estudio multicéntrico de GELTAMO. LIV Reunión Nacional de la SEHH (Salamanca, 18-20 de octubre de 2012). Libro del Congreso: CO-002. Tipo de comunicación: oral.

-Alejandro Martín, Alba María Redondo, David Valcárcel, Ana Pilar González, Armando López-Guillermo, José Luis Bello, Miguel Canales, Jorge Gayoso, Eulogio Conde, Isidro Jarque, Raquel del Campo, Reyes Arranz, M<sup>a</sup> José Terol, José Rifón, M<sup>a</sup> José Rodríguez, María José Ramírez, Carlos Grande, Andrés Sánchez, Javier López-Jiménez and Dolores Caballero. Bendamustin as part of conditioning regimen for autologous stem cell transplantation (ASCT) in patients with aggressive lymphomas: A phase 2 study from Spanish GELTAMO group. 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 19-22 June, 2013, Lugano, Switzerland. *Ann Oncol* 2013. Tipo de comunicación: oral.

-Alba María Redondo, Alejandro Martín, David Valcárcel, Ana Pilar González, Armando López-Guillermo, José Luis Bello, Miguel Canales, Jorge Gayoso, Eulogio Conde, Isidro Jarque, Raquel del Campo, Reyes Arranz, M<sup>a</sup> José Terol, José Rifón, M<sup>a</sup> José Rodríguez, María José Ramírez, Carlos Grande, Andrés Sánchez, Javier López-Jiménez y Dolores Caballero. Bendamustina como parte del régimen de acondicionamiento en pacientes con linfoma agresivo candidatos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH): Estudio fase 2 de GELTAMO. LV Reunión Nacional de la SEHH y XXIX Congreso Nacional de la SETH (Sevilla, 17-20 Octubre 2013). Tipo de comunicación: oral.

-Alba María Redondo, Alejandro Martín, Helena Pomares, María Jesús Vidal, María Jesús Pascual, Beatriz Quereda, Juan-Manuel Sancho, M. Polo, Javier López-Jiménez,

Eulogio Conde, Isidro Jarque, Natalia Alonso, María José Ramirez, Pascual Fernández, M<sup>a</sup> Luz Juan, María José Requena, Antonio Salar, José David González, Eva González-Barca and Dolores Caballero. Influence of prior rituximab on the results of Autologous Stem-Cell Transplantation in patients with aggressive B-cell lymphoma: A GELTAMO study 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 19-22 June, 2013, Lugano, Switzerland. Ann Oncol 2013; (suppl ): abstr nr 220. Tipo de comunicación: póster.

-Alejandro Martín, Alba María Redondo, Armando López-Guillermo, Antonio Salar, Eva González-Barca<sup>4</sup>, Miguel Canales<sup>5</sup> and Dolores Caballero<sup>1</sup>. Lenalidomide In Combination With R-ESHAP (LR-ESHAP) In Patients With Relapsed Or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma Candidates To Autologous Stem-Cell Transplantation: A Phase 1b Study From Spanish Group Geltamo. American Society of Hematology (ASH) 55th Annual Meeting. 7-10 Dec 2013. Tipo de comunicación: póster.

-Alejandro Martín, Alba María Redondo, Armando López-Guillermo, Antonio Salar, Eva González-Barca, Miguel Canales and Dolores Caballero. Lenalidomide In Combination With R-ESHAP (LR-ESHAP) In Patients With Relapsed Or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma Candidates To Autologous Stem-Cell Transplantation: A Phase 1b Study From Spanish Group Geltamo. European Hematology Association (EHA). 19th Annual Meeting. 12-15 June 2014. Tipo de comunicación: póster.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Lola Caballero le agradezco, profundamente, que aceptara la dirección de esta Tesis Doctoral. Me ha transmitido una completa formación clínica, investigadora y humana. Es un ejemplo de integridad profesional y una fuente inagotable de energía y entusiasmo.

El Dr. Alejandro Martín me ayudó a iniciarme en la investigación, me brindó su confianza desde el primer día. Sus ideas y consejos, su entusiasmo e ilusión han sido los pilares de este trabajo.

Al Dr. Enrique Ocio por su generosidad, amabilidad, capacidad resolutive y por creer en este trabajo, desde el principio.

Al profesor Jesús San Miguel, mi más sincero reconocimiento y agradecimiento por preocuparse durante mi formación como hematóloga y por ayudarme a crecer y desarrollarme en el ámbito profesional y personal. Cada día ha manifestado su humanidad, amabilidad y disponibilidad.

A la Profesora Consuelo del Cañizo por permitirme trabajar en el Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario de Salamanca, por ofrecerme incondicionalmente su tiempo y ayuda, por sus consejos y por su ejemplo humano y profesional.

El Dr. Fermín Sánchez-Guijo, que me ha enseñado y escuchado en los buenos y malos momentos y que me ha acompañado en cada paso de este trabajo y, a diario, me ayuda a convertirme en mejor profesional.

Gracias a los adjuntos, residentes, enfermeras, auxiliares, celadores y a todos y cada uno de los profesionales que forman el Servicio de Hematología de Salamanca. Os conocí hace cuatro años y ahora sois parte de mí; somos una gran familia y ahora, más que nunca, debemos permanecer unidos. Gracias por vuestro cariño y apoyo en cada instante, por integrarme y hacerme sentir una más en este gran equipo.

Gracias a Teresa Paíno, por ayudarme a dar los primeros pasos en el mundo del MTT y dedicarme su tiempo con generosidad; a Montse Martín, por socorrerme en los momentos que más lo necesitaba; a Susana Hernández, por hacer posible que todo cobrara sentido; a Lorena González, por escucharme siempre y a Daniel Primo, por

ayudarme, estar siempre disponible y vivir todo esto con ilusión y entusiasmo. A todos, gracias por vuestro tiempo y vuestra ayuda.

A mi marido, Luis. No tengo palabras para expresarle todo mi agradecimiento por tu comprensión, apoyo incondicional y ánimo, cuando más lo necesitaba. Perdón por no dedicarte todo el tiempo que te mereces y por pagar mis presiones contigo. Gracias, por caminar junto a mí y hacerme el camino más fácil.

Gracias a ti, Javier: hijo, te quiero. Tú has sido el motor que me ha permitido terminar esta tesis. Por ti, trabajo cada día con ilusión. Solo pienso en conseguirte un futuro digno y una buena educación. Espero saber educarte, tan bien, como lo han hecho mis padres. A ellos, mi más sincero agradecimiento y todo mi cariño. Me han enseñado el significado de la lucha diaria y a no rendirme jamás. Gracias por creer en mí: sabíais que, a pesar de las dificultades, lo conseguiría.

A toda mi familia, por haberme apoyado y haber entendido la dificultad de la realización de este trabajo. Gracias a todos y por todo.

Por último, a cuantos de una u otra manera han colaborado en la realización de esta tesis doctoral. Enumerarlos resultaría imposible aunque cada uno sabe el lugar que le corresponde y a todos les debo mi gratitud.

El fin último de este trabajo es fomentar la investigación traslacional y un objetivo de este servicio es investigar e intentar desarrollar nuevos fármacos que permitan conseguir más respuestas con los tratamientos y mejores supervivencias. Para mí es un autentico privilegio poder trabajar en el estrecho margen en el que convergen la investigación básica y las aplicaciones clínicas que redunden en el beneficio de los pacientes.

**DEDICADA A:**

Mi hijo Javier, mi marido Luis y a mis padres.

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

AA: acontecimiento adverso

AAG: acontecimiento adverso grave

AB: antibiótico

APO: doxorubicina, prednisona y vincristina

ASBMT: American Society of Blood and Marrow Transplantation

BCNU: carmustina

BEAC: BCNU, etopósido, ara-C, ciclofosfamida

BEAM: BCNU, etopósido, ara-C, melfalán

BeEAM: bendamustina, etopósido, citarabina y melfalán

CEOP: ciclofosfamida, etopósido, vincristina y prednisona

CEPP: ciclofosfamida, etopósido, prednisona y procarbazona

CHOEP: ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona, etopósido

CHOP: ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona

CMF: citometría de flujo

CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono

CPH: células progenitoras hematopoyéticas

DA-EPOCH: dosis ajustada de ciclofosfamida, doxorubicina, etopósido, vincristina y prednisona

DHAP: dexametasona, altas dosis de citarabina, cisplatino

DMT: dosis máxima tolerada

EC: ensayo clínico

EH: enfermedad de Hodgkin

ESHAP: etopósido, metilprednisolona, citarabina, cisplatino

FE: fracción de eyección

G-CSF: factor estimulante de colonias granulocíticas

GDP: gemcitabina, dexametasona y cisplatino

GELTAMO: Grupo Español de Linfomas/Trasplante Autólogo de Médula Ósea

GEMOX: gemcitabina y oxaliplatino

GI: gastrointestinal

Hb: hemoglobina

HV8: virus herpes tipo 8

HyperCVAD: ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina, dexametasona

IC: intervalo de confianza

IC<sub>50</sub>: concentración inhibitoria mínima 50

ICE: ifosfamida, carboplatino y etopósido

ICT: irradiación corporal total

IFE: ifosfamida y etopósido

IMiD: inmunomodulador

INO: inotuzumab ozogamicin

IPI: índice pronóstico internacional. Se asigna una puntuación de 0-1 a cada una de las siguientes variables: edad (<60 vs ≥60 años), nº de áreas extraganglionares (0-1 vs ≥2), estadio Ann-Arbor (I-II vs III-IV), estado general (ECOG 0-1 vs ≥2) y LDH (normal vs aumentada). Las tres últimas variables forman parte del IPI ajustado a la edad (para pacientes menores de 60 años)

ITT: intención de tratamiento

ITT: población con intención de tratamiento

L: linfoma

LDCG-B: linfoma difuso célula grande-B

LDH: lactatodeshidrogenasa

LF: linfoma folicular

LNH: linfoma no Hodgkin.

LTP: linfoma T periférico

MACOP-B: metotrexato, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, dosis fija de prednisona, bleomicina y leucovorín

MGUS: gammapatía monoclonal de significado incierto

MM: mieloma múltiple

MNR: muerte no relacionada con recaída

MO: médula ósea

MRT: mortalidad relacionada con el trasplante

NK: natural killer

OMS: Organización Mundial de la Salud

PET: tomografía por emisión de positrones

PS: fosfatidilserina

QT: quimioterapia

R: rituximab

RC: remisión completa

REAL: Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms

RG: respuesta global

RICER: lenalidomida, rituximab, ifosfamida, carboplatino, etopósido

RP: respuesta parcial

RR: riesgo relativo

RT: radioterapia

SAEs: serious adverse events

SBF: suero bovino fetal

SG: supervivencia global

SLE: supervivencia libre de evento

SLP: supervivencia libre de progresión

SMD/LMA: Síndrome Mielodisplásico/Leucemia Mieloide Aguda

SNC: Sistema Nervioso Central

SP: sangre periférica

TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

TLD: toxicidad limitante de dosis

TLPT: trastorno linfoproliferativo postrasplante

VEB: virus de Epstein Barr

VIM: etopósido, ifosfamida, metotrexate

# ÍNDICE

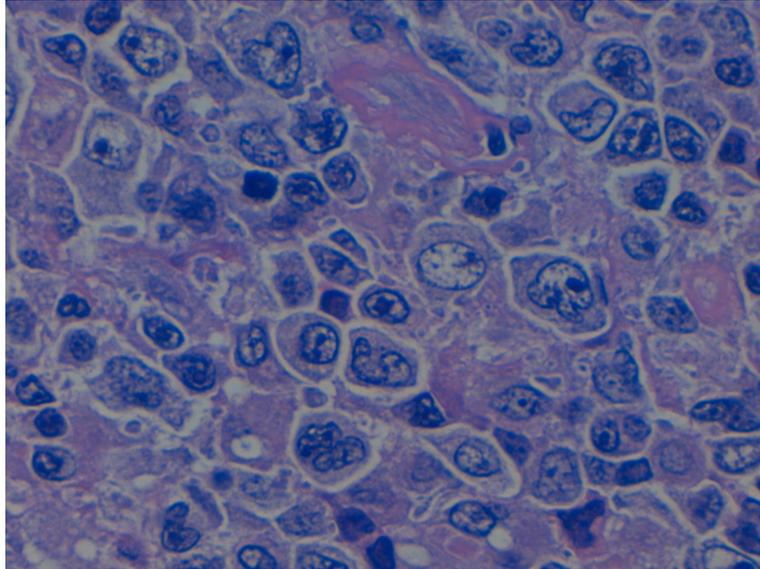
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
1.1 LNH: CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN.....	2
1.1.1 Clasificación OMS de los linfomas no Hodgkin.....	3
1.1.2 Linfomas agresivos.....	4
1.2. FUNDAMENTO PARA EL EMPLEO DE TAPH EN LINFOMAS.....	4
1.3. INDICACIONES Y EFICACIA DEL TAPH EN LINFOMAS AGRESIVOS.....	5
1.3.1 Linfoma Difuso de Células Grandes B.....	5
1.3.1.1 TAPH como tratamiento de primera línea.....	9
1.3.1.2 TAPH como tratamiento de rescate.....	11
1.3.1.3 Tratamiento de rescate pre-trasplante en el LDCGB.....	15
1.3.1.4 Fundamentos para la introducción de lenalidomida en el tratamiento de rescate de pacientes con LDCGB.....	17
1.3.2 Linfomas transformados.....	21
1.3.3 Linfomas T periféricos.....	22
1.4. METODOLOGÍA DEL TAPH.....	26
1.4.1 Fuente de progenitores.....	26
1.4.2 Régimen de acondicionamiento.....	27
1.4.3 Fundamentos para la introducción de bendamustina en el régimen de acondicionamiento.....	29
1.4.4 Justificación de nuestro estudio y selección de dosis.....	31

<b>2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
2.1. EVALUAR LA INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN PREVIA DE RITUXIMAB SOBRE LOS RESULTADOS DEL TAPH EN PACIENTES CON LINFOMA B AGRESIVO.....	34
2.2. INVESTIGAR NUEVOS ESQUEMAS DE TRATAMIENTO COMO RÉGIMENES DE RESCATE O DE ACONDICIONAMIENTO PARA TAPH EN PACIENTES CON LINFOMA AGRESIVO.....	35
2.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos.....	35
2.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos.....	35
2.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario...35	
2.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....	35
<b>3. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
OBJETIVO 1: Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo.....	37
3.1 MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
3.1.1 Diseño del estudio y objetivos.....	37
3.1.2 Definiciones y criterios de respuesta.....	37
3.1.3 Variables de valoración.....	38
3.2 RESULTADOS.....	38
3.2.1 Características de los pacientes.....	38
3.2.2 Injerto y toxicidad.....	39
3.2.3 Respuesta al trasplante.....	40
3.2.4 Análisis de supervivencia.....	41

OBJETIVO 2: Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo. Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos.....	42
3.3 MATERIAL Y MÉTODOS.....	42
3.3.1 Diseño del estudio y objetivos.....	42
3.3.2 Cultivo de líneas celulares.....	43
3.3.3 Medida de viabilidad celular mediante la técnica de MTT.....	43
3.3.4 Estudio de apoptosis por Citometría de Flujo Multiparamétrica...	45
3.4 RESULTADOS.....	46
3.4.1 Evaluación de la actividad in vitro en monoterapia de los diferentes fármacos antitumorales en la línea celular B (SUDHL-6) mediante MTT.....	46
3.4.2 Análisis de la eficacia de los fármacos en diferentes líneas celulares de SLP B y T mediante estudios de apoptosis con Anexina V medido por CMF.....	49
3.4.3 Evaluación preclínica del potencial sinérgico de nuevos fármacos con combinaciones ya establecidas (ESHAP y BEAM) .....	54
3.4.3.1 Análisis de la mejor combinación con EAM en línea de SLP B y T.....	54
3.4.3.2 Evaluación preclínica del potencial sinérgico de Lenalidomida con ESHAP.....	57
OBJETIVO 3: Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB.....	59
3.5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	59
3.5.1 Diseño del estudio y objetivos.....	59
3.5.2 Población del estudio.....	60
3.5.3 Descripción del tratamiento.....	61
3.5.4 Desarrollo del ensayo: Valoración de la eficacia y seguridad.....	64
3.5.5 Aspectos éticos.....	66
3.5.6 Análisis estadístico.....	66
3.6 RESULTADOS.....	68
3.6.1 Características de los pacientes.....	68

3.6.2 Toxicidad limitante de dosis.....	70
3.6.3 Cumplimiento del tratamiento.....	71
3.6.4 Descripción de SAES.....	72
3.6.5 Movilización.....	72
3.6.6 Toxicidad hematológica.....	73
3.6.7 Toxicidad no hematológica.....	73
3.6.8 Toxicidad del TAPH.....	74
3.6.9 Eficacia.....	74
<b>OBJETIVO 4: Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....</b>	<b>77</b>
<b>3.7 MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>77</b>
3.7.1 Diseño del estudio y objetivos.....	77
3.7.2 Población del estudio.....	78
3.7.3 Descripción del tratamiento.....	79
3.7.4 Desarrollo del ensayo: Valoración de la eficacia, seguridad y evaluación de la respuesta y seguridad.....	80
3.7.5 Aspectos éticos.....	82
3.7.6 Análisis estadístico.....	82
<b>3.8 RESULTADOS.....</b>	<b>84</b>
3.8.1 Características de los pacientes.....	84
3.8.2 Injerto.....	86
3.8.3 Toxicidad no hematológica y SAEs.....	86
3.8.4 Eficacia.....	89
3.8.5 Supervivencia.....	92
<b>4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>96</b>
4.1. Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo.....	96

4.2. Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....	99
4.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos.....	99
4.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos.....	100
4.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario..	100
4.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....	105
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>109</b>
5.1. Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo.....	109
5.2. Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....	109
5.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos.....	109
5.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos.....	109
5.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario..	109
5.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo.....	109
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>111</b>



*“Cuando emprendas tu viaje hacia Itaca debes rogar que el viaje sea largo, lleno de peripecias, lleno de experiencias. No has de temer ni a los lestrigones ni a los cíclopes”. K. Kavafis*

## **1.-Introducción**

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. LNH: Concepto y clasificación

Los Linfomas no Hodgkin (LNH) tienen una incidencia entre 3 y 6 casos por cada 100.000 habitantes y año, y son la causa del 3% de la mortalidad por procesos neoplásicos en algunas series (Jaffe ES et al, 2001). Constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias linfoides con diferente histología, inmunofenotipo, alteraciones genéticas y moleculares, que condiciona una distinta conducta clínica y evolutiva. Esta diversidad determina que su tratamiento sea uno de los aspectos más complejos y controvertidos de la hematología (Van Bessien, 1999). Derivan de células B, células T o células Natural Killer (NK) en diferentes estadios de maduración, de ahí su enorme heterogeneidad (Mink & Armitage, 2001). Uno de los avances más importantes en el manejo clínico de los pacientes con LNH durante la última década ha sido el desarrollo de nuevos sistemas de clasificación. Se han propuesto numerosas clasificaciones para separar estas enfermedades en entidades histopatológicas o clínicas concretas desde el Registro Americano de Patología (1934), Robb-Smith (1938), Gall y Mallory (1942), Jackson y Parker (1939 y 1947), Rappaport (1956, 1966), Lennert (1967), Lukes y Collins (1974), Kiel (1974), Investigación Británica Nacional del Linfoma (1974), Dorfman (1974), Organización Mundial de la Salud (1976), La Formulación Internacional de Trabajo para uso clínico (1982), Clasificación Europea-Americana Revisada de las Neoplasias Linfoides del Grupo Internacional para el Estudio de los Linfomas (REAL, 1994). Clasificación de la OMS (2001), Post-OMS / Clasificación Molecular, hasta la actual Clasificación de la OMS 2008, (utilizada en la presente memoria) considerada hoy en día de referencia a nivel mundial. Esta clasificación se basa en el reconocimiento de enfermedades distintas de acuerdo con una combinación de la morfología, inmunofenotipo, genética, biología molecular y las características clínicas (Jaffe et al, 2008).

### 1.1.1 Clasificación OMS de los linfomas no Hodgkin (Swerdlow SH, et al, 2008)

#### NEOPLASIAS DE CELULAS B MADURAS

- Leucemia linfocítica crónica/Linfoma de linfocitos pequeños
- Leucemia prolinfocítica de células B
- Linfoma de la zona marginal, esplénico
- Leucemia de células peludas o tricoleucemia
- Leucemia/Linfoma esplénico no clasificable. Incluye el Linfoma de células B pequeñas, difuso, de la pulpa roja y la Leucemia de células peludas variante o tricoleucemia variante
  - Linfoma linfoplasmocítico / Macroglobulinemia de Waldenstrom
  - Enfermedades de cadenas pesadas
  - Mieloma de células plasmáticas
  - Plasmocitoma óseo o extraóseo solitario
  - Linfoma de la zona marginal extraganglionar, de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT)
    - Linfoma de la zona marginal, ganglionar
    - Linfoma Folicular grados I, II, IIIA y IIIB
    - Linfoma de células del manto
    - Linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), no especificado de otro modo. Variantes: Linfoma de células B rico en células T/histiocitos; LDCGB asociado con inflamación crónica; LDCGB primario del sistema nervioso central (SNC); LDCGB virus Epstein Barr (VEB) positivo; del anciano; LDCGB primario cutáneo, de la pierna
      - Otros LDCGB: Granulomatosis linfomatoide; linfoma de células grandes mediastínico primario (tímico); LDCGB intravascular (angiotrópico), LDCGB ALK-1+; LDCGB plasmablástico; LDCGB primario de efusiones; LDCGB derivado de enfermedad de Castleman multicéntrica asociada a virus herpes humano tipo 8
        - Linfoma de Burkitt
        - Linfoma de células B, no clasificable, con características intermedias entre LDCGB y linfoma de Burkitt. Antiguos “*Burkitt-like*”
        - Linfoma de células B no clasificable, con características intermedias entre LDCGB y linfoma de Hodgkin clásico. También conocidos con Linfomas de la zona gris, linfoma anaplásico de célula grande “*Hodgkin-like*”

#### NEOPLASIAS DE CELULAS T MADURAS

- Leucemia prolinfocítica de células T
- Leucemia de células T de linfocitos grandes granulares
- Trastornos linfoproliferativos crónicos de células NK
- Leucemia agresiva de células NK
- Enfermedad linfoproliferativa sistémica de células T de la infancia VEB positiva
  - Leucemia / Linfoma de células T del adulto
  - Linfoma de células T/NK extraganglionar, tipo nasal
  - Linfoma de células T asociado a enteropatía
  - Linfoma de células T hepatoesplénico

- Linfoma de células T similar a paniculitis subcutánea
- Micosis fungoide
- Síndrome de Sezary
- Trastornos linfoproliferativos de células T primarios cutáneos CD30+.

Incluye la papulomatosis linfomatoide y el linfoma anaplásico de células grandes primario cutáneo

- Linfoma de células T citotóxico, CD8 positivo, epidermotrópico agresivo, primario cutáneo
- Linfoma de células T gamma/delta, primario cutáneo
- Linfoma de células T CD4 positivo de linfocitos pequeños/medianos, primario cutáneo
- Linfoma de células T periféricas, no especificado de otro modo
- Linfoma de células T angioinmunoblástico
- Linfoma anaplásico de células grandes, ALK positivo
- Linfoma anaplásico de células grandes, ALK negativo

### ***1.1.2 Linfomas agresivos***

Bajo el término “linfomas agresivos” se agrupan los subtipos histológicos cuyo comportamiento clínico es agresivo desde el diagnóstico, con buena respuesta a la quimioterapia habitualmente y posibilidades de curación para un porcentaje variable de los mismos (Hiddemann et al, 1996). Se incluyen en este epígrafe los tipos linfoma folicular grado 3B (LF 3B), LDCGB, linfoma de Burkitt, linfoma de células B, no clasificable, con características intermedias entre LDCGB y linfoma de Burkitt y los linfomas T periféricos (LTP).

En la presente memoria nos centraremos principalmente en los LDCGB, y más brevemente, en los linfomas transformados y en los LTP.

El LDCGB y los LF 3B, aunque por sus características biológicas son considerados como entidades diferentes, pueden entenderse como estadios histológicos diferentes de la misma entidad, ya que tienen similares características clínicas y pronóstico, por lo que el manejo terapéutico de ambas entidades es el mismo (Hiddemann et al, 1996).

## **1.2. Fundamento para el empleo de TAPH en linfomas**

La quimioterapia (QT) convencional cura un número limitado de pacientes con linfoma. En pacientes con LNH agresivo en los que falla la 1ª línea de QT (refractarios

o en recaída), la QT de rescate convencional ofrece resultados poco esperanzadores, ya que menos del 20% de los pacientes permanecen libres de enfermedad a largo plazo (Philip et al, 1995; Linch et al, 1993). Por este motivo y teniendo en cuenta que los linfomas son enfermedades quimio-/radiosensibles, se empezaron a utilizar esquemas intensivos de tratamiento quimio-/radioterápico, siguiendo los principios del efecto dosis de QT/ respuesta tumoral establecidos por Frei&Canellos (1980). Estos regímenes se diseñaron de tal forma que la mielosupresión fuera la toxicidad limitante y, aunque no todos inducían mielosupresión permanente, se incluyó el rescate con células progenitoras hematopoyéticas (CPH) para reducir la duración de la pancitopenia (Vose&Armitage, 1997).

Gracias al rescate con células progenitoras hematopoyéticas (CPH), la intensidad del tratamiento puede incrementarse significativamente, con la finalidad de superar la quimiorresistencia del clon maligno. Deben emplearse esquemas en los que la toxicidad limitante sea la mielosupresión con toxicidad hematológica tolerable. Por ejemplo, no podría utilizarse adriamicina por su carditoxicidad a dosis elevadas, pese a ser una droga efectiva en el tratamiento de los linfomas a dosis convencionales (Vose&Armitage, 1997). Así, los agentes quimioterápicos más útiles para un tratamiento intensivo son los alquilantes, por actuar independientemente de la fase del ciclo celular, y el etopósido y la citarabina, ya que su toxicidad dosis-limitante es hematológica (Mink&Armitage, 2001). También puede emplearse la radioterapia (RT) corporal total, ya que su mecanismo de acción tampoco depende de la fase del ciclo celular y los linfomas son enfermedades relativamente radiosensibles (Vose&Armitage, 1997).

El tratamiento intensivo seguido de rescate con CPH, denominado comúnmente trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH), comenzó a utilizarse en los años 70, y su uso se ha ido incrementando progresivamente. Con los avances producidos en la técnica del trasplante y en el tratamiento de soporte, actualmente pueden trasplantarse pacientes de hasta 70 o incluso más años (Mink&Armitage, 2001).

### **1.3. Indicaciones y eficacia del TAPH en linfomas agresivos**

#### ***1.3.1. Linfoma Difuso de Células Grandes B***

El LDCGB constituye el subtipo más frecuente de linfomas, representando en nuestro medio casi un tercio de todos los LNH (Swerdlow et al, 2008). Se trata de un

grupo heterogéneo tanto desde el punto de vista clínico como del biológico, y puede ser subdividido en diferentes variantes y entidades. Es más frecuente en individuos de edad avanzada (mediana de 64 años), si bien el espectro de edad es muy amplio, incluyendo niños y adultos jóvenes. El curso clínico es agresivo pero son tumores quimiosensibles y potencialmente curables con tratamiento poliquimioterápico.

El régimen CHOP, compuesto por ciclofosfamida, vincristina, adriamicina y prednisona, ha constituido el tratamiento fundamental para este tipo de linfomas durante décadas. Mientras que el empleo de regímenes más intensivos no ha demostrado beneficio, la incorporación del rituximab (R) a los esquemas de QT tipo CHOP ha supuesto una mejoría significativa en la supervivencia (Coiffier et al, 2002, 2010; Pfreundschuh et al, 2006, 2008), considerándose hoy día el tratamiento estándar, como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1. Estudios comparativos entre R-CHOP vs CHOP**

Estudio	Diseño	Pacientes	Régimen	Supervivencia Global	Supervivencia Libre de Enfermedad
<b>Coiffier, 2002</b>	Prospectivo Aleatorizado	n=399 1ª línea Edad 60-80 años	R-CHOP vs CHOP/21 días (8 ciclos)	70% vs 57% p=.007	57% vs 38% p<.0001
<b>Pfreundschuh, 2006 (MInT)</b>	Prospectivo Aleatorizado	n=823 1ª línea Edad 18-60 años	R-CHOP like vs CHOP like	93% vs 84% p=.0001	79% vs 59% p<.0001
<b>Pfreundschuh, 2008 (RICOVER)</b>	Prospectivo Aleatorizado	n=1222 1ª línea Edad 61-80 años	R-CHOP14 vs CHOP14 (6 vs 8 ciclos)	67.7% vs 78.1% p=.018 (6 ciclos)	56% vs 73% p<.0001 (6 ciclos)

Abreviaturas: N, número; R-CHOP, Rituximab-ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona.

A pesar de ello, un 30-40% de los pacientes tratados con combinaciones tipo R-CHOP presentarán recaída o progresión de la enfermedad. El Índice Pronóstico Internacional (IPI), desarrollado en los años 90 mediante un análisis de más de 2000 pacientes con linfoma agresivo (Shipp et al, 1993), sigue siendo válido en la era del

rituximab, permitiendo la identificación de varios grupos con diferente pronóstico (Sehn et al, 2007), como se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2. Índice pronóstico internacional (IPI), IPI ajustado a la edad (a-IPI) y R-IPI**

Grupo de riesgo	Factores de riesgo	Respuestas completas (%)	Supervivencia global a los 5 años (%)
<b>IPI</b>			
<b>Bajo</b>	0 o 1	87	73
<b>Intermedio/Bajo</b>	2	67	51
<b>Intermedio/Alto</b>	3	55	43
<b>Alto</b>	4 o 5	44	26
<b>a-IPI (pacientes <math>\leq 60</math> años)<sup>1</sup></b>			
<b>Bajo</b>	0	92	83
<b>Intermedio/Bajo</b>	1	78	69
<b>Intermedio/Alto</b>	2	57	46
<b>Alto</b>	3	46	32
<b>R-IPI<sup>2</sup></b>			
	Factores de riesgo	Supervivencia libre de progresión a los 4 años (%)	Supervivencia global a los 4 años (%)
<b>Muy bueno</b>	0	94	94
<b>Bueno</b>	1,2	80	79
<b>Pobre</b>	3,4,5	53	55

1. Shipp et al, 2003. 2. Sehn et al, 2007

IPI (Índice pronóstico internacional) y Factores de riesgo: Se adjudica 1 punto por cada variable o factor de riesgo:

- 1) Edad > 60 años
- 2) LDH > normal
- 3) Estado general (ECOG)  $\geq 2$

4) Estadio de Ann Arbor III o IV

5) Áreas extra nodales afectas >1

a-IPI y Factores de Riesgo: Se adjudica 1 punto por cada variable o factor de riesgo:

1) LDH > normal

2) Estado general (ECOG)  $\geq 2$

3) Estadio de Ann Arbor III o IV

R-IPI y Factores de riesgo: Se adjudica 1 punto por cada variable o factor de riesgo:

1) Edad > 60 años

2) LDH > normal

3) Estado general (ECOG)  $\geq 2$

4) Estadio de Ann Arbor III o IV

5) Áreas extra nodales afectas >1

En los últimos años, el progresivo mayor conocimiento de la biología de los linfomas ha llevado al descubrimiento de nuevos marcadores pronósticos biológicos y nuevas dianas terapéuticas. Así, con el empleo de técnicas de microarray de DNA, se han descrito 2 subgrupos de LDCBG con diferente perfil de expresión génica (Alizadeh et al, 2000). Uno de los subgrupos, denominado “GCB-like”, tiene un perfil de células B del centro germinal (45-50% de casos) y el otro, denominado “ABC-like”, tiene un perfil de linfocito B periférico activado, quedando algunos casos como inclasificables por el perfil génico. Posteriormente, se han desarrollado diferentes modelos mediante microarrays que incorporan entre 6 y 17 genes, observándose mejor supervivencia global (SG) de forma independiente al IPI en el subtipo GCB respecto al ABC en pacientes con LBDCG tratados con R-CHOP (Lenz et al, 2008; Lossos et al, 2004; Jais et al, 2008). Por otro lado, la presencia de translocaciones del oncogen MYC, asociadas o no a translocaciones de BCL2 y/o BCL6 (linfomas doble y triple hit), constituye otro factor pronóstico adverso relevante en pacientes con LDCGB (Vaydia et al, 2014).

El TAPH se ha empleado en pacientes con LDCGB en 2 situaciones, como analizaremos a continuación: i) como tratamiento de consolidación tras la 1ª línea en pacientes de alto riesgo; y ii) como parte del tratamiento de rescate en pacientes en recaída o refractarios.

### ***1.3.1.1 TAPH como tratamiento de primera línea en LDCGB***

Los pacientes jóvenes con LDCGB e IPI elevado tienen un pronóstico desfavorable y no existe un tratamiento estándar para estos pacientes. Representan entre un 14-32% del global de pacientes con LDCGB y su supervivencia no sobrepasa el 50% a los 5 años con los regímenes de tratamiento utilizados habitualmente (Shipp MA et al, 1993; Sehn et al, 2007). Estos pacientes son claros candidatos a ensayos clínicos, por lo que algunos grupos han utilizado el TAPH en el contexto del tratamiento de 1ª línea, en un intento de mejorar los resultados.

En la era pre-rituximab, se realizaron varios estudios piloto empleando QT intensiva con soporte de CPH como consolidación de la primera remisión, con resultados interesantes (supervivencia libre de progresión [SLP] del 50-70% a los 5 años) (Nademanee et al, 1992; Freedman et al, 1993; Caballero et al, 2003; Conde et al, 1994).

Posteriormente, se han publicado múltiples estudios randomizados fase 3 en este contexto. Sin embargo, la interpretación de los resultados de estos ensayos es complicada, no sólo por la gran variedad de tratamientos iniciales empleados, sino porque su aplicación se ha hecho en diferentes situaciones: como parte de la terapia inicial, como consolidación tras un tratamiento de 1ª línea completo, etc. Por otra parte, la situación de los pacientes al trasplante es diferente de unos ensayos a otros, y a eso hay que añadirle la heterogeneidad histológica de la población en los estudios. Así pues, se han realizado varios metaanálisis en un intento de obtener conclusiones válidas.

En los 3 metaanálisis publicados (Strehl et al, 2003; Greb et al, 2007-2008; Wang et al, 2011) se recogen la gran mayoría de los ensayos randomizados e incluyen un gran número de pacientes (2228, 3079 y 2413, respectivamente). Los autores de estos metaanálisis destacan como factores de confusión la proporción de pacientes con LBDCG (también se incluyen pacientes con otras histologías), la estrategia del diseño del TAPH, la situación de los pacientes previa al TAPH, los regímenes de acondicionamiento y el tiempo de seguimiento. Un factor clave que limita en gran medida el valor de estos ensayos y metaanálisis es que todos ellos están realizados en la era pre-rituximab, por lo que los tratamientos de inducción son menos efectivos que los que se emplean actualmente. En la era del rituximab se han realizado también varios ensayos randomizados a los que nos referiremos posteriormente.

En el metaanálisis de Strehl 2003, sólo en 4 de los 11 estudios randomizados se demuestra la superioridad del TAPH sobre la quimioterapia (Martelli et al, 1996; Gianni et al, 1997; Vitolo et al, 2001; Milpied et al, 2004). Globalmente, no se evidenció un beneficio en supervivencia en los pacientes trasplantados, por lo que los autores concluyeron que la QT intensiva con TAPH como primera línea en linfomas agresivos debe ser recomendada sólo en el contexto de ensayos clínicos. En un intento de resolver la heterogeneidad de los ensayos se realizaron análisis por subgrupos (IPI y estrategia de TAPH en el tratamiento). En el subgrupo de pacientes con IPI elevado, no se observaron diferencias entre el TAPH y el tratamiento convencional en los ensayos que empleaban inducción abreviada, pero, en cambio, se apreciaron mejores resultados en la rama del TAPH en los ensayos con inducción completa (Santini et al, 1998; Haioun et al, 2000), aunque también en alguno con inducción abreviada (Milpied et al, 2004). Es decir, el trasplante parece efectivo en pacientes con IPI elevado cuando se ha alcanzado la máxima reducción tumoral. También se observaron mejores resultados del trasplante en el subgrupo de pacientes menores de 40 años. Los autores opinan que estos resultados pueden servir de base para futuros estudios, pero no como recomendación de tratamiento.

En el metaanálisis de Greb 2008 se incluyeron 15 estudios randomizados, ya que añaden 4 más a los ensayos previamente evaluados en el metaanálisis de Strehl (De Souza et al, 2001; Intragumtornchai et al, 2000; Rodríguez et al, 2003; Olivieri et al, 2005). Los resultados principales de este metaanálisis son: 1) no se demuestra claramente que el TAPH mejore la SG o la supervivencia libre de evento (SLE); 2) en los pacientes de bajo riesgo según el IPI, el TAPH podría empeorar la SG; 3) los pacientes de alto riesgo podrían beneficiarse del TAPH.

El tercer metaanálisis, publicado en 2010 por Wang et al, incluye 14 ensayos randomizados, dos de ellos no recogidos en los metaanálisis previos (Baldissera et al, 2006; Betticher et al, 2006). Las conclusiones a las que llegan los autores son similares a las ya mencionadas, pero en este caso no se realizaron subanálisis por grupos pronósticos.

En la era del rituximab también se han realizado estudios que incorporan el TAPH en la 1ª línea de tratamiento, siguiendo la hipótesis del posible efecto beneficioso del TAPH en pacientes jóvenes de mal pronóstico. En la tabla 3 se recogen 4 estudios fase 3

randomizados, si bien dos de ellos solo han sido publicados como resumen. Estos estudios no permiten establecer conclusiones definitivas sobre la utilidad del TAPH en la 1ª línea de tratamiento de pacientes con LDCGB en la era del rituximab, ya que los diseños y los resultados son heterogéneos y algunos estudios incluyen pacientes pretratados o no con rituximab, por lo que esta estrategia solo debe emplearse en el contexto de ensayos clínicos.

**Tabla 3: Ensayos clínicos fase 3 que incorporan TAPH en 1ª línea en la era del rituximab**

Esquema	IPI	N	Seguimiento	SLP ó SLE
<b>R-CHOEP-14x6 vs R-MegaCHEOPx4+TAPH repetitivo <sup>1</sup></b>	aIPI=2-3	262	42 meses	69.5% vs 61.4% a 3 años (p>.1)
<b>CHOP+/- Rx8 vs CHOP+/- Rx6+ICT<sup>2</sup></b>	IPI=3-5	253	-	56% vs 69% a 2 años (p=.005)
<b>R-CHOP14x8 vs R-CHOPx2+R-MTX-AraC+BEAM</b>	58% aIPI >1	286	25 meses	No diferencias
<b>R-(Mega)CHOP14x6-8 vs R-(Mega)CHOP14x4+ R-Mitoxantrone-AraC-Dexa-BEAM<sup>4</sup></b>	aIPI=2-3	375	23 meses	59% vs 72% a 2 años

<sup>1</sup> Schmitz et al, 2011 <sup>2</sup>Stiff et al, 2013; <sup>3</sup>Le Gouille et al, 2011; <sup>4</sup>Vitolo et al, 2011.

