



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia

Dottorato di Ricerca in Terapie Avanzate Biomediche e Chirurgiche

XXXI ciclo

EFFICACIA E SICUREZZA DI BENDAMUSTINA AD ALTE DOSI IN ASSOCIAZIONE A BRENTUXIMAB VEDOTIN NEI PAZIENTI CON LINFOMA DI HODGKIN RECIDIVATO/REFRATTARIO

Dottoranda:

Dott.ssa Roberta Della Pepa

Docente Tutor:

Ch.mo Prof. Fabrizio Pane

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	4
1.1 Il linfoma di Hodgkin.....	4
1.1.1 Eziologia, patogenesi, classificazione istologica e biologia	5
1.1.2 Clinica, diagnosi, stadiazione e prognosi.....	14
1.2 La valutazione della risposta e il ruolo della PET/TC	18
1.3 Le terapie di prima linea negli stadi precoci e avanzati.....	20
1.4 Il linfoma di Hodgkin refrattario e/o recidivato	24
1.4.1 Schemi di terapia di seconda linea e trapianto autologo di midollo	24
1.4.2 Il fallimento dell'autotrapianto e le terapie di salvataggio.....	27
2. OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	33
3. MATERIALI E METODI.....	34
3.1 Pazienti: criteri di eleggibilità	34
3.2 Disegno dello studio	35
3.3 Endpoints e analisi statistica.....	36
4. RISULTATI.....	37
4.1 Caratteristiche della coorte di pazienti.....	37
4.2 Valutazione di efficacia.....	40
4.3 Tossicità, riduzione della dose e rinvii del trattamento	43
5. DISCUSSIONE	46
6. CONCLUSIONI.....	52
7. BIBLIOGRAFIA	53

INDICE DELLE FIGURE

<i>Figura 1. Curva di distribuzione bimodale dell'incidenza di LH nei paesi occidentali</i>	<i>4</i>
<i>Figura 2. Classificazioni anatomopatologiche del Linfoma di Hodgkin</i>	<i>7</i>
<i>Figura 3. Classificazione del linfoma di Hodgkin WHO 2016.....</i>	<i>7</i>
<i>Figura 4. Interazioni tra cellula RS e microambiente tumorale.....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 5. Interazioni tra cellula RS e linfociti T del microambiente tumorale</i>	<i>11</i>
<i>Figura 6. Vie di segnale attivate dal CD30.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 7. Strategia terapeutica per stadi I e II sfavorevoli senza bulky.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 8. Strategia terapeutica per stadi I e II sfavorevoli con bulky.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 9. Struttura del Brentuximab Vedotin.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 10. Meccanismo d'azione del Brentuximab Vedotin.</i>	<i>29</i>
<i>Figura 11. Bendamustina cloridrato</i>	<i>31</i>
<i>Figura 12. Progression Free Survival.....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 13. Bridge to transplant.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 14. Swimmers plot.....</i>	<i>42</i>

1. INTRODUZIONE

1.1 Il linfoma di Hodgkin

Il linfoma di Hodgkin rappresenta il 10% dei linfomi e lo 0.6% di tutte le neoplasie diagnostiche nel mondo occidentale [1]. L'incidenza in Europa risulta essere approssimativamente di 2.4 casi su 100000 persone con una curva di distribuzione per età che mostra un tipico andamento bimodale [2]. Nei paesi economicamente sviluppati come gli Stati Uniti e l'Europa il primo picco di incidenza si registra in giovane età (circa 20 anni) seguito da un secondo picco in tarda età (65 anni).

Questa distribuzione risulta parzialmente modificata nei paesi in via di sviluppo dove si registra un primo picco di incidenza nei bambini maschi, tassi relativamente bassi nella seconda decade di vita e un secondo picco oltre i 60 anni [3].

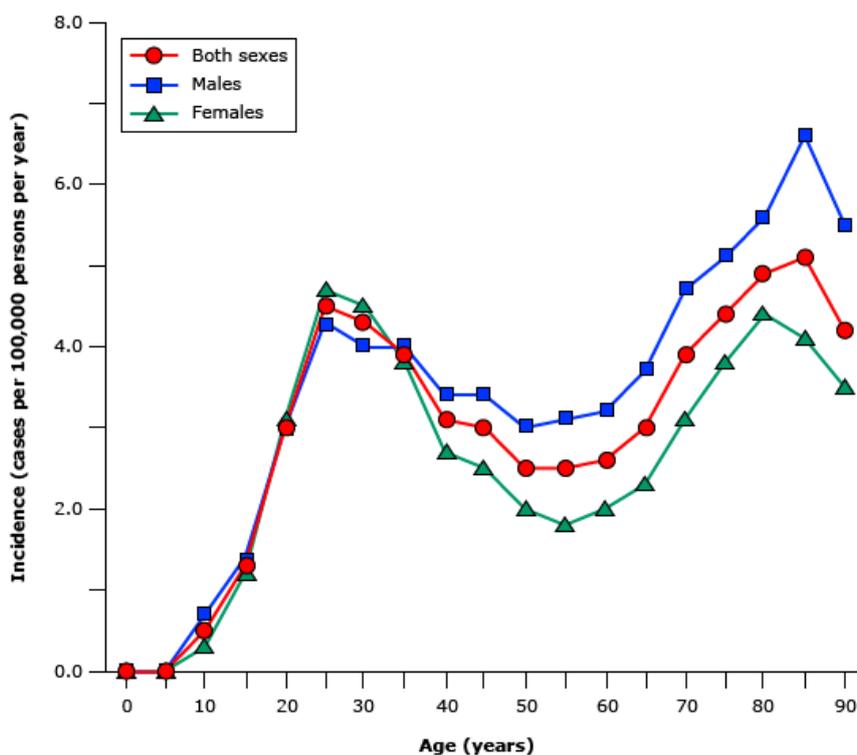


Figura 1. Curva di distribuzione bimodale dell'incidenza di LH nei paesi occidentali [4]

1.1.1 Eziologia, patogenesi, classificazione istologica e biologia

L'eziologia del linfoma di Hodgkin non è del tutto compresa. Osservazioni epidemiologiche e di biologia molecolare dimostrano in circa il 50% dei casi di linfoma di Hodgkin l'integrazione del genoma del virus di Epstein-Barr, dato che porta ad ipotizzare una correlazione patogenetica tra infezione ed insorgenza di LH. È possibile che sia proprio la presenza di questo virus nelle cellule neoplastiche che determina l'attivazione costitutiva del pathway di NF-κB causando l'evasione di tali cellule dal processo di apoptosi [5]. Le cellule neoplastiche EBV positive esprimono un pattern di marcatori virali come LMP1, LMP2a e EBNA1. Invece nei pazienti EBV negativi si è ipotizzata la presenza di un secondo agente infettivo capace di fungere da agente causativo senza però che questo sia stato rilevato [6].

E' stata inoltre descritta una familiarità per la malattia. Il rischio stimato di contrarre la malattia per i familiari dei pazienti affetti, è da tre a nove volte maggiore, ciò conduce all'ipotesi che un'esigua proporzione di casi (5%) sia la conseguenza di un disordine ereditario. Purtroppo fino ad ora nessun meccanismo ereditario è stato identificato. Risulta comunque consistente l'associazione tra certi alplotipi HLA e il rischio di LH, specialmente HLA-A1 e in misura minore HLA-B5,HLA-B8 E JLA-B18 [7].

Le immunodeficienze sono, invece, fattori di rischio ben dimostrati in letteratura. Per esempio, i pazienti HIV positivi hanno un rischio maggiore di sviluppare il linfoma di Hodgkin soprattutto il sottotipo Depleto in Linfociti (LD) e Cellularità Mista (MC). L'incidenza del Linfoma classico è approssimativamente 50 per 100.000 persone all'anno tra i pazienti HIV positivi, da 5 a 20 volte superiore alla popolazione sana. Il linfoma a predominanza linfocitaria (NLPHL) non ha un' associazione con l' infezione da HIV sebbene siano stati riportati alcuni casi. Il comportamento clinico, inoltre, è differente, mostrandosi più aggressivo e con prognosi peggiore richiedendo una protocollo terapeutico specifico [8].

Per quanto concerne l'anatomia patologica, il linfoma di Hodgkin è caratterizzato da un infiltrato eterogeneo di cellule giganti multinucleate in un background infiammatorio.

Il milieu reattivo, che può formare fino al 99% della popolazione esaminata, è costituito da piccoli linfociti, istiociti, neutrofili, eosinofili, plasmacellule e fibroblasti in differenti proporzioni in base al sottotipo istologico di linfoma. Questo background infiammatorio è sostenuto da una produzione autocrina e/o paracrina di citochine come IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, FGF, TGF, TNF-α. Il rilascio di queste molecole è responsabile per la maggior parte dei sintomi riportati dai pazienti affetti dal linfoma di Hodgkin ed inoltre fornisce al clone neoplastico la capacità di sfuggire al controllo di crescita e di immunosorveglianza [9].