Abreviaturas: IPI, índice pronóstico internacional; aIPI, IPI ajustado a la edad; N, número; SLP, supervivencia libre de progresión; SLE, supervivencia libre de evento; R-CHOEP, rituximab- ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona, etopósido; CHOP, ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona; ICT, irradiación corporal total; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; MTX, metotrexate; BEAM, BCNU, etopósido, Ara-C, melfalán.

### **1.3.1.2. TAPH como tratamiento de rescate en LDCGB**

Como hemos comentado anteriormente, la incorporación de R a los esquemas de QT ha supuesto una mejora significativa en el resultado del tratamiento de pacientes con LCGDB, considerándose hoy en día el estándar de tratamiento. A pesar de ello, una proporción significativa de pacientes presentará recaída o progresión y, en el caso de pacientes de hasta 70 años de edad aproximadamente, serán considerados candidatos a TAPH. En pacientes <60 años sin factores pronósticos adversos, el riesgo de recaída tras el tratamiento de 1ª línea es del 10% (Pfreundschuh et al, 2011). En el caso de

presentar solo un factor pronóstico adverso según el IPI ajustado a la edad (a-IPI, tabla 2), la tasa de recaída oscila entre el 20-30% (Récher et al, 2011). Disponemos de menos información en aquellos pacientes que presentan un a-IPI de 2-3, siendo la recaída / progresión de un 25-35% tras QT intensiva y TAPH (Fitoussi et al, 2010; Tarella et al, 2007). Finalmente, la tasa de recaída de los pacientes con edades comprendidas entre los 60-70 años está en torno al 40% (Coiffier et al, 2002).

Para pacientes con LDCGB en recaída o refractarios que responden a una segunda línea de QT, los resultados de QT a altas dosis seguidas de TAPH son superiores en cuanto a supervivencia que administrar quimioterapia sola. Solamente se ha realizado un ensayo clínico randomizado en este contexto, publicado en 1995. Se trata del ensayo clínico (EC) de PARMA, en el que se estudió la eficacia de realizar o no TAPH en 215 pacientes con LNH agresivo en recaída quimiosensible (Philip et al, 1995). Tras dos ciclos iniciales con DHAP (dexametasona, cisplatino, citarabina), 109 pacientes (50%) con enfermedad quimiosensible se randomizaron a recibir 2 ciclos adicionales de DHAP o altas dosis de QT con carmustina, etopósido, citarabina, ciclofosfamida y mesna seguidos de TAPH. Tras una mediana de seguimiento de 5 años, los resultados de SLE (46% vs 12%, respectivamente) y SG de (53% vs 32%, respectivamente) fueron significativamente mejores en la rama del trasplante. Desde la realización de este estudio, el TAPH se convirtió en tratamiento estándar para pacientes <60 años con linfoma agresivo en recaída o refractario con enfermedad quimiosensible.

Al EC de PARMA se le pueden hacer muchas críticas, principalmente que solo se incluyeron pacientes en recaída sin infiltración de médula ósea, el tamaño muestral es pequeño (109 pacientes randomizados) y está realizado antes de la era del rituximab. Sin embargo, la SLP a largo plazo en pacientes con LDCGB refractario o en recaída tratados solo con quimioterapia es inferior al 20%, mientras que con TAPH oscila entre el 30-60% en pacientes con enfermedad quimiosensible (Cortelazzo et al, 2001; Freedman et al, 1990; Petersen et al, 1990; Philip et al, 1987; Phillips et al, 1990; Mink

et al, 2001; Vose et al, 2001; Hamlin et al, 2003), por lo que el TAPH se sigue considerando indicado en esta situación, como se recoge en la revisión basada en la evidencia realizada por Oliansky et al (2011), en nombre de la American Society of Blood and Marrow Transplantation (ASBMT), cuyas recomendaciones se recogen en la tabla 4.

**Tabla 4. Recomendaciones sobre TAPH en LBDCG**

<b>Indicación de TAPH</b>	<b>Recomendación de consenso</b>	<b>Comentarios</b>
<b>Primera recaída o siguientes</b>		
<b>Recaída quimiosensible</b>  (<60 años)	Sí	
<b>Recaída quimiosensible</b>  (>60 años)	Sí	No tan buenos resultados como en jóvenes
<b>Respuesta Parcial tras QT breve (3 ciclos) o “respondedores lentos”</b>	No	
<b>Enfermedad refractaria primaria (fracaso de inducción)</b>		
<b>Tratamiento de primera línea</b>	No	Ningún ensayo incluye Rituximab en su esquema
<b>En pacientes seleccionados</b>	No	En ningún grupo IPI
<b>Fuente de progenitores: sangre periférica</b>	Sí	Mismos resultados pero más seguro que médula ósea
<b>Rituximab de mantenimiento tras TAPH</b>	No	
<b>Inducción abreviada vs. completa en TAPH de primera línea</b>	Desconocido	
<b>TAPH múltiple o tándem</b>		
<b>TAPH vs. Trasplante Alogénico Mieloablatoivo</b>	Desconocido	No hay evidencia de un régimen a favor de otro

Abreviaturas: QT, quimioterapia; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; IPI, índice pronóstico internacional

Múltiples estudios indican que el estado del linfoma en el momento del TAPH es el factor pronóstico con mayor influencia sobre los resultados del mismo. Así, los pacientes con enfermedad quimio-refractaria tienen muy malos resultados con TAPH (Caballero et al, 2003), por lo que este tratamiento no se recomienda en esta situación. Derivando los pacientes con enfermedad quimiosensible, los pacientes en RC consiguen mejores resultados en cuanto a supervivencia que los pacientes que son trasplantados en RP (Prince HM et al, 1996; Moskowitz CH et al, 1999; Caballero et al, 2003). Hoy día, la tomografía por emisión de positrones (PET) se ha convertido en una técnica de rutina en el estudio de extensión y en la reevaluación de pacientes con LDCGB. Numerosos estudios han mostrado que los pacientes con PET/TC negativo antes del TAPH consiguen mejores tasas de respuesta y mejor SLP y SG (Feugier et al, 2005; Coiffier et al, 2013; Matasar et al, 2013). Se ha realizado un meta-análisis para determinar el valor pronóstico de la PET pre TAPH, en el que se incluyeron 630 pacientes de 12 estudios (Terasawa et al, 2010). Las histologías predominantes eran LBDCG (N= 313) y LH (N= 187). Los resultados mostraron que la PET realizada tras el tratamiento de rescate es un test diagnóstico adecuado para predecir el fracaso del tratamiento en pacientes con linfoma refractario o en recaída que recibe un TAPH, con una sensibilidad de 0,69 (95% CI: 0,56-0,81) y especificidad de 0,81 (95% CI: 0,73-0,87). Una PET positiva se asoció con menor SLP (hazard ratio 4.3; IC del 95%: 3.1 a 6.0). Sin embargo los estudios incluidos en el meta-análisis son heterogéneos y con limitaciones metodológicas (la mayoría son retrospectivos), por lo que son necesarios estudios prospectivos con metodologías estandarizadas para confirmar estos resultados.

En resumen, los pacientes con LDCGB refractario o en recaída que más se benefician del TAPH son aquellos que se encuentran en RC en el momento del trasplante, preferiblemente PET negativa. Esto indica que el tratamiento de rescate que

se administra antes de proceder al TAPH es un aspecto clave al que nos referiremos a continuación.

### ***1.3.1.3 Tratamiento de rescate pre-trasplante en el LDCGB***

No existe un régimen de quimioterapia de rescate de elección para pacientes con linfoma B agresivo. Entre los más empleados se encuentran DHAP (dexametasona, citarabina, cisplatino), ESHAP (etopósido, metilprednisolona, citarabina, cisplatino), mini-BEAM (carmustina, etopósido, citarabina, melfalán) e ICE (ifosfamida, carboplatino, etopósido). Con estos regímenes se consigue una tasa de respuestas globales en torno al 60%, con un 25-35% de remisiones completas en estudios realizados antes de la era del rituximab (Moskowitz CH et al, 1999; Velasquez WS et al, 1988; Velasquez WS et al, 1994; Girouard C et al, 1997; Caballero MD et al, 1997). Obviamente, estas tasas de respuesta son poco satisfactorias, por lo que es necesario encontrar regímenes de rescate pre-trasplante más eficaces.

Varios estudios indican que, al igual que sucede en primera línea, la adición de R a la quimioterapia de rescate mejora la tasa de respuestas y la supervivencia en pacientes con LDCGB refractario o en recaída. En un estudio randomizado fase III, se investigó la eficacia de añadir rituximab al régimen DHAP-VIM-DHAP en 239 pacientes no expuestos previamente a rituximab con LNH-B agresivo CD20+ refractario o en recaída. En el análisis de 225 pacientes evaluables se constató una mejoría significativa en la tasa de respuestas (75% versus 54%,  $p=.01$ ) y en la SLP (52% versus 31% a los 2 años,  $p<.002$ ) en el grupo de pacientes tratados con rituximab (Vellenga et al, 2008). Otros ensayos clínicos fase II realizados en pequeños grupos de pacientes (rango entre 35 y 55 pacientes) han estudiado la combinación de rituximab con ICE (Kewalramani T et al, 2004), DHAP (Mey UJ et al, 2006) o EPOCH (etopósido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, and doxorubicina) (Jermann M et al, 2004), en general con resultados esperanzadores. Sin embargo, debemos destacar que los pacientes incluidos en estos estudios no habían recibido previamente tratamiento con rituximab, mientras que, en la actualidad, todos los pacientes con LDCGB reciben rituximab combinado con el régimen de quimioterapia de primera línea.

En un estudio retrospectivo multicéntrico, el grupo español GELTAMO analizó la influencia de la exposición previa a rituximab en las tasas de respuesta y la

supervivencia en 163 pacientes con LDCGB refractario o en recaída tratados con R-ESHAP con fines curativos (Martín et al, 2008). En este estudio, la exposición previa a rituximab no tuvo un efecto independiente sobre las tasas de respuesta a R-ESHAP. Sin embargo, una elevada proporción (57,4%) de pacientes que habían recibido previamente tratamiento con rituximab presentaron recaída o progresión de la enfermedad, lo cual se tradujo en una SLP (17% versus 57% a los 3 años) y una SG (38% versus 67% a los 3 años) significativamente peores que las de los pacientes no tratados previamente con rituximab. Esta observación fue independiente de otros factores pronósticos con impacto en la supervivencia, como el estado de la enfermedad previo a R-ESHAP, el IPI o la respuesta al R-ESHAP. Los resultados del ensayo randomizado CORAL, que comparó R-ICE con R-DHAP en 396 pacientes con LDCGB refractario o en recaída, confirmaron que la exposición a rituximab antes del tratamiento de rescate se asocia con peores resultados. Los pacientes no expuestos previamente a rituximab tuvieron una tasa de respuestas globales del 83% y una SLE a los 3 años del 47%, en comparación con 51% de respuestas y 21% de SLE en los pacientes que habían recibido tratamiento previo con rituximab (Gisselbrecht et al, 2010).

Estos resultados indican que, hoy día, con el empleo de regímenes de primera línea altamente efectivos que combinan rituximab y quimioterapia, los pacientes que son refractarios o recaen son más difíciles de rescatar con los tratamientos habituales. En la era del rituximab sigue sin existir un régimen de rescate de elección para pacientes con LDCGB refractario o en recaída. Se han realizado estudios randomizados comparando R-DHAP vs R-ICE (Gisselbrecht et al, 2010), los mismos esquemas combinados con Ofatumumab (Matasar et al, Blood 2013) y R-DHAP vs R-GDP (Crump et al, 2013), sin que ningún régimen haya mostrado superioridad sobre otro. Hay que destacar que todos ellos tienen unas tasas de respuesta poco satisfactorias en pacientes pre-tratados con rituximab, lo que conlleva que apenas la mitad de los pacientes que reciben el régimen de rescate consiguen llegar al trasplante, como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Eficacia de los regímenes de rescate en pacientes con LDCGB pre-tratados con rituximab**

	RC	RG	Pacientes trasplantados
<b>R-DHAP/R-ICE (N=242)<sup>1</sup></b>	ND	51%	52% (serie global N=396)
<b>O-DHAP/O-ICE (N=61)<sup>2</sup></b>	31%	59%	55%
<b>R-DHAP/R-GDP (N=619)<sup>3</sup></b>	14%	45%	ND

<sup>1</sup>Gisselbrecht, J Clin Oncol 2010; <sup>2</sup>Matasar, Blood 2013; <sup>3</sup>Feldman, Br J Haematol 2014

Aparte de la exposición previa a R, otros factores con influencia pronóstica independiente sobre la SLP identificados en el ensayo clínico CORAL (Gisselbrecht et al, 2010) fueron el IPI en el momento de recibir el régimen de rescate (SLP a los 3 años del 18% vs 40% para pacientes con a-IPI de 2-3 vs 0-1, respectivamente) y el tiempo transcurrido entre el diagnóstico y la recaída (SLP a los 3 años del 20% vs 45% para pacientes con recaída precoz [ $<1$  año desde el diagnóstico] vs tardía, respectivamente).

En resumen, los pacientes con LDCGB refractario o en recaída tienen pobres resultados con los tratamientos de rescate habituales, por lo que es necesario realizar ensayos clínicos con regímenes que incorporen nuevos agentes para este grupo de pacientes.

#### ***1.3.1.4 Fundamentos para la introducción de lenalidomida en el tratamiento de rescate de pacientes con LDCGB***

La lenalidomida es un fármaco inmunomodulador (IMiD) aprobado para el tratamiento del mieloma múltiple (Singhal et al, 1999). Es un análogo de la talidomida que posee, al igual que ella, un amplio abanico de potenciales actividades antitumorales. Las principales ventajas de la lenalidomida sobre la talidomida son: una potencia entre 50 y 2000 veces superior en sus efectos inmunomoduladores, y un perfil de toxicidad más favorable, ya que no parece causar somnolencia significativa, estreñimiento ni neuropatía, efectos adversos que suelen ser limitantes de dosis para la talidomida (Richardson PG et al, 2002; Bartlett JB et al, 2004). El mecanismo de acción de lenalidomida, no plenamente conocido, incluye inmunomoduladores, antineoplásicos, anti-angiogénicos y pro-eritropoyéticos (Gandhi AK et al, 2006). Estudios tanto preclínicos como clínicos han mostrado que la lenalidomida provoca en el microambiente tumoral una disminución en la producción de diversas citoquinas críticas para la supervivencia celular, y al mismo tiempo promueve la activación de la respuesta antitumoral mediada por células T y NK (Chanan-Khan AA & Cheson BD, 2008).

Además, lenalidomida puede revertir la resistencia al tratamiento quimioterápico convencional en varias líneas celulares malignas derivadas de los linfocitos B (Hedeshima et al, 2000). De forma resumida, las acciones biológicas que justifican el uso de lenalidomida en el tratamiento de las neoplasias linfoides son las siguientes:

- Aumento de la actividad de los linfocitos T citotóxicos y de las células Natural Killer: estudios in vitro han demostrado que lenalidomida aumenta la secreción de citoquinas activadoras de los linfocitos CD8 citotóxicos (interleuquina-2 e interferón-gamma) lo que se acompaña de un aumento de la actividad NK. Así mismo, lenalidomida inhibe la secreción de interleuquina-10 por parte de algunas subpoblaciones de linfocitos Th-2 reguladores (Haslett et al, 2010).

- Actividad antiangiogénica: lenalidomida inhibe la migración y capacidad invasiva de las células endoteliales humanas. Esta acción esta mediada por la inhibición de la producción de VEGF y de la actividad de los receptores Tie-2 y VEGF-1 (Zhang et al, 2005).

- Inhibición de la vía de señalización celular PI3K/AKT. Lenalidomida inhibe la fosforilación de AKT (Gandhi et al, 2006).

Estudios in vitro han puesto de manifiesto un sinergismo entre lenalidomida y rituximab, ya que la combinación de los 2 produce mayor inhibición del crecimiento celular y más apoptosis en líneas celulares de LNH, incluyendo líneas celulares de LDCGB (SUDHL4 y SUDHL10), que ambos agentes por separado (Zhang LH et al, 2013).

La lenalidomida ha demostrado eficacia en ensayos clínicos en numerosas neoplasias de células B, incluyendo mieloma múltiple (Dimopoulos M et al, 2007; Weber DM et al, 2007), leucemia linfática crónica (Chanan-Khan A et al, 2006), linfomas indolentes (Witzig TE et al, 2009), y linfomas agresivos (Wiernik PH et al, 2008). En un estudio multicéntrico fase II, 49 pacientes con LNH-B agresivo (LDCGB, linfoma folicular grado 3, linfoma del manto) refractario o en recaída recibieron tratamiento con lenalidomida oral en monoterapia, 25 mg. una vez al día, días 1 a 21, cada 28 días, durante 52 semanas, o bien hasta progresión de la enfermedad o intolerancia. La mediana de edad era de 65 años (rango: 23 a 86). Los pacientes habían

recibido una mediana de cuatro regímenes de tratamiento previo; el 56% eran resistentes al tratamiento anterior y el 29% habían sido sometidos a TAPH. La tasa de respuestas globales fue del 35%, incluyendo un 12 % de RC o RC incierta (RCi). Se observaron respuestas en todos los subtipos histológicos (tasa global de respuesta del 19% en pacientes con LDCGB). La mediana de tiempo hasta alcanzar RP y RC/RCi fue de 1.9 meses (rango: 1.2 a 3.7 meses) y 4.3 meses (rango: 1.9 a 10.5 meses), respectivamente. De los pacientes con enfermedad estable o respuesta parcial en la primera evaluación, el 25% mejoraron con el tratamiento continuado. La mediana de duración de la respuesta y de SLP fue de 6,2 meses y 4 meses, respectivamente. Los acontecimientos adversos grado 4 más frecuentes fueron neutropenia (8,2%) y trombocitopenia (8,2%), y grado 3 fueron neutropenia (24,5%), leucopenia (14,3%) y trombocitopenia (12,2%) (Wiernik et al, 2008). Los resultados de este estudio muestran que lenalidomida en monoterapia es un agente activo en pacientes con linfoma B agresivo refractario o en recaída, con toxicidad manejable.

Posteriormente se llevó a cabo un estudio confirmatorio internacional fase II (NHL-003) de lenalidomida como agente único en pacientes con linfoma B agresivo refractario o en recaída tras al menos una línea de tratamiento previo. Los pacientes recibieron lenalidomida oral, 25 mg. al día, los días 1-21 de cada ciclo de 28 días, hasta progresión de la enfermedad o intolerancia. Se incluyeron un total de 217 pacientes. La tasa de respuesta global fue del 35% (77/217), con RC en el 13% (29/217), RP en el 22% (48/217), y el 21% (45/217) con enfermedad estable. La tasa de respuesta global para LDCGB fue del 28% (30/108), del 42% (24/57) para linfoma de células del manto, del 42% (8/19) para linfoma folicular de grado 3, y del 45% (15/33) para linfoma periférico de células T. La mediana de SLP para el total de los 217 pacientes fue de 3,7 meses [intervalo de confianza del 95% (IC) 2,7 a 5,1]. En los 77 respondedores, la

mediana de duración de la respuesta fue de 10,6 meses (IC 95%: 7,0 a no alcanzada). La mediana de duración de la respuesta mediana no se ha alcanzado en 29 pacientes que lograron RC y en pacientes que respondieron con linfoma folicular de grado 3 o linfoma de células del manto. El acontecimiento adverso más frecuente fue la mielosupresión, con neutropenia y trombocitopenia de grado 4 en el 17% y el 6%, respectivamente (Witzig et al, 2011). Los resultados de este estudio confirman que lenalidomida es efectiva en pacientes con LDCGB refractario o en recaída intensamente pretratados, con un perfil de toxicidad aceptable.

Respecto a la utilización de lenalidomida en combinación, recientemente se ha comunicado una elevada tasa de respuestas y un perfil de toxicidad favorable con la combinación de lenalidomida y rituximab en pacientes con LDCGB en recaída o refractario, con tasas de RC superiores a las observadas con lenalidomida en monoterapia (Zinzani et al, 2011; Wang et al, 2013), como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Lenalidomida en pacientes con LDCGB refractario o en recaída.**

Combinación	N	RG (RC) (%)	Duración respuesta global, mediana (meses)	Toxicidad, grado 3/4 (%)
<b>Lenalidomida (25mg) (NHL-002) (Wiernik, 2008)</b>	26	19 (8)	6,2	Neutropenia (24/8) Trombocitopenia (12/8)
<b>Lenalidomida (25 mg) (NHL-003) (Witzig, 2011)</b>	108	28 (7)	4,6	Neutropenia (41) Trombocitopenia (19) Anemia (9)
<b>R-Lenalidomida (20 mg) (Zinzani, 2011)</b>	23	35 (30)	N/A	Neutropenia (30) Trombocitopenia (14)
<b>R-Lenalidomida (20 mg) (Wang, 2013)</b>	32	28 (22)	10,2	Neutropenia (31/22) Trombocitopenia (18/16) Anemia (18)

Abreviaturas: N, número; RG, respuesta global; RC, remisión completa; R, rituximab.

Recientemente se han publicado los resultados de varios estudios fase I (recogidos en la tabla 7) que investigaron la combinación de lenalidomida con rituximab y

quimioterapia en pacientes con LDCGB, tanto en 1ª línea (Nowakowski et al, 2011; Chiappella et al, 2013) como en el tratamiento de rescate (Feldman et al, 2014). Los resultados de estos estudios sugieren que estas combinaciones son factibles y eficaces.

**Tabla 7: Ensayos clínicos fase I de lenalidomida en combinación con rituximab y quimioterapia en pacientes con LDCGB.**

Combinación	Enfermedad	N	DMT	RC/RP (%)
R2CHOP (1ª línea) <sup>1</sup>	LDCGB y LF grado 3	24	25 mg/día, 10 días cada 3 semanas	77/23
R2CHOP (1ª línea) <sup>2</sup>	LDCGB	21	15 mg/día, 14 días cada 3 semanas	81/9
RICER (rescate) <sup>3</sup>	LDCGB	15	25 mg/día, 7 días cada 2 semanas	60/13

1. Nowakowski et al, 2011. 2. Chiappella et al, 2013. 3. Feldman et al, 2014

Abreviaturas: R, rituximab; CHOP, ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona; N, número; LDCGB, linfoma difuso de célula grande B; LF, linfoma folicular; DMT, dosis máxima tolerada; RC, remisión completa; RP, respuesta parcial.

### 1.3.2. Linfomas transformados

La transformación del linfoma folicular a LDCGB se acompaña, generalmente, de un curso clínico agresivo y un pronóstico desfavorable. La incidencia de transformación histológica varía entre el 10% y el 60% según las series, aunque en los últimos estudios publicados se sitúa en torno al 11% en la era del rituximab (Conconi A et al, 2012; Link, et al, 2013; Ban-Hoefen et al, 2013). No existe un tratamiento de elección para los pacientes con linfomas transformados, ya que no se ha realizado ningún estudio randomizado hasta la fecha. Dado el mal pronóstico de estos pacientes, el TAPH parece una opción razonable.

La información disponible sobre el TAPH en pacientes con linfomas transformados es limitada, ya que la mayoría de estudios son retrospectivos, han sido realizados en la era pre-R e incluyen un número pequeño de pacientes (Bernstein SH et al, 2009). Pese a ello, varios estudios fase 2 y de registro sugieren un beneficio potencial del TAPH para una proporción de pacientes con linfoma transformado. En un estudio fase 2 realizado por el grupo noruego (Eide et al, 2011) se incluyeron 47 pacientes con linfoma transformado, de los cuales 30 fueron sometidos a TAPH. Las medianas de SLP y SG en los pacientes trasplantados fueron de 26 y 47 meses, respectivamente, mientras que la mediana de SG en los pacientes no candidatos a

trasplante fue de solo 10 meses. La serie más larga publicada procede del Center for International Blood and Marrow Transplant Research, e incluye 108 pacientes con linfoma transformado sometidos a TAPH entre 1990 y 2009 (Wirk et al, 2014). En esta serie, la mortalidad no debida a recaída estimada a 1 año fue del 8%, y la SLP y SG estimadas a los 5 años fueron del 35% y 50%, respectivamente, resultados significativamente mejores que los obtenidos con trasplante alogénico (41%, 18% y 22%, respectivamente) en 33 pacientes en el mismo periodo de tiempo. Estos resultados son similares a los publicados por el European Bone Marrow Transplant Registry (EBMTR) sobre una serie de 50 pacientes con linfoma transformado. Con una mediana de seguimiento de aproximadamente 5 años, la SLP y SG estimadas a los 5 años fueron del 30% y 51%, respectivamente (Bernstein et al, 2009).

Los últimos estudios publicados en la era del rituximab indican que el pronóstico de los linfomas transformados ha mejorado con la introducción de la inmunoterapia (Ban-Hoefen et al, 2013), aunque los resultados siguen siendo mejores con TAPH. Así, en la experiencia del grupo canadiense (Villa et al, 2013), en 172 pacientes con linfoma transformado tratados con inmunoterapia, la SLP estimada a los 5 años para los pacientes tratados con TAPH (n=97), trasplante alogénico (n=22) y sin trasplante (n=53) fue del 55%, 46% y 40%, respectivamente, con una mortalidad relacionada con el trasplante estimada a los 5 años del 5% y 23% para el autólogo y el alogénico, respectivamente.

Por tanto, el TAPH parece una buena opción de tratamiento para los pacientes con linfoma transformado, aunque, debido a la ausencia de estudios prospectivos que incluyan un número adecuado de pacientes, es recomendable la inclusión de estos pacientes en ensayos clínicos prospectivos.

### ***1.3.3 Linfomas T periféricos***

Los LTP son un grupo heterogéneo de neoplasias T maduras que, en general, tienen un pronóstico desfavorable. La complejidad de los linfomas T se pone de manifiesto en la última clasificación de la OMS (Swerdlow et al, 2008), donde se establecen 18 categorías de neoplasias T maduras. Los LTP presentan características biológicas y clínicas diferentes entre los subtipos, con escasez de marcadores moleculares. Suponen aproximadamente el 10 % de los LNH en adultos en nuestro

medio, con muy baja frecuencia de cada subtipo histológico, lo que complica la investigación con nuevos tratamientos. Por esta razón, existen pocos datos sólidos sobre cómo tratar estos linfomas, debido a la ausencia de estudios randomizados, y el tratamiento se basa en los esquemas utilizados en los linfomas B, pero con pobres resultados.

El Proyecto Internacional para los Linfomas T reunió a 22 instituciones de Europa, América y Asia para realizar un análisis retrospectivo de 1314 pacientes con LTP (Vose et al, 2008), confirmándose el mal pronóstico de la mayoría de subtipos. Dentro de las formas nodales, la SG estimada a los 5 años está en torno al 70% para el linfoma anaplásico de células grandes (LACG) ALK+, 49% para el LACG ALK- y 32% para el linfoma T periférico no especificado (LTPNE) y el linfoma T angioinmunoblástico (LTAI); respecto a las formas extranodales no cutáneas, la SG estimada a los 5 años fue del 42% y 9%, respectivamente, para el linfoma extranodal T/NK nasal y extranasal, 64% para el linfoma T subcutáneo paniculítico, 20% para el linfoma T asociado a enteropatía y, finalmente, tan solo 7% para el linfoma T hepatoesplénico gamma-delta. El IPI, utilizado para los linfomas B agresivos, es también útil para separar grupos pronósticos en los linfomas T, aunque no en todos los subtipos histológicos. En un estudio con 322 casos de LTPNE se diseñó otro índice pronóstico que se ha denominado PIT, similar al IPI con la inclusión de la infiltración de MO, y que parece separar grupos pronósticos en este subtipo de forma más específica que el IPI (Gallamini et al, 2004).

Los LTP han sido tratados tradicionalmente de forma similar a los linfomas B agresivos, siendo el régimen CHOP el más usado. Con los regímenes de quimioterapia convencionales, sólo se alcanzan resultados aceptables en el linfoma anaplásico, pero en el resto de LTP los resultados son claramente inferiores a los alcanzados en linfomas B agresivos antes de la era del R, con tasas de SG a largo plazo inferiores al 40% (Gisselbrecht et al, 1998). Diferentes grupos han intentado mejorar estos resultados con terapias más intensivas o con la introducción de otros fármacos, sin que ningún régimen haya demostrado superioridad frente a la quimioterapia tipo CHOP en los pocos estudios comparativos disponibles (Escalón et al, 2005; Simon et al, 2010; Schmitz N et al, 2010).

Debido a estos mediocres resultados, la actitud habitual en muchos centros es realizar una consolidación con quimioterapia a altas dosis y TAPH. Se han publicado 5 estudios prospectivos en los que se realiza TAPH como parte de la terapia de 1ª línea en pacientes con LTP, resumidos en la tabla 8 (Corradini et al, 2006; Rodríguez et al, 2007; Mercadal et al, 2008; Reimer et al, 2009; d'Amore et al, 2012). Tras la inducción, basada en el régimen CHOP en la mayoría de estudios, alcanzaron RC en torno a un 50% de los pacientes, como se aprecia en la tabla. Un hecho destacable es que un porcentaje importante de pacientes (entre 30-60%) no recibe el trasplante, debido principalmente a progresión precoz de la enfermedad. Los regímenes de acondicionamiento empleados fueron heterogéneos. La mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) fue muy baja en todos los estudios y la SLE osciló entre el 30 y el 50%. En el estudio del grupo alemán, no recibieron el trasplante un 34% de pacientes, casi todos por progresión precoz de la enfermedad. La SG a los 3 años de los pacientes trasplantados fue del 71%, frente a un 11% en los pacientes no trasplantados, observándose mejores resultados en los pacientes trasplantados con PIT bajo (Reimer et al, 2009). En el estudio del grupo italiano, el de más largo seguimiento, el factor pronóstico más relevante para la SG y SLE fue la presencia de RC antes del trasplante (Corradini et al, 2006).

**Tabla 8. Estudios prospectivos de TAPH en 1ª línea en pacientes con LTP**

	<b>Corradini</b>	<b>Rodríguez</b>	<b>Mercadal</b>	<b>Reimer</b>	<b>d'Amore</b>
	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2012</b>
<b>N</b>	62	26	41	83	166
	19 LTP ALK +	No ALK+	No ALK	No ALK+	No ALK+
<b>Mediana de edad</b>	43 años	44 años	47 años	46 años	57 años
<b>Régimen</b>	a) APOx2+DHAPx2 +Mitox/Melfalán  b) MACOPB+AraC/ Mitoxantrone+BE AM	MegaCHOPx3,4 ±IFEx2+BEAM	MaxiCHOPx  3/ESHAPx3	CHOPx4,6+  DexaBEAM+C y/ICT	CHOEPx6+  BEAM o BEAC
<b>RC/RP tras inducción</b>	56% /16%	46% /27%	49% /10%	47% /24%	52%/31%
<b>TAPH (%)</b>	74%	73%	41%	66%	72%
<b>MRT</b>	4.8%	0%	3%	4%	4%
<b>SG</b>	34% (12 años)	73% (3 años)	39% (4 años)	48% (3 años)	51% (3 años)
<b>SLE/SLP</b>	30% (12 años)	53% (3 años)	30% (4 años)	36% (3 años)	44% (5 años)
<b>Seguimiento</b>	76 meses	35 meses	38 meses	33 meses	61 meses

Abreviaturas: N, número; LTP, linfoma T periférico; RC, remisión completa; RP, respuesta parcial; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; MRT, mortalidad relacionada con el trasplante; SG, supervivencia global; SLP, supervivencia libre de progresión; SLE, supervivencia libre de evento; APO, doxorubicina, prednisona y vincristina; DHAP, dexametasona, altas dosis de citarabina, cisplatino; MACOPB, metotrexato, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, dosis fija de prednisona, bleomicina y leucovorín.; BEAM, BCNU, etopósido, Ara-C, melfalán; CHOP, ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona.; IFE, ifosfamida y etopósido; ESHAP, etopósido, melilprednisolona, Ara-C, cisplatino; CY, ciclofosfamida; BEAC, BCNU, etopósido, Ara-C, ciclofosfamida; ICT, irradiación corporal total; CHOEP, ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona, etopósido.

No existen estudios randomizados que demuestren el beneficio de realizar un TAPH en 1ª línea. En un estudio de casos y controles comparativo entre TAPH y quimioterapia secuencial en 28 pacientes con LTP no anaplásico seleccionados de 2 ensayos prospectivos del grupo GELA, no se observó ningún beneficio significativo del trasplante, si bien el pequeño tamaño de la muestra hace que los resultados deban ser interpretados con precaución (Mounier et al, 2004).

El TAPH se ha empleado también como tratamiento de rescate en los LTP. En este caso, la evidencia científica se basa en estudios retrospectivos no controlados, con series heterogéneas y con resultados de supervivencia poco favorables en los pacientes con LTP ALK- (Dearden et al, 2011). En un estudio retrospectivo del grupo español GELTAMO que analizó 115 pacientes sometidos a trasplante autólogo en la 1ª línea o como tratamiento de rescate, los resultados fueron mejores en los pacientes trasplantados en 1ª RC o 1ª respuesta parcial (RP), respecto a los pacientes trasplantados tras la recaída o progresión del linfoma (Rodríguez et al, 2003). Otro estudio retrospectivo del EBMT que incluyó 146 pacientes con linfoma angioinmunoblástico sometidos a trasplante autólogo mostró resultados similares a los del grupo GELTAMO (Kyriakou et al, 2008).

En resumen, el beneficio de realizar un TAPH como tratamiento de primera línea o de rescate en pacientes con LTP no ha sido validado en estudios randomizados, por lo que estos pacientes constituyen otro grupo candidato a ensayos clínicos.

## **1.4. Metodología del TAPH**

### ***1.4.1 Fuente de progenitores***

La fuente tradicional de obtención de CPH para TAPH era la MO, mediante la realización de múltiples aspirados en crestas iliacas posteriores. Este método ha sido reemplazado por la recolección de CPH de SP, tras la movilización de las mismas desde la MO a la SP con factores de crecimiento asociados o no a QT (Dreger et al, 2000; Mink & Armitage, 2001). Aunque los resultados del trasplante en cuanto a eficacia son similares con ambas fuentes de progenitores, 2 estudios randomizados realizados en pacientes con linfoma en recaída han demostrado que el empleo de CPH de SP consigue un injerto de neutrófilos y plaquetas más rápido, lo que se traduce en menores necesidades transfusionales y días de ingreso, con el consiguiente ahorro en costes, y mejor calidad de vida (Vellenga et al, 2001; Vose et al, 2002). Por estas razones, hoy en día la SP ha reemplazado totalmente a la MO como fuente de progenitores hematopoyéticos para el trasplante autólogo.

#### ***1.4.2 Régimen de acondicionamiento***

Como tratamiento mieloablativo previo al trasplante se han diseñado múltiples esquemas, basados en altas dosis de QT asociada o no a irradiación corporal total (ICT). Debido a la ausencia de estudios prospectivos randomizados, ningún régimen puede ser considerado superior a los demás. Sin embargo, los regímenes que incluyen ICT parecen más tóxicos, sobre todo por el aumento de incidencia de neumonitis intersticial y síndrome mielodisplásico / leucemia aguda mieloblástica secundaria (Vose & Armitage, 1997; Apperley et al, 2000; Armitage et al, 2003). Por estos motivos y otros de tipo práctico (facilidad de administración, coste, etc), muchos centros han abandonado el uso de ICT en el TAPH de pacientes con linfoma. En un estudio retrospectivo del grupo español GELTAMO que incluyó 395 pacientes con linfoma agresivo sometidos a TAPH, se evidenciaron mejores resultados con acondicionamientos basados solo en QT que con el régimen ciclofosfamida + ICT (Salar et al, 2001).

Respecto a los agentes quimioterápicos, los más útiles son los alquilantes, etopósido y citarabina, ya que su toxicidad dosis-limitante es hematológica (Mink & Armitage, 2001). Entre los esquemas de quimioterapia más utilizados destacan el CBV (ciclofosfamida, BCNU y etopósido) (Wheeler et al, 1993; Gisselbrecht et al, 1993), BEAC (BCNU, etopósido, Ara-C y ciclofosfamida) (Philip et al, 1991; Jantunen et al, 2003) y BEAM (BCNU, etopósido, Ara-C y melfalán) (Chopra et al, 1993; Caballero et al, 1997). Los regímenes que contienen altas dosis de melfalán carecen de la toxicidad cardíaca y urinaria de la ciclofosfamida, por lo que parece que son mejor tolerados. Por este motivo, el régimen BEAM (tabla 9) es el más utilizado, especialmente en Europa. Existe un estudio caso-control retrospectivo del EBMT comparando BEAM y CBV, observándose mejores resultados con BEAM en los pacientes con linfoma de Hodgkin (Apperley et al, 2000). Algunos centros emplean CCNU en lugar de BCNU por la menos incidencia de complicaciones respiratorias, sobre todo fibrosis pulmonar (Horning et al, 1997).

**Tabla 9. Régimen de acondicionamiento BEAM**

Fármaco	Dosis total	Dosis diaria
BCNU = Carmustina	300 mg/m <sup>2</sup>	300 mg/m <sup>2</sup> día -6
Etopósido = VP-16	800 mg/m <sup>2</sup>	200 mg/m <sup>2</sup> días -5 al -2
Citarabina = Ara-C	1600 mg/m <sup>2</sup>	400 mg/m <sup>2</sup> días -5 al -2
Melfalán	140 mg/m <sup>2</sup>	140 mg/m <sup>2</sup> día -1

La eficacia del trasplante autólogo depende del efecto antitumoral del régimen de acondicionamiento, por lo que sería necesario encontrar regímenes de acondicionamiento más efectivos que los actuales. Varios autores han intentado intensificar las dosis del régimen de acondicionamiento con la idea de mejorar los resultados del trasplante. Estos intentos han ido acompañados en general de un aumento de toxicidad sin que se haya demostrado un aumento de eficacia (Zulian et al, 1989; Wheeler et al, 1990; Phillips et al, 1991; Mills et al, 1995; Martín et al, 2004), por lo que los avances realizados en este campo en los últimos años han sido escasos.

Dados los buenos resultados que han supuesto la incorporación de R a la 1ª línea de tratamiento, también se ha investigado la administración de R con el régimen de acondicionamiento. En un ensayo fase 2, 67 pacientes con linfoma B agresivo en recaída recibieron R a altas dosis durante la movilización de CPH, con el régimen BEAM y tras el trasplante. Con una mediana de seguimiento de 20 meses, la SLP y SG estimadas a los 2 años fueron del 67 y 80%, respectivamente, resultados superiores a los de un grupo control histórico tratado sin R (Khoury et al, 2005). Sin embargo, los pacientes no habían recibido R con el tratamiento de primera línea, por lo que estos resultados no son extrapolables a los pacientes que son sometidos a TAPH hoy día, todos ellos pre-tratados con R desde la 1ª línea.

En los últimos años, varios grupos han investigado la incorporación de radioinmunoterapia al régimen de acondicionamiento. En un ensayo fase 2, el grupo GELTAMO evaluó la eficacia y toxicidad de la adición de Yttrium-90 ibritumomab tiuxetan (dosis fija de 0,4 mCi/Kg, máximo de 32 mCi) al régimen de acondicionamiento BEAM en 30 pacientes con LDCGB, todos ellos con enfermedad activa en el momento del trasplante y 25 de los 30 con enfermedad considerada quimio-refractaria. Los resultados fueron excelentes, considerando el mal pronóstico de la población incluida. Así, la tasa de RC y la SLP y SG estimadas a los 3 años fueron del

61%, 61% y 63%, respectivamente (Briones et al, 2014). Sin embargo, en el único estudio fase 3 randomizado disponible no se encontraron diferencias significativas en eficacia (SLP a los 2 años del 49% vs 48%) entre los regímenes de acondicionamiento R-BEAM y Iodine-131 Tositumomab/BEAM (Vose et al, 2013). Este estudio incluyó 224 pacientes con LDCGB en recaída o refractario con enfermedad quimiosensible. Por tanto, la radioinmunoterapia como parte del régimen de acondicionamiento aún no ha demostrado superioridad en estudios prospectivos fase 3 sobre los regímenes clásicos.

BCNU es un agente alquilante utilizado en el régimen de acondicionamiento de pacientes con linfoma durante muchos años. Varios estudios han relacionado este fármaco con la aparición de complicaciones pulmonares no infecciosas post-trasplante (Alessandrino et al, 2000; Cao et al, 2000). Además, en el momento actual existen problemas de disponibilidad de BCNU en varios países de Europa. Una opción atractiva sería sustituir BCNU por otro agente antitumoral, con el doble objetivo de resolver el problema de disponibilidad de BCNU e intentar mejorar la eficacia y toxicidad del régimen de acondicionamiento. En un estudio prospectivo realizado en 84 pacientes con diferentes subtipos de linfoma, se investigó un régimen de acondicionamiento alternativo a BEAM, denominado FEAM, en el cual se sustituye BCNU por otra cloroetilnitrosurea de 3ª generación (fotemustina). Los resultados obtenidos fueron favorables en lo que respecta a toxicidad a corto plazo, pero el corto seguimiento no permitió evaluar la toxicidad a largo plazo ni la eficacia (Musso et al, 2009).

### ***1.4.3 Fundamentos para la introducción de bendamustina en el régimen de acondicionamiento***

El clorhidrato de bendamustina fue sintetizado en los años 60 en la República Democrática de Alemania con el propósito de generar un agente anticancerígeno bifuncional, ya que se relaciona químicamente con los agentes alquilantes ciclofosfamida y clorambucilo, pero con la singularidad de que incorpora un anillo benzimidazólico que confiere a la molécula propiedades como análogo de las purinas. Hace unos años, el Instituto Nacional del Cáncer Norteamericano (NCI) publicó un estudio sobre el mecanismo de acción de bendamustina en comparación con otros fármacos estructuralmente relacionados (Leoni et al, 2008). La bendamustina se caracteriza, como hemos mencionado, por una actividad bifuncional. Por un lado, induce a la apoptosis debido a su actividad alquilante dependiente de p53, con un efecto dañino para el ADN más pronunciado y de mayor duración comparado con otros

agentes alquilantes. Además, promueve a “la catástrofe mitótica” (alteración de la división celular) mediante la baja regulación de los puntos de control mitóticos, lo cual explica en parte la actividad antitumoral de bendamustina en pacientes resistentes a agentes alquilantes. Además, bendamustina no presenta resistencia cruzada con otros agentes alquilantes en líneas celulares de LNH (Leoni et al, 2008).

Estudios preliminares realizados en la antigua República Democrática Alemana hace más de 30 años sugerían su eficacia en pacientes con linfoma indolente. Como se muestra en la tabla 10, varios estudios recientes han mostrado respuestas superiores al 70% utilizando bendamustina como agente único (120 mg/m<sup>2</sup> días 1 y 2, cada 3 semanas, mediana de 5-6 ciclos) en pacientes con linfoma indolente pre-tratado y refractario a rituximab (Friedberg et al, 2008; Kahl et al, 2010), sugiriendo que la bendamustina podría ser el fármaco disponible más efectivo para los pacientes con linfoma indolente, presentado además un perfil de toxicidad favorable. Los resultados son aún mejores cuando se emplea bendamustina en combinación con rituximab, alcanzándose tasas de respuesta global y RC superiores al 90% y al 50%, respectivamente, en pacientes con linfoma indolente o linfoma del manto en recaída (Rummel et al, 2005; Robinson et al, 2008). También se ha ensayado la combinación con otros quimioterápicos como mitoxantrone o fludarabina, describiéndose tasas de respuesta global en torno al 80-90% (Koenigsmann et al, 2004; Weide et al, 2007).

En pacientes con linfoma agresivo, la bendamustina también ha demostrado tener actividad antitumoral. también se han realizado varios ensayos clínicos prospectivos . En un estudio fase II que incluyó 66 pacientes no candidatos a trasplante con LDCGB refractario o en recaída tras R-QT, el empleo de R-bendamustina se asoció con tasas de respuesta global y RC del 63% y 37%, respectivamente, con una mediana de SLP de 6.7 meses (IC 95%: 3.6 a 13.7 meses) (Ohmachi K, et al, 2103). En otro ensayo fase 2, 60 pacientes con LTP o cutáneo refractario o en recaída recibieron bendamustina como agente único, observándose unas tasas de respuesta global y RC del 50% y 28%, respectivamente, con una mediana de duración de la respuesta, SLP y SG de 3.5, 3.6 y 6.2 meses, respectivamente (Damaj G, et al 2013) (tabla 10).

**Tabla 10. Ensayos clínicos fase II de bendamustina en el tratamiento de linfomas en recaída o refractarios**

Fármacos	Enfermedad	N	RC (%)	RG (%)	Mediana SLP
<b>Bendamustina (Friedberg, 2008)</b>	Linfomas indolentes Linfomas transformados	77	34	77	7,1 meses
<b>Bendamustina (Kahl, 2010)</b>	Linfomas indolentes	100	17	75	9,3 meses
<b>Bendamustina + Rituximab (Robinson, 2008)</b>	Linfomas indolentes Linfoma del manto	63	60	90	24 meses
<b>Bendamustina + Rituximab (Rummel, 2005)</b>	Linfomas indolentes Linfoma del manto	66	55	92	23 meses
<b>Bendamustina + Mitoxantrone + R (Weide, 2007)</b>	Linfomas indolentes Linfoma del manto	57	89	35	19 meses
<b>Bendamustina + Fludarabina (Koenigsman, 2004)</b>	Linfomas indolentes Linfoma del manto	29	45	77	ND
<b>Bendamustina + R (Ohmachi, 2013)</b>	Linfomas agresivos	66	37	63	6,7 meses
<b>Bendamustina (Damaj, 2012)</b>	Linfomas T periféricos o cutáneos	60	28	50	3,6 meses

Abreviaturas: N, nº de pacientes; RC, remisión completa; RG, respuesta global; SLP, Supervivencia Libre de Progresión; R, rituximab; ND, no disponible.

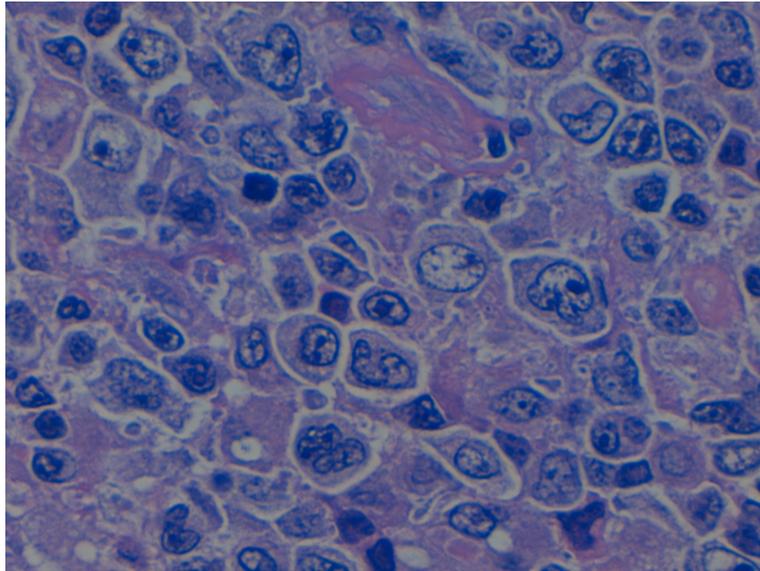
Respecto a los efectos adversos de bendamustina, la principal toxicidad es hematológica, con una incidencia de neutropenia y trombopenia grados 3-4 en torno al 75% y al 20%, respectivamente, en pacientes con LDCGB pre-tratado (Ohmachi et al, 2013). Respecto a la toxicidad no hematológica, la incidencia de efectos adversos grado 3-4 fue muy baja en los ensayos mencionados.

#### ***1.4.4 Justificación del nuestro estudio y selección de dosis***

Se realizaron estudios in vitro en el CIC de Salamanca sobre una línea celular de linfoma folicular transformado mostrando una actividad sinérgica de bendamustina en combinación con etopósido, Ara-C y melfalán, con al menos la misma capacidad tumoricida que el esquema BEAM clásico (Visani et al, 2011).

Respecto a la dosis de bendamustina a utilizar, se han publicado dos estudios fase 1 realizados en pacientes con tumor sólido refractario. En uno de ellos, la bendamustina se administró durante 2 días consecutivos cada 3 semanas, siendo la dosis máxima tolerada (DMT) 160 mg/m<sup>2</sup>, ya que a dosis de 180 mg/m<sup>2</sup> aparecieron 2 casos de trombocitopenia grado 4 que se consideraron limitantes de dosis. En este estudio no se

evidenció ninguna toxicidad no hematológica limitante de dosis (Rasschaert M, 2007). En el segundo, la bendamustina se administró como dosis única cada 3 semanas, siendo la DMT 260 mg/m<sup>2</sup>, ya que a dosis de 280 mg/m<sup>2</sup> se evidenciaron dos casos de fatiga grado 3 y tres casos de toxicidad cardíaca grado 2 (Rasschaert M, 2007). En base a estos estudios, Visani et al, realizaron un estudio fase I-II para evaluar la seguridad y eficacia de bendamustina a dosis crecientes en combinación con Etopósido, Citarabina y Melfalán como régimen de acondicionamiento pre-TAPH en pacientes con linfoma refractario o en recaída. Se evaluaron 9 pacientes (mediana de edad de 54 años, rango 18-70) con LNH indolente o agresivo (n=6) o linfoma de Hodgkin (LH) (n=3), con enfermedad refractaria o en recaída. Los pacientes fueron distribuidos sucesivamente en 3 cohortes de 3 pacientes por cada nivel de dosis de bendamustina, siendo el nivel inicial 160 mg/m<sup>2</sup> días -7 y -6, combinado con etopósido, ara-C y melfalán a las dosis habituales del esquema BEAM. La escalada de dosis se realizó de acuerdo al esquema clásico 3+3 (Dent et al, 1996), de 160 mg/m<sup>2</sup> a 180 mg/m<sup>2</sup> y, finalmente, a 200 mg/m<sup>2</sup>. La posible aparición de cardiotoxicidad fue monitorizada especialmente, con realización de ECG y troponina sérica de forma basal y a las 24, 72 y 96 horas de la administración de bendamustina. No se evidenciaron efectos adversos no hematológicos grado 3-4 en ninguno de los niveles de dosis. Todos los pacientes alcanzaron injerto, siendo la mediana de días para alcanzar más de 0.5 x 10<sup>9</sup>/L neutrófilos y más de 20 x 10<sup>9</sup>/L plaquetas de 13 y 15 días, respectivamente. Se realizó posteriormente un fase II, (Visani et al, 2011) con 43 pacientes (28 LNH y 15 LH), 21 de ellos con enfermedad refractaria primaria y el resto con linfoma en recaída. Todos los pacientes alcanzaron injerto en un plazo de tiempo razonable, y no se evidenció ninguna toxicidad extrahematológica grado 3-4, salvo digestiva. Con una mediana de seguimiento de 8 meses, todos los pacientes estaban vivos. La reevaluación postrasplante se realizó en 33 pacientes, 29 de los cuales estaban en RC por PET/TC (Visani et al, 2011). En base a este estudio fase I-II, nos planteamos la realización de un ensayo clínico fase II en el que sustituimos BCNU por bendamustina en el régimen de acondicionamiento pre-TAPH de pacientes candidatos a trasplante con linfoma agresivo de alto riesgo con los objetivos de, resolver el problema de disponibilidad de BCNU e, intentar mejorar la eficacia y toxicidad del régimen de acondicionamiento, utilizando 200 mg/m<sup>2</sup> de bendamustina, administrada 2 días consecutivos, en combinación con la dosis estándar de etopósido, ara-C y melfalán, para evaluar la eficacia y toxicidad del régimen de acondicionamiento BeEAM en pacientes con linfoma agresivo candidatos a TAPH.



*“Una buena pregunta nunca es respondida, no es un pestillo para ser colocado en un sitio, sino una semilla para ser plantada y dar nuevas semillas, con la esperanza de reverdecer el campo de las ideas”. John Ciardi, 1972*

## **2.- Hipótesis de trabajo y objetivos**

## **2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

En el momento actual, con el empleo de regímenes de primera línea altamente efectivos que combinan rituximab y quimioterapia, los pacientes con LDCGB que son refractarios o recaen son difíciles de rescatar con los tratamientos habituales. De igual modo, los pacientes con linfoma B transformado o con linfoma T periférico tienen mal pronóstico pese al empleo de altas dosis de quimioterapia y TAPH. Estos grupos de pacientes son candidatos a ensayos clínicos con regímenes que incorporen nuevos fármacos, bien como parte del tratamiento de rescate o en el régimen de acondicionamiento del trasplante autólogo.

La primera pregunta que nos planteamos es si el TAPH en pacientes con LDCGB podría ser menos efectivo en la era del rituximab respecto a la era pre-rituximab. Para ello, analizamos de forma retrospectiva y multicéntrica una amplia serie de pacientes con LDCGB sometidos a TAPH. Por otro lado en el presente trabajo hemos evaluado de forma prospectiva la eficacia de nuevos fármacos (lenalidomida y bendamustina) combinados con quimioterapia en el tratamiento de los linfomas agresivos refractarios o en recaída.

En los últimos años, se han desarrollado una gran cantidad de nuevos fármacos para el tratamiento de los linfomas, pero ninguno ha demostrado suficiente eficacia como para ser utilizado como agente único, por lo que uno de los retos actuales es definir el papel de estos nuevos fármacos combinados con los regímenes de quimioterapia habituales, en el contexto de ensayos clínicos prospectivos.

En concreto, los OBJETIVOS del presente trabajo son los siguientes:

### **2.1. Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo**

Para ello se realizó un estudio retrospectivo multicéntrico en una serie amplia de pacientes con LDCGB o Linfoma Folicular grado 3B sometidos a TAPH. El objetivo principal de este estudio fue analizar la eficacia del trasplante (respuesta, SLP, SG) en función de la exposición o no a rituximab antes del trasplante. Los objetivos secundarios fueron analizar la influencia de diferentes variables pronósticas (aparte del

tratamiento previo con rituximab) sobre las tasas de respuesta, SLP, SG y toxicidad del trasplante.

## **2.2. Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo**

### ***2.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos***

Se realizó en el Laboratorio de Nuevos Fármacos del CIC de Salamanca. Por un lado, se evaluó la combinación de lenalidomida con los fármacos del régimen ESHAP, con el objetivo de determinar los posibles efectos aditivos o sinérgicos antitumorales. Y por otro lado, se evaluó la combinación de bendamustina con etopósido, ARAC-C y melfalán, comparándola con otras combinaciones como BEAM (con BCNU), TEAM (con tiotepa), FEAM (fotemustina).

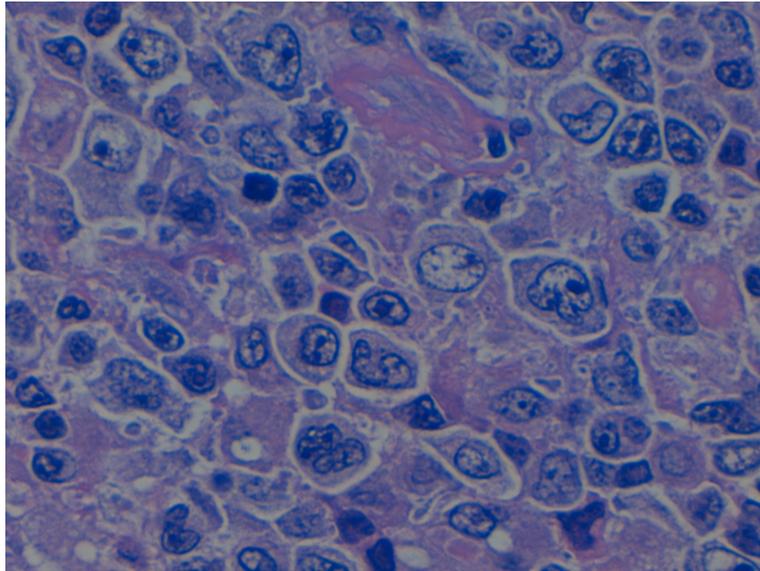
### ***2.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos***

#### ***2.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario***

Se trata de un EC fase Ib, abierto, no randomizado, multicéntrico, con dosis ascendentes de lenalidomida, diseñado con el objetivo principal de investigar la seguridad y la dosis máxima tolerada (DMT) de lenalidomida en combinación con R-ESHAP (LR-ESHAP) como tratamiento de rescate para pacientes candidatos a TAPH con LDCGB refractario o en recaída tras un régimen de primera línea que contenga rituximab y antraciclinas. Se analizó también de forma preliminar la eficacia de este régimen como objetivo secundario.

#### ***2.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo***

Se trata de un EC clínico fase II, abierto, no randomizado, multicéntrico, diseñado para investigar la eficacia y la toxicidad del esquema BeEAM (régimen de acondicionamiento BEAM en el que sustituye BCNU por bendamustina) seguido de TAPH. El objetivo principal fue evaluar la SLP estimada a los 3 años. Los principales objetivos secundarios fueron evaluar la toxicidad del régimen BeEAM, las tasas de respuesta al mismo y la SG.



*“La repetición hace la técnica y la práctica hace la perfección”,*

*“Nada es tan fácil como parece, todo requiere más tiempo del que uno espera; y si algo puede ir mal...lo hará en el peor momento posible”. Anónimo.*

### **3.- Material y métodos y resultados**

### **3. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS**

**OBJETIVO 1: Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo**

#### **3.1 Material y métodos**

##### ***3.1.1 Diseño del estudio y objetivos***

Diseñamos un estudio observacional retrospectivo en el que participaron 17 centros de GELTAMO.

El objetivo principal del estudio fue analizar la eficacia del trasplante (respuesta, SLP, SG) en función de la exposición o no a rituximab antes del trasplante. Los investigadores de cada centro tenían que incluir pacientes que cumplieran estos criterios: (1) diagnóstico de LDCGB o LF grado 3B refractario o en recaída; (2) haber recibido regímenes de tratamiento que incluyeran R desde 1ª línea, o bien no haber recibido nunca rituximab antes del trasplante; (3) haber sido sometidos a TAPH de SP como parte de la terapia de rescate (4) no presentar enfermedad refractaria al trasplante. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético del Complejo Hospitalario de Salamanca. Cada centro participante tenía que rellenar un cuaderno de recogida de datos y posteriormente cuestionarios con los datos perdidos y de actualización de seguimiento. Se incluyeron en total 375 pacientes diagnosticados entre Enero de 1981 y Mayo de 2011 de LDCGB (n = 341) o LF grado 3B (n=34). Los pacientes fueron divididos en dos grupos: por un lado, los que habían recibido R desde la 1ª línea de tratamiento (grupo R+, n=248) y, por otro lado, los que nunca habían recibido R antes del TAPH (grupo R-, n=127).

##### ***3.1.2 Definiciones y criterios de respuesta***

El estado de la enfermedad en el momento de recibir el primer tratamiento de rescate se clasificó en: i) “recaída precoz”, pacientes que alcanzaron RC, de duración inferior a 1 año; ii) “recaída tardía”, pacientes que alcanzaron RC, de duración superior a 1 año; iii) “primera RP”, pacientes que lograron RP tras el tratamiento de 1ª línea iv) “enfermedad refractaria primaria”, pacientes que no alcanzaron respuesta o que presentaron progresión de la enfermedad tras el tratamiento de 1ª línea. El estado de la enfermedad al trasplante se clasificó en RC o RP. Las respuestas se clasificaron de acuerdo a los criterios del International Working Group (Cheson et al, 1999).

### ***3.1.3 Variables de valoración***

La última actualización del seguimiento de los pacientes tuvo lugar en Julio de 2012: 1) injerto (día de más de  $0.5 \times 10^9/l$  neutrófilos, y día de más de  $20 \times 10^9/l$  plaquetas); 2) MRT; 3) Incidencia de Síndrome Mielodisplásico/Leucemia Mieloide Aguda secundarios (SMD/LMA); 4) SLP (la cual se calculó desde la fecha de infusión de progenitores hematopoyéticos hasta la fecha de recaída, progresión o muerte por cualquier causa); y 5) SG, la cual fue calculada desde la fecha de infusión de progenitores hematopoyéticos hasta la fecha de muerte o último seguimiento.

Para valorar las posibles diferencias entre los grupos R+ y R- en cuanto a las características de los pacientes se utilizó el test estadístico Chi cuadrado. Este mismo test se aplicó para analizar las tasas de respuesta. Para ajustar posibles efectos de otros factores pronósticos se empleó la regresión logística. Los factores pronósticos que se analizaron al diagnóstico y al trasplante son los que figuran en la tabla X. Aquellas variables con una posible asociación ( $p < 0.1$ ) fueron incluidas en el análisis multivariante. El injerto se analizó por el test no-paramétrico U de Mann-Whitney. La MRT y la supervivencia se analizaron con el método de Kaplan–Meier. Las diferencias de supervivencia entre el grupo R+ y el R- se analizaron por el test log-rank. El modelo multivariante de Cox se utilizó para ajustar los posibles efectos de otros factores pronósticos. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS (SPSS, Inc., Chicago, IL).

## **3.2 Resultados**

### ***3.2.1 Características de los pacientes***

Resumimos las características de los pacientes en la tabla 11. No había diferencias estadísticamente significativas entre el grupo R+ y el grupo R- con respecto al número de líneas de QT recibidas, síntomas B al trasplante, LDH al trasplante, presencia de masas bulky al trasplante, IPI ajustado al diagnóstico y al trasplante, régimen de acondicionamiento y estado de la enfermedad en el momento que la QT de rescate y del trasplante. En el grupo R+ había más pacientes varones (61% vs. 51%,  $p = 0.04$ ), mayores de 60 años (30% vs. 19%,  $p = 0.02$ ) y con un nivel de  $\beta_2$ -microglobulina elevada (25% vs. 16%,  $p = 0.02$ ) en comparación con el grupo R-. El 100% y 52% de

los pacientes de los grupos R+ y R-, respectivamente, recibieron el trasplante después del año 2000.

**TABLA 11. Características de los pacientes**

Características	Grupo R+		Grupo R-		p
	N	%	N	%	
Número total de pacientes	248	66	127	34	
Sexo masculino	152	61	65	51	.04
Edad al trasplante, años: mediana (rango)	51	(16-61)	48	(21-69)	
Mayor de 60 años	75	30	24	19	.02
Síntomas B al trasplante	13	5	2	2	>.10
Masas bulky al trasplante	11	4	1	1	>.10
B2-microglobulina elevada al trasplante	62	25	20	16	.02
LDH elevada al trasplante	49	18	21	17	>.10
<b>IPI ajustado a la edad al diagnóstico</b>					
0	35	14.1	27	21.3	
1	93	37.5	35	27.6	
≥ 2	120	48.4	65	51.2	>.10
<b>IPI ajustado a la edad al diagnóstico</b>					
0	171	69	77	61	
1	57	23	38	30	
≥ 2	20	8	12	10	>.10
<b>Estado de la enfermedad al trasplante:</b>					
Remisión completa	118	48	57	45	
Respuesta parcial	130	52	70	55	>.10
<b>Número de líneas de tratamiento previo</b>					
1-2	211	85	114	90	
≥ 3	(1-2)	15	18	14	>.10
<b>Recibir Rituximab previo al TAPH</b>					
Nunca	0	0	127	100	
Con tratamiento de 1ª línea solamente	49	20	0	0	
Con 1ª línea y tratamientos de recate	199	80	0	0	.000
<b>Régimen de acondicionamiento</b>					
BEAM	213	86	114	90	
BEAC	23	9	12	9	
ICT + quimioterapia	10	4	0	0	
Otras	2	1	1	1	>.10
<b>Año del trasplante</b>					
Antes del año 2000	0	0	61	48	.001
2000 o posterior	248	100	66	52	

Abreviaturas: LDH, lactatodeshidrogena; R, rituximab; IPI, índice pronóstico internacional, TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, BEAM, carmustina, etopósido, Ara-C y melfalán; BEAC, carmustina, etopósido, Ara-C, ciclofosfamida; ICT, irradiación corporal total.

### 3.2.2 Injerto y toxicidad

Como se muestra en la tabla 12, los pacientes del grupo R+ alcanzaron la cifra de  $0.5 \times 10^9/l$  neutrófilos más rápido que los pacientes del grupo R- ( $p < 0.001$ ), aunque la diferencia no fue clínicamente relevante (ya que sólo hubo un día de diferencia). La MRT y la aparición de SMD/LMA secundario fue inferior al 5% en ambos grupos, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) (tabla 12).

**TABLA 12. Resultados de los grupos R+ y R-**

<b>Resultados</b>	<b>Grupo R+</b> Nº de pacientes evaluados		<b>Grupo R-</b> Nº de pacientes evaluados		<b>p</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>		
Injerto	248		127			
Día de > 0.5x10 <sup>9</sup> /l neutrófilos: mediana (rango)	11	(5-40)	12	(5-60)	.001	
Día de > 20x10 <sup>9</sup> /l plaquetas: mediana (rango)	13	(5-61)	13	(6-70)	>.10	
<b>MRT, años, probabilidad</b>	248		127			
<b>1</b>	6	2.4	5	3.2	>.10	
SMD/LMA secundarios	248	11	127	5	4	>.10
<b>Respuesta al trasplante</b>	248		127			
Remisión completa	178	71	90	71	>.10	
<b>SLP, años, probabilidad</b>	248		127			
3		65%		54%		
5		63%		48%	.041	
10		61%		41%		
<b>SG, años, probabilidad</b>	248		127			
3		74%		66%		
5		72%		61%	.02	
10		63%		50%		

Abreviaturas: SMD/LMA, síndrome mielodisplásico/leucemia aguda mieloblástica; MRT, mortalidad relacionada con el trasplante; SLP, supervivencia libre de progresión; SG, supervivencia global; R, rituximab.

### **3.2.3 Respuesta al trasplante**

En los grupos R+ y R- las tasas de RC (71% vs. 71%) y RG (82% vs. 79%) fueron similares (tabla 13). En el análisis multivariante, los factores independientes que influyeron negativamente sobre las tasas de RC y RG (tabla 13) fueron: IPI ajustado a la edad en el momento del trasplante  $\geq 2$ , encontrarse en RP al momento de realización del trasplante y haber recibido  $\geq 3$  líneas de QT, mientras que la edad al trasplante influyó solamente sobre la tasa de RG.

**TABLA 13. Análisis multivariante de la respuesta al trasplante**

<i>Factor Serie global</i>	<i>Remisión Completa</i>			<i>Respuesta global</i>		
	<i>RR</i>	<i>IC del 95%</i>	<i>p</i>	<i>RR</i>	<i>IC del 95%</i>	<i>p</i>
Edad al trasplante (años)						
< 60						
≥ 60				2	1-4	.015
<b>Estado de la enfermedad al trasplante</b>						
Remisión completa						
Respuesta parcial	5	3-8	.001	3	2-5	.001
<b>IPI ajustado a la edad al trasplante</b>						
0	1	0.3-1	.09	0.6	0.3-1	>.05
1	0.4	0.2-0.7	.003	0.4	0.2-0.8	.009
≥ 2						
<b>Líneas de QT recibidas previamente</b>						
1-2						
≥ 2	3	1-5	.003	2	1-4	.03

Abreviaturas: RR, riesgo relativo; IC, interval de confianza; IPI, índice pronóstico internacional; QT, quimioterapia.

### 3.2.4 Análisis de supervivencia

Con una mediana de seguimiento de 35 (1 – 130) y 122 (2 – 214) meses en los grupos R+ y R-, respectivamente, los pacientes del grupo R+ tuvieron mejor SLP (63% vs. 48% a los 5 años,  $p = 0.041$ ) y SG (72% vs. 61% a los 5 años,  $p = 0.020$ ) que los pacientes del grupo R- (tabla 14 y figura 1). En el análisis multivariante (tabla 14), los factores independientes con una influencia negativa sobre la SLP y SG fueron: estado de enfermedad al trasplante (RP), estado de la enfermedad en el momento de la QT de rescate (enfermedad refractaria 1ª o recaída precoz en comparación con RP o recaída tardía), edad > 60 años, y no haber recibido previamente tratamiento con R.

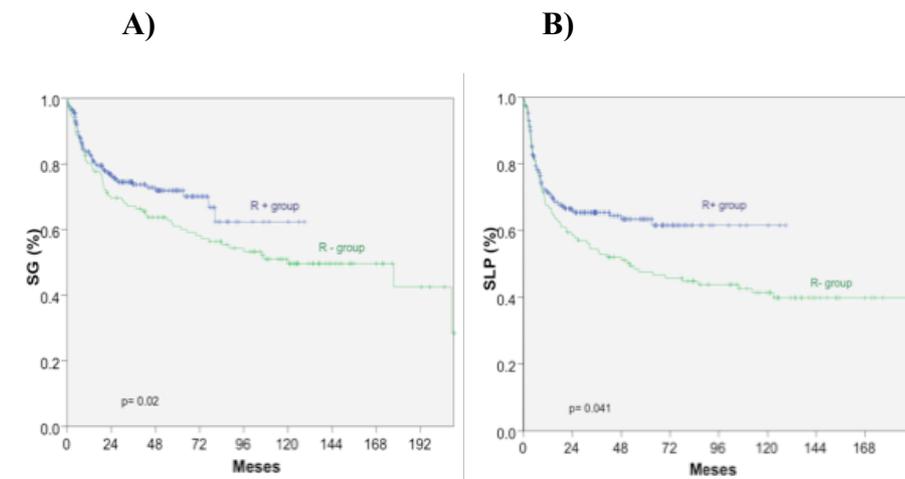
También analizamos los pacientes que habían recibido R desde la 1ª línea en comparación con los que habían recibido R tanto en 1ª línea como con los tratamientos de rescate, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la SLP (69% vs. 61% a los 5 años,  $p > 0.01$ ) ni en la SG (75% vs. 71% a los 5 años,  $p > 0.01$ ).

**TABLA 14. Análisis multivariante de los factores pronósticos que influyen en la supervivencia**

Factores Serie Global	SLP			SG		
	RR	95% IC	p	RR	95% IC	p
Estado de la enfermedad al trasplante						
Remisión completa						
Respuesta parcial	2	1.1-1.21	.03	2	1-3	.001
<b>Estado de la enfermedad con la QT de rescate</b>						
Recaída precoz	0.9	0.5-1.4	>0.05	0.8	0.5-1.4	>.05
Recaída tardía	0.6	0.3-0.9	.03	0.5	0.3-0.9	.02
1ª respuesta parcial	0.4	0.3-0.6	.001	0.3	0.1-0.4	.001
Enfermedad refractaria 1ª						
<b>Edad al trasplante (años)</b>						
< 60						
≥ 60	2	1-2	.009	1	1-3	.001
<b>Exposición previa a R</b>						
Sí						
No	2	1-2	.003	2	1-3	.003

Abreviaturas: RR, riesgo relativo; IC, intervalo de confianza; SLP, supervivencia libre de progresión; SG, supervivencia global; QT, quimioterapia; R, rituximab.

**Figura 1. SG (A) y SLP (B) en función de la exposición al rituximab antes del trasplante**



**OBJETIVO 2: Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo. Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos**

### 3.3 Material y métodos

#### 3.3.1 Diseño del estudio y objetivos

Se utilizaron las siguientes líneas celulares:

LNH-B transformado: SUDHL6 y OCI-L8.

LNH-T: KARPAS y DERL-2.

Se estudiaron los siguientes fármacos: carmustina, bendamustina, fotemustina, tiotepa, lenalidomida, etopósido, ara-C, cisplatino, metilprednisolona.

Para la realización de este procedimiento se usaron: micropipetas de rangos adecuados, pipetas de vidrio de rangos adecuados, scraper (rascador), placas de 96 pocillos. El equipo utilizado estaba formado por una incubadora a 37°C 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), 95% de aire y a 1 atm de presión, un lector de placas, una centrífuga, un microscopio invertido.

### ***3.3.2 Cultivo de líneas celulares***

Todas las líneas fueron cultivadas en atmósfera húmeda en presencia del 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de aire a 37°C, en medio RPMI-1640 con 2 mM de L-glutamina, suplementado con 10% de suero bovino fetal (SBF) y antibiótico (penicilina a 100U/ml y estreptomina 100µ/ml).

En las muestras mencionadas se estudiará la eficacia antitumoral in vitro de los fármacos incluidos en las siguientes combinaciones: Lenalidomida + ESHAP, bendamustina + EAM, tiotepa + EAM, carmustina + EAM, fotemustina +E AM. Para ello, en primer lugar realizamos un conteo celular, una vez conocida la cantidad exacta de las mismas, sembramos 20.000 células (100 µl/pocillo) en placas de 96 pocillos, con los correspondientes fármacos a diferentes concentraciones (1nM, 10mM, 100nM, 1µM, 10µM y 100 µM) y tiempos (24, 48 y 72 h), tras lo cual medimos la viabilidad celular mediante las técnicas de MTT y la inducción de apoptosis mediante Anexina-V.

### ***3.3.3 Medida de viabilidad celular mediante la técnica de MTT***

El ensayo MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-dipheniltetrazolium bromide) es un método colorimétrico que mide cuantitativamente la actividad metabólica de las células viables y que se basa en la capacidad que tienen las deshidrogenadas

mitocondriales de las células metabólicamente activas de reducir la sal de tetrazolium (MTT), de color amarillo e hidrofílica, a un compuesto hidrofóbico (formazán), de color azul oscuro. Tras la captación de MTT, las células se rompen y se solubiliza el formazán con SDS 10%; HCL 0,01 M. La absorbancia de cada muestra es directamente proporcional al número de células viables, por lo que puede calcular la inhibición de crecimiento provocada por los fármacos. Concentración inhibitoria mínima 50 (IC<sub>50</sub>) es aquella concentración de fármaco que provoca una disminución del 50 % de reducción del MTT con respecto al control.

Para realizar el procedimiento, lo primero que realizamos fue la preparación y sembrado de las líneas celulares a utilizar. Para estudiar la acción del fármaco, añadimos las diferentes concentraciones de fármaco excepto en el control y el medio. Lo dejamos incubando a 37°C 5% CO<sub>2</sub> 95% de aire y a 1 atm de presión, 24, 48 y 72 horas. Añadimos 10 µl de MTT 5 mg/ml disuelto en PBS (phosphate buffered saline) 1x Sodio/potasio y conservado a 4°C protegido de la luz en placas de 96 pocillos. Incubamos a 37°C 5% CO<sub>2</sub>, 95% de aire y a 1 atm de presión durante 2-4 horas, en función de la densidad celular y la actividad metabólica de la línea a tratar. Añadimos solución de SDS al 10%, HCl 0,01 M, 100 µl por pocillo en placas de 96 pocillos. Con esto disolvemos los cristales de formazán que se han producido por la reducción del tratazolio. Hemos de mantener las placas en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Por último, al observar en los pocillos de la placa un color azulado eso nos indica que las células son viables. Por tanto, medimos la absorbancia en lector de placas a 570 nm y como referencia a 630 nm. Tratamos los datos con el programa de Microsoft Office Excel, se tiene en cuenta la media +/- la desviación Standard de cuadruplicados. Calculamos el índice de citotoxicidad IC<sub>50</sub>, en el eje de la *x* se representan las concentraciones de los fármacos y el de la *y* la tasa de supervivencia.

### ***3.3.4 Estudio de apoptosis por Citometría de Flujo Multiparamétrica***

Durante la apoptosis ocurren cambios tempranos en la superficie celular, que llevan al reconocimiento y fagocitosis de las células apoptóticas. Los cambios en la superficie celular como la pérdida de residuos de ácido siálico y la pérdida de la asimetría en los fosfolípidos de la membrana, principalmente, la externalización de la fosfatidilserina (PS), que altera la carga e hidrofobia de la misma. En una célula normal, estos residuos están en la cara interna de la membrana y son inaccesibles para la anexina V en la fase inicial de la apoptosis los residuos de PS quedan expuestos en la cara externa de la membrana, con acciones procoagulantes y proinflamatorias, manteniéndose la integridad de la membrana celular. La anexina V es una proteína de unión a fosfolípidos cargados negativamente, dependiente de calcio, que se une con gran afinidad a los residuos de fosfatidilserina de la membrana celular, y, por lo que permite medir la pérdida de polaridad de la membrana celular, y por tanto, ser usada como marcador de apoptosis incluso antes de que la integridad de la membrana celular se haya perdido e incluso antes de la aparición de cambios morfológicos asociados con la apoptosis.

Cuando la célula se encuentra en una fase más avanzada de apoptosis, la membrana celular se permeabiliza, y se marca el ADN del núcleo. Este marcaje adicional permite diferenciar las células en apoptosis tardía y las células necróticas.

El cultivo con el fármaco se realizará en placas de 96 pocillos prediseñadas con diferentes dosis de los fármacos que se pretenden evaluar como agentes únicos y sus combinaciones. Las muestras se diluyen en RPMI1640 y una vez expuesta a los fármacos, se incuba con Anexina V para la detección de apoptosis y con una combinación de anticuerpos que permitan identificar las células malignas y las poblaciones celulares remanentes (CD45, CD5, CD23, CD19 para síndromes linfoproliferativos B y CD45, CD3, CD7, para síndromes linfoproliferativos-T). Mediante citometría de flujo se evalúa el efecto del fármaco sobre cada uno de estos grupos celulares y se cuantifica el nivel de apoptosis y muerte celular. Se evaluarán los fármacos individuales y en combinación a diferentes concentraciones.