La presenza di diversi tipi di cellule reattive, in particolare il numero di macrofagi infiltranti e di eosinofili può, secondo gli ultimi studi, avere un valore prognostico indipendente.

Il German Hodgkin Study Group (GHSg) ha evidenziato, infatti, come l'eosinofilia, intesa come percentuale di eosinofili nel tessuto linfomatoso superiore al 5%, sia associata ad una prognosi peggiore tra i pazienti con diagnosi di LH classico tipo sclerosi nodulare [10].

Differenti classificazioni si sono susseguite nel corso del tempo per definire la diagnosi istologica del LH (Figura 2) [11]. Oggi la classificazione WHO del 2008 [12], revisionata nel 2016, riconosce due tipi istologici di linfoma di Hodgkin: quello a predominanza linfocitaria nodulare (NLPHL) che include circa il 5% del totale dei casi e il LH classico che racchiude il restante 95%. All'interno della forma classica sono stati identificati diversi sottogruppi sulla base delle caratteristiche morfologiche: sclerosi nodulare (NSCHL), cellularità mista (MCCHL), deplezione linfocitaria (LDCHL) e ricco in linfociti (LRCHL).

Con la revisione WHO 2016 [13], nel linfoma di Hodgkin a predominanza linfocitaria nodulare (NLPHL) vengono riconosciute le varianti di pattern di crescita che includono anche la quantità delle cellule tumorali (rare vs numerose) e la loro distribuzione dominante (in sede intranodulare vs extranodulare). Le varianti devono essere riportate nel referto diagnostico, in quanto sono associate a differenti connotazioni cliniche. L'NLPHL può evolvere verso una proliferazione ricca di cellule T completamente diffusa, priva di cellule dendritiche follicolari, che sarebbe coerente con un LBCL ricco in linfociti T e/o istiociti (THRLBCL). Dati recenti indicano che la progressione verso un processo con caratteristiche di THRLBCL è associata a un decorso clinico più aggressivo e richiede una gestione diversa.

Viene ribadito che il linfoma di Hodgkin classico "lymphocyte rich" (LRCHL) presenta aspetti intermedi fra il linfoma di Hodgkin a predominanza linfocitaria ed altri sottotipi del linfoma di Hodgkin classico, in termini di fenotipo della cellula tumorale e di background (Figura 3).

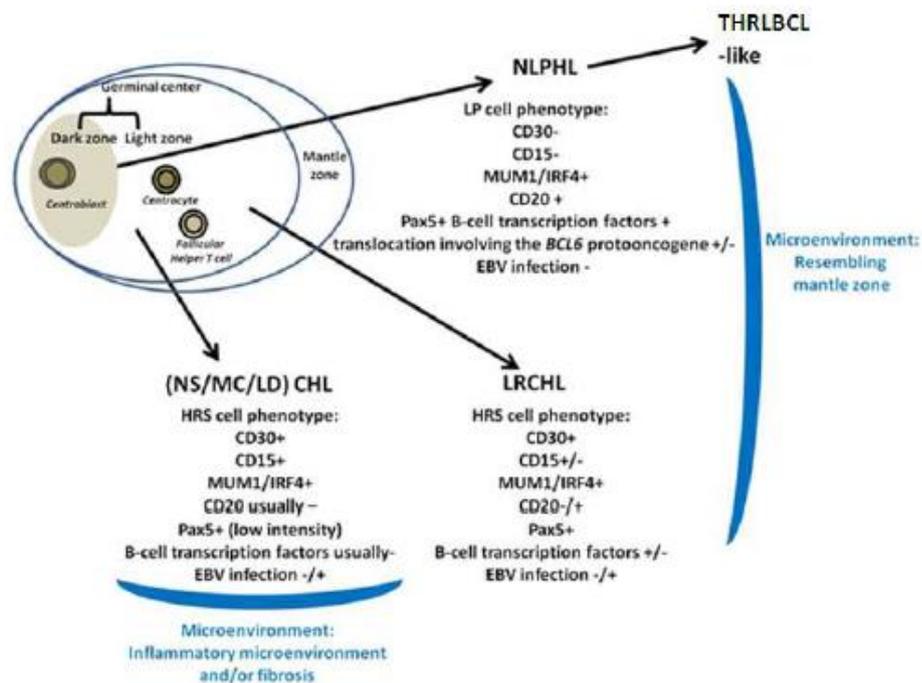
Nel dettaglio, le cellule tumorali LRCHL presentano la parziale perdita del fenotipo a cellule B, co-esprimono CD30, CD15 e il programma trascrizionale delle cellule B [14].