Para el marcaje utilizaremos el siguiente “kit”: human Annexin W-FITC (Bender MedSystems), que contiene Anexina, IP (20µg/ml) y tampón de unión (Hepes/NaOH, 10 mM, pH 7,4, NaCl 140 mM, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM). Para la detección de apoptosis se marcaron 1x10<sup>6</sup> células, control y tratadas con cada fármaco a diferentes tiempos y dosis. 1) Recogeremos y centrifugaremos a 300 g durante 3 minutos. 2) Lavaremos con D-PBS que contiene CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, y diluiremos en 200 µl de tampón de unión. 3) Añadiremos 10 µl de IP e incubaremos durante 15 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. 4) Se adquirirán un total de 50.000 células en un citómetro de flujoFACSCalibur utilizando el programa CellQuest™ (BD Biosciences). Por último para realizar el análisis fenotípico utilizaremos el programa Paint A Gate-PRO™ (BD Biosciences) y el programa Infinicyt™ (Cytognos, Salamanca, España).

### **3.4 Resultados**

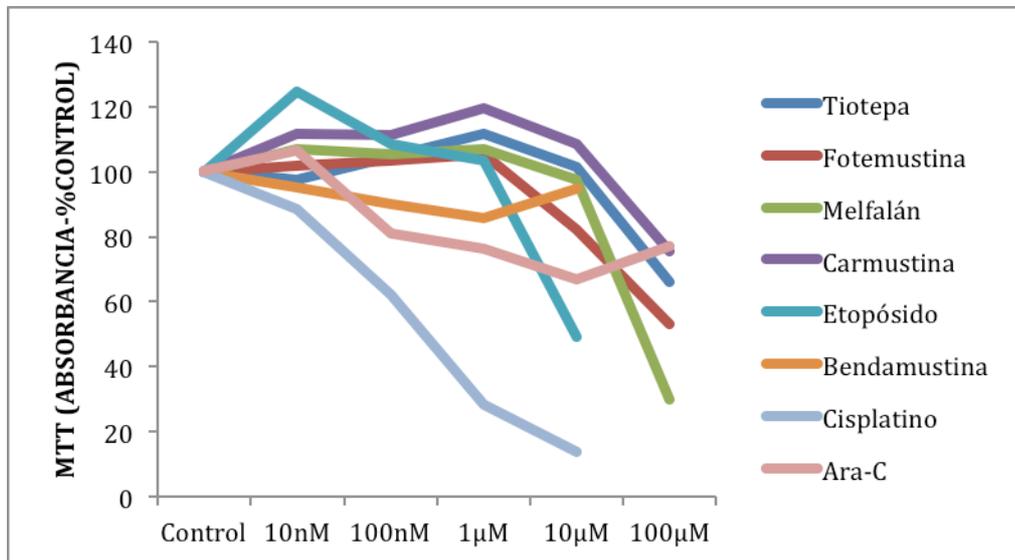
#### ***3.4.1 Evaluación de la actividad in vitro en monoterapia de los diferentes fármacos antitumorales en la línea celular B (SUDHL-6) mediante MTT***

Inicialmente, con el fin de tener una primera aproximación de la potencia relativa de los diferentes fármacos, se analizó la viabilidad celular en una línea de Linfoma B transformado: SUDHL6, tras la exposición a los distintos fármacos. Para ello se utilizaron diferentes tiempos y diferentes concentraciones. Seleccionamos unos fármacos en concreto, basándonos por un lado en las combinaciones que ya estábamos utilizando como son ESHAP y BEAM, y por otro lado nos basamos en su capacidad antitumoral frente a linfomas agresivos, por lo que hicimos una revisión bibliográfica y los fármacos de mayor interés fueron los más eficaces y seguros para el tratamiento de pacientes con linfomas agresivos, que ya habían recibido tratamiento quimioterápico como son la bendamustina (usado como nuevo régimen de acondicionamiento BeEAM) (Visani BeEAM), fotemustina (FEAM), tiotepa (TEAM) y lenalidomida.

Las gráficas expuestas a continuación, muestran la viabilidad celular mediante MTT, tras cultivo con diferentes dosis de cada fármaco en la línea celular SUDHL-6 a 24, 48 y 72 h (gráficas 1, 2 y 3 respectivamente).

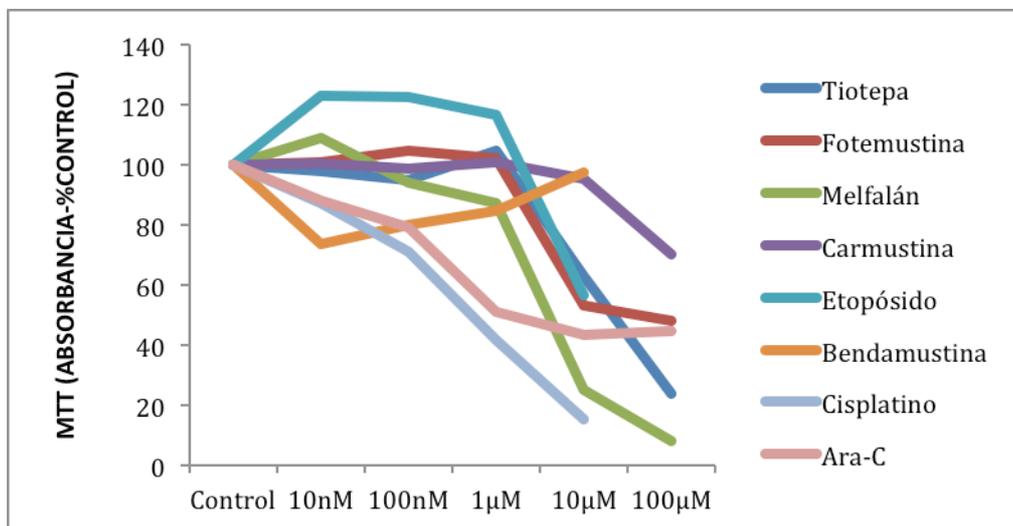
**Gráfica 1: Eficacia de los diferentes fármacos en la línea celular**

**SUDHL-6 a 24 horas**



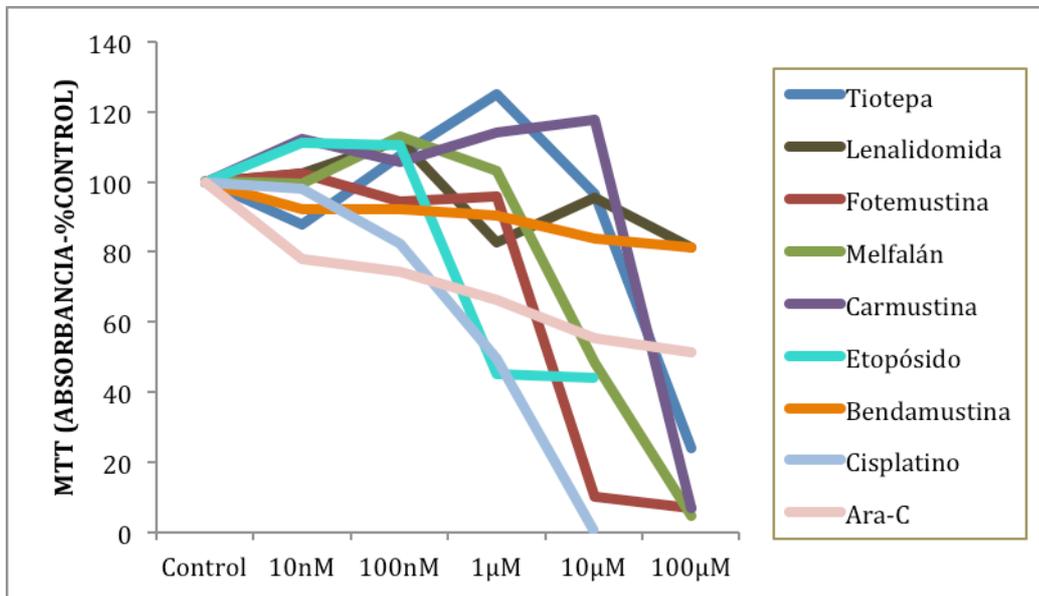
**Gráfica 2 : Eficacia de los diferentes fármacos en la línea celular**

**SUDHL-6 a 48 horas**



**Gráfica 3: Eficacia de los diferentes fármacos en la línea celular**

**SUDHL-6 a 72 horas**



Posteriormente, con el fin de hacer todos los resultados comparables de forma numérica se extrapoló la IC 25, 50 y 75 de todos los fármacos a 48 horas y se ordenaron por potencia antitumoral.

Como se puede observar, tanto en la tabla 15 expuesta a continuación como en las gráficas (1, 2 y 3) ya descritas, el fármaco más potente es el cisplatino, ya que es el fármaco con menor IC50, es decir se necesita menos concentración del fármaco para eliminar al 50% de la población celular. Seguidos en potencia nos encontraríamos con Ara-C, etopósido y melfalán, y los fármacos menos potentes, es decir con un mayor IC50 serían tiotepa, fotemustina y carmustina. La bendamustina es un fármaco particular, ya que es eficaz a dosis baja, pero no se observa un beneficio con el incremento de dosis.

**Tabla 15. Cálculo de IC 25, 50 y 75 en diferentes fármacos a 48 horas en la línea SUDHL6**

<i>SUDHL-6 48 horas</i>	<i>IC 25 (μM)</i>	<i>IC 50 (μM)</i>	<i>IC 75 (μM)</i>
CISPLATINO	0,01-0,1	1-10	1-10
ARA-C	0,1-1	10-100	
ETOPÓSIDO	1-10	10-100	10-100
MELFALÁN	1-10	10-100	10-100
TIOTEPA	1-10	>100	>100
FOTEMUSTINA	1-10	>100	
CARMUSTINA	10-100	>100	
BENDAMUSTINA	0,01-0,1		

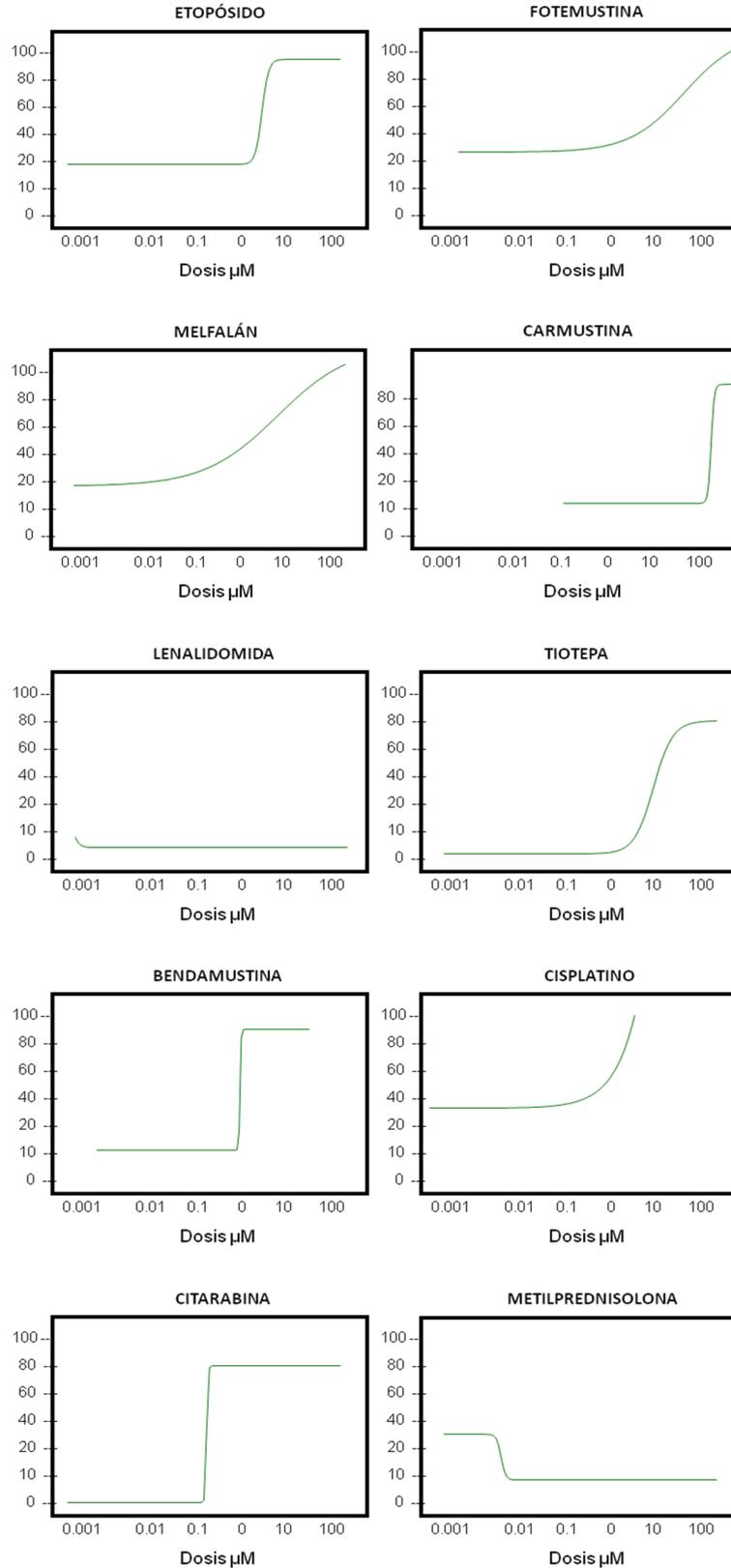
### ***3.4.2 Análisis de la eficacia de los fármacos en diferentes líneas celulares de SLP B y T mediante estudios de apoptosis con Anexina V medido por CMF***

Una vez conocidas las dosis, tiempos óptimos y potencia relativa de los distintos fármacos, se evaluaron los fármacos objeto de estudio (además metilprednisolona que forma parte del esquema ESHAP) en 4 líneas celulares, para poder comparar los resultados y valorar la quimiorresistencia o quimiosensibilidad derivada de las líneas celulares: 2 de ellas son líneas B: SUDHL-6 y OCI-L8, y las otras 2 son líneas celulares T: KARPAS y DERL-2, usamos dosis de 0,001μM a 100 μ M, a 24, 48 y 72 horas.

A continuación se exponen gráficamente los resultados de los experimentos realizados mediante la técnica de Anexina V a 48 horas con todos los fármacos a concentraciones de 0,001μM a 100μM y con las 4 líneas celulares.

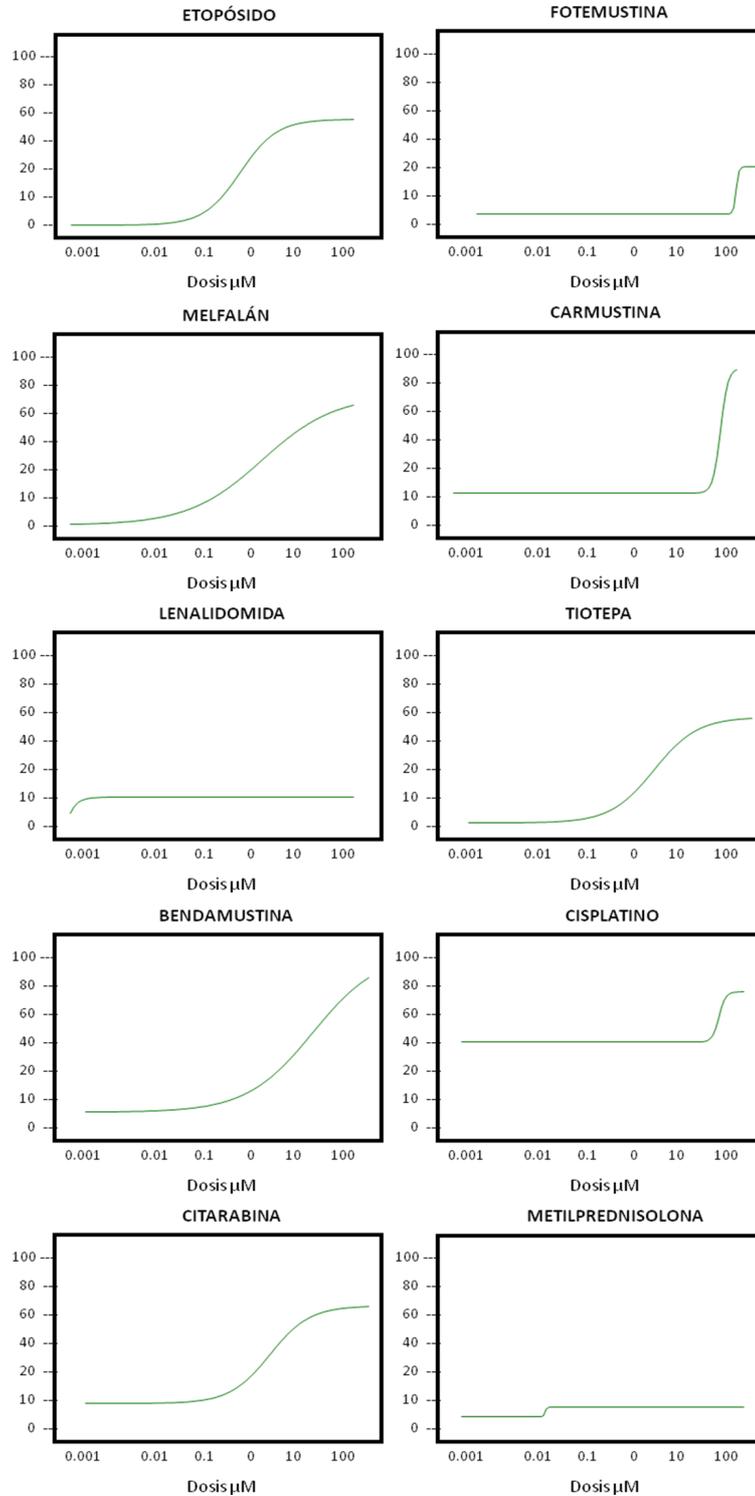
**Gráficas 4: Inducción de apoptosis mediante Anexina V por CMF de los diversos fármacos a estudio en la línea celular B: SUDHL-6 a 48 horas**

SUDHL6 ■ 48h



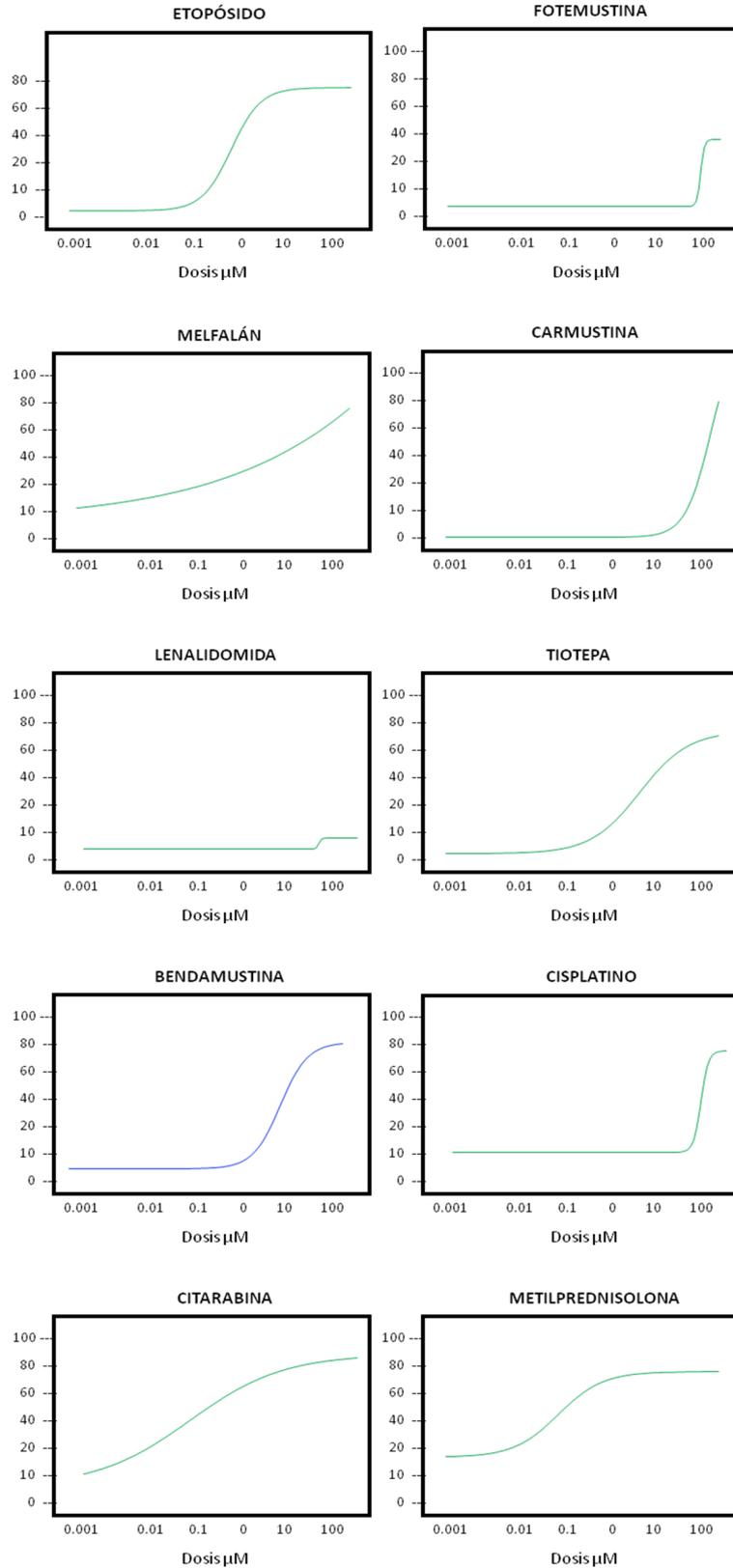
**Gráficas 5: Inducción de apoptosis mediante Anexina V por CMF de los diversos fármacos a estudio en la línea celular B: OCI-L8 a 48 horas**

OCI-L8 ■ 48h



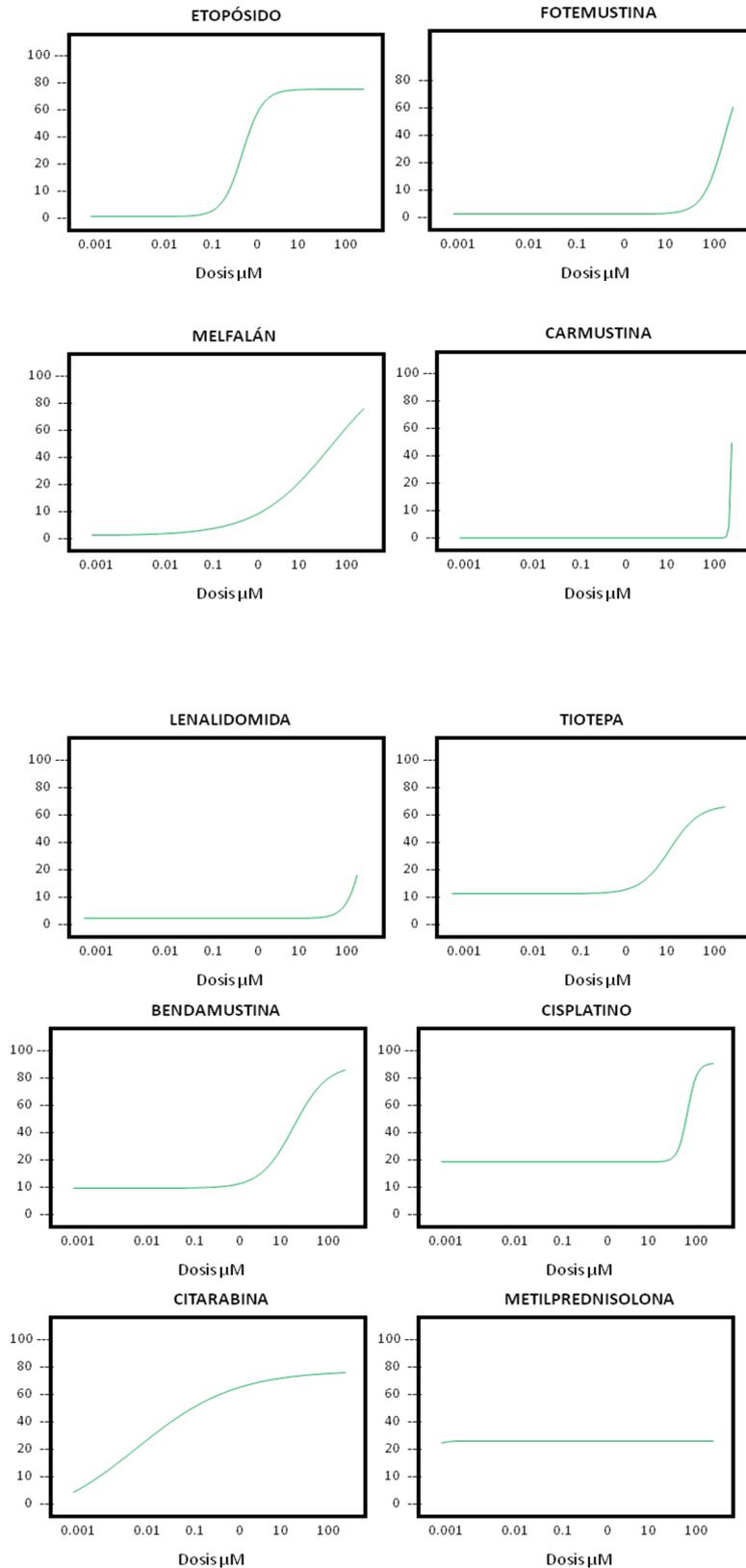
**Gráficas 6: Inducción de apoptosis mediante Anexina V por CMF de los diversos fármacos a estudio en la línea celular T: DERL2 a 48 horas**

DERL2 ■ 48h



**Gráficas 7: Inducción de apoptosis mediante Anexina V por CMF de los diversos fármacos a estudio en la línea celular T: KARPAS a 48 horas.**

Karpas ■ 48h



De forma similar a lo realizado con el MTT, se ha resumido en la tabla 16 las IC50 de todos los fármacos en las 4 líneas a 48 horas.

**Tabla 16: Cálculo de la IC50 de todos los fármacos en 4 líneas celulares a 48 horas**

	<i>DERL2</i>	<i>KARPAS</i>	<i>SUDHL6</i>	<i>OCI-L8</i>
Metilprednisolona	0.11	0.01		
Ara-C	0,08		0.4	1.8
Etopósido	0.5	0.4	2.2	0.7
Cisplatino	4.2	4.2	5	4.4
Melfalán	5.3	6.2	2.4	1.4
Tiotepa	6.9	15.6	11.8	4.1
Bendamustina	28.5	42	22	39
Fotemustina			20.5	
Carmustina	71.9	133	42	51.5

Como se puede observar en la tabla 16, los fármacos más potentes en las 4 líneas celulares serían metilprednisolona, Ara-C y etopósido, ya que son los fármacos con menor IC50, posteriormente con menor potencia tendríamos al cisplatino, melfalán y tiotepa y los menos potentes serían bendamustina, fotemustina y carmustina. No encontramos grandes diferencias en cuanto a la potencia de los fármacos sobre las líneas B y T, y tampoco observamos grandes diferencias en cuanto la técnica empleada, ya que con MTT y con anexina V los fármacos más potentes serían Ara-C y etopósico y los menos potentes serían fotemustina, carmustiana y bendamustina.

### ***3.4.3 Evaluación preclínica del potencial sinérgico de nuevos fármacos con combinaciones ya establecidas (ESHAP y BEAM)***

#### **3.4.3.1 Análisis de la mejor combinación con EAM en línea de SLP B y T**

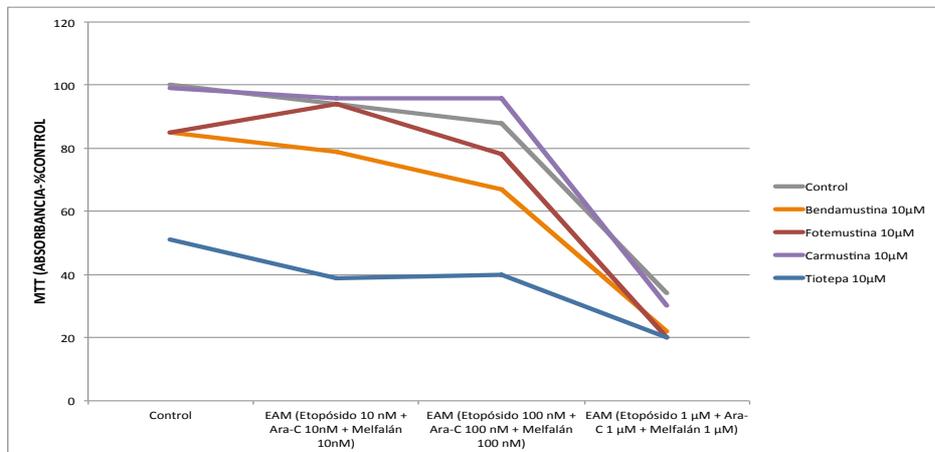
Una vez realizados los estudios de viabilidad celular y de apoptosis en monoterapia, es decir, con cada fármaco por separado, ya teníamos una aproximación de la potencia relativa de los diferentes fármacos, por lo que posteriormente nos planteamos estudiar el posible efecto sinérgico de la combinación de los distintos fármacos. Mediante estudios de viabilidad celular con MTT, evaluamos la posible

potenciación de la combinación EAM (etopósido, Ara-C y melfalán, ya conocida) con diferentes fármacos nuevos en 2 líneas celulares, una línea de linfoma B (SUDHL-6) y otra línea de linfoma T (Karpas), se eligieron estas líneas celulares y no otras, porque al hacer el experimento con Anexina V se observó que en estas líneas había un mayor crecimiento celular y eran más fáciles de mantener en cultivo. Se utilizó carmustina (BCNU) como fármaco control, ya que BCNU+EAM (BEAM) es la combinación que se utiliza habitualmente en Europa para el acondicionamiento de trasplante autólogo en pacientes con linfomas agresivos. Debido a los problemas de disponibilidad de BCNU en algunos países de la Unión Europea y las complicaciones pulmonares no infecciosas post-trasplante descritas por diversos grupos investigadores, nos planteamos realizar un estudio para comparar in vitro diversas combinaciones de nuevos fármacos, tales como, bendamustina, tiotepa y fotemustina.

En todos los experimentos se evaluaron dosis crecientes de EAM (10nM, 100nM y 1µM y 10µM) para valorar si el incremento de dosis se asociaba con mayor citotoxicidad. Se utilizó una dosis única de 10µM de cada uno de los fármacos a comparar para que los resultados fueran equiparables (bendamustina, fotemustina, tiotepa y carmustina).

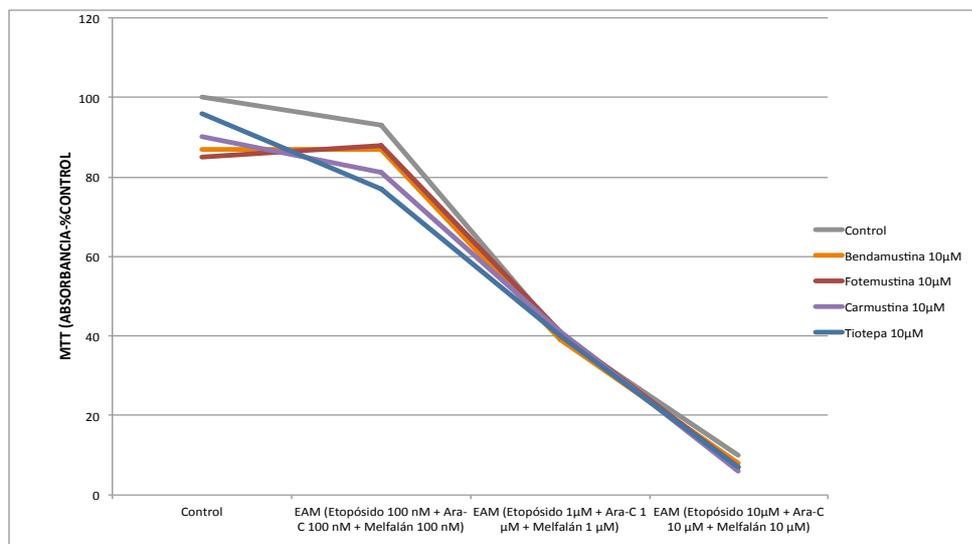
La línea de control representa la eficacia de EAM solo, mientras que el resto indica la actividad en combinación. En relación con la línea celular B: SUDHL6, se observó que tiotepa fue el fármaco más eficaz a esa dosis de forma individual, consiguiendo eliminar el 50% de las células, mientras que los otros 3 prácticamente no tuvieron efecto (Gráfica 8). Con respecto a las combinaciones analizadas se puede observar que todas las gráficas correspondientes a los fármacos en combinación se sitúan por debajo de EAM, de donde se deduce que existe una potenciación de esta combinación al asociarla con estos medicamentos. Aunque es difícil realizar la comparación, posiblemente bendamustina y tiotepa sean las mejores parejas de combinación.

**Gráfica 8: Combinación bendamustina, fotemustina, carmustina, tiotepa con EAM a la línea SUDHL-6 medida mediante MTT**



En relación a la línea celular T (gráfica 9): Karpas, los fármacos en estudio tienen muy poca actividad como agentes únicos, manifestando así la mayor quimioresistencia de este tipo celular. Por este motivo, la potenciación es menor en todos los fármacos, aunque es importante destacar que todas las curvas representando las combinaciones se encuentran al mismo nivel o por debajo de la curva de EAM, y ninguna por encima, lo que descarta un potencial antagonismo y sugiere que, clínicamente, pueden tener un efecto aditivo, cuando el efecto de los fármacos en monoterapia sea superior. En este caso, posiblemente carmustina y tiotepa sean las mejores parejas de combinación.

**Gráfica 9: Combinación bendamustina, fotemustina, carmustina, tiotepa con EAM a la línea Karpas medida mediante MTT**



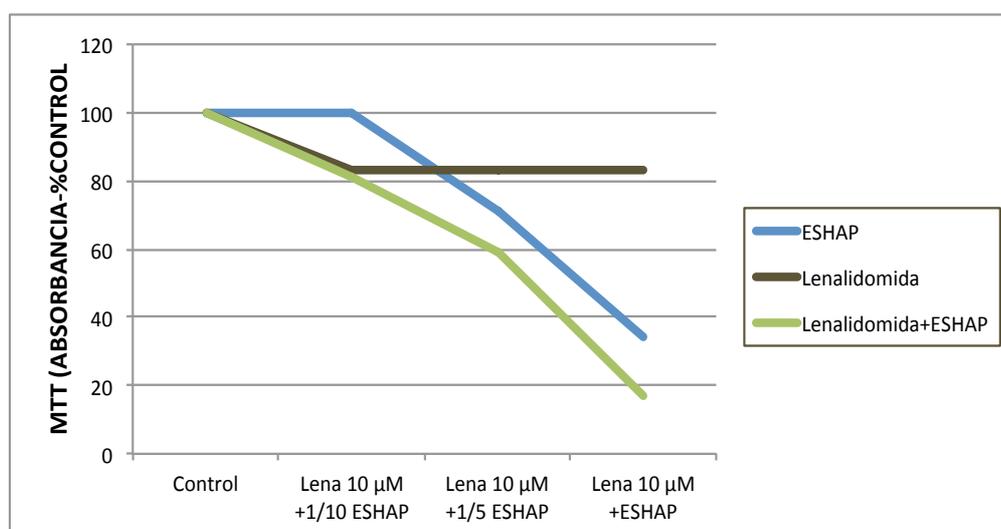
### 3.4.3.2 Evaluación preclínica del potencial sinérgico de Lenalidomida

#### con ESHAP

Por otro lado, se estudió la combinación de lenalidomida con ESHAP (etopósido, ara-C, cisplatino y metilprednisolona). En todos los experimentos se evaluaron dosis crecientes de ESHAP (en primer lugar se realizó la siguiente combinación: 100nM de etopósido, 50nM de Ara-C, 1 $\mu$ M de cisplatino y 1 $\mu$ M de metilprednisolona, en segundo lugar: 200nM de etopósido, 100nM de Ara-C, 2 $\mu$ M de cisplatino y 2 $\mu$ M de metilprednisolona, y en tercer lugar: 1 $\mu$ M de etopósido, 500nM de Ara-C, 10 $\mu$ M de cisplatino y 10 $\mu$ M de metilprednisolona) para valorar si el incremento de dosis se asociaba o no con mayor eficacia. Se usó una dosis fija de lenalidomida de 10 $\mu$ M.

En relación a la línea celular B: SUDHL-6, se observó que esta combinación fue más eficaz que ambos por separado, consiguiendo eliminar en torno a un 20% de las células (gráfica 10). Las dosis más eficaces de la combinación Lenalidomida + ESHAP fueron las intermedias (200nM de etopósido, 100nM de Ara-C, 2 $\mu$ M de cisplatino y 2 $\mu$ M de metilprednisolona), ya que con dosis bajas no conseguimos gran efecto (no encontrando grandes diferencias con respecto a la combinación de lenalidomida con ESHAP y ambos fármacos por separado) y con dosis altas la mayoría de las células mueren.

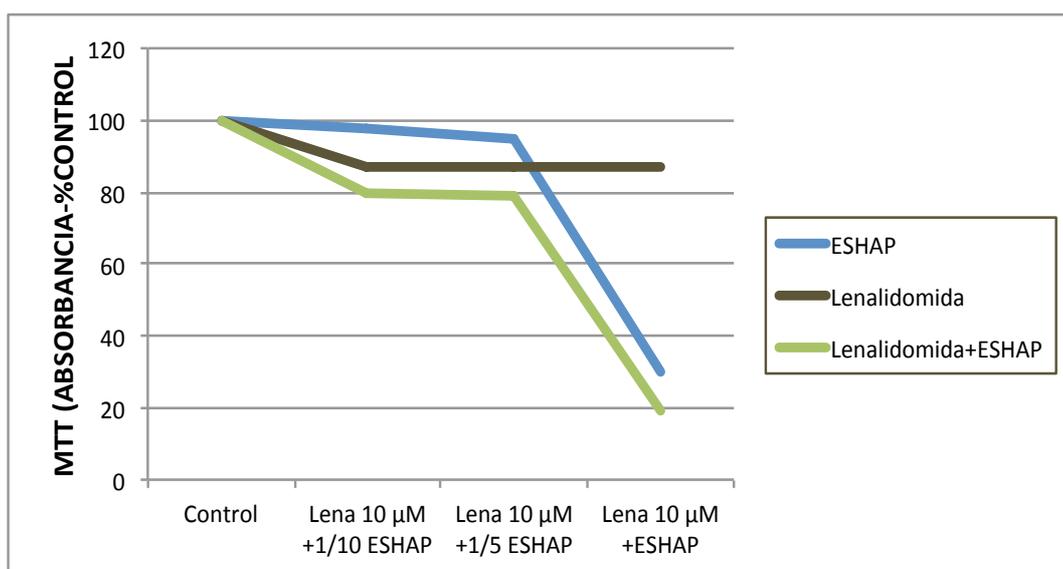
**Gráfica 10: Combinación de lenalidomida con ESHAP en la línea SUDHL-6 medido mediante MTT**



En relación con la línea celular T: Karpas, se observó de nuevo que la combinación Lenalidomida con ESHAP fue más eficaz que ambos fármacos de forma individual (gráfica 11). Observamos que con la línea T los fármacos a estudio tienen más actividad como agentes únicos, pudiendo vencer así la quimiorresistencia que vimos previamente en la línea celular T. Además la combinación de lenalidomida con ESHAP se potencia con respecto a la línea celular B, ya que con dosis intermedias de ESHAP conseguimos eliminar un 40 % de las células.

Igual que ocurría con la línea celular B, las dosis más eficaces de la combinación ESHAP fueron las intermedias.

**Gráfica 11: Combinación de lenalidomida con ESHAP en la línea KARPAS medido mediante MTT**



**OBJETIVO 3:** Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB

### **3.5 Material y métodos**

#### **3.5.1 Diseño del estudio y objetivos**

##### a) Objetivos principal

El objetivo principal fue evaluar la seguridad, tolerabilidad y determinar la DMT de lenalidomida en combinación con R-ESHAP en pacientes candidatos a trasplante con LDCGB refractario o en recaída.

##### b) Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios fueron: 1) analizar la toxicidad del régimen LR-ESHAP; 2) analizar de forma preliminar su eficacia, mediante la determinación de las tasas de respuesta, duración de la respuesta y supervivencia (global y libre de progresión); 3) evaluar la movilización de progenitores hematopoyéticos tras el tratamiento con LR-ESHAP; 4) analizar la proporción de pacientes candidatos que finalmente son sometidos al TAPH; 5) evaluar la recuperación hematológica tras el TAPH.

##### c) Diseño del estudio

Se trata de un Ensayo Clínico fase Ib (Número EUDRACT: 2010-018463-41), abierto, no randomizado, multicéntrico, con dosis ascendentes de lenalidomida, diseñado para investigar la seguridad y la DMT de lenalidomida en combinación con R-ESHAP como tratamiento de rescate para pacientes candidatos a TAPH con LDCGB refractario o en recaída tras un régimen de primera línea que contenga rituximab y antraciclinas. Los pacientes incluidos en el ensayo fueron distribuidos sucesivamente en 4 cohortes por cada nivel de dosis de lenalidomida (5, 10, 15 y 20 mg), de acuerdo al esquema clásico 3+3 (Dent SF, Eisenhauer EA. Phase I trial design: are new methodologies being put into practice? *Ann Oncol* 1996; 7: 561-6). Los pacientes mantuvieron durante todo el tiempo que duró su tratamiento la dosis inicial de lenalidomida correspondiente al escalón al que fueron asignados al principio, excepto aquellos pacientes que estaban recibiendo una dosis superior a la DMT, que pasaron a recibir la DMT. Una vez determinada la DMT de lenalidomida, 9 pacientes adicionales fueron incluidos en este nivel de dosis con el fin de confirmar la seguridad de dicha dosis (el objetivo era incluir un máximo de 12 pacientes en el nivel de la DMT).

### **3.5.2 Población del estudio**

a) Criterios de inclusión: 1) El paciente debía, en opinión del investigador, ser capaz de cumplir con todos los requerimientos del ensayo clínico. 2) El paciente debía haber otorgado voluntariamente el consentimiento informado antes de la realización de cualquier prueba del ensayo que no forme parte de la atención habitual de los pacientes. 3) Edad entre 18 y 70 años. 4) Candidato a tratamiento con QT a altas dosis y TAPH. 5) Diagnóstico histológico de LDCGB, de acuerdo con la clasificación de la OMS 2008. 6) Linfoma refractario o en recaída tras una 1ª línea de tratamiento consistente en rituximab combinado con un régimen de quimioterapia (QT) que incluya antraciclinas. Recaída se define como la reaparición del linfoma tras haber obtenido RC con la 1ª línea de tratamiento. Se considerará linfoma refractario si cumple 1 de estos criterios: a) RP tras un mínimo de 6 ciclos del régimen de 1ª línea; b) ausencia de RP tras un mínimo de 3 ciclos del régimen de 1ª línea C) progresión durante el tratamiento de 1ª línea. 7) Evidencia por TAC de al menos 2 lesiones claramente delimitadas con un diámetro  $\geq 1.5$  cm, o bien 1 lesión bien delimitada con un diámetro  $> 2$  cm. 8) Evidencia de lesiones positivas por PET, coincidentes con las áreas anatómicas afectadas por TAC. 9) ECOG  $\leq 2$ . 10) Resolución de las toxicidades provocadas por el régimen de 1ª línea hasta  $\leq$  grado 1. 11) La mujer con capacidad de gestación, debía: obtener dos test de embarazo negativos supervisados médicamente antes de comenzar con la terapia en estudio; y comprometerse o bien a una abstinencia continuada de relaciones heterosexuales o acordar utilizar dos métodos anticonceptivos fiables de forma simultánea sin interrupción. 12) Los pacientes varones debían aceptar utilizar preservativos de látex durante cualquier relación sexual con mujeres en edad fértil, incluso si se habían sometido a una vasectomía, mientras participaran en este estudio. 13) Todos los pacientes debían entender que el fármaco en estudio puede tener potencialmente un riesgo teratogénico, acordar abstenerse de donar sangre mientras estén tomando el tratamiento y después de la interrupción del fármaco en estudio, acordar no compartir la medicación en estudio con nadie más, recibir asesoramiento sobre las precauciones ante el embarazo y los riesgos potenciales de la exposición fetal.

b) Criterios de exclusión. 1) Haber recibido previamente cualquier agente antitumoral para el tratamiento del LDCGB. 2) Haber recibido agentes quimioterápicos, glucocorticoides, radioterapia o cualquier agente terapéutico en investigación, en los 28 días previos al inicio del régimen del ensayo. 3) Afectación conocida del sistema

nervioso central (SNC) por el linfoma. 4) Presencia de alteraciones en la función cardiaca, como infarto agudo de miocardio o angina inestable en los 6 meses previos al inicio del tratamiento con LR-ESHAP, insuficiencia cardiaca grados III o IV de la NYHA, hipertensión arterial no controlada o con historia de mal cumplimiento del tratamiento antihipertensivo, arritmias no controladas con tratamiento. 5) Cualquier otra condición médica grave o no controlada. 6) Hipersensibilidad conocida o sospechada a cualquiera de los agentes del régimen en evaluación. 7) Presencia de cualquier limitación que comprometa la capacidad del paciente de cumplir el tratamiento. 8) Serología positiva para VIH, o hepatitis B o C activas 9) Historia previa de otras enfermedades malignas, a menos que el paciente se encuentre libre de enfermedad más allá de 5 años. 10) Alteraciones en los valores de laboratorio que podrían implicar riesgos inaceptables o comprometer el cumplimiento del protocolo. 11) Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

### ***3.5.3 Descripción del tratamiento***

Todos los pacientes fueron evaluados en visitas a lo largo de tres periodos: Pre-tratamiento, Tratamiento y Seguimiento.

El *periodo Pre-tratamiento* incluye la visita de selección, en la que se obtuvo el consentimiento informado para participar en el estudio. Posteriormente, durante el periodo de selección, que tiene lugar dentro de los 14 días previos a la visita basal (días -14 al -1), se evaluó a los pacientes para determinar su elegibilidad, incluyendo la realización de PET/TAC.

*Periodo de Tratamiento:* Los pacientes deben recibir 3 ciclos del esquema LR-ESHAP con un intervalo de 21 días entre cada ciclo. Los fármacos a administrar son los siguientes:

- Etopósido, 40 mg/m<sup>2</sup>/día en infusión IV de 1 hora, días 1-4.
- Cisplatino, 25 mg/m<sup>2</sup>/día, en perfusión IV continua, días 1-4.
- Citarabina, 2000 mg/m<sup>2</sup> en infusión IV de 2 horas, día 5.
- Metilprednisolona, 500 mg/día en infusión IV de 15 minutos, días 1-5.
- Rituximab, 375 mg/m<sup>2</sup> en perfusión IV, día 1 ó 5. Antes de la infusión del rituximab se administró Paracetamol (1 gramo vía oral o intravenosa) y Dexclorfeniramina (6 mg vía oral ó 5 mg IV).

-Lenalidomida (fármaco en investigación), cápsulas vía oral de 5 mg, 10 mg, 15 mg y 20 mg, días 1 al 14 del ciclo La escalada de dosis se realizó de la siguiente manera: se incluirán los primeros tres pacientes en el primer escalón de dosis (5 mg). Si no se produce ninguna toxicidad limitante de dosis (TLD) en los tres pacientes evaluables durante el primer ciclo de inducción, la siguiente cohorte de tres pacientes continuará con el siguiente nivel de dosis (10 mg). Si se produce una TLD entre los tres primeros pacientes evaluables durante el desarrollo del ciclo 1, tres pacientes más deben ser incluidos en ese mismo nivel de dosis. Si no aparece más de una TLD entre los seis pacientes evaluables en este grupo de dosis expandido durante el desarrollo del ciclo 1, el reclutamiento continuará con el siguiente nivel de dosis (10 mg). Se seguirá un esquema similar con las siguientes dosis (15 mg y 20 mg). Si se produce una TLD en 2 o más pacientes a cualquier nivel de dosis, se asumirá que la DMT ha sido excedida y no se tratarán más pacientes en dicho nivel de dosis. Aquellos pacientes que no hayan completado todas las dosis de lenalidomida programadas pasarán a recibir la DMT. Si aparecen dos TLD en el nivel de dosis más bajo (5 mg), el estudio deberá ser finalizado. Los pacientes asignados a una cohorte determinada permanecerán con la misma dosis de lenalidomida (excepto aquellos pacientes que estén recibiendo una dosis mayor que la DMT, que deberán disminuir a la DMT) durante todo el tratamiento.

Como tratamiento de soporte, los pacientes recibirán factores estimulantes de colonias granulocíticas tras cada ciclo LR-ESHAP, pudiendo elegirse entre G-CSF, a dosis de 5 µg/Kg/día vía SC, desde el día +6 hasta la recuperación de la neutropenia ( $>1 \times 10^9/L$  durante 2 días), o bien Pegfilgrastim (Neulasta®), a dosis de 6 mg vía SC en una única dosis el día +6. La administración de fármacos antitrombóticos profilácticos se deja a elección de cada centro.

Tras el 2º ciclo se realizará la movilización y recogida de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Se aprovechará la recuperación del ciclo para la recogida, iniciándose filgrastim (5 µg/Kg/día) el día +6 del ciclo, y a partir del día +14 se

monitorizará el recuento de células CD34<sup>+</sup> en sangre periférica, con vistas a iniciar las aféresis cuando este recuento sea adecuado, de acuerdo con los protocolos de cada centro. Si no se obtiene un número suficiente de células CD34<sup>+</sup> ( $\geq 2 \times 10^6/\text{Kg}$ ), se realizará una 2ª movilización tras el 3º ciclo, con el método de movilización que cada centro estime oportuno. Los pacientes con ausencia de adecuada movilización de PH tras 2 procesos de aféresis abandonarán el ensayo clínico.

Tras los 2 primeros ciclos, los pacientes serán reevaluados mediante la realización de una TC. Los pacientes que presenten enfermedad estable (EE) o progresión abandonarán el ensayo clínico, mientras que los pacientes que alcancen remisión completa (RC) o respuesta parcial (RP) recibirán un tercer ciclo LR-ESHAP, tras el cual se realizará una nueva valoración de la respuesta mediante PET/TAC. Los pacientes que presenten progresión del linfoma abandonarán el ensayo clínico, mientras que los pacientes que se mantengan en RC o RP serán sometidos a quimioterapia a altas dosis (régimen BEAM) y TAPH, después de transcurridas entre 5 y 8 semanas del tercer ciclo LR-ESHAP. El régimen de acondicionamiento será BEAM, consistente en: BCNU, 300 mg/m<sup>2</sup> IV, día -6; Etopósido, 200 mg/m<sup>2</sup>/día IV, días -5, -4, -3, -2 (dosis total: 800 mg/m<sup>2</sup>); Citarabina, 200 mg/m<sup>2</sup>/12 horas IV días -5, -4, -3, -2 (dosis total: 1600 mg/m<sup>2</sup>); y Melfalán, 140 mg/m<sup>2</sup> IV día -1. La reinfusión de, al menos,  $2 \times 10^6/\text{Kg}$  células CD34<sup>+</sup> se realizará en el día 0. La administración de factores de crecimiento tras el trasplante se realizará según los protocolos de cada Centro.

La radioterapia sobre zonas “bulky” (masas voluminosas mayores de 10 cm en su diámetro máximo) se considera optativa y se deja a elección de cada centro. En principio sólo se recomienda cuando la PET persista positiva en una localización bulky después del TAPH. Cuando la radioterapia se va a administrar en mediastino, se recomienda administrarla al final del tratamiento, para disminuir el riesgo de neumonitis. La realización de profilaxis neuromeningea se deja a criterio del investigador, recomendándose cuando exista infiltración de médula ósea, testículo, senos paranasales ó base del cráneo.

*Visita de Fin de Tratamiento:* Se realizará a los 3 meses del trasplante. Se realizará una nueva reevaluación completa del linfoma, incluyendo PET/TC. Todos los pacientes que, por cualquier motivo, suspendan prematuramente y de forma permanente el tratamiento, independientemente de la fase en que se encuentren, deberán completar

la visita de Fin de Tratamiento, que tendrá lugar 28 días como mínimo después de recibir la última dosis de la medicación en estudio (lenalidomida).

*Periodo de Seguimiento*, que se inicia tras la visita de fin de tratamiento. Los pacientes serán evaluados para eficacia y toxicidad cada 3 meses durante 6 meses adicionales.

#### **3.5.4 Desarrollo del ensayo**

##### **a) Valoración de la eficacia**

El investigador realizará las pruebas necesarias que permitan la evaluación de la respuesta al tratamiento según los criterios estándar de Cheson. Estas pruebas serán las siguientes: Estudios de imagen (TAC cervical, torácico, abdominal y pélvico y PET ó PET/TAC), biopsia de médula ósea (MO) con aspirado y citometría de flujo en los casos con infiltración al inicio del tratamiento, o cuando exista sospecha de infiltración. Otras exploraciones de evaluación del linfoma que fueron patológicas al inicio del tratamiento, por ejemplo, gastroscopia, colonoscopia, exploración otorrinolaringológica, etc.

La evaluación de la respuesta se realizará en los siguientes momentos: tras el 2º ciclo LR-ESHAP (pasados entre 14 y 20 días del inicio del ciclo, con el objetivo de no retrasar el inicio del tercer ciclo) se realizará evaluación de la respuesta solamente mediante TAC. Tras el 3º ciclo LR-ESHAP (pasados entre 28 y 35 días del inicio del ciclo) se realizará evaluación completa con todas las pruebas mencionadas anteriormente. En la visita de fin de tratamiento (a los 3 meses del trasplante) se realizará también evaluación con todas las pruebas. En el periodo de seguimiento (cada 3 meses durante 6 meses) se realizará TAC y, si existe sospecha de recaída o progresión, PET. Finalmente, las pruebas de evaluación de la respuesta podrán realizarse en cualquier momento del estudio si existe sospecha de recaída o progresión del linfoma.

##### **b) Valoración de la seguridad**

Se realizarán las siguientes evaluaciones: Acontecimientos adversos (AA). La monitorización de los AA se realizará desde la visita de selección y a lo largo del estudio. Los AA, incluyendo los AAG, se registrarán en los documentos originales y en

el CRD del paciente desde el inicio del tratamiento hasta la salida del paciente del ensayo clínico. Todos los AA deberán monitorizarse hasta que remitan o hasta que se determine definitivamente que se deben a una afección crónica o estable del paciente o enfermedad intercurrente. Historia clínica y exploración física. La historia clínica será obtenida durante la visita de selección. Incluirá toda la información demográfica y resumen de toda su patología, incluyendo todos los datos acerca del linfoma. En el momento de la visita de selección se realizará una exploración física completa al enfermo, que se repetirá en el día +1 de cada ciclo LR-ESHAP, en las reevaluaciones tras el 3º ciclo y tras el trasplante, y en las visitas de seguimiento. En el resto de visitas se realizará un examen físico dirigido en función de la sintomatología referida por el paciente. Medicaciones concomitantes y otros tratamientos. El uso de todas las medicaciones concomitantes y terapias de soporte serán recogidas desde la visita de selección hasta la salida del paciente del ensayo clínico. Evaluación del estado general mediante la escala ECOG. Se evaluará en la visita de selección, en el día +1 de cada ciclo LR-ESHAP, en las reevaluaciones tras el 3º ciclo y tras el trasplante, y en las visitas de seguimiento. Signos vitales. Incluirán pulso, tensión arterial sistólica y diastólica y temperatura. Serán recogidos durante la visita de selección, en el día +1 de cada ciclo LR-ESHAP, y en las reevaluaciones tras el 3º ciclo y tras el trasplante. Peso, talla y superficie corporal. Los pacientes deben ser pesados y tallados en el momento de la visita de selección. En el día +1 de cada ciclo serán pesados de nuevo para recalcular la superficie corporal. Se registrará también el peso del paciente en las reevaluaciones tras el 3º ciclo LR-ESHAP y tras el trasplante y en las visitas de seguimiento. Evaluaciones cardiacas: Durante la visita de selección se realizará un electrocardiograma, que será repetido a lo largo del tratamiento si existe alguna alteración o algún dato clínico que, a criterio del investigador, lo indique. Se realizará ecocardiografía o ventriculografía isotópica para determinar la FEVI antes del TAPH y, opcionalmente, en la visita de selección, pudiendo realizarse en cualquier momento del estudio si, a criterio del investigador, se observan síntomas o signos de cardiotoxicidad. Evaluaciones de laboratorio: Se realizará hematimetría y bioquímica en la visita de selección, en el día +1 de cada ciclo LR-ESHAP, en las reevaluaciones tras el 3º ciclo y tras el trasplante, y en las visitas de seguimiento. Además, se realizará hematimetría semanal tras cada ciclo LR-ESHAP. No obstante, otras determinaciones de laboratorio adicionales, así como estudios de coagulación, podrán realizarse en otros momentos del estudio a criterio del investigador y en función de la práctica habitual de cada centro y

de la situación clínica del paciente. Determinación de hormonas tiroideas (TSH y T4L) en la visita de selección, en la reevaluación tras el 3<sup>er</sup> ciclo LR-ESHAP y en la visita de fin de tratamiento. Test de embarazo en mujeres con capacidad de gestación en la visita de selección (2 determinaciones negativas), cada 28 días (cada 14 días en mujeres con ciclos irregulares) mientras la paciente reciba la lenalidomida y 4 semanas después de la última dosis del fármaco.

### ***3.5.5 Aspectos éticos***

El estudio se desarrollará de acuerdo con la Conferencia Internacional sobre la Armonización (ICH) en relación con la buena práctica clínica y los requisitos reglamentarios correspondientes y de acuerdo con los principios éticos de la Declaración de Helsinki.

### ***3.5.6 Análisis estadístico***

#### **a) Tamaño muestral**

El diseño del estudio no permite anticipar con exactitud el número de pacientes necesarios para concluir acerca de la máxima dosis tolerable y por tanto recomendable para futuros estudios, ya que la decisión de escalar dosis es condicional a la toxicidad observada en cada cohorte reclutada. Pero sí es posible estimar los valores extremos del rango de posibles resultados. El número mínimo de pacientes a incluir es de 2, puesto que si los 2 primeros pacientes incluidos en el nivel de dosis mínimo experimentasen DLT habría que declarar la combinación como no tolerable. El número máximo sería 24 pacientes, si se escalan los 4 niveles de dosis (3 pacientes por nivel de dosis x 4 niveles de dosis=12 pacientes), se observa una DLT en uno de los niveles de dosis que obliga a reclutar 3 pacientes adicionales en esa cohorte, y se completa la cohorte de expansión prevista en el protocolo con 9 pacientes. El total sería por lo tanto  $12+3+9=24$  pacientes

#### **b) Población para el análisis**

El análisis de eficacia incluirá a toda la población según intención de tratamiento, constituida por todos aquellos pacientes incluidos que reciban al menos una dosis de medicación y se disponga de algún registro de datos posterior a la inclusión. Los análisis de seguridad de administración del tratamiento incluirán a todos los pacientes que reciban, al menos, una dosis del fármaco en estudio. Sólo los pacientes que

completan cuatro semanas de monitorización de seguridad tras la primera dosis de lenalidomida o que abandonen el estudio antes de la semana 4 debido a TLD serán considerados evaluables para la determinación de la DMT.

#### c) Métodos estadísticos

Los análisis estadísticos serán fundamentalmente de naturaleza descriptiva, ya que el objetivo principal del estudio es determinar la dosis óptima recomendada de lenalidomida en combinación con R-ESHAP. Se realizarán tablas-resumen donde se mostrará el número de observaciones, la mediana, el mínimo y el máximo para las variables continuas, y el número y porcentaje por categoría cuando se trate de datos categóricos.

#### d) Análisis de eficacia

El primer análisis de eficacia será la tasa de respuestas al esquema de tratamiento propuesto, de acuerdo a los criterios de Cheson (Cheson et al, 1999).

Dentro de los análisis de eficacia, se determinarán también los tiempos de supervivencia global y supervivencia libre de progresión, definidos de la siguiente manera: *Supervivencia global*, se define como el tiempo desde la entrada en el ensayo clínico hasta la muerte por cualquier causa. Se analizará mediante el método de Kaplan-Meier. Los pacientes que tengan una pérdida de seguimiento serán censurados en la fecha de la última visita. *Supervivencia libre de progresión*, se define como el tiempo desde la entrada en el ensayo clínico hasta que se evidencie progresión del linfoma o muerte por cualquier causa. Se analizará mediante el método de Kaplan-Meier.

#### e) Análisis de seguridad

Las evaluaciones relativas a la seguridad dependerán de la incidencia, intensidad y tipo de acontecimientos adversos, así como de los cambios clínicamente significativos de los hallazgos de la exploración física del paciente, las constantes vitales y los resultados del laboratorio clínico. Las variables de seguridad se facilitarán para todos los pacientes que reciban cualquier cantidad de la medicación del estudio.

### **3.6 Resultados**

#### ***3.6.1 Características de los pacientes***

Resumimos las características de los pacientes en la tabla X. Se incluyeron en el ensayo clínico un total de 19 pacientes, de 5 hospitales españoles (Hospital Clínico, Salamanca, Hospital Clinic, Barcelona, Hospital del Mar, Barcelona, ICO, Barcelona y Hospital la Paz, Madrid). Uno de los pacientes fue retirado del ensayo clínico por cumplir uno de los criterios de exclusión (alteración hepática severa no atribuida al linfoma), por lo que finalmente 19 pacientes fueron evaluables.

17 pacientes estaban diagnosticados de LDCGB y habían recibido como 1ª línea de tratamiento R-CHOP o similar; 2 pacientes estaban diagnosticados de Linfoma de células B, no clasificable, con características intermedias entre linfoma difuso de células grandes y linfoma de Burkitt y recibieron previamente esquemas de tratamiento propios del Linfoma de Burkitt, incluyendo dosis altas de Ara-C y metotrexato. La mediana de edad era 58 años (rango de 23 a 70 años). Los pacientes habían sido diagnosticados entre marzo de 2010 y enero de 2013. El estado de la enfermedad al inicio del tratamiento con LR-ESHAP era: enfermedad refractaria primaria en 13 pacientes (7 RP y 6 <RP) (68%), recaída precoz en 3 pacientes (16%) y recaída tardía en 3 pacientes (16%), mientras que el IPI era de riesgo bajo (0-1) solamente en 7 pacientes (37 %). Destacar, también, que 7 pacientes (37 %) presentaban masas Bulky. El 47% de los pacientes recibieron profilaxis antitrombótica (26% aspirina, 5% HBPM, 16% adiro) como se muestra en la tabla 17.

**TABLA 17: Características de los pacientes**

	<i>N (%)</i>
Sexo varón	11 (57.9)
<b>Edad 58 años (rango de 23 a 70 años)</b>	
<60 años	11 (57.9)
>60 años	8 (42.1)
<b>Diagnóstico</b>	
LDCGB	17 (89.5)
Linfoma de células B, no clasificable, con características intermedias entre linfoma difuso de células grandes y linfoma de Burkitt	2 (10.5)
<b>IPI al diagnóstico</b>	
0-1	5 (26.3)
2-3	7 (36.8)
4-5	6 (31.6)
<b>Regímen de 1ª línea</b>	
R-CHOP21	12 (63.2)
R-CHOP 14	1 (5.3)
R-MegaCHOP	1 (5.3)
Otros	5 (26.3)
ECOG antes de LR-ESHAP <2	19 (100)
Ann Arbor antes de LR-ESHAP III-IV	12 (63.2)
Síntomas B antes de LR-ESHAP	6 (31.6)
LDH aumentada antes de LR-ESHAP	10 (52.6)
$\beta_2$ microglobulina aumentada antes de LR-ESHAP	6 (31.6)
Masa Bulky antes de LR-ESHAP	7 (36.8)
Afectación extranodal antes de LR-ESHAP Sí	12 (63.2)
Profilaxis antitrombótica Sí	9 (47)
Aspirina	5 (26)

HBPM	1 (5)
Adiro	3 (16)
<b>IPI antes de LR-ESHAP</b>	
0-1	2 (26.3)
2-3	7 (36.8)
4-5	6 (31.6)
<b>Situación de linfoma antes de LR-ESHAP</b>	
Enfermedad refractaria primaria	13 (68.4)
Recaída precoz	3 (15.8)
Recaída tardía	3 (15.8)

Abreviaturas: LDCGB, Linfoma Difuso Célula Grande B; IPI, índice pronóstico internacional; R-CHOP, rituximab- Ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona; MegaCHOP, Ciclofosfamida, adriamicina, vincristina, prednisona, mesnum +GCSF (neupogén); ECOG, Eastern cooperative oncology group ; LR-ESHAP, lenalidomida, rituximab- cisplatino, etopósido, prednisona y Ara-C; LDH, lactatodeshidrogenasa; HBPM, heparina de bajo peso molecular.

### 3.6.2 Toxicidad limitante de dosis

Durante la fase de escalada de dosis, 3 pacientes en la cohorte de 15 mg tuvieron TLD, ya que 1 paciente presentó angioedema grado 3 y 2 pacientes presentaron fallo en la 1ª movilización, por lo que se estableció la DMT de lenalidomida en 10 mg. Esta cohorte fue expandida hasta reclutar 12 pacientes, como se muestra en la tabla 18.

**Tabla 18: Dosis de lenalidomida, TLD y número de movilizaciones**

<i>Lenalidomida</i>	<i>N</i>	<i>TLD</i>	<i>Pacientes que precisaron 2 movilizaciones</i>
(nº de pacientes)			
5 mg	3	0/3	0/3
10 mg (DMT)	12	1/12	3/12
15 mg	4	1/4	2/4

Abreviaturas: TLD, toxicidad limitante de dosis; DMT, dosis máxima tolerada

### ***3.6.3 Cumplimiento del tratamiento***

#### *a) Número de ciclos completados por los pacientes*

17 pacientes (85%) completaron los tres ciclos de tratamiento. Un paciente recibió solamente dos ciclos (con lenalidomida a dosis de 15 mg) y salió del EC tras el segundo ciclo por fallo en la movilización y pancitopenia persistente. Otro paciente suspendió el tratamiento en el día + 9 del primer ciclo por TLD (habiendo recibido tratamiento con lenalidomida a 15 mg) debido a que presentó un angioedema facial grado 3.

#### *b) Reducciones de dosis de lenalidomida o ciclos sin lenalidomida*

De los 17 pacientes que completaron los tres ciclos de tratamiento, tres de ellos recibieron el tercer ciclo sin lenalidomida: dos pacientes por trombosis en el segundo ciclo (uno con trombosis yugular y subclavia bilateral extensa que obligó a retirar el catéter venoso central e iniciar tratamiento con HBPM y otro presentó trombosis de vena subclavia derecha) y el tercero por fallo de movilización tras el segundo ciclo.

Tres pacientes no completaron los 14 días de lenalidomida en alguno de los ciclos: el primero de ellos sólo recibió 12 días de tratamiento por neutropenia febril, el segundo recibió en el segundo ciclo solamente 10 dosis de lenalidomida por hipocalcemia e hipomagnesemia y en el tercer ciclo sólo 8 dosis por insuficiencia renal, y un tercer paciente recibió solamente 10 dosis de lenalidomida en el primer ciclo por sepsis por E.Coli.

La mediana de días entre el primer y segundo ciclo de lenalidomida fue de 23 días (rango: 19-32) y la mediana de días entre el segundo y tercer ciclo de lenalidomida fue de 23.5 (rango: 20-39).

### 3.6.4 Descripción de SAES

Como se muestra en la tabla 19, hasta la fecha han sido comunicados 16 eventos adversos serios incluyendo 6 episodios de neutropenia febril, 2 neumonías, 2 sepsis, 1 alteración hidroelectrolítica, 1 toxicidad renal, 1 angiodema facial, 2 trombosis y 1 fallo de injerto post-trasplante autólogo. Todos los SAEs fueron reversibles excepto el fallo de injerto (aún no resuelto) y no hubo ninguna muerte relacionada con el tratamiento. Destacar también que en los 2 casos de trombosis los pacientes eran portadores de catéter venoso central en la zona de la trombosis.

**Tabla 19: SAES**

<i>Descripción</i>	<i>N (%)</i>	<i>Grado</i>	<i>Relación</i>	<i>Resolución</i>
Neutropenia febril	6	3 (N=5) 4 (N=1)	Probable (N=5)	Sin secuelas
Bacteriemia Escherichia coli	1	3	Posible	Sin secuelas
Neumonía	2	3	Posible (N=2)	Sin secuelas
Sepsis Staphilococcus aureus	1	3	No (catéter)	Sin secuelas
Hipocalcemia e hipomagnesemia	1	3	Posible	Sin secuelas
Insuficiencia renal leve	1	2	Remota	Sin secuelas
Angioedema facial	1	3	Probable	Sin secuelas (TLD)
Trombosis yugular y/o subclavia	2	3	Posible Catéter venoso central en ambos casos	Sin secuelas
Fallo de injerto tras TAPH	1	4	Posible	Pendiente

Abreviaturas: TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; TLD, toxicidad limitante de dosis.

### 3.6.5 Movilización

18 pacientes fueron movilizados con G-CSF tras la administración del primer (n=1) o segundo ciclo de LR-ESHAP (n=17), consiguiéndose recoger un número suficiente de progenitores hematopoyéticos en 13 de ellos. 5 pacientes precisaron una 2ª movilización, 4 de ellos empleando G-CSF más plerixafor y un paciente tras la salida

del tercer ciclo. La mediana de células CD34+ recogidas fue de  $4 \times 10^6/\text{Kg}$  (rango: 2-11)

### 3.6.6 Toxicidad hematológica

La incidencia de toxicidad hematológica severa (grados 3-4) fue muy elevada, como era esperable (tabla 20).

**Tabla 20: Toxicidad hematológica**

	<i>Ciclo 1 (n=19)</i>		<i>Ciclo 2 (n=18)</i>		<i>Ciclo 3 (n=17)</i>	
	Global	Grado 3-4	Global	Grado 3-4	Global	Grado 3-4
Anemia	15 (79)	4 (21)	17 (94)	14 (78)	15 (88)	6 (35)
Neutropenia	18 (95)	15 (79)	15 (79)	10 (56)	16 (94)	14 (82)
Trombopenia	16 (84)	12 (63)	18 (100)	7 (39)	17 (100)	14 (82)

El número de concentrado de hematíes transfundidos fue de 5, 17 y 40 durante los ciclos 1, 2 y 3, respectivamente, mientras que el número de transfusiones de plaquetas fue de 3, 2 y 15, respectivamente.

### 3.6.7 Toxicidad no hematológica

La incidencia de toxicidad no hematológica severa (grados 3-4) fue baja, como se muestra en la tabla 21, y consistió fundamentalmente en toxicidad infecciosa y trombosis. El resto de toxicidades (digestiva, cardiológica y respiratoria) fueron de grados 1-2, siendo la más frecuente la toxicidad digestiva.

**Tabla 21: Toxicidad no hematológica**

	<i>Ciclo 1</i>		<i>Ciclo 2</i>		<i>Ciclo 3</i>	
	<b>Global</b>	<b>Grado 3-4</b>	<b>Global</b>	<b>Grado 3-4</b>	<b>Global</b>	<b>Grado 3-4</b>
Toxicidad digestiva	11 (60%)	0 (0%)	7 (37%)	0 (0%)	6 (32%)	0 (0%)
Toxicidad cardiológica	2 (11%)	0 (0%)	2 (11%)	0 (0%)		
Toxicidad infecciosa	4 (21%)	3 (16%)	2 (11%)	1 (5%)	8 (42%)	6 (32%)
Toxicidad respiratoria			2 (11%)	0 (0%)	2 (11%)	0 (0%)
Trombosis	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)		

### *3.6.8 Toxicidad del TAPH*

15 pacientes recibieron TAPH según el protocolo. Todos los pacientes excepto 1 injertaron tras una mediana de 15 (rango 11-19) y 14,5 (rango 8-21) días para alcanzar más de  $0,5 \times 10^9/l$  neutrófilos y  $20 \times 10^9/l$  plaquetas, respectivamente.

No se han comunicado complicaciones significativas durante el TAPH, excepto 1 paciente que presentó fallo de injerto y está pendiente de recibir trasplante alogénico.

### *3.6.9 Eficacia*

a) Respuesta: Tras el tratamiento con LR-ESHAP, 8 pacientes presentaron RC (42.1%) y 6 (31.5%) RP, por lo que la tasa global de respuesta fue del 73.7%. 14 pacientes (el 73.7% de la serie global) se sometieron al TAPH de acuerdo al protocolo. Las razones para no realizar el TAPH fueron: progresión precoz del linfoma (n=4) y discontinuación del EC por toxicidad (n=1). Tras el TAPH, las tasas de RC y RP se mantienen en el 42.1% y 31.6% respectivamente, 3 pacientes recibieron radioterapia

postrasplante sobre masas residuales PET+ (masas bulky al inicio del EC), alcanzando 2 de ellos RC y un está pendiente de reevaluación.

Como se muestra en la tabla 22, hemos realizado un análisis preliminar de respuesta incluyendo las variables que han sido monitorizadas hasta el momento. Los factores que mostraron influencia significativa sobre las tasas de RC fueron presencia de masa bulky y situación del linfoma en el momento del LR-ESHAP; y sobre las tasas de RG fueron: IPI al diagnóstico y masas bulky en el momento del LR-ESHAP.

**Tabla 22: Análisis de respuesta**

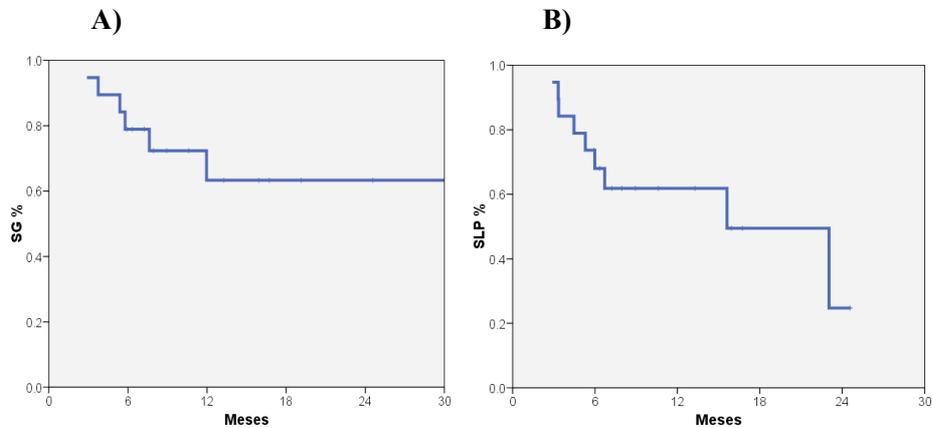
<i>Factor pronóstico</i>	<i>RC</i>	<i>p</i>	<i>RG</i>	<i>p</i>
	<i>N (%)</i>		<i>N (%)</i>	
<b>Sexo</b>				
Varón	6 (54.5)		8 (72.7)	
Mujer	2 (28.6)		6 (85.7)	
		.283		.530
<b>IPI al diagnóstico</b>				
0-1	1 (25)		4 (100)	
2-3	5 (71.4)		7 (100)	
4-5	1 (16.7)		3 (33.3)	
		.603		.010
<b>Edad</b>				
Menor de 60 años	5 (50)		9 (90)	
Mayor de 60 años	3 (37.5)		5 (62.5)	
		.606		.175
<b>B<sub>2</sub>microglobulina en el momento de LR-ESHAP</b>				
Aumentada	1 (20)		3 (60)	

Normal	(53.8)	11 (84.6)		
			.283	.274
<b>Masa Bulky en el momento de LR-ESHAP</b>				
Sí	1 (14.3)	3 (42.9)		
No	7 (63.6)	11 (100)		
			.046	.006
<b>Situación del linfoma en el momento de LR-ESHAP</b>				
Recaída tardía	2 (100)	2 (100)		
Recaída precoz	2 (66.7)	3 (100)		
RP	3 (42.9)	6 (85.7)		
<RP	1 (16.7)	3 (50)		
			.030	.067
<b>IPI en el momento de LR-ESHAP</b>				
0-1	3 (50)	6 (100)		
2-3	3 (42.9)	5 (71.4)		
4-5	2 (40)	3 (60)		
			.743	.116

Abreviaturas: RC, remisión completa; RG, respuesta global; IPI, índice pronóstico internacional; LR-ESHAP, lenalidomida Rituximab-etopósido, metiprednisolona, citarabina, cisplatino; RP, respuesta parcial.

b) Supervivencia: En el momento de realizar la última actualización (febrero de 2014) 9 pacientes habían progresado y 7 habían muerto, todos debido al linfoma. Con una mediana de seguimiento de 11.9 meses (5.9 a 30), la SLP y la SG estimadas a un año fueron de 61% y 63%, respectivamente (figura 2).

**Figura 2: SG (A) y SLP (B) de los 19 pacientes evaluables con LDCGB que recibieron lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante**



**OBJETIVO 4:** Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo

### 3.7 Material y métodos

#### 3.7.1 Diseño del estudio y objetivos

##### a) Objetivo principal

El objetivo principal fue evaluar la SLP estimada a los 3 años en pacientes con linfoma agresivo sometidos a TAPH utilizando bendamustina en combinación con etopósido, ara-C y melfalán (esquema BeEAM) como régimen de acondicionamiento.

##### b) Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios fueron: 1) evaluar la seguridad del régimen BeEAM seguido de TAPH en base a la incidencia y severidad de efectos adversos hematológicos y no hematológicos; 2) evaluar la recuperación hematológica post-trasplante; 3) evaluar la respuesta al trasplante de acuerdo con técnicas de imagen (TAC) y técnicas metabólicas (PET); 4) evaluar la SG y SLE; 5) identificar posibles factores clínicos.

##### c) Diseño

Se trata de un ensayo clínico fase II, (número EUDRACT: 2010-020926-17), abierto, no randomizado, multicéntrico, diseñado para investigar la eficacia y la

toxicidad del esquema BeEAM seguido de TAPH en una serie de 60 pacientes con linfoma agresivo de alto riesgo candidatos a trasplante.