Jackson and Parker	Lukes and Butler	Rye Conference	R.E.A.L. Classification	World Health Organization (WHO) Classification
Paragranuloma	Lymphocytic and/or histiocytic, nodular	Lymphocyte predominance	Nodular lymphocyte predominance	Nodular lymphocyte predominant HL
	Lymphocytic and/or histiocytic, diffuse		Classical Lymphocyte-rich HL*	Lymphocyte-rich classical HL
Granuloma	Nodular sclerosis	Nodular sclerosis	Classical Nodular sclerosis HL	Nodular sclerosis classical HL
	Mixed cellularity	Mixed cellularity	Classical Mixed cellularity HL	Mixed cellularity classical HL
Sarcoma	Diffuse fibrosis	Lymphocyte depletion	Classical Lymphocyte depletion HL	Lymphocyte depleted classical HL
	Reticular			

HL: Hodgkin lymphoma.

* Includes some L&H nodular cases.

Figura 2. Classificazioni anatomopatologiche del Linfoma di Hodgkin [11]



Abbreviazioni: EBV, Epstein Barr virus; HRS; Hodgkin Reed-Sternberg; NS, nodular sclerosis; MC, mixed cellularity; LD, lymphocyte depleted; LP; lymphocyte predominant. Adattata da Carbone & Ghiochini, Cancer 2017.⁶

Figura 3. Classificazione del linfoma di Hodgkin WHO 2016 [13]

Le cellule neoplastiche del LH classico, ossia le cellule di Reed Sternberg, e le cellule neoplastiche del LH a predominanza linfocitaria nodulare, note come cellule L&H, sono differenti per aspetto morfologico, immunofenotipo e pattern di infezione da EBV.

La cellula di Reed Sternberg classica è caratterizzata dalla sua grande taglia, dal nucleo polilobato e da enormi nucleoli rotondi, tipo inclusi nucleari. Può presentarsi binucleata con aspetto a “occhi di civetta” [15]. È possibile osservare delle varianti: le cellule lacunari, la variante sarcomatosa, mononucleata e le forme degenerate.

L'immunofenotipo classico è caratterizzato da CD45-, CD15+, CD30+, CD40+ e l'antigene epiteliale di membrana EMA-; nel 20% dei casi è possibile che esprimano uno o più marcatori B- associati o nel 10% marcatori T-associati, anche se più frequentemente hanno un fenotipo “null” (non B e non T). Il genoma virale di EBV è riscontrabile in circa il 50% dei casi (poco frequente nel sottogruppo NSCHL, in circa il 40% della variante LRCHL, 70% nel MCCHL e vicino al 100% nella forma LDCHL). Le cellule del background infiammatorio sono costituite in maggior parte da cellule T.

Le cellule L&H (lymphocytic & histiocytic), tipiche del LH “a predominanza linfocitaria”, sono anch'esse di taglia grande, con nuclei voluminosi e citoplasma in genere scarso.

La multilobazione dei nuclei è spesso molto pronunciata e per tale motivo sono state anche chiamate “cellule popcorn” [16]. Il pannello fenotipico è caratterizzato da una forte espressione dell'antigene comune leucocitario (CD45), dell'antigene epiteliale di membrana (EMA) e di un'ampia gamma di antigeni B associati (CD19, CD20, CD22, CD40, CDw75, CD79a); Bcl-6 è spesso espresso nelle cellule neoplastiche mentre vi è totale assenza degli antigeni di attivazione CD15 e CD30. Infine, nella maggior parte dei casi le cellule L&H sono negative per l' infezione da EBV [17].

Specifici fattori trascrizionali delle cellule B, Oct-2 e BOB1, possono essere d'aiuto nella diagnosi differenziale tra la forma classica in cui risultano non dosabili o poco rappresentati e la forma predominanza linfocitaria in cui invece sono positivi [18] (tabella 1).