### **3.7.2 Población del estudio**

a) Criterios de inclusión: 1) El paciente debe, en opinión del investigador, ser capaz de cumplir con todos los requerimientos del ensayo clínico. 2) El paciente debe haber otorgado voluntariamente el consentimiento informado antes de la realización de cualquier prueba del ensayo 3) Edad entre 18 y 70 años. 4) Candidato a tratamiento con QT a altas dosis y TAPH. 5) Diagnóstico histológico de LDCGB, linfoma folicular grado 3b o linfoma T periférico en recaída quimiosensible (en segunda RC o RP tras un mínimo de 2 ciclos del régimen de rescate) o en primera RC o RP cuando se ha precisado más de 1 línea de tratamiento para alcanzar la RC o RP; o bien Linfoma B transformado o linfoma T periférico en primera RC. 6) ECOG $\leq$ 2. 7) Fracción de eyección del ventrículo izquierdo superior al 50%, determinada por ventriculografía o ecocardiografía. 8) Adecuada función pulmonar. 9) La mujer con capacidad de gestación, debe: obtener dos test de embarazo negativos supervisados médicamente antes de comenzar con la terapia en estudio y comprometerse o bien a una abstinencia continuada de relaciones heterosexuales o acordar utilizar dos métodos anticonceptivos fiables de forma simultánea sin interrupción

b) Criterios de exclusión: 1) Imposibilidad de recoger mediante aféresis un número de células CD34<sup>+</sup>  $>2 \times 10^6$ /kg. 2) Haber recibido agentes quimioterápicos, radioterapia, glucocorticoides o cualquier agente terapéutico en investigación en los 28 días previos al inicio del régimen del ensayo. 3) Afectación conocida del sistema nervioso central (SNC) por el linfoma. 4) Presencia de alteraciones en la función cardíaca o cardiopatías clínicamente significativas, como infarto agudo de miocardio o angina inestable en los 6 meses previos al inicio del tratamiento, insuficiencia cardíaca grados III o IV de la NYHA, hipertensión arterial no controlada o con historia de mal cumplimiento del tratamiento antihipertensivo, arritmias no controladas con tratamiento. 5) Cualquier otra condición médica grave o no controlada. 6) Hipersensibilidad conocida o sospechada a cualquiera de los agentes del régimen en evaluación. 7) Presencia de cualquier limitación que comprometa la capacidad del paciente de cumplir el tratamiento. 8) Serología positiva para VIH, o hepatitis B o C

activa 9) Historia previa de otras enfermedades malignas diferentes al LDCGB, a menos que el paciente se encuentre libre de enfermedad más allá de 5 años. 10) Alteraciones en los valores de laboratorio que podrían implicar riesgos inaceptables o comprometer el cumplimiento del protocolo. 11) Cirugía mayor menos de 30 días antes del inicio del tratamiento del estudio. 12) Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

### **3.7.3 Descripción del tratamiento**

Los pacientes serán evaluados en visitas a lo largo de 3 periodos: pretratamiento, tratamiento y seguimiento:

El *periodo Pre-tratamiento* incluye la visita de selección, en la que se obtendrá el consentimiento informado para participar en el estudio. Posteriormente, durante el periodo de selección, que tiene lugar dentro de los 14 días previos a la visita basal (días -14 al -1), se evalúa a los pacientes para determinar su elegibilidad, incluyendo la realización de una PET/TC basal.

*Periodo de Tratamiento*, en el que recibirán ingresados en el hospital el régimen de acondicionamiento BeEAM, consistente en:

- Bendamustina 200 mg/m<sup>2</sup>/día, en infusión IV de 30-60 minutos, días -7 y -6.
- Etopósido 200 mg/m<sup>2</sup>/día, en infusión IV de 2 horas, días -5, -4, -3 y -2.
- Ara-C 200 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas (400 mg/m<sup>2</sup>/día), en infusión IV de 2 horas, días -5, -4, -3 y -2.
- Melfalán 140 mg/m<sup>2</sup>, en infusión IV de 15 minutos, día -1.

La recogida de PH se realizará antes de la inclusión del paciente en el ensayo, por el método que cada centro estime oportuno. Para la inclusión del paciente en el ensayo clínico es requisito imprescindible haber realizado previamente las aféresis de PH, con obtención de  $\geq 2 \times 10^6$ /Kg células CD34. En el día 0 se realizará la infusión de los progenitores hematopoyéticos autólogos (mínimo de  $2 \times 10^6$ /Kg células CD34<sup>+</sup>), previa descongelación de los mismos. Los pacientes recibirán factores estimulantes de colonias granulocíticas, pudiendo elegirse entre G-CSF, a dosis de 5 µg/Kg/día vía SC, desde el día +6 hasta la recuperación de la neutropenia ( $>1 \times 10^9$ /L durante 2 días), o bien Pegfilgrastim (Neulasta®), a dosis de 6 mg vía SC en una única dosis el día +6. El resto del tratamiento de soporte post-trasplante se realizará según los protocolos de cada centro.

*Visita de Fin de Tratamiento.* A los 3 meses del trasplante se realizará una reevaluación completa de la enfermedad, incluyendo PET/TC. Asimismo, todos los pacientes que, por cualquier motivo, suspendan prematuramente y de forma permanente

el tratamiento, independientemente de la fase en que se encuentren, deberán completar la visita de Fin de Tratamiento, que tendrá lugar 28 días como mínimo después de recibir la última dosis de la medicación en estudio (bendamustina).

*Periodo de Seguimiento*, que se inicia tras la visita de fin de tratamiento, los pacientes serán evaluados para eficacia y toxicidad cada 3 meses durante 12 meses adicionales, y posteriormente cada 6 meses, durante el 2º y 3º año.

#### **3.7.4 Desarrollo del ensayo**

##### **a) Valoración de eficacia y seguridad**

La variable principal del estudio es: Eficacia del régimen de acondicionamiento BeEAM, medida mediante la determinación de la SLP.

Las variables secundarias del estudio son: Seguridad y toxicidad del esquema BeEAM, medidas en función de la incidencia de efectos adversos clínicos y de laboratorio. Impacto del régimen BeEAM sobre la recuperación hematológica tras el TAPH (tiempo hasta la recuperación de neutrófilos y plaquetas). Otras medidas de eficacia aparte de la SLP, como la determinación de las tasas de respuesta (RC y RP), duración de la respuesta, SLE y SG. Evaluación de posibles factores clínicos, inmunohistoquímicos o moleculares predictores de respuesta o resistencia al esquema de tratamiento propuesto. Como factores clínicos se utilizarán variables con conocida influencia en el pronóstico de los pacientes con linfoma agresivo, como el IPI, b2-microglobulina o presencia de masas voluminosas. Análisis de las variantes genéticas de los genes implicados en los principales procesos de absorción, transporte, metabolismo y excreción de fármacos (ADME), con el fin de determinar en qué enfermos la mala respuesta al tratamiento o la aparición de efectos indeseados a los fármacos administrados puede estar en relación con determinadas variantes genéticas (estudios de farmacogenómica y polimorfismos genéticos).

##### **b) Evaluación de la respuesta**

El investigador realizará las pruebas necesarias que permitan la evaluación de la respuesta al tratamiento según los criterios estándar de Cheson, (Cheson et al, 1999). Estas pruebas serán las siguientes: Estudios de imagen: TC cervical, torácico, abdominal y pélvico (o de otras estructuras, cuando sea necesario). PET o PET/TC. Biopsia de MO con aspirado y citometría de flujo en los casos con infiltración previa al trasplante, o cuando exista sospecha de infiltración. Otras exploraciones de evaluación del linfoma que fueron patológicas anteriormente, por ejemplo, gastroscopia, colonoscopia, exploración otorrinolaringológica, etc.

La evaluación de la respuesta se realizará en los siguientes momentos: En la visita de fin de tratamiento (a los 3 meses del trasplante) se realizará evaluación completa con todas las pruebas mencionadas anteriormente, incluida una PET/TC. En el periodo de seguimiento (cada 3 meses hasta completar 1 año post-trasplante, y después cada 6 meses hasta completar 3 años de seguimiento) se realizará TAC y, si existe sospecha de recaída o progresión, PET/TC. Finalmente, las pruebas de evaluación de la respuesta podrán realizarse en cualquier momento del estudio si existe sospecha de recaída o progresión del linfoma.

c) Valoración de la seguridad

Para la valoración de la seguridad se realizarán las siguientes evaluaciones): Acontecimientos Adversos (AA). La monitorización de los AA se realizará desde la visita de selección y hasta la Visita Fin de Tratamiento (a los 3 meses del trasplante). También se registrarán los AA que el investigador considere relacionados con el tratamiento del estudio durante la fase de seguimiento. Los AA, incluyendo los Acontecimientos adversos graves (AAG), se registrarán en los documentos originales y en el CRD del paciente desde el inicio del tratamiento hasta la salida del paciente del ensayo clínico. Todos los AA deberán monitorizarse hasta que remitan o hasta que se determine definitivamente que se deben a una afección crónica o estable del paciente o enfermedad intercurrente. Historia clínica y exploración física. La historia clínica será obtenida durante la visita de selección. Incluirá toda la información demográfica y resumen de toda su patología, incluyendo todos los datos acerca del linfoma. En el momento de la visita de selección se realizará una exploración física completa al enfermo, que se repetirá en la reevaluación tras el trasplante y en las visitas de seguimiento. Durante la hospitalización para el trasplante se realizará un examen físico diario de acuerdo con la práctica clínica habitual de cada centro. En el resto de visitas tras el alta hospitalaria se realizará una anamnesis y exploración física dirigida en función de la sintomatología referida por el paciente. Medicaciones concomitantes y otros tratamientos. El uso de todas las medicaciones concomitantes y terapias de soporte serán recogidas desde la visita de selección hasta la Visita Fin de Tratamiento (a los 3 meses del trasplante). Evaluación del estado general mediante la escala ECOG. Se evaluará en la visita de selección, en la reevaluación tras el trasplante y en las visitas de seguimiento. Signos vitales. Incluyen frecuencia cardíaca, tensión arterial sistólica y diastólica y temperatura. Serán recogidos en la visita de selección, durante la hospitalización para el trasplante de forma diaria, y en la reevaluación tras el trasplante.

Peso, talla y superficie corporal. Los pacientes deben ser pesados y tallados en el momento de la visita de selección. Durante la hospitalización del trasplante serán pesados diariamente. Se registrará también el peso del paciente en la reevaluación tras el trasplante. Evaluaciones cardíacas. Durante la visita de selección se debe realizar un electrocardiograma y una ecocardiografía o ventriculografía isotópica para determinar la FEVI. La posible aparición de cardiotoxicidad será monitorizada especialmente, con realización de ECG y troponina sérica de forma basal y a las 24, 72 y 96 horas de la 1ª administración de bendamustina. Estas pruebas serán repetidas en cualquier momento del estudio si, a criterio del investigador, se observan síntomas o signos de cardiotoxicidad. Evaluaciones de laboratorio. Se realizará hematimetría y bioquímica en la visita de selección, durante el ingreso hospitalario para el TAPH, en las visitas tras el alta, en la reevaluación tras el trasplante y en las visitas de seguimiento. No obstante, otras determinaciones de laboratorio adicionales, así como estudios de coagulación, podrán realizarse en otros momentos del estudio a criterio del investigador y en función de la práctica habitual de cada centro y de la situación clínica del paciente, y test de embarazo en mujeres con capacidad de gestación en la visita de selección.

### ***3.7.5 Aspectos éticos***

El estudio se desarrollará de acuerdo con la Conferencia Internacional sobre la Armonización (ICH) en relación con la buena práctica clínica y los requisitos reglamentarios correspondientes y de acuerdo con los principios éticos de la Declaración de Helsinki.

### ***3.7.6 Análisis estadístico***

#### **a) Estimación del tamaño de la muestra**

Planteamos un ensayo clínico fase II para evaluar la actividad de un régimen experimental de tratamiento (régimen de acondicionamiento BeEAM) para pacientes con linfoma agresivo. El cálculo del tamaño de la muestra se ha basado en el objetivo principal del estudio (supervivencia libre de progresión). Los parámetros elegidos para el cálculo del tamaño muestral son los convencionales para un ensayo fase II, es decir,  $\alpha = 0,05$  bilateral y  $\beta = 0,20$  (correspondiente a una potencia del 80% para detectar un resultado estadísticamente significativo). Según la literatura médica, la experiencia histórica indica que los pacientes con linfoma agresivo de alto riesgo sometidos a TAPH

presentan una SLP estimada a los 3 años en torno al 30%. Consideraremos que una prolongación clínicamente importante de la SLP con el nuevo régimen debería alcanzar al menos una SLP estimada a los 3 años del 50%. Con estos datos, necesitaríamos incluir en el ensayo un total de 60 pacientes, teniendo en cuenta un porcentaje de pérdidas del 10%.

#### b) Población para el análisis

Los análisis de la variable principal de eficacia, que es la SLP, se harán en la población con intención de tratamiento (ITT), que comprende todos los pacientes que hayan sido incluidos en el ensayo, con independencia de que hayan recibido el tratamiento del estudio o no. Además, los análisis de eficacia se realizarán también en la población “evaluable” o por protocolo, que es un subgrupo de la población ITT compuesta por los pacientes que cumplan los criterios de selección del ensayo y a los que se les haya reevaluado la enfermedad tras recibir el régimen del estudio. Los análisis de seguridad se realizarán en la población de seguridad, que incluye aquellos pacientes que reciban, al menos, una dosis del fármaco en estudio, es decir, bendamustina.

#### c) Análisis descriptivos

Se realizarán tablas-resumen donde se mostrará el número de observaciones, la mediana, el mínimo y el máximo para las variables continuas, y el número y porcentaje por categoría cuando se trate de datos categóricos.

#### d) Análisis de eficacia

Se realizará en la población por intención de tratar y en la población por protocolo. Se realizarán por separado para los linfomas B y los linfomas T.

El primer análisis de eficacia será la tasa de respuestas al esquema de tratamiento propuesto, de acuerdo a los criterios de Cheson (Cheson et al, 1999). Se calcularán los tiempos de supervivencia global, supervivencia libre de progresión, mediante el método de Kaplan y Meier. Se definirán de la siguiente manera: *Supervivencia global*, se define como el tiempo desde la entrada en el ensayo clínico hasta la muerte por cualquier causa. Los pacientes que tengan una pérdida de seguimiento serán censurados en la fecha de la última visita. *Supervivencia libre de progresión*, se define como el tiempo

desde la entrada en el ensayo clínico hasta que se evidencie progresión del linfoma o muerte por cualquier causa.

e) Análisis de factores pronósticos

Se realizarán análisis exploratorios adicionales de la tasa de respuestas, SLP y SG mediante la selección de un conjunto de posibles variables de pronóstico (obtenidas con anterioridad o en la visita de selección) como covariables de los modelos de regresión de Cox (para la supervivencia) y métodos de modelación de datos categóricos como la regresión logística (para la tasa de respuestas). Los factores incluirán, entre otros: edad, sexo, variables biológicas, IPI, presencia de masas bulky, beta-2-microglobulina, situación de la enfermedad en el momento del trasplante. Estos análisis se realizarán con la inclusión de todas las covariables en el modelo a fin de determinar la influencia relativa de cada una en la variable de eficacia respectiva. Las conclusiones de estos análisis ajustados contribuirán a determinar si existe alguna razón por la cual considerar que la eficacia relativa del tratamiento del estudio puede variar en función de las características que presentan los pacientes.

g) Análisis de seguridad

Las evaluaciones relativas a la seguridad dependerán de la incidencia, intensidad y tipo de acontecimientos adversos, así como de los cambios clínicamente significativos de los hallazgos de la exploración física del paciente, las constantes vitales, los ECG y los resultados del laboratorio clínico. Todos los AA que se produzcan durante el estudio se incluirán en las listas de datos organizadas por pacientes.

### **3.8 Resultados**

#### ***3.8.1 Características de los pacientes***

Las características de los pacientes se muestra en la tabla 23. Se han incluido 60 pacientes diagnosticados entre Octubre 1996 y Mayo de 2012 de LNH agresivo candidatos a trasplante (mediana de edad: 54 años, rango 27-70) de 22 hospitales del grupo GELTAMO. El periodo de reclutamiento duró 18 meses (Mayo 2011 a Noviembre 2012). Los diagnósticos fueron: 40 LDCGB, 13 LDCGB transformado y 7 LTP; el 82% habían recibido 2 o más líneas de tratamiento quimioterápico previo. El estado de la enfermedad al trasplante era: 37 pacientes (62%) en remisión completa y 23 pacientes (38%) en respuesta parcial. La mediana de células CD34+ infundidas fue de  $4,05 \times 10^6/\text{Kg}$  (rango: 1,69 - 19,80).

**Tabla 23: Características de los pacientes**

<b>Características al trasplante</b>	<b>Número (%)</b>
Edad (mediana)	54 (rango: 27-70)
<b>Sexo</b>	
Mujer	30 (50)
Hombre	30 (50)
<b>Diagnóstico</b>	
LDCGB	40 (67)
Linfoma transformado	13 (22)
LTP	7 (11)
<b>Número de líneas de tratamiento recibidas</b>	
1	11 (18)
2	41 (69)
>2	8 (13)
<b>IPI</b>	
0-1	35 (58)
2-3	25 (42)
<b>Estado de la enfermedad</b>	
Remisión completa	37 (62)
Respuesta parcial	23 (38)

Abreviaturas: LDCGB, linfoma difuso célula grande B, LTP, linfoma T periférico;

IPI, índice pronóstico internacional

Debido a un error informático en el Servicio de Farmacia de uno de los hospitales participantes, 11 pacientes incluidos en dicho centro, recibieron una dosis de melfalán inferior a la indicada en el protocolo del ensayo clínico, ya que se les administró 140 mg en el día -1 como dosis total en lugar de 140 mg/m<sup>2</sup>. La dosis real administrada osciló entre 63 y 89 mg/m<sup>2</sup>, como se muestra en la tabla 24.

**Tabla 24: Dosis de melfalán**

<i>Código de paciente</i>	<i>Mg de Melfalán administrado</i>	<i>SC (m<sup>2</sup>)</i>
21-01	72.9 mg	1.92
21-02	66.7 mg	2.10
21-03	83.3 mg	1.68
21-04	78.6 mg	1.78
21-05	70.0 mg	2.00
21-06	63.6 mg	2.20
21-07	72.5 mg	1.93
21-08	80.4 mg	1.74
21-09	78.2 mg	1.79
21-10	78.6 mg	1.78
21-11	88.6 mg	1.58

### **3.8.2 Injerto**

Todos los pacientes (excepto 1 paciente que falleció precozmente) injertaron tras una mediana de 11 (rango: 9 a 72) y 14 (rango: 4 a 53) días para alcanzar  $>0.5 \times 10^9/l$  neutrófilos y  $>20 \times 10^9/l$  plaquetas, respectivamente. 3 pacientes presentaron pérdida transitoria del injerto: 1 de ellos del injerto de plaquetas que precisó 19 transfusiones de plaquetas y se recuperó a los 21 meses del trasplante; los otros 2 pacientes presentaron pérdida del injerto de neutrófilos ambos casos con recuperación tras tratamiento con G-CSF durante 7 y 14 días respectivamente.

### **3.8.3 Toxicidad no hematológica y SAEs**

#### **ANTES DEL DÍA + 100**

Durante la fase precoz postrasplante (hasta el día +100), se han comunicado 30 acontecimientos adversos graves. La toxicidad infecciosa, recogida en la tabla 25, ha sido la más frecuente. 2 de los episodios infecciosos causaron la muerte del paciente (1 aspergillus+influenza y citomegalovirus), el resto se recuperaron sin secuelas.

**Tabla 25. SAEs infecciosos.**

<i>Descripción</i>	<i>Grado</i>	<i>Relacionado con Bendamustina</i>	<i>Evolución</i>
Neumonía (Aspergillus e influenza)	4	Posible	Éxito
Neumonía (Citomegalovirus)	4	Posible	Éxito
Neumonía y sepsis bacteriana	3	Posible	Resuelta
Neumonía (Aspergillus)	4	Posible	Resuelta
Infección respiratoria (Pneumocystis)	3	Posible	Resuelta
Sépsis fúngica (Candida)	3	Posible	Resuelta
Shock séptico sin documentación microbiológica	4	Posible	Resuelto
Shock séptico sin documentación microbiológica	4	Posible	Resuelta
Herpes zoster e infección urinaria	3	Posible	Resuelta
Herpes zoster	3	Posible	Resuelta
Herpes zoster	3	No	Resuelta
Gastroenteritis infecciosa	2	No	Resuelta
Gastroenteritis infecciosa (Clostridium)	2	No	Resuelta
Artritis séptica	3	No	Resuelta

Otra toxicidad mayor fue el fracaso renal agudo, desarrollado en 5 pacientes, en 4 tras la administración de bendamustina, reversible en todos los casos, pero clínicamente relevante, porque 4 pacientes requirieron ajustes de dosis en el régimen de acondicionamiento. Analizando detenidamente estos pacientes, comprobamos que 3 de ellos habían desarrollado insuficiencia renal leve durante el tratamiento previo de rescate y 2 de ellos habían recibido una hidratación inadecuada (tabla 26).

**Tabla 26: Toxicidad renal**

<i>Descripción</i>	<i>Grado</i>	<i>Relacionado con</i>	<i>Evolución</i>
<b><i>Bendamustina</i></b>			
Fallo renal agudo	2	Posible	Resuelta <sup>1,3</sup>
Fallo renal agudo	2	No	Resuelta
(Vancomicina)			
Fallo renal agudo	3	Posible	Resuelta <sup>1,3</sup>
Fallo renal agudo	2	Posible	Resuelta <sup>1,2</sup>
Fallo renal agudo	2	Posible	Resuelta <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pacientes que precisaron ajuste de dosis en el regimen de acondicionamiento (n=4).

<sup>2</sup>Pacientes que habían desarrollado fallo renal agudo durante el tratamiento previo con quimioterapia (n=3). Pacientes recibieron hidratación inadecuada (n=2).

Considerando la afectación por órgano (tabla 27), la toxicidad digestiva fue la más frecuente, seguida de la toxicidad infecciosa respiratoria y la toxicidad renal. Destaca también la toxicidad neurológica, con un paciente diagnosticado de encefalopatía de Wernicke en el día + 50 post-TAPH, atribuida a déficit de vitamina B1 causado por cuadro severo de diarrea y vómitos. El paciente no respondió al tratamiento y falleció a los 5 meses del TAPH. El desarrollo de toxicidad en otros órganos fue excepcional.

**Tabla 27: Toxicidad por órgano**

<i>Órgano afecto</i>	<i>Cualquier grado</i> <i>N (%)</i>	<i>Grado 3-4</i> <i>N (%)</i>
Mucositis	26 (43,3)	25 (41,6)
Diarrea	8 (13,3)	6 (10)
Infección del tracto respiratorio	6 (10)	6 (10)
Toxicidad renal	5 (8,3)	1 (1,7)
Vómitos	2 (3,3)	2 (3,3)
SNC	2 (3,3)	2 (3,3)
Piel	1 (1,7)	1 (1,7)

## DESPUÉS DEL DÍA +100

Un paciente desarrolló varias complicaciones infecciosas después del día +100: sepsis por Neumococo que precisó ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (4 meses post-TAPH), neumonía de posible origen fúngico (5 meses post-TAPH) y Aspergilosis pulmonar que finalmente causó la muerte del paciente a los 7 meses del TAPH.

Se han comunicado como SAEs otros 3 episodios infecciosos ocurridos en 2 pacientes tras el día +100, todos ellos resueltos favorablemente con el tratamiento: sepsis por *Staphylococcus haemolyticus* un año post-TAPH, linfocitosis hemofagocítica asociada a VEB (2 años post-TAPH) tratada con rituximab y neumonía atípica bilateral que precisó ingreso en UCI por Shock séptico (2 años post-TAPH).

## MORTALIDAD NO DEBIDA AL LINFOMA

En resumen, la mortalidad no relacionada con el linfoma antes del día +100 fue del 3.3% (2 pacientes por complicaciones infecciosas), con otro 3.3% adicional de mortalidad después del día +100 (1 paciente por encefalopatía de Wernicke y 1 paciente por complicaciones infecciosas).

### ***3.8.4 Eficacia***

#### RESPUESTA AL TAPH:

En cuanto a la respuesta al trasplante (día +100), 44 pacientes (73.3%) alcanzaron RC, 7 (11.7%) RP, 7 pacientes (11.7%) no respondieron, 2 pacientes (3.3%) no fueron evaluables por muerte precoz. En la tabla 28 se recoge el análisis estadístico de respuesta, realizado con todos los factores pronósticos monitorizados hasta enero de 2014. Como se puede observar el sexo, diagnóstico histológico, tiempo del diagnóstico

al trasplante, edad e IPI al trasplante no tuvieron influencia significativa en las tasas de respuesta. Por el contrario, los pacientes que recibieron más de 2 líneas de tratamiento y los pacientes que iban al TAPH en RP tuvieron una tasa de RC significativamente más bajas.

**Tabla 28: Análisis de respuesta**

<i>Factor pronóstico</i>	<i>N</i>	<i>RC (%)</i>	<i>p</i>	<i>RG (%)</i>	<i>p</i>
<b>Sexo</b>					
Masculino	23	76.7		90	
Femenino	21	70	>.10	76.7	>.10
<b>Diagnóstico</b>					
LDCGB o LF grado 3	29	72.5		85	
L. Transformado	9	69.2		77	
LTP	6	85.7	>.10	86	>.10
<b>Tiempo desde el diagnóstico al TAPH</b>					
>1 año	32	81		87	
≤1 año	23	61	>.10	83	>.10
<b>Número de líneas de tratamiento previo</b>					
1	11	100		100	
2	29	70.7		82.9	
>2	4	50	.013	62.5	.032
<b>Edad al trasplante</b>					
<60 años	27	67.5		85.2	
>60 años	17	85	>.10	85	>.10
<b>IPI al trasplante</b>					
0	10	83.3		92	
1	18	78.3		78	
2	12	63.2		89	
3	4	66.7	>.10	66.7	>.10
<b>Estado de la enfermedad al trasplante</b>					
RC	33	89.2		89	
RP	11	47.8	.000	78	>.10
<b>Dosis de melfalán en el régimen BendaEAM</b>					
Correcta (140 mg/m <sup>2</sup> )	34	69.4		89.2	>.10
Disminuida (140 mg dosis total)	10	90.9	>.10	73.9	

Abreviaturas: RC, remisión completa; RG, respuesta global; LDCGB, linfoma difuso célula grande B; LF, linfoma folicular; LTP, linfoma T periférico; RP, respuesta parcial; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyético; BendaEAM, bendamustina etopósido AraC melfalán; IPI, índice pronóstico internacional.

En el análisis multivariante, la situación al TAPH fue la única variable con influencia pronóstica independiente sobre la RC post-TAPH (tabla 29).

**Tabla 29: Análisis multivariante de RC post-TAPH**

	<i>RR</i>	<i>IC del 95%</i>	<i>p</i>
Situación al TAPH: RC	0.11	0.030-0.417	.001

Abreviaturas: RC, remisión completa; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyético; RR, riesgo Relativo; IC, intervalo de confianza.

Analizando por separado los 40 pacientes con LDCGB o Linfoma folicular grado 3B que recibieron el TAPH como tratamiento de rescate, observamos que los pacientes en RP al trasplante tuvieron menor tasa de RC post-TAPH (tabla 30).

**Tabla 30: Análisis de respuesta en el grupo de LDCGB**

<i>Factor pronóstico</i>	<i>N</i>	<i>RC (%)</i>	<i>p</i>	<i>RG (%)</i>	<i>p</i>
<b>Sexo</b>					
Masculino	16	76.2		90.5	
Femenino	13	68.4		78.9	
			>.10		>.10
<b>Tiempo desde el diagnóstico al TAPH</b>					
>1 año	19	79		87	
≤1 año	19	63		83	
			>.10		>.10
<b>Número de líneas de tratamiento previo</b>					
1	3	100		100	
2	24	75		87.5	
>2	2	40		60	
			.054		>.10
<b>Edad al trasplante</b>					
<60 años	18	66.7		85.2	
>60 años	11	84.6		84.6	
			>.10		>.10
<b>IPI al trasplante</b>					
0	8	80		90	
1	11	84.6		84.6	
2	7	53.8		84.6	
3	3	75		75	

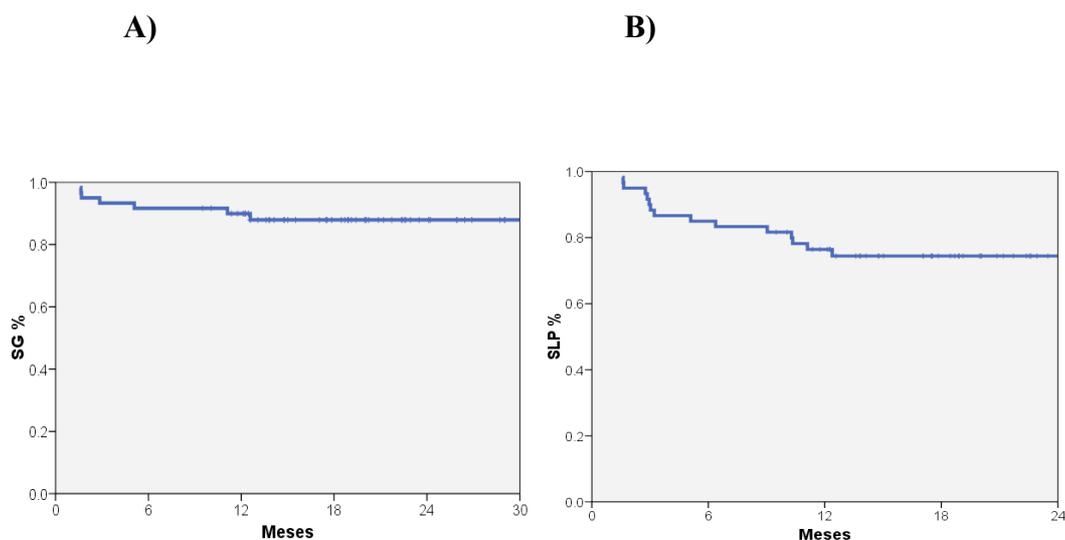
			>.10	>.10
<b>Estado de la enfermedad al trasplante</b>				
RC	22	91.7	91.7	
RP	7	43.8	75	
			.001	>.10
<b>Dosis de melfalán en el régimen BendaEAM</b>				
Correcta (140 mg/m <sup>2</sup> )	21	67.7	83.9	
Disminuida (140 mg dosis total)	8	88.9	88.9	>.10
			>.10	

Abreviaturas: RC, remisión completa; RG, respuesta global; RP, respuesta parcial; TAPH, trasplante autólogo de progenitores hematopoyético; BendaEAM, bendamustina etopósido AraC melfalán; IPI, índice pronóstico internacional.

### 3.8. Supervivencia

En la fecha de la última actualización (Febrero de 2014), 12 pacientes (20%) habían recaído o progresado, y 8 pacientes habían muerto, 4 por progresión del linfoma y 4 por toxicidad. Con una mediana de seguimiento de 18.9 meses (9.5-32.3), la supervivencia libre de progresión y supervivencia global estimadas a 2 años fueron del 74% y 87%, respectivamente.

**Figura 3: A) SG B) SLP en pacientes con linfoma agresivo, en los que se utiliza el esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH**



En el análisis univariante (tabla 31) los factores que se asociaron con una mejor SG fueron: edad menor de 60 años e IPI 0-1 en el momento del TAPH, y los factores con influencia positiva sobre la SLP fueron: sexo masculino y presencia de RC en el momento del trasplante (RC), si bien en el análisis multivariante ninguna variable tuvo influencia significativa independiente.

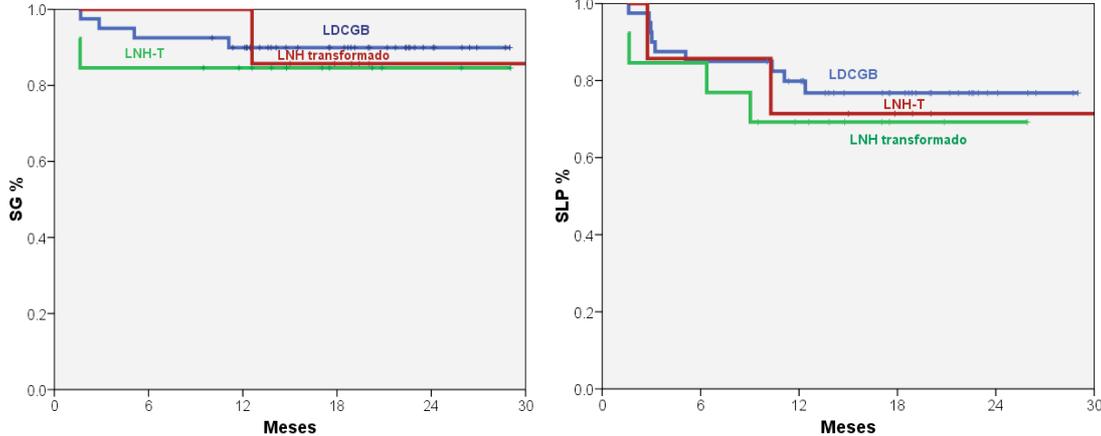
**Tabla 31: Análisis univariante**

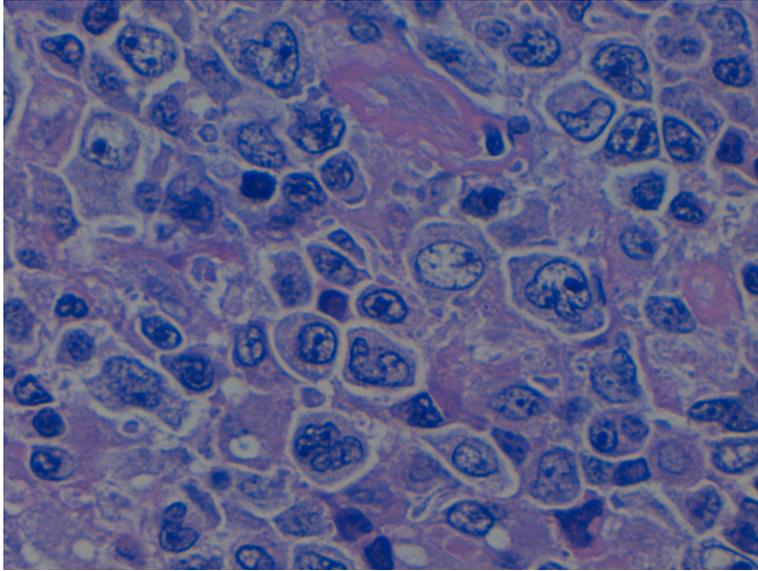
Factor pronóstico	N	SG (%) a 1 año	<i>p</i>	SLP (%)	<i>p</i>
<b>Sexo</b>					
Masculino	60			86	.045
Femenino				66	
<b>Edad al trasplante</b>					
<60 años	60	95	.029		
>60 años		80			
<b>IPI al trasplante</b>					
0-1	60	94	.080		
>2		83			
<b>Estado de la enfermedad al trasplante</b>					
RC	60			84	
RP				64	.055

Abreviaturas: SG, supervivencia global; SLP, supervivencia libre de progresión; IPI, índice pronóstico internacional; RC, remisión completa; RP, respuesta parcial.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en la SLP ni SG según el diagnóstico, como se muestra en la figura 4, siendo la SLP y SG estimadas a los 2 años del 75% y 90% para los pacientes con LDCGB, 70% y 82% para los linfomas transformados y 68% y 71% para los linfomas T periféricos.

**Figura 4: A) SG B) SLP según el diagnóstico de los pacientes en los que se utiliza el esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH**





*“La ignorancia afirma o niega rotundamente, la ciencia duda”.* Voltaire.

## **4.- Discusión**

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo.

La quimioterapia a altas dosis seguida de TAPH es el tratamiento estándar para pacientes con LCGDB en recaída quimiosensible o con enfermedad refractaria primaria (Oliansky DM et al, 2011). Estudios recientes sugieren que el uso de tratamientos de 1ª línea con regímenes que contengan R hace más difícil rescatar a los pacientes en recaída o refractarios (Martín A et al 2008; Gisselbrecht C et al, 2010), por lo que el beneficio del TAPH en estos pacientes podría ser menor que en los pacientes sin tratamiento previo con R. En nuestro estudio observacional, hemos realizado un análisis comparativo de la influencia de la exposición previa a R en los resultados del TAPH, en una serie amplia de pacientes con LDCGB en recaída o refractarios, tratados en 18 hospitales españoles del grupo GELTAMO. Aunque este estudio, al igual que otros análisis retrospectivos multicéntricos, puede tener importantes carencias, la imposibilidad de diseñar un estudio prospectivo en este contexto, ya que actualmente todos los pacientes con LDCGB reciben rituximab con la 1ª línea de tratamiento, acentúa el interés de nuestro estudio.

Nuestros resultados indican que la exposición a R pre-trasplante no afecta al injerto y no aumenta la MRT ni la incidencia de SMD/LMA secundaria. Además, la exposición previa a R se asoció con mejores SLP y SG con respecto a los pacientes que no habían recibido R previamente. Esta observación fue independiente de otros factores pronósticos relevantes, como son el estado de la enfermedad en el momento del tratamiento de rescate y del trasplante y la edad. Aunque los pacientes del grupo R+ tenían factores pronósticos clínicos más desfavorables (tabla 12), los mejores resultados observados en este grupo podrían ser atribuidos a tener un seguimiento más corto y a las posibles diferencias biológicas entre ambos grupos (R+ y R-), no analizadas en este estudio. Además, estos pacientes podrían haberse beneficiado de las recientes mejoras tecnológicas o en el tratamiento de soporte. En nuestro estudio, no encontramos diferencias significativas en la supervivencia entre los pacientes que recibieron rituximab con el tratamiento de primera línea solamente y en los que lo recibieron en la primera línea y en las terapias de rescate.

Hay pocos estudios publicados que hayan evaluado la influencia de la exposición a rituximab en los resultados del TAPH. Usando la base de datos del Center for International Blood and Transplantation (CIBMTR), Fenske et al (2009) analizaron los resultados de 994 pacientes con LDCGB sometidos a TAPH en función de si habían recibido rituximab (n = 176, grupo R+) o no (n = 818, grupo R-) con la primera línea o con la terapia de rescate. En este estudio, el grupo R + tuvo una mejor SLP (50% vs 38%, p = 0,008) y mejor SG (57% vs 45%, p = 0,006) a los 3 años que el grupo R- (Fenske TS et al, 2009). Sin embargo, estas diferencias pueden explicarse, en parte, porque el 62% de los pacientes en el grupo R+ habían recibido rituximab solamente con la terapia de rescate y no con la primera línea de tratamiento. En un estudio realizado por GITIL (Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi), se evidenció un beneficio de la exposición a R antes del TAPH en pacientes con LF y con LDCGB que habían recibido R solo con el tratamiento de rescate, pero no si lo habían recibido con la 1ª línea (Tarella C et al, 2008). Otro estudio realizado por el European Blood and Marrow Transplantation Registry incluyó 470 pacientes con LDCGB en recaída sometidos a TAPH en 2ª RC, observándose una mejor SLE en 119 pacientes que recibieron R antes del TAPH (SLE a los 3 años, 68% vs. 55%, p = 0.05). Una vez más, el beneficio se observó fundamentalmente en los pacientes tratados con R tras la recaída, pero no en aquellos tratados con R-quimioterapia en la 1ª línea y en la recaída (Mounier N et al, 2012).

En nuestro estudio, en contraste con los anteriores estudios, todos los pacientes del grupo R+ recibieron rituximab desde el tratamiento de 1ª línea. Este hecho hace que nuestros resultados sean más representativos de la población general con LDCGB que recibe TAPH en nuestros días, en comparación con los estudios previamente mencionados o con otros realizados en un único centro con un número pequeño de pacientes. Smith et al (2011) revisaron la experiencia de su centro en 226 pacientes con LDCGB en recaída tratados con TAPH. En este estudio no hubo diferencias significativas en cuanto a supervivencia entre los pacientes que habían recibido R desde 1ª línea (n = 65) y los que no lo habían recibido (Smith SD et al, 2011). Otro estudio de centro único retrospectivo (n = 109) encontró resultados similares (Moore S et al, 2012)

En resumen, nuestros resultados, al igual que los de los estudios previos mencionados, sugieren que el TAPH es al menos tan efectivo en pacientes tratados previamente con R como en pacientes no expuestos a R. Como hecho interesante, estos

resultados son esencialmente opuestos a los observados en los estudios sobre regímenes de rescate, en los cuales los resultados son significativamente peores en los pacientes tratados previamente con R en comparación con los no expuestos a R (Gisselbrecht et al, 2010; Martín et al, 2008). No hay una hipótesis clara para explicar esto. Como sugiere Fenske et al (2009), es posible que el tratamiento con R previo al trasplante sensibilice o altere poblaciones de células efectoras específicas, o bien afecte a la reconstitución inmune de una manera que acentúe los efectos anti-linfoma. Por otro lado, solo los pacientes que responden al tratamiento de rescate son finalmente sometidos al TAPH, por lo que se trata de una población altamente seleccionada y probablemente con mejores factores pronósticos, tanto clínicos como biológicos, que los pacientes que reciben los regímenes de rescate. En resumen, los pacientes que recaen o progresan tras R-quimioterapia son más resistentes a los tratamientos de rescate (Gisselbrecht et al, 2010; Martín et al, 2008), pero si responden, deben ser sometidos al TAPH, con la esperanza de alcanzar al menos resultados similares que en la era pre-R. Sin embargo, solo la mitad de los pacientes con LDCGB en recaída o refractario que reciben QT de rescate consiguen alcanzar el TAPH, ya que un alto porcentaje de pacientes progresan de forma precoz (Gisselbrecht C et al, 2010). Por tanto, es necesario mejorar los tratamientos de rescate incorporando nuevos fármacos en el contexto de ensayos clínicos prospectivos, de cara a mejorar las tasas de respuesta.

Con respecto a otros factores pronósticos relevantes, el estado de la enfermedad en el momento del primer tratamiento de rescate fue un factor pronóstico relevante, al igual que en estudios previos (Martín A et al 2008; Gisselbrecht C et al, 2010). Los pacientes con enfermedad refractaria primaria o recaída precoz tuvieron peores resultados que los pacientes con 1ª RP o recaída tardía. Una vez más, estos pacientes son claros candidatos a ensayos clínicos prospectivos que investiguen nuevos regímenes de rescate o nuevas dianas terapéuticas. El estado del linfoma al trasplante tuvo también un impacto significativo en el pronóstico, ya que los pacientes en RC al TAPH alcanzaron mejores resultados que los pacientes que se trasplantaron en RP, de acuerdo con los estudios previos (Caballero et al, 2003; Armand et al, 2013). En nuestro estudio, usamos los criterios de respuesta de 1999 (Cheson et al, 1999), porque muchos pacientes se trasplantaron antes de la era de la PET. La mejoría en la calidad de la respuesta medida mediante PET probablemente permitirá una mejor selección de los

pacientes que pueden beneficiarse del TAPH (Armand et al, 2013; Schot BW et al, 2007), aunque esto necesita estandarizarse y validarse en estudios prospectivos.

Aunque se han descrito neutropenias tras tratamiento con R (Maloney et al, 2012), el injerto de neutrófilos y plaquetas no se vio alterado por la exposición previa a R, tal y como también habían observado Fenske y colaboradores (2009).

En resumen, nuestros resultados muestran que, en pacientes con Linfoma B agresivo refractario o en recaída quimiosensible, el TAPH no es menos efectivo en pacientes pretratados con R desde la 1ª línea con respecto a aquellos nunca expuestos a R. Por tanto, el TAPH sigue siendo el tratamiento de referencia para estos pacientes en la era de Rituximab. Sería esencial realizar estudios prospectivos que investiguen nuevos regímenes de rescate, con la finalidad de poder obtener tasas de respuesta más elevadas que permitan a un mayor número de pacientes alcanzar el TAPH.

## **4.2. Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo**

### ***4.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos***

Nuestros resultados in vitro realizados en células procedentes de pacientes tanto con SLP-B como SLP-T sugieren que la asociación de carmustina, tiotepa o bendamustina con EAM es una buena combinación, ya que se consigue una mayor citotoxicidad que con EAM solo. Algunos estudios realizados previamente también observaron lo mismo (Visani G et al, 2011). En el CIC de Salamanca se realizó la combinación in vitro de carmustina y bendamustina con EAM utilizando las líneas de SLP-B, y se objetivó que se conseguían mejores resultados que usando EAM solo (Visani G et al, 2011).

Por otro lado, analizamos también la combinación de lenalidomida con ESHAP en líneas celulares B y T. Nuestros resultados muestran que esta combinación consigue eliminar más células que ESHAP o lenalidomida por separado. Otros estudios preclínicos han evidenciado que la lenalidomida inhibe el crecimiento tumoral, induce apoptosis y ataca las células tumorales de líneas celulares de LNH (Gandhi AK, Kang J,

2006). También tiene un efecto antiangiogénico, incluyendo interacciones con el microambiente celular, células endoteliales y factores de crecimiento vascular endotelial (Zhang LH, 2012). Se han realizado múltiples estudios para estudiar la eficacia de lenalidomida sola o en combinación con diversos tratamientos, y se sabe que la combinación de lenalidomida con rituximab inhibe el crecimiento celular e induce apoptosis en líneas celulares de LNH incluyendo líneas celulares de LDCGB (SUDHL4 y SUDHL10) en mayor medida que la lenalidomida sola, (Hernández-Ilizaliturri et al, 2005; Zhang et al, 2012).

#### ***4.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos***

##### *4.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario*

En este ensayo clínico fase 1b, nos planteamos la hipótesis de que lenalidomida podría combinarse con seguridad con el régimen de rescate R-ESHAP en pacientes con LDCGB refractarios o en recaída, y podría aumentar la eficacia del mismo. Hemos analizado la toxicidad de la combinación, su potencial para movilizar células progenitoras hematopoyéticas y su eficacia de forma preliminar. Nuestro estudio es el primero que combina lenalidomida al régimen de quimioterapia de rescate R-ESHAP, nuestros resultados indican que la combinación de lenalidomida con R-ESHAP es factible y se consiguen buenas respuestas en los pacientes con LDCGB refractario o en recaída.

Se realizaron estudios preclínicos en los que se observaba que la lenalidomida tenía una actividad antitumoral frente a las células de LDCGB (Gandhi AK et al, 2006), se estudió la eficacia de la lenalidomida sola como tratamiento de rescate para LNH en recaída o refractarios alcanzando unas tasas de RG del 35-53% (Hernandez-Ilizaliturri FJ et al, 20011; Witzig TE et al, 2011; Vose JM et al, 2013) . Posteriormente se estudió la combinación de lenalidomida con rituximab y se vio que es activa en pacientes mayores con LDCGB en recaída o refractarios con un porcentaje elevado de pacientes que lograban alcanzar RC tras el mantenimiento (Zinzani PL et al, 2011; Wang M et al, 2013). Posteriormente Nowakowski y colaboradores añadieron lenalidomida a R-CHOP para el tratamiento de Linfomas B agresivos, dicha combinación no aumentaba la toxicidad y parecía segura y efectiva.

En nuestro ensayo hemos utilizado el diseño clásico “3+3” de los estudios fase 1 (Dent SF et al, 1996). Además, la cohorte de DMT fue expandida hasta un total de 12 pacientes con el fin de confirmar la seguridad de dicha dosis. La DMT fue 10 mg, ya que en la cohorte de 15 mg, 1 paciente presentó TLD (angioedema facial grado 3), y 2 pacientes presentaron fallo en la 1ª movilización, por lo que se estableció la DMT de lenalidomida en 10 mg. Nowakowski y colaboradores añadieron a R-CHOP lenalidomida para el tratamiento de 1ª línea de pacientes con Linfomas B agresivos, el estudio fase 1 demostró que lenalidomida de 25 mg dada los días 1-10 de cada ciclo puede combinarse con R-CHOP sin añadir toxicidad, no se encontró TLD, por lo que se recomendó 25 mg para el estudio fase 2, éste mostró que añadir lenalidomida a R-CHOP era seguro y efectivo. (Nowakowski et al, 2011), Feldman y colaboradores utilizaron dosis de 25 mg de lenalidomida combinada con R-ICE, y esa dosis fue efectiva y no incrementaba la toxicidad (Feldman et al, 2014). Nosotros decidimos usar dosis más baja de lenalidomida, ya que nuestros pacientes ya habían recibido tratamiento quimioterápico previo y R-ESHAP es más tóxico que R-CHOP.

La principal toxicidad del régimen LR-ESHAP fue hematológica e infecciosa, como era esperable. En nuestro estudio se administraron un total de 3 ciclos de LR-ESHAP, y la incidencia de neutropenia febril fue del 32%. Hay que destacar que todos los episodios infecciosos fueron reversibles con el tratamiento. En estudios realizados en Mieloma Múltiple el uso de lenalidomida ocasiona como principal efecto adverso toxicidad hematológica, mielosupresión (Kumar S et al, 2009). En el estudio realizado por el grupo colaborativo en ensayos clínicos de linfomas agresivos en recaída CORAL, la toxicidad hematológica grado 3 o 4 fue más severa en la rama de tratamiento con R-DHAP que con R-ICE y más pacientes necesitaron al menos una transfusión de plaquetas durante la fase de inducción (57% en la rama de R-DHAP vs 35% en la rama de R-ICE). En ambas ramas, los SAEs más comunes fueron las infecciones, y neutropenia febril (16%). Los pacientes que llegaron al TAPH y recibieron acondicionamiento con BEAM, experimentaron las toxicidades hematológicas y no hematológicas usuales y hubo 3 muertes por toxicidad (Gisselbrecht C et al, 2010). En el estudio retrospectivo multicéntrico realizado por el grupo español Grupo Español GELTAMO, la mielosupresión fue el efecto adverso más común. El 46.6% de los pacientes y el 30,4% precisaron transfusión de sangre y plaquetas respectivamente. La incidencia de neutropenia febril fue del 33.5%. Y 3 pacientes de unos 60 años murieron por

complicaciones infecciosas. No hubo diferencias con respecto al grupo R+ y R- en cuanto al requerimiento de transfusiones, neutropenia febril o tratamiento relacionado con la muerte (Martin A et al, 2008). En el estudio realizado por Nowakowski y colaboradores (fase 1) la principal toxicidad del régimen lenalidomida-RCHOP fue hematológica e infecciosa, presentando un 21% de los pacientes trombopenia G4 (21%) la incidencia de neutropenia febril fue menor, en torno a un 4%, y no se objetivaron muertes por toxicidad (Nowakowski, 2011), en el fase 2, hubo un incremento en la incidencia de toxicidad hematológica e infecciosa, los pacientes presentaron un 12% de neutropenia G3 y un 74% de G4, un 30% de trombopenia G3 y un 10% de G4, un 20% anemia G3, un 12% neutropenia febril G3 (Nowakowski, 2013), en el fase 1 en el que combinaron lenalidomida con R-ICE, la principal toxicidad fue la hematológica, pero todas se resolvieron, solamente 3 pacientes presentaron neutropenia febril (Feldman et al, 2014). En el resto de los estudios revisados, la toxicidad más importante es la hematológica, aunque afectando a un porcentaje inferior de pacientes que con nuestros resultados, en todos los casos fue reversible, siendo la más relevante la neutropenia y trombopenia (afectando en torno a un 20% de los pacientes respectivamente) (Barnes, et al, 2013; Fayad et al, 2013; Pettengell et al, 2012)

En los estudios prospectivos realizados en pacientes con mieloma múltiple, se ha evidenciado un aumento significativo en la incidencia de trombosis cuando los pacientes reciben lenalidomida en combinación con quimioterapia y dexametasona, más en los pacientes sin profilaxis anticoagulante (Dimopoulos 2009, Weber 2007). En nuestro estudio, 2 pacientes presentaron trombosis grado 3 durante el 2º ciclo de LR-ESHAP que motivó la suspensión de lenalidomida. Sin embargo, hay que destacar que los 2 pacientes eran portadores de un catéter venoso central en la zona de la trombosis, que podría haber sido la principal causa de la misma. En otros estudios, la incidencia de TVP es del 3-4% (Wiernik et al 2008; Witzig et al, 2011; Leonard et al, 2012; Wang et al, 2012; Nowakowski 2013), excepto en uno en el que la incidencia fue del 20% (Feldman et al, 2014).

La incidencia de otras toxicidades grados 3-4 con LR-ESHAP fue escasa. No se observaron casos de insuficiencia renal, descritos con el régimen R-DHAP (Gisselbrecht C et al, 2010). En el estudio realizado por el grupo español Grupo Español GELTAMO la toxicidad no hematológica más frecuente fue la gastrointestinal (GI) más en el grupo R- que en el R+ (16.3% vs 5.4%; p=0,024) ésta fue grado 2 (vómitos,

muscositis o diarrea). Los pacientes también experimentaron alteraciones metabólicas en un 5% de los mismos (hipocalcemia e hipomagnesemia). Otras toxicidades en menos de un 5% en ambos grupos (Martin A et al, 2008). En el estudio fase 2 de Nowakowski, un 2% de los pacientes desarrollaron neumonía G3, un 2% sufrieron un shock G4, un 2% de los pacientes refirieron astenia G3 (Nowakowski, 2013). En otros estudios realizados con lenalidomida en linfomas se han objetivado alteraciones iónicas (hiponatremia) (Dutia et al), y astenia (Leonard et al), hiperbilirrubinemia y elevación de AST grado 1-2 (Luis Fayad et al, 2013), infección, hipokaliemia, elevación de transaminasas y toxicidad gastrointestinal grado 3 (Budde et al, 2013).

En nuestro estudio evaluamos también la capacidad movilizadora del esquema LR-ESHAP, ya que los pacientes fueron movilizados con G-CSF a la salida del 2º ciclo (N=18) o del 1º ciclo (N=1). Observamos un posible efecto negativo de la lenalidomida sobre la movilización, ya que 5 de los 19 pacientes presentaron un fallo de la misma. Sin embargo, este efecto podría ser transitorio, ya que los 5 pacientes fueron movilizados tras un segundo intento, 4 de ellos con plerixafor. Anteriormente, se habían realizado dos grandes estudios en la Clínica Mayo y en M. D Anderson, para determinar la influencia de la lenalidomida en la movilización de pacientes con Mieloma Múltiple (MM), concluyeron que el uso de lenalidomida en MM influye negativamente a la hora de recoger CD34+ y de movilizar a los pacientes, vieron que realmente influía la edad de los pacientes y el duración del tratamiento con lenalidomida, por lo que en MM se recomienda que se programe la recogida de CPH antes del 4º ciclo de lenalidomida, y si asociado al tratamiento con lenalidomida se asocian otros quimioterápicos mielosupresores, se recomienda la movilización con ciclofosfamida y G-CSF (Kumar S et al, 2009). En el estudio de CORAL hubo menos fallos de movilización en la rama de R-ICE (15%) que en la de R-DHAP (20%) (Gisselbrecht C et al, 2010). En el estudio de Feldman y colaboradores, se consiguió la movilización en todos los pacientes excepto en 1, sólo 2 pacientes precisaron movilización con G-CSF más plerixafor (Feldman et al, 2014). En el trabajo de Vellenga y colaboradores, 1 paciente de grupo DHAP no movilizó y 3 del grupo R-DHAP (Vellenga et al, 2008), en el estudio de Matasar y colaboradores, iniciaron la movilización en el 74% de los pacientes (88% del grupo O-DHAP y en el 63% del grupo O-ICE), hubo fallo de movilización en 2 pacientes, todos recibieron G-CSF, pero el 22% del grupo O-DHAP y el 9% del grupo O-ICE recibieron también plerixafor (Matasar et al, 2013), en el fase I que estudiaron la combinación de

vorinostat con R-ICE, se movilizaron el 86% de los pacientes tras R-ICE (Moskowitz et al, 1999), y 4 de 9 pacientes movilizaron con éxito tras la 1ª movilización, y el efecto de la QT fue reversible, ya que el resto recogió CPH en un 2º tiempo (Budde et al, 2013).

También hemos analizado de forma preliminar la eficacia del régimen LR-ESHAP. Hemos observado un 42% de RC y un 74% de respuestas globales, lo que permitió que un 73% de los pacientes recibieran el TAPH (las razones para no realizar el TAPH fueron progresión precoz del linfoma (n=4) y discontinuación del EC por toxicidad (n=1), con nuestros resultados el 73% de los pacientes recibieron TAPH, en el estudio de CORAL 207/400 pacientes, eso supone que solamente se trasplantaron la mitad de los pacientes (52%) (Gisselbrecht C et al, 2010), en el trabajo de Feldman recibieron trasplante un 67% de los pacientes (Feldman et al, 2014), en el estudio de Vellenga, solamente en un 46% de los pacientes del grupo DHAP se realizó TAPH y en un 63% de los pacientes del grupo R-DHAP (p=.01) (Vellenga et al, 2008). Nuestros resultados en términos de eficacia, son mejores que los publicados en el resto de los estudios, en el estudio CORAL se alcanzaron unas tasas de RG del 63.5% (IC del 95%, 56.8% a 70.7%) en la rama de R-ICE y 62.8% (IC del 95%, 55.6% a 69.7%) en la rama de R-DHAP (Gisselbrecht C et al, 2010), en el estudio realizado por Matasar, se alcanzaron unas tasas de RG del 61% (Gisselbrecht C et al, 2010), en el fase I/II con bortezomib en combinación con gemcitabina en LDCGB en recaída o refractario y LTP, alcanzaron unas tasas de RG en torno al 24 %, (Evens AM et al, 2013), en el resto de los estudios se obtuvieron resultados similares a los nuestros, en un fase I/II con inotuzumab ozogamicin más R para LNH CD20+/CD22+, alcanzando tasas de RC en torno al 74%, (Fayad L et al, 2013), en el el fase 1 con vorinostat, rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido, en pacientes con linfomas en recaída, los pacientes alcanzaban unas RG del 70% (Budde LE et al, 2013), en un estudio multicéntrico fase 2 con 50 pacientes con LDCGB en 1ª recaída con Vinorelbine, alcanzando en torno a un 70% de RG (Gyan E et al, 2013), y en el EC fase I de Feldman y colaboradores, alcanzaron en torno a un 70% de RG (Feldman et al, 2014), en el estudio en el que se combina R-ICE con lenalidomida se obtuvieron una tasa de RG del 73%.

Podemos concluir que con la combinación de lenalidomida con R-ESHAP la DMT es de 10 mg de lenalidomida, es un régimen seguro ya que no provoca gran

toxicidad y es reversible y más eficaz que lenalidomida sola o en combinación con rituximab, bendamustina o R-ICE.

#### *4.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo*

En este ensayo clínico fase II, nos planteamos la hipótesis de sustituir en el régimen de acondicionamiento BEAM por bendamustina (BeEAM) en pacientes con linfoma agresivo de alto riesgo candidatos a trasplante, e investigar la eficacia y la toxicidad del esquema BeEAM seguido de TAPH. Hemos analizado la toxicidad de la combinación, y su eficacia de forma preliminar. Nuestro estudio es el segundo que utiliza como régimen de acondicionamiento BeEAM, y los resultados indican que este régimen de acondicionamiento es factible y se consiguen buenas respuestas en los pacientes con LDCGB refractario o en recaída.

La principales toxicidades relativas a regímenes tratados con BEAM o BEAC son digestiva (mucositis, náuseas, vómitos y diarrea), hepática, renal y incidencia de neumonitis intersticial en un porcentaje variable de los pacientes 16-64% (Alessandrino EP et al, 2000; Cao TM et al, 2000). La principal toxicidad del régimen de acondicionamiento BeEAM según nuestros resultados fue la digestiva (mucositis y diarrea), seguida de la toxicidad infecciosa respiratoria (2 de los episodios infecciosos causaron la muerte del paciente, el resto se recuperaron sin secuelas) y la toxicidad renal (reversible en todos los casos, pero clínicamente relevante, desarrollada en 5 pacientes), el desarrollo de toxicidad en otros órganos fue excepcional. En el estudio de Briones y Musso, la principal toxicidad fue la neutropenia febril y en segundo lugar mucositis (Briones et al, 2014; Musso et al, 2010). En el trabajo realizado por Visani y colaboradores, la principal toxicidad fue hepática (con elevación de enzimas hepáticas en el 44% de los pacientes), seguido de mucositis en un 35% de los pacientes, ellos utilizan el mismo régimen de acondicionamiento que nosotros hemos utilizado en nuestro trabajo, lo único que varía es la dosis de bendamustina, ellos usaron dosis ascendentes de la misma de 160 a 200mg/m<sup>2</sup> y nosotros una dosis estable de 200mg/m<sup>2</sup>), sin embargo Visani y colaboradores en su trabajo no observan toxicidad renal, ni cardiológica, ni hepática ni pulmonar, es un dato relevante, ya que en nuestros resultados, la toxicidad renal fue muy importante y relevante clínicamente. Sin

embargo, hay que destacar que, en nuestro estudio, 2 de los pacientes tenían antecedentes de insuficiencia renal con los tratamientos quimioterápicos previos y 3 de los pacientes recibieron una hidratación inadecuada. Por tanto, es posible que estos pacientes hubieran desarrollado insuficiencia renal con cualquier régimen de acondicionamiento que se hubiera empleado.

La MRT en nuestro trabajo antes del día +100 fue del 3.3%, similar a otros estudios 2.5-4% (Briones et al, 2014; Musso et al, 2010; Falzetti et al, 2012), sin embargo en el estudio de Visani y Kang tienen una MRT del 0% (Visani et al, 2011, Kang et al, 2010), y los regímenes que tienen BCNU como parte de su acondicionamiento tienen una MRT que varía de 0% a un 11%.

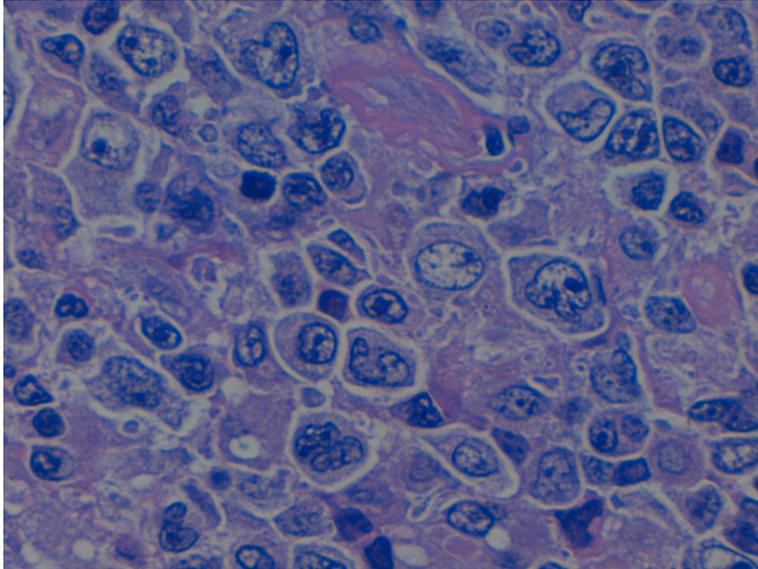
Con respecto al injerto, todos nuestros pacientes injertaron, excepto uno que falleció prematuramente, en el resto de los estudios todos los pacientes injertaron (Musso et al, 2010; Visani et al, 2011; Briones et al, 2014; Kim JG et al, 2007, Kang et al, 2010). La mediana de días en injertar plaquetas ( $>20 \times 10^9/l$ ) y neutrófilos ( $>0.5 \times 10^9/l$ ) en nuestro ensayo fue de 14 y 11 días respectivamente, similar a otros estudios en los que los regímenes de acondicionamiento empleados fueron distintos (Musso et al, 2010; Visani et al, 2011; Briones et al, 2014; Kim JG et al, 2007, Kang et al 2010).

También hemos analizado de forma preliminar la eficacia del régimen de acondicionamiento con BeEAM. La tasa de RC alcanzada fue elevada (73.3%), similar a la publicada por Visani et al (2011) con el mismo régimen y también similar a la alcanzada con otros regímenes (Falzetti F 2012, Kang et al, 2010; Musso et al, 2010). Sin embargo, aquellos pacientes que recibieron más de 2 líneas de tratamiento y/o que iban al TAPH en RP obtuvieron unas tasas de RC significativamente menores. Esta situación se corroboró con el análisis multivariante, donde la única variable con influencia pronóstica independiente sobre la RC post-TAPH fue la situación al TAPH. Por tanto, no parece que este régimen revierta el mal pronóstico que supone recibir el trasplante con enfermedad activa. Hay estudios con eficacia inferior a nuestros resultados con unas tasas de RG(RC) en torno al 80%(60%) (et al, 2014; Falzetti F 2012, Kang et al, 2010) y otros con una eficacia superior a nuestro estudio con tasas de RG(RC) en torno al 95%(80%) (Visani et al, 2011; Musso et al, 2010).

En los últimos años, varios estudios han incorporado Ibritumomab tiuxetano (Zevalin®) al régimen de acondicionamiento (Shimoni et al, 2012). En un estudio fase 2

realizado por el grupo GELTAMO, se consiguieron excelentes resultados con el esquema Z-BEAM en pacientes con linfoma B refractario o en recaída de muy mal pronóstico, muchos de ellos quimio-refractarios (Briones et al, 2014). En un estudio comparativo retrospectivo, el régimen Z-BEAM fue superior a los esquemas que asocian ICT) (Krishnan et al, 2012). Sin embargo, se ha realizado un estudio randomizado fase 3 que compara R-BEAM con tositumomab (Bexxar®)B-BEAM y no se encontraron diferencias significativas en la eficacia entre ambos regímenes. (Vose et al, 2013). Por tanto, son necesarios estudios randomizados para evaluar el papel del Zevalin en el régimen de acondicionamiento.

En conclusión, nuestros resultados muestran que el régimen de acondicionamiento BeEAM es factible y seguro en pacientes con linfomas agresivos. El perfil de toxicidad es similar al comúnmente observado en el contexto del TASPE, pero los pacientes con historia previa de IR deben ser estrechamente monitorizados por la posible aparición de IR, especialmente en aquellos pacientes con historia de fallo renal previo. Se necesita un seguimiento más largo para evaluar la toxicidad y la eficacia a largo plazo del régimen, aunque los pacientes que no están en RC antes del trasplante parece tener peores resultados.



*“Todo lo que podemos contar no necesariamente cuenta;  
todo lo que cuenta no necesariamente puede contarse”.*  
Albert Einstein

## **5.- Conclusiones**

## **5. CONCLUSIONES**

### **5.1. Evaluar la influencia de la administración previa de rituximab sobre los resultados del TAPH en pacientes con linfoma B agresivo.**

En pacientes con Linfoma B agresivo refractario o en recaída quimiosensible, el TAPH no es menos efectivo en pacientes pretratados con R desde la 1ª línea con respecto a aquellos nunca expuestos a R. Por tanto, el TAPH sigue siendo el tratamiento de referencia para estos pacientes en la era de Rituximab.

### **5.2. Investigar nuevos esquemas de tratamiento como regímenes de rescate o de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo**

#### ***5.2.1 Evaluación in vitro de nuevas combinaciones de fármacos***

Nuestros resultados in vitro realizados en células procedentes de pacientes tanto con SLP-B como SLP-T sugieren que la asociación de carmustina, tiotepa o bendamustina con EAM es una buena combinación, ya que se consigue una mayor citotoxicidad que con EAM solo, y la combinación de Lenalidomida con ESHAP, también es una buena combinación, porque consigue eliminar más células que ESHAP o lenalidomida por separado.

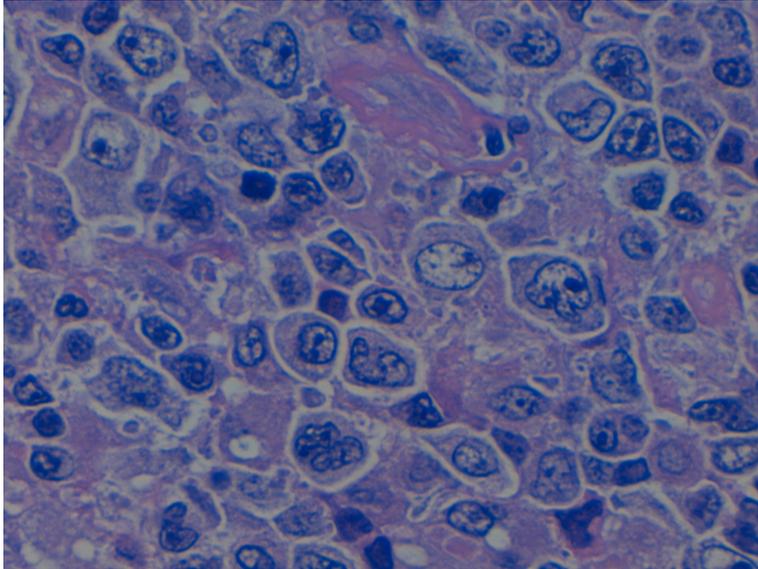
#### ***5.2.2. Ensayos clínicos con nuevas combinaciones de fármacos***

##### ***5.2.2.1. Evaluación del esquema lenalidomida-R-ESHAP como régimen de rescate pre-trasplante en pacientes con LDCGB en recaída o refractario***

La DMT de lenalidomida en combinación con R-ESHAP es de 10 mg. El régimen de LR-ESHAP tiene un perfil de seguridad aceptable y es eficaz en pacientes con LDCGB en recaída o refractario pretratados con R.

##### ***5.2.2.2. Evaluación del esquema Benda-EAM como régimen de acondicionamiento para TAPH en pacientes con linfoma agresivo***

El régimen de acondicionamiento BeEAM es factible y seguro en pacientes con linfomas agresivos. El perfil de toxicidad es similar al comúnmente observado en el contexto del TAPH, pero los pacientes con historia previa de IR deben ser estrechamente monitorizados por la posible aparición de IR, especialmente en aquellos pacientes con historia de fallo renal previo. Se necesita un seguimiento más largo para evaluar la toxicidad y la eficacia a largo plazo del régimen, aunque los pacientes que no están en RC antes del trasplante parece tener peores resultados.



*“Si no quieres perderte en el olvido tan pronto como estés muerto o corrompido, escribe cosas dignas de leerse, o haz cosas dignas de escribirse” Benjamin Franklin*

## **6.- Bibliografía**

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Alessandrino EP, Bernasconi P, Colombo A, et al. Pulmonary toxicity following carmustine-based preparative regimens and autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 25: 309-13
- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000 Feb 3; 403 (6769): 503-11
- Apperley J, Bacigalupo A, Friedrich W, et al. Principles of conditioning regimens. En: Apperley JF, Gluckman E, Gratwohl A (eds). *Blood and Marrow Transplant.* European School of Haematology: Paris 2000, pp. 92-109
- Armand P, Welch S, Kim HT, et al. Prognostic factors for patients with diffuse large B cell lymphoma and transformed indolent lymphoma undergoing autologous stem cell transplantation in the positron emission tomography era. *Br J Haematol.* 2013 Mar; 160(5): 608-617
- Armitage JO, Carbone PP, Connors JM, et al. Treatment-related myelodysplasia and acute leukemia in non Hodgkin's lymphomas patients. *J Clin Oncol.* 2003; 21: 897-906
- Ayala E. Hematopoietic cell transplantation for B-cell lymphoma: an update. *Cancer Control.* 2012 Jul;19(3):175-86
- Bains T, Chen AI, Lemieux A, et al. Improved outcome with busulfan, melphalan and thiotepa conditioning in autologous hematopoietic stem cell transplant for relapsed/refractory Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2014 Mar;55(3):583-7
- Baldissera RC, Nucci M, Vigorito AC, et al. Frontline therapy with early intensification and autologous stem cell transplantation versus conventional chemotherapy in unselected high-risk, aggressive non-Hodgkin's lymphoma patients: a prospective randomized GEMOH report. *Acta Haematol.* 2006; 115:15-21

- Ban-Hoefen M, Vanderplas A, Crosby-Thompson AL, et al. Transformed non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era: analysis of the NCCN outcomes database. *Br J Haematol.* 2013 Nov;163(4):487-95
- Barnes JA, Jacobsen E, Feng Y, et al. Everolimus in combination with rituximab induces complete responses in heavily pretreated diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2013 Apr;98(4):615-9
- Bartlett JB, Dredge K, and Dalglish AG. The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents. *Nat Rev Cancer* 2004. Apr; 4: 314-22
- Baz R, Walker E, Karam MA, et al. Lenalidomide and pegylated liposomal doxorubicin-based chemotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma: safety and efficacy. *Ann Oncol.* 2006 Dec; 17: 1766-71
- Bernstein SH, Burack WR. The incidence, natural history, biology, and treatment of transformed lymphomas. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009: 532-41
- Betticher DC, Martinelli G, Radford JA, et al. Sequential high dose chemotherapy as initial treatment for aggressive sub-types of non-Hodgkin lymphoma: results of the international randomized phase III trial (MISTRAL). *Ann Oncol.* 2006 Oct; 17 (10): 1546-52
- Blystad AK, Delabie J, Kvaløy S, et al. Infused CD34 cell dose, but not tumour cell content of peripheral blood progenitor cell grafts, predicts clinical outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma grade 3 treated with high-dose therapy. *Br J Haematol.* 2004 Jun; 125 (5):605-12
- Bolotin E, Smogorzewska M, Smith S, et al. Enhancement of thymopoiesis after bone marrow transplant by in vivo interleukin-7. *Blood.* 1996 Sep 1;88(5):1887-94
- Briones J, Novelli S, García-Marco JA, et al. Autologous stem cell transplantation after conditioning with yttrium-90 ibritumomab tiuxetan plus BEAM in refractory non-Hodgkin diffuse large B-cell lymphoma: results of a prospective, multicenter, phase II clinical trial. *Haematologica.* 2014 Mar;99(3):505-10

- Buadi FK, Micallef IN, Ansell SM, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for older patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2006 Jun;37(11):1017-22
- Budde LE, Zhang MM, Shustov AR, et al. A phase I study of pulse high-dose vorinostat (V) plus rituximab (R), ifosfamide, carboplatin, and etoposide (ICE) in patients with relapsed lymphoma. *Br J Haematol.* 2013 Apr;161(2):183-91
- Caballero MD, Amigo ML, Hernández JM, et al. Alternating mini-BEAM/ESHAP as salvage therapy for refractory non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Hematol.* 1997 Feb; 74 (2): 79-82
- Caballero MD, Pérez-Simón JA, Iriando A, et al. High-dose therapy in diffuse large cell lymphoma: results and prognostic factors in 452 patients from the GEL-TAMO Spanish Cooperative Group. *Annals of Oncology.* 2003 Jan; 14(1): 140-151
- Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood.* 2011 May 12; 117(19): 5019-32
- Cao TM, Negrin RS, Stockerl-Goldstein KE, et al. Pulmonary toxicity syndrome in breast cancer patients undergoing BCNU-containing high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2000; 6: 387-94
- Chanan-Khan A, Miller KC, Musial L, et al. Clinical efficacy of lenalidomide in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II study. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 5343-9
- Chanan-Khan AA & Cheson BD. Lenalidomide for the treatment of B-cell malignancies. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 1544-52
- Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al. Report of an International Workshop to Standardize Response Criteria for Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Clin Oncol.* 1999 Apr; 17(4): 1244
- Chiappella A1, Tucci A, Castellino A, et al. Lenalidomide plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone and rituximab is safe and

effective in untreated, elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a phase I study by the Fondazione Italiana Linfomi. *Haematologica*. 2013 Nov;98(11):1732-8.

- Chopra R, McMillan AK, Linch DC, et al. The place of high-dose BEAM therapy and autologous bone marrow transplantation in poor-risk Hodgkin's disease. A single-center eight-year study of 155 patients. *Blood*. 1993; 81:1137-45

- Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2002 Jan 24; 346(4): 235-42

- Coiffier B, Radford J, Bosly A, et al. A multicentre, phase II trial of ofatumumab monotherapy in relapsed/progressive diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2013 Nov; 163(3): 334-42

- Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 2010 Sep 23; 116(12):2040-5

- Conconi A, Ponzio C, Lobetti-Bodoni C, et al. Incidence, risk factors and outcome of histological transformation in follicular lymphoma. *Br J Haematol*. 2012 Apr;157(2):188-96

- Conde E, Sierra J, Iriando A, et al. Prognostic factors in patients who received autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. Report of 104 patients from the Spanish Cooperative Group GEL/TAMO. *Bone Marrow Transplant*. 1994 Aug; 14(2):279-86

- Corradini P, Tarella C, Zallio F, et al. Long-term follow-up of patients with peripheral T-cell lymphomas treated up-front with high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation. *Leukemia*. 2006 Sep; 20(9):1533-8

- Cortelazzo S, Rambaldi A, Rossi A, et al. Intensification of salvage treatment with high-dose sequential chemotherapy improves the outcome of patients with refractory or relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol*. 2001 Aug; 114 (2):333-41

- Crump M, Baetz T, Couban S, et al. Gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin in patients with recurrent or refractory aggressive histology B-cell non-Hodgkin lymphoma: a Phase II study by the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC-CTG). *Cancer*. 2004 Oct 15; 101 (8):1835-42

- Crump M, Kuruvilla J, Couban S, et al. Gemcitabine, dexamethasone, cisplatin (GDP) compared with dexamethasone, cytarabine, cisplatin (DHAP) salvage chemotherapy prior to autologous stem cell transplantation for relapsed and refractory aggressive lymphomas: final result of the phase III NCIC CTG study Ly12. *Hematological Oncology*. 2013, Volume 31, Issue S1: abs. 85

- d'Amore F, Relander T, Lauritzsen GF, et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol*. 2012 Sep 1;30(25):3093-9.

- Damaj G, Gressin R, Bouabdallah K, et al. Results from a prospective, open-label, phase II trial of bendamustine in refractory or relapsed T-cell lymphomas: the BENTLY trial. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):104-10.