	HL-CLASSICO	NLPHL
Pattern	Diffuso, interfollicolare, nodulare	Nodulare
Clone neoplastico	Cellule di Reed-Stenberg, cellule lacunari, variante sarcomatosa, mononucleata e le forme degenerate	L&H o cellule a popcorn
Background	Linfociti (Tcell > Bcell), istiociti, eosinofili, plasmacellule	Linfociti (Bcell > Tcell), istiociti
Fibrosi	Comune	Rara
CD15	+	-
CD30	+	-
CD20	-/+	+
CD45	-	+
EMA	-	+
EBV	+ (~50%)	-
Gene delle Ig	Riarrangiato, clonato, mutato, no ipermetilazione somatica	Riarrangiato, clonato, mutato. Ha effettuato ipermetilazione
Oct-2	-	+
BOB1	-	+

Tabella 1. Forma classica vs NLPH

Il fatto che le cellule neoplastiche rappresentino solo una minima percentuale nel contesto tumorale sottolinea l'importanza del microambiente nello sviluppo e nella progressione del LH (Figura 4). Le cellule di RS instaurano un complesso cross-talk con gli elementi non neoplastici sia attraverso interazioni cellula-cellula sia attraverso la produzione di mediatori solubili come citochine e chemochine. Tali interazioni portano sia all'amplificazione dei meccanismi di proliferazione e automantenimento della cellula neoplastica sia a fenomeni di mascheramento immunologico attraverso la modulazione della risposta immune, andando ad agire sui linfociti B (soprattutto nel NPLHL) e T (helper, citotossici e regolatori) presenti nel microambiente.

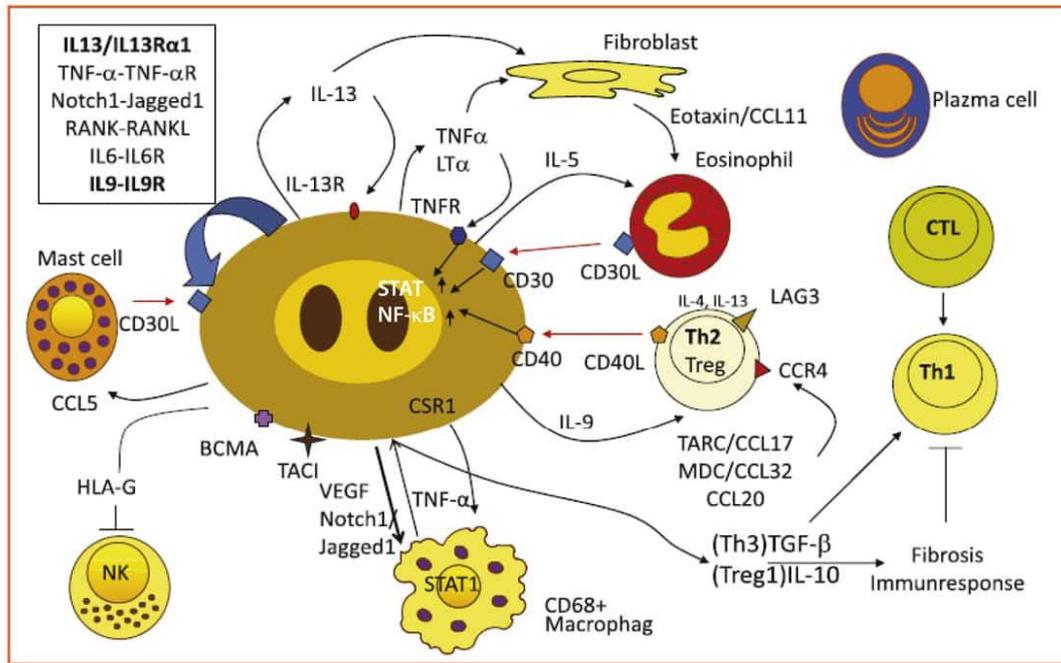


Figura 4. Interazioni tra cellula RS e microambiente tumorale [19]

In tale ambito di ricerca molte sono le nuove informazioni riguardo il ruolo svolto dai linfociti T nel microambiente del LH [20].

I linfociti T del LH sono in maggior parte costituiti da linfociti Th2 e da linfociti T regolatori (Treg). Le cellule RS producono una serie di citochine e chemochine (CCL17/TARC, CCL22, CCL5, IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) in grado di attrarre le cellule Th2 e Treg, inducendo la differenziazione dei tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) verso il fenotipo Th2 e allo stesso tempo secernono una serie di fattori (galectin-1, IL-7, IL-10 e TGF- β e macrophage migration inhibitory factor [MMIF]) in grado di bloccare i linfociti Th1 e la risposta immunitaria Th1-mediata (Figura 5).