- De Souza CA, Baldissera RC, Simoes BP, et al. Unselected High-Risk IPI NHL Presented a High Early Mortality Rate in a prospective Randomized Study Comparing Conventional Chemotherapy and High-Dose Escalation Followed by Autologous Bone Marrow Transplantation. *Blood*. 2001:391b

- Dearden CE, Johnson R, Pettengell R, et al. Guidelines for the management of mature T-cell and NK-cell neoplasms (excluding cutaneous T-cell lymphoma). *British Journal of Haematology*. 2011 May; 153 (4):451-85

- Dent SF, Eisenhauer EA. Phase I trial design: are new methodologies being put into practice? *Ann Oncol*. 1996 Aug; 7 (6): 561-6

- Derenzini E, Musuraca G, Fanti S, et al. Pretransplantation positron emission tomography scan is the main predictor of autologous stem cell transplantation outcome in aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2008 Nov 1; 113(9): 2496-503

- Dilhuydy MS, Lamy T, Foussard C, et al. Front line high dose Chemotherapy with rituximab showed excellent long term survival in adults with aggressive large B-

cell lymphoma: final results of a phase II GEOLAMS study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010 May; 16(5):672-7

- Dimopoulos M, Spencer A, Attal M, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2007; 357: 2123-32

- Dreger P, Gluckman E, Schmitz N. Source of Haematopoietic Stem Cells. En: Apperley JF, Gluckman E, Gratwohl A (eds). *Blood and Marrow Transplant.* European School of Haematology: Paris 2000, pp.68-90

- Eide MB, Lauritzsen GF, Kvalheim G, et al. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for patients with histologically transformed B-cell non-Hodgkin lymphomas. A Norwegian multi centre phase II study. *Br J Haematol.* 2011 Mar; 152(5):600-10

- El Gnaoui T, Dupuis J, Belhadj K, et al. Rituximab, gemcitabine and oxaliplatin: an effective salvage regimen for patients with relapsed or refractory B-cell lymphoma not candidates for high-dose therapy. *Ann Oncol.* 2007; 18:1363

- Elias Campo, Steven H. Swerdlow, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood.* 2011 May 12; 117(19): 5019-32

- Escalón MP, Liu NS, Yang Y, et al. Prognostic factors and treatment of patients with T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer.* 2006 May 15; 103 (10):2091-8.

- Evens AM, Rosen ST, Helenowski I, et al. A phase I/II trial of bortezomib combined concurrently with gemcitabine for relapsed or refractory DLBCL and peripheral T-cell lymphomas. *Br J Haematol.* 2013 Oct; 163(1):55-61

- Falzetti F1, Di Ianni M, Ballanti S, et al. High-dose thiotepa, etoposide and carboplatin as conditioning regimen for autologous stem cell transplantation in patients with high-risk non-Hodgkin lymphoma. *Clin Exp Med.* 2012 Sep; 12(3):165-71

- Fayad L1, Offner F, Smith MR, et al. Safety and clinical activity of a combination therapy comprising two antibody-based targeting agents for the treatment of non-Hodgkin lymphoma: results of a phase I/II study evaluating the immunoconjugate inotuzumab ozogamicin with rituximab. *J Clin Oncol.* 2013 Feb 10; 31(5):573-83

•Feldman T1, Mato AR, Chow KF, et al. Addition of lenalidomide to rituximab, ifosfamide, carboplatin, etoposide (RICER) in first-relapse/primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2014 Mar 25.

•Fenske TS, Hari PN, Carreras J, et al. Impact of Pre-transplant Rituximab on Survival after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Biol Blood and Marrow Transplantation*. 2009 Nov; 15(11): 1455-64

•Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 2005 Jun 20; 23 (18):4117-26

•Fitoussi O1, Belhadj K, Mounier N, et al. Survival impact of rituximab combined with ACVBP and upfront consolidation autotransplantation in high-risk diffuse large B-cell lymphoma for GELA. *Haematologica*. 2011 Aug;96(8):1136-43

•Freedman AS, Takvorian T, Anderson KC, et al. Autologous bone marrow transplantation in B-cell non-Hodgkin's lymphoma: very low treatment-related mortality in 100 patients in sensitive relapse. *J Clin Oncol*. 1990 May; 8(5):784-91

•Freedman AS, Takvorian T, Neuberger D, et al. Autologous bone marrow transplantation in poor-prognosis intermediate-grade and high-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma in first remission: a pilot study. *J Clin Oncol*. 1993 May; 11(5):931-6

•Frei&Canellos. Dose: a critical factor in cancer chemotherapy. *Am J Med*. 1980; 69: 585-94

•Friedberg JW, Cohen P, Chen L, et al. Bendamustine in patients with rituximab-refractory indolent and transformed non-Hodgkin's lymphoma: results from a phase II multicenter, single-agent study. *J Clin Oncol*. 2008 Jan; 26 (2): 204-10

•Gallamini A, Stelitano C, Calvi R, et al. Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U): a new prognostic model from a retrospective multicentric clinical study. *Blood*. 2004 Apr 1;103(7):2474-9

- Gandhi AK, Kang J, Naziruddin S, et al. Lenalidomide inhibits proliferation of Namalwa CSN.70 cells and interferes with Gab1 phosphorylation and adaptor protein complex assembly. *Leuk Res.* 2006 Jul;30(7):849-58
- Gaspard MH, Maraninchi D, Stoppa AM, et al. Intensive chemotherapy with high doses of BCNU, etoposide, cytosine arabinoside, and melphalan (BEAM) followed by autologous bone marrow transplantation: toxicity and antitumor activity in 26 patients with poor-risk malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1988; 22 (3):256-62
- Gianni A, Bregni M, Siena S, et al. High- dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation compared with MACOP-B in aggressive B cell lymphoma. *N Engl J Med.* 1997 May 1;336(18):1290-7
- Girouard C, Dufresne J, Imrie K, et al. Salvage chemotherapy with mini-BEAM for relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma prior to autologous bone marrow transplantation. *Ann Oncol.* 1997 Jul; 8 (7): 675-80
- Gisselbrecht C, Bolsy A, Lepage E, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in intermediate and high grade non-Hodgkin's lymphoma: a review. *Ann Oncol.* 1993; 4 Suppl 1: 7-13
- Gisselbrecht C, Fitoussi O, Belhadj K, et al. Survival impact of rituximab combined to ACVBP (R-ACVBP) in 209 poor risk diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients treated with upfront high dose consolidative autotransplantation (HDC): A GELA phase II study. *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2008; 112: 771
- Gisselbrecht C, Gaulard P, Lepage E, et al. Prognostic Significance of T-Cell Phenotype in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphomas. *Blood.* 1998 Jul 1; 92 (1):76-82.
- Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, et al. Salvage Regimens With Autologous Transplantation for Relapsed Large B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era. *J Clin Oncol.* 2010; 28(27): 4184-4190
- Gisselbrecht C, Lepage E, Molina T, et al. Shortened first-line high-dose chemotherapy for patients with poor-prognosis aggressive lymphoma. *J Clin Oncol.* 2002 May 15; 20(10):2472-9

• Glass B, Kloess M, Bentz M, et al. Dose escalated CHOP plus etoposide (MegaCHOEP) followed by repeated stem cell transplantation for primary treatment of aggressive high-risk non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2006 Apr 15; 107(8): 3058-64

• Glass B, Ziepert M, Reiser M, et al. High-dose therapy followed by autologous stem-cell transplantation with and without Rituximab for primary treatment of high-risk diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2010 Nov; 21(11):2255-61

• Gorin NC, Labopin M, Blaise D, et al. Higher incidence of relapse with peripheral blood rather than marrow as a source of stem cells in adults with acute myelocytic leukemia autografted during the first remission. *J Clin Oncol*. 2009 Aug 20; 27 (24):3987-93

• Greb A, Bohlius J, Schiefer D, et al. High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in the first line treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL) in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jan 23; (1)

• Gyan E, Damotte D, Courby S, et al. GOELAMS Group. High response rate and acceptable toxicity of a combination of rituximab, vinorelbine, ifosfamide, mitoxantrone and prednisone for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma in first relapse: results of the R-NIMP GOELAMS study. *Br J Haematol*. 2013 Jul;162(2):240-9

• Haioun C, Czuczman MS, Vose JM, et al. Efficacy and safety of Lenalidomide Oral Monotherapy in patients with relapsed or refractory Diffuse Large-B-Cell Lymphoma: Results from an International Study (NHL-003). *Haematologica*. 2009; 94: 395s

• Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, et al. Benefit of autologous bone marrow transplantation over sequential chemotherapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: updated results of the prospective study LNH87-2. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 1997 Mar; 15(3): 1131-7

• Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of the prospective LNH87-2 protocol--a groupe d'Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J Clin Oncol*. 2000 Aug; 18(16): 3025-30

• Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008. Jun 15; 111(12): 5446-56

• Hamlin PA, Zelenetz AD, Kewalramani T, et al. Age-adjusted International Prognostic Index predicts autologous stem cell transplantation outcome for patients with relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2003 Sep 15; 102(6):1989-96

• Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994 Sep 1; 84(5): 1361-92

• Haslett PA, Hanekom WA, Muller G, et al. Thalidomide and a thalidomide analogue drug costimulate virus-specific CD-8 + T cells in vitro. *J Infect Dis*. 2003; 187: 946-955.

• Hedeshima T, Chauhan D, Shima Y, et al. Thalidomide and its analogs overcome drug resistance of human multiple myeloma cells to conventional therapy. *Blood*. 2000; 96: 2943-2950.

• Hernández- Ilizaliturri FJ, Reddy N, Holkova B, et al. Immunomodulatory drug CC-5013 or CC-4047 and rituximab enhance antitumor activity in a severe combined immunodeficient mouse lymphoma model. *Clin Cancer Res*. 2005 Aug 15; 11 (16): 5984-92

• Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL, et al. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype. *Cancer*. 2011 Nov 15;117(22):5058-66

• Hiddemann W, Longo DL, Coiffier B, et al. Lymphoma classification--the gap between biology and clinical management is closing. *Blood*. 1996 Dec 1;88(11):4085-9

• Horning SJ, Chao NJ, Negrin RS, et al. High-dose therapy and autologous hematopoietic progenitor cell transplantation for recurrent or refractory Hodgkin's disease: analysis of the Stanford University results and prognostic indices. *Blood*. 1997; 89: 801-13

• Intragumtornchai T, Prayoonwiwat W, Numbenjapon T, et al. CHOP versus CHOP plus ESHAP and high-dose therapy with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for high-intermediate-risk and high-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma*. 2000 Dec; 1(3): 219-25

• J Jantunen E. Autologous stem cell transplantation beyond 60 years of age. *Bone Marrow Transplant*. 2006 Dt, Nousiainen T. BEAC or BEAM for high-dose therapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma? A single centre analysis on toxicity and efficacy. *Leuk Lymphoma*. 2003; 44: 1151-8

• Jacquy C, Sorée A, Lambert F, et al. A quantitative study of peripheral blood stem cell contamination in diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma: one-half of patients significantly mobilize malignant cells. *Br J Haematol*. 2000 Sep; 110 (3):631-7

• Jaffe ES, Harris NL, Stein H et al. Pathology and genetics of tumors of haematopoyetic and lymphoid tissues. Lyon: *IARC Press*, 2001

• Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008 Dec 1; 112(12): 4384-99

• Jais JP, Haioun C, Molina TJ, Rickman DS, et al. The expression of 16 genes related to the cell of origin and immune response predicts survival in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP and rituximab. *Leukemia*. 2008 Oct; 22(10): 1917-24

• Jantunen E, Canals C, Rambaldi A, et al. Autologous stem cell transplantation in elderly patients (> or =60 years) with diffuse large B-cell lymphoma: an analysis based on data in the European Blood and Marrow Transplantation registry. *Haematologica*. 2008 Dec;93(12):1837-42

• Jantunen E. Autologous stem cell transplantation beyond 60 years of age. *Bone Marrow Transplant*. 2006 Dec;38(11):715-20

• Jermann M, Jost LM, Taverna Ch, et al. Rituximab-EPOCH, an effective salvage therapy for relapsed, refractory or transformed B-cell lymphomas: results of phase II study. *Ann Oncol*. 2004; 15: 511-6

• Julie M. Vose, Philip J. Bierman, Fausto R. Loberiza, et al. Phase II Trial of 131-Iodine Tositumomab with High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell

Transplantation for Relapsed Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Jan; 19 (1): 123-8

- Kahl BS, Bartlett NL, Leonard JP, et al. Bendamustine is effective therapy in patients with rituximab-refractory, indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma: results from a Multicenter Study. *Cancer.* 2010 Jan; 116 (1): 106-14

- Kaiser U, Uebelacker I, Abel U, et al. Randomized study to evaluate the use of high dose therapy as part of primary treatment for “aggressive” lymphoma. *J Clin Oncol.* 2002 Nov 15; 20(22): 4413-9

- Kewalramani T, Zelenetz AD, Nimer SD, et al. Rituximab and ICE as second-line therapy before autologous stem cell transplantation for relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2004; 103: 3684-8

- Khouri IF, Saliba RM, Hosing C, et al. Concurrent administration of high-dose rituximab before and after autologous stem-cell transplantation for relapsed aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol.* 2005 Apr 1; 23 (10):2240-7

- Kim JG1, Sohn SK, Chae YS, et al. Multicenter study of intravenous busulfan, cyclophosphamide, and etoposide (i.v. Bu/Cy/E) as conditioning regimen for autologous stem cell transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2007 Nov;40(10):919-24

- Kluin-Nelemans HC, Zagonel V, Anastasopoulou A, et al. Standard chemotherapy with or without high-dose chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: randomized phase III EORTC study. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Jan 3; 93(1): 22-30

- Knop S, Gerecke C, Liebisch P, et al. Lenalidomide, adriamycin, and dexamethasone (RAD) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma: a report from the German Myeloma Study Group DSMM (Deutsche Studiengruppe Multiples Myelom). *Blood.* 2009 Apr 30; 113 (18): 4137-43

- Kobayashi Y, Hatta Y, Sugitani M, et al. Safety and efficacy of high-dose cyclophosphamide, etoposide and ranimustine regimen followed by autologous peripheral blood stem cell transplant for patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2014 Mar 17

- Koenigsmann M, Knauf W, Herold M, et al. Fludarabine and bendamustine in

refractory and relapsed indolent lymphoma--a multicenter phase I/II Trial of the east german society of hematology and oncology (OSHO). *Leuk Lymphoma*. 2004 Sep;45(9):1821-7.

- Krishnan A, Palmer JM, Tsai NC, et al. Matched-cohort analysis of autologous hematopoietic cell transplantation with radioimmunotherapy versus total body irradiation-based conditioning for poor-risk diffuse large cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Mar;18(3):441-50

- Kumar S, Giralt S, Stadtmauer EA, et al. International Myeloma Working Group. Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood*. 2009 Aug 27;114(9):1729-35

- Kyriakou C, Canals C, Goldstone A, et al. High-Dose Therapy and Autologous Stem-Cell Transplantation in Angioimmunoblastic Lymphoma: Complete Remission at Transplantation Is the Major Determinant of Outcome Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 2008, Jan 10; 26 (2):218-224

- Le Gouill S, Milpied NJ, Lamy T, et al. First-line rituximab (R) high-dose therapy (R-HDT) versus R-CHOP14 for young adults with diffuse large B-cell lymphoma: Preliminary results of the GOELAMS 075 prospective multicenter randomized trial. *J Clin Oncol*. 2011 (suppl; abstr 8003)

- LeBoit PE, Burg G, Weedon D, et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours. 3rd ed. Lyon, France: *IARC Press*; 2007

- Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2008 Nov 27; 359(22): 2313-23

- Leoni LM, Bailey B, Reifert J, et al. Bendamustine (Treanda) displays a distinct pattern of cytotoxicity and unique mechanistic features compared with other alkylating agents. *Clin Cancer Res*. 2008 Jan 1; 14 (1): 309-17.

- Linch DC, Winfield D, Goldstone AH, et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin` disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet*. 1993; 341: 1051-4

•Linch DC, Yung L, Smith P, et al. Final analysis of the UKLG LY02 trial comparing 6-8 cycles of CHOP with 3 cycles of CHOP followed by a BEAM autograft in patients <65 years with poor prognosis histologically aggressive NHL. *Br J Haematol.* 2010 Apr; 149(2):237-43

•Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS, et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J Clin Oncol.* 2013 Sep 10; 31(26):3272-8

•López A, Gutiérrez A, Palacios A, et al. GEMOX-R regimen is a highly effective salvage regimen in patients with refractory/relapsing diffuse large-cell lymphoma: a phase II study. *Eur J Haematol.* 2008 Feb; 80 (2):127-32

•Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, et al. Prediction of survival in diffuse large B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med.* 2004; 350 (18): 1828-1837

•M Musso, R Scalone, G Marcacci, et al. Fotemustine plus etoposide, cytarabine and melphalan (FEAM) as a new conditioning regimen for lymphoma patients undergoing auto-SCT: a multicenter feasibility study. *Bone Marrow Transplant.* 2010 Jul; 45 (

•Maloney DG (2012). Anti-CD20 Antibody Therapy for B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med.* 2012 May (24); 366(21): 2008-16

•Martelli M, Gherlinzoni F, De Renzo A, et al. Early autologous stem-cell transplantation versus conventional chemotherapy as front-line therapy in high-risk, aggressive non-Hodgkin's lymphoma: an Italian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol.* 2003 Apr 1; 21(7):1255-62

•Martelli M, Vignetti M, Zinzani PL, et al. High-dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation versus dexamethasone, cisplatin, and cytarabine in aggressive non-Hodgkin's lymphoma with partial response to front-line chemotherapy: a prospective randomized italian multicenter study. *J Clin Oncol.* 1996 Feb; 14(2):534-42

- Marti GE, Rawstron AC, Ghia P, *et al.* Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol.* 2005 Aug; 130(3): 325-32
- Martín A, Caballero MD, Pérez-Simón JA, *et al.* Results of autologous transplantation in lymphoma are not improved by increasing the dose of etoposide in the BEAM regimen: a single-centre sequential-cohort study. *Bone Marrow Transplant.* 2004 Oct; 34 (8): 675-82
- Martin A, Conde E, Arnan M, *et al.* R-ESHAP as salvage therapy for patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: the influence of prior exposure to rituximab on outcome. A GEL/TAMO study. *Haematologica.* 2008 Dec; 93(12): 1829-36
- Matasar MJ, Czuczman MS, Rodriguez MA, *et al.* Ofatumumab in combination with ICE or DHAP chemotherapy in relapsed or refractory intermediate grade B-cell lymphoma. *Blood.* 2013 Jul 25;122(4):499-506
- Matthew J. Matasar, Myron S. Czuczman, Maria Alma Rodriguez, *et al.* Ofatumumab in combination with ICE or DHAP chemotherapy in relapsed or refractory intermediate grade B-cell lymphoma. *Blood.* 2013. Jul; 122(4): 499-506
- Mercadal S, Briones J, Xicoy B, *et al.* Intensive chemotherapy (high-dose CHOP/ESHAP regimen) followed by autologous stem-cell transplantation in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2008 May; 19 (5):958-63
- Mey UJ, Orlopp KS, Flieger D, *et al.* Dexamethasone, high-dose cytarabine, and cisplatin in combination with rituximab as salvage treatment for patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Invest.* 2006; 24:593-600
- Mills W, Chopra R, McMillan A, *et al.* BEAM chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 1995; 13: 588-95
- Mills W, Strang J, Goldstone AH, *et al.* Dose intensification of etoposide in the BEAM ABMT protocol for malignant lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 1995; 17: 263-70

•Milpied N, Deconinck E, Gaillard F, et al. Initial treatment of aggressive lymphoma with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell support. *N Engl J Med*. 2004 Mar 25; 350(13): 1287-95.

•Milpied N, Legouill S, Lamy T, et al. No benefits of first line rituximab (R)-high-dose therapy (R-HDT) over R-CHOP14 for young adults with diffuse large B-cell lymphoma. Preliminary results of the GOELAMS 075 prospective multicentre randomized trial. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2010; 116: 685

•Mink SA, Armitage JO. High-dose therapy in lymphomas: a review of the current status of allogenic and autologous stem cell transplantation in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Oncologist*. 2001; 6: 247-56

•Mink SA, Armitage JO. High-dose therapy in lymphomas: a review of the current status of allogenic and autologous stem cell transplantation in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Oncologist*. 2001;5:247-56

•Moore S, Peggs K, Thomson K, et al. Autologous stem cell transplantation remains beneficial for patients relapsing after R-CHOP chemotherapy and who respond to salvage chemotherapy. *Br J Haematol*. 2012 Jan; 156(1): 142-3

•Moskowitz CH, Bertino JR, Glassman JR, et al. Ifosfamide, carboplatin, and etoposide: a highly effective cytoreduction and peripheral-blood progenitor-cell mobilization regimen for transplant-eligible patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 1999; 17: 3776-85

•Mounier N, Canals C, Gisselbrecht C, et al. High-Dose Therapy and Autologous Stem Cell Transplantation in First Relapse for Diffuse Large B Cell Lymphoma in the Rituximab Era: An Analysis Based on Data from the European Blood and Marrow Transplantation Registry. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 May; 18(5): 788-93

•Mounier N, Gisselbrecht C, Brière J, et al. All aggressive lymphoma subtypes do not share similar outcome after front-line autotransplantation: a matched-control analysis by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Ann Oncol*. 2004 Dec; 15 (12):1790-7

•Murata M, Nishida T, Haneda M, et al. A new preconditioning regimen with melphalan, busulphan and total body irradiation followed by low-dose immunosuppressant in allogeneic haemopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 1999 Jun; 105 (3):799-802

•Musso M, Scalone R, Marcacci G, et al. Fotemustine plus etoposide, cytarabine and melphalan (FEAM) as a new conditioning regimen for lymphoma patients undergoing auto-SCT: a multicenter feasibility study. *Bone Marrow Transplant.* 2010 Jul; 45 (7): 1147-53

•Nademanee A, Schmidt GM, O'Donnell MR, et al. High-dose chemoradiotherapy followed by autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy during first complete remission in adult patients with poor-risk aggressive lymphoma: a pilot study. *Blood.* 1992 Sep 1; 80 (5):1130-4

•Noguchi M, Yi H, Rosenblatt HM, et al. Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell.* 1993 Apr 9;73(1):147-57

•Nowakowski GS, LaPlant B, Habermann TM, et al. Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial chemotherapy for aggressive B-cell

•Ohmachi K, Niitsu N, Uchida T, et al. Multicenter phase II study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2013 Jun 10;31(17):2103-9

•Oliansky DM, Czuczman M, Fisher RI, et al. The Role of Cytotoxic Therapy with Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Treatment of Diffuse Large B Cell Lymphoma: Update of the 2001 Evidence-Based Review. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Jan;17(1): 18-9

•Olivieri A, Santini G, Patti C, Chisesi T, et al. Upfront high-dose sequential therapy (HDS) versus VACOP-B with or without HDS in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: long-term results by the NHLCSG. *Ann Oncol.* 2005 Dec; 16(12): 1941-8

•Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen B, et al. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood.* 1996 Oct 1; 88 (7):2775-9

•Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, et al. Clinicopathological definition of Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Semin Oncol.* 2003 Apr; 30(2): 110-5

•Palumbo A, Falco P, Corradini P, et al. Melphalan, prednisone, and lenalidomide treatment for newly diagnosed myeloma: a report from the GIMEMA. Italian Multiple Myeloma Network. *J Clin Oncol.* 2007 Oct 1; 25 (28): 4459-65

•Petersen FB, Appelbaum FR, Hill R, et al. Autologous marrow transplantation for malignant lymphoma: a report of 101 cases from Seattle. *J Clin Oncol* 1990; Apr; 8 (4): 638-47.

•Pettengell R, Coiffier B, Narayanan G, et al. Pixantrone dimaleate versus other chemotherapeutic agents as a single-agent salvage treatment in patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma: a phase 3, multicentre, open-label, randomised trial. *Lancet Oncol.* 2012 Jul;13(7):696-706

•Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trümper L, et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol.* 2011 Oct;12(11): 1013-22

•Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20-B-cell lymphomas: A randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol.* 2008 Feb; 9(2):105-16

•Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomized controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group". *Lancet Oncol.* 2006 May; 7(5): 379-91

• Philip et al, 1991;

•Philip T, Armitage JO, Spitzer G, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation after failure of conventional chemotherapy in adults with intermediate-grade or high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1987 Jun 11; 316 (24):1493-8

• Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al. Autologous Bone Marrow Transplantation as Compared with Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 1995 Dec 7; 333(23): 1540-5

• Phillips GL, Fay JW, Herzig RH, et al. The treatment of progressive non-Hodgkin's lymphoma with intensive chemoradiotherapy and autologous marrow transplantation. *Blood.* 1990 Feb 15; 75 (4):831-8

• Phillips T, Chauvin F, Armitage J, et al. Parma international protocol: pilot study of DHAP followed by involved-field radiotherapy and BEAC with autologous bone marrow transplantation. *Blood.* 1991; 77: 1587-92

• Prince HM, Imrie K, Crump M, et al. The role of intensive therapy and autologous blood and marrow transplantation for chemotherapy-sensitive relapsed and primary refractory non-Hodgkin's lymphoma: identification of major prognostic groups. *Br J Haematol.* 1996; 92: 880-9

• Rasschaert M, Schrijvers D, Van den Brande J, et al. A phase I study of bendamustine hydrochloride administered day 1+2 every 3 weeks in patients with solid tumours. *Br J Cancer.* 2007 Jun 4;96(11):1692-8

• Rasschaert M, Schrijvers D, Van den Brande J, et al. A phase I study of bendamustine hydrochloride administered once every 3 weeks in patients with solid tumors. *Anticancer Drugs.* 2007 Jun;18(5):587-95

• Rawstron AC, Green MJ, Kuzmicki A, et al. Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of "indolent" chronic lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. *Blood.* 2002 Jul 15;100(2):635-9

• Récher C, Coiffier B, Haioun C, et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet.* 2011 Nov 26;378(9806):1858-67

• Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E, et al. Autologous Stem-Cell Transplantation As First-Line Therapy in Peripheral T-Cell Lymphomas: Results of a Prospective Multicenter Study. *J Clin Oncol.* 2009 Jan 1; 27 (1):106-13

•Richardson PG, Schlossman RL, Weller E, et al. Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood*. 2002 Nov 1; 100 (9): 3063-7

•Robinson KS, Williams ME, van der Jagt RH, et al. Phase II multicenter study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed indolent B-cell and mantle cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2008 Sep 20; 26 (27): 4473-9

•Rodríguez J, Caballero MD, Gutiérrez A, et al. *Annals of Oncology*. 2003; Dec 14 (12):1768-75

•Rodríguez J, Conde E, Gutiérrez A, et al. Frontline autologous stem cell transplantation in high-risk peripheral T-cell lymphoma: a prospective study from The Gel-Tamo Study Group. *Eur J Haematol*. 2007 Jul; 79 (1):32-8

•Rodríguez MA, van Besien K, Hagemester FB, et al. Randomized comparison of frontline alternating chemotherapy (ATT) versus brief induction followed by autologous stem cell transplantation (ASCT) for aggressive lymphomas. *Blood*. 2003; Vol. 102, issue 11

•Rummel MJ, Al-Batran SE, Kim SZ, et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005 May 20; 23 (15): 3383-9

•Salar A, Sierra J, Grandarillas M, et al; GEL/TAMO Spanish Cooperative Group. Autologous stem cell transplantation for clinically aggressive non-Hodgkin's lymphoma: the role of preparative regimens. *Bone Marrow Transplant*. 2001; 27: 405-12

•Santini G, Salvagno L, Leoni P, et al. VACOP-B versus VACOP-B plus autologous bone marrow transplantation for advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma: results of a prospective randomized trial by the non-Hodgkin's Lymphoma Cooperative Study Group. *J Clin Oncol*. 1998 Aug; 16(8): 2796-802

•Schmitz N, Nickelsen M, Ziepert M, et al. Conventional chemotherapy (CHOEP-14) with rituximab or high-dose chemotherapy (MegaCHOEP) with rituximab for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: an open-label, randomised, phase 3 trial (DSHNHL 2002-1). *Lancet Oncol*. 2012 Dec;13(12):1250-9

- Schmitz N, Trümper L, Ziepert M, et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2010 Nov 4; 116 (18):3418-25
- Schot BW, Zijlstra JM, Sluiter WJ, et al. Early FDG-PET assessment in combination with clinical risk scores determines prognosis in recurring lymphoma. *Blood*. 2007 Jan 15;109(2): 486-91
- Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. 2007 Mar 1; 109(5): 1857-61
- Shimoni A, Avivi I, Rowe JM, et al. A randomized study comparing yttrium-90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin) and high-dose BEAM chemotherapy versus BEAM alone as the conditioning regimen before autologous stem cell transplantation in patients with aggressive lymphoma. *Cancer*. 2012 Oct 1;118(19):4706-14
- Shipp MA, Abeloff MD, Antman KH, et al. International Consensus Conference on High-Dose Therapy with Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphomas: report of the jury. *J Clin Oncol*. 1999 Jan; 17(1):423-9
- Shipp MA, Harrington DP; Anderson JR, et al. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med*. 1993; 329 (14): 987-994
- Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med*. 2002 Jan; 8(1):68-74
- Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: who has "high risk" disease? *Blood*. 1994 Mar 1; 83(5):1165-73
- Simon A, Peoch M, Casassus P, et al. Upfront VIP-reinforced-ABVD (VIP-rABVD) is not superior to CHOP/21 in newly diagnosed peripheral T cell lymphoma.

Results of the randomized phase III trial GOELAMS-LTP95. *Br J Haematol.* 2010 Oct; 151 (2):159-66

- Singhal S, Mehta J, Desikan R, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 1999 Nov 18;341(21):1565-71

- Smith SD, Bolwell BJ, Rybicki LA, et al. Comparison of outcomes after auto-SCT for patients with relapsed diffuse large B-cell lymphoma according to previous therapy with rituximab. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Feb; 46(2): 262-6

- Stiff PJ, Unger JM, Cook J, et al. Autologous Transplantation as Consolidation for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 2013 Oct 31; 369 (18): 1681-90

- Strehl J, Mey U, Glasmacher A, et al. High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation as first-line therapy in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis. *Haematologica.* 2003 Nov; 88(11):1304-15

- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: *IARC Press*; 2008

- Tarella C, Zanni M, Di Nicola M, et al. Prolonged survival in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma following front-line treatment with rituximab-supplemented, early-intensified chemotherapy with multiple autologous hematopoietic stem cell support: a multicenter study by GITIL (Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi). *Leukemia.* 2007 Aug 2;21(8):1802-11

- Tarrella C, Zanni M, Magni M, et al. Rituximab improves the efficacy of High-Dose Chemotherapy with Autograft for High –Risk Follicular and Diffuse Large B-Cell Lymphoma. A multicenter Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi Survey. *J Clin Oncol.* 2008 Jul 1;26 (19):3166-75

- Terasawa T, Dahabreh IJ, Nihashi T. Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in Response Assessment Before High-Dose Chemotherapy for Lymphoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Oncologist.* 2010; 15:750-759

- Thierry Philip, M.D., Cesare Guglielmi, M.D., Anton Hagenbeek, M.D., et al. Autologous Bone Marrow Transplantation as Compared with Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 1995 Dec 7; 333 (23):1540-5
- Vaidya R, Witzig TE. Prognostic factors for diffuse large B-cell lymphoma in the R(X)CHOP era. *Ann Oncol.* 2014 Mar 13
- Van Bessien K. Trasplante Alogénico y autólogo de médula ósea y sangre periférica en pacientes con linfoma no Hodgkin. *Hematol Citocinas Inmunoter Ter Cel.* 1999; 2: 280-307
- Velasquez WS, Cabanillas F, Salvador P, et al. Effective salvage therapy for lymphoma with cisplatin in combination with high-dose Ara-C and dexamethasone (DHAP). *Blood.* 1988 Jan; 71 (1): 117-22
- Velasquez WS, McLaughlin P, Tucker S, et al. ESHAP an effective chemotherapy regimen in refractory and relapsing lymphoma: a 4-year follow-up study. *J Clin Oncol.* 1994; 12 (6): 1169-76
- Vellenga E, van Agthoven M, Croockewit AJ, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with relapsed lymphoma results in accelerated haematopoietic reconstitution, improved quality of life and cost reduction compared with bone marrow transplantation: the Hovon 22 study. *Br J Haematol.* 2001 Aug; 114 (2):319-26
- Vellenga E, van Putten WL, van 't Veer MB, et al. Rituximab improves the treatment results of DHAP-VIM-DHAP and ASCT in relapsed/progressive aggressive CD20+ NHL: a prospective randomized HOVON trial. *Blood.* 2008 Jan 15;111(2):537-43
- Villa D, Crump M, Panzarella T, et al. Autologous and allogeneic stem-cell transplantation for transformed follicular lymphoma: a report of the Canadian blood and marrow transplant group. *J Clin Oncol.* 2013 Mar 20;31(9):1164-71
- Visani G, Malerba L, Stefani PM, et al. BeEAM (bendamustine, etoposide, cytarabine, melphalan) before autologous stem cell transplantation is safe and effective for resistant/relapsed lymphoma patients. *Blood.* 2011 Sep 22; 118 (12):3419-25

- Vitolo U, Chiappella A, Bellò M, et al. The Outcome of Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) Treated with Rituximab-CHOP (R-CHOP) Is Not Predicted by 18-FDG-Positron Emission Tomography/Computerized Tomography (PET) Performed at Intermediate In-Course Evaluation, but Only by PET Assessed at the End of Therapy. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2010; 116: 2819

- Vitolo U, Liberati AM, Deliliers GM, et al. A multicenter randomized trial by the Italian Lymphoma Intergroup (ILI) comparing high dose chemotherapy (HDC) with autologous stem cell transplantation (ASCT) vs intensified chemotherapy megaCEOP in high risk diffuse large cell lymphoma (DLCL): no difference in outcome and toxicity. The Italian Lymphoma Intergroup. Italy. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2001; 98: 725

- Vose J, Armitage J, Weisenburger D; International T-Cell Lymphoma Project. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2008 Sep 1;26(25):4124-30.

- Vose J, Sneller V. Outpatient regimen rituximab plus ifosfamide, carboplatin and etoposide (R-ICE) for relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2003; 14 Suppl 1:i17-20

- Vose JM, Armitage JO. Bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphomas. En: *margrath IT* (ed). The non Hodgkins Lymphomas. 2<sup>nd</sup> edition Arnold: Londres 1997, pp: 723-37

- Vose JM, Bierman PJ, Loberiza FR, et al. Phase II trial of 131-Iodine tositumomab with high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation for relapsed diffuse large B cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Jan;19(1):123-8

- Vose JM, Carter S, Burns LJ, et al. Phase III randomized study of rituximab/carmustine, etoposide, cytarabine, and melphalan (BEAM) compared with iodine-131 tositumomab/BEAM with autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma: results from the BMT CTN 0401 trial. *J Clin Oncol*. 2013 May 1; 31 (13):1662-8

- Vose JM, Habermann TM, Czuczman MS, et al. Single-agent lenalidomide is active in patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma who received prior stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2013 Sep;162(5):639-47
- Vose JM, Sharp G, Chan WC, et al. Autologous transplantation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a randomized trial evaluating graft source and minimal residual disease. *J Clin Oncol*. 2002 May 1; 20 (9):2344-52
- Vose JM, Zhang MJ, Rowlings PA, et al. Autologous transplantation for diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma in patients never achieving remission: a report from the Autologous Blood and Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol*. 2001 Jan 15; 19 (2):406-13
- Wang J, Zhan P, Ouyang J, et al. Standard chemotherapy is superior to high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation on overall survival as the first-line therapy for patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis. *Med Oncol*. 2011 Sep; 28(3):822-8
- Wang M, Fayad L, Hagemester F, et al. A phase I/II study of lenalidomide (Len) in combination with rituximab (R) in relapsed/refractory mantle cell lymphoma (MCL) with early evidence of efficacy. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 448s
- Wang M, Fowler N, Wagner-Bartak N, et al. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. *Leukemia*. 2013 Sep;27(9):1902-9.
- Weber DM, Chen C, Niesvizky R, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N Engl J Med*. 2007 Nov 22; 357 (21): 2133-42
- Weide R, Hess G, Köppler H, et al. Low Grade Lymphoma Study Group. High anti-lymphoma activity of bendamustine / mitoxantrone / rituximab in rituximab pretreated relapsed or refractory indolent lymphomas and mantle cell lymphomas. A multicenter phase II study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *Leuk Lymphoma*. 2007; 48 (7): 1299-306
- Weidmann E, Kim SZ, Rost A, et al. Bendamustine is effective in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2002 Aug; 13 (8): 1285-9
- Wheeler C, Antin JH, Churchill WH, et al. Cyclophosphamide, carmustine, and

etoposide with autologous bone marrow transplantation in refractory Hodgkin's disease and non Hodgkin's lymphoma: a dose-finding study. *J Clin Oncol.* 1990; 8: 648-56

- Wheeler C, Strawderman M, Ayash L, et al. Prognostic factors for treatment outcome in autotransplantation of intermediate-grade and high-grade non Hodgkin's lymphoma with cyclophosphamide, carmustine, and etoposide. *J Clin Oncol.* 1993; 11: 1085-91

- Wiernik PH, Lossos IS, Tuscano JM, et al. Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2008 Oct 20; 26 (30): 4952-7

- Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood.* 2005; 105(10): 3768-3785

- Williams CD, Harrison CN, Lister TA, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell support for chemosensitive transformed low-grade follicular non-Hodgkin's lymphoma: a case-matched study from the European Bone Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol.* 2001 Feb 1; 19 (3): 727-35

- Wirk B, Fenske TS, Hamadani M et al. Outcomes of hematopoietic cell transplantation for diffuse large B cell lymphoma transformed from follicular lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Jul;20(7):951-9

- Witzig TE, Wiernik PH, Moore T, et al. Lenalidomide Oral Monotherapy Produces Durable Responses in Relapsed or Refractory Indolent Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2009 Nov 10; 27 (32): 5404-9

- Witzig TE1, Vose JM, Zinzani PL, et al. An international phase II trial of single-agent lenalidomide for relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 2011 Jul;22(7):1622-7

- Zhang LH, Kosek J, Wang M, et al. Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. *Br J Haematol.* 2013 Feb;160(4):487-502

• Zhang LH, Schafer PH, Muller G, et al. Direct inhibitory effects of lenalidomide on the proliferation and VEGF production on non-Hodgkin lymphoma cells are associated with increased SPARC expression. *Blood*. 2008; 112: (suppl: abstr 2612)

• Zinzani PL , Pellegrini C, Gandolfi L, et al. Combination of lenalidomide and rituximab in elderly patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: a phase 2 trial. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2011 Dec;11(6):462-6

• Zulian GB, Selby P, Milan S, et al. High dose melphalan, BCNU and etoposide with autologous bone marrow transplantation for Hodgkin`s disease. *Br J Cancer*. 1989; 59: 631-5