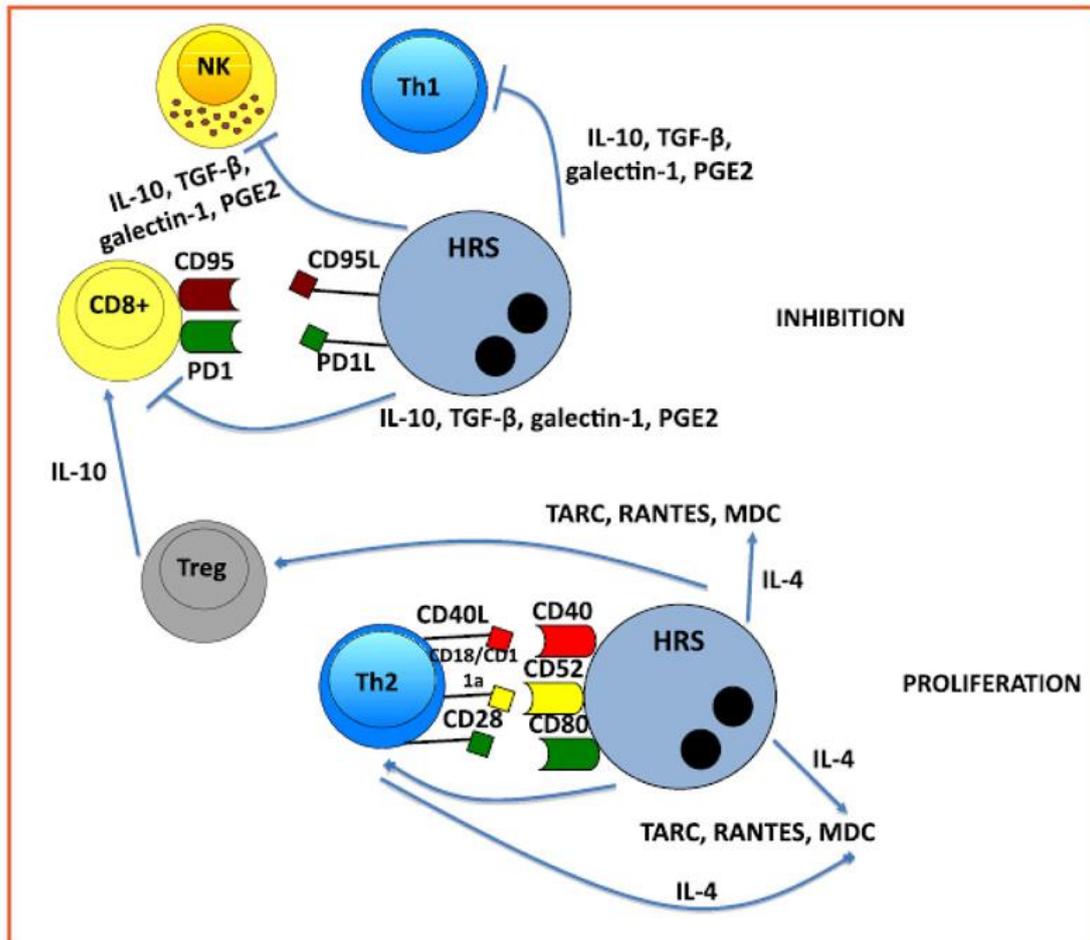


Figura 5. Interazioni tra cellula RS e linfociti T del microambiente tumorale [19]

L'identificazione e la caratterizzazione funzionale dell'antigene CD30 e dell'asse PD1/PDL1 hanno permesso di sfruttare le molecole come bersaglio terapeutico selettivo nel linfoma di Hodgkin.

Il CD30 è una proteina transmembrana di 120-kDa appartenente alla superfamiglia del TNF, il cui gene è localizzato sul cromosoma 1p36 [21].

La molecola mostra un dominio extracellulare simile ad altri componenti della famiglia del TNF mentre il dominio intracitoplasmatico possiede delle caratteristiche peculiari con la presenza di sequenze leganti TRAFs (TNF receptor-associated factors) in grado sia di attivare il fattore di trascrizione NF- κ B che d'indurre i fenomeni di apoptosi (Figura 6).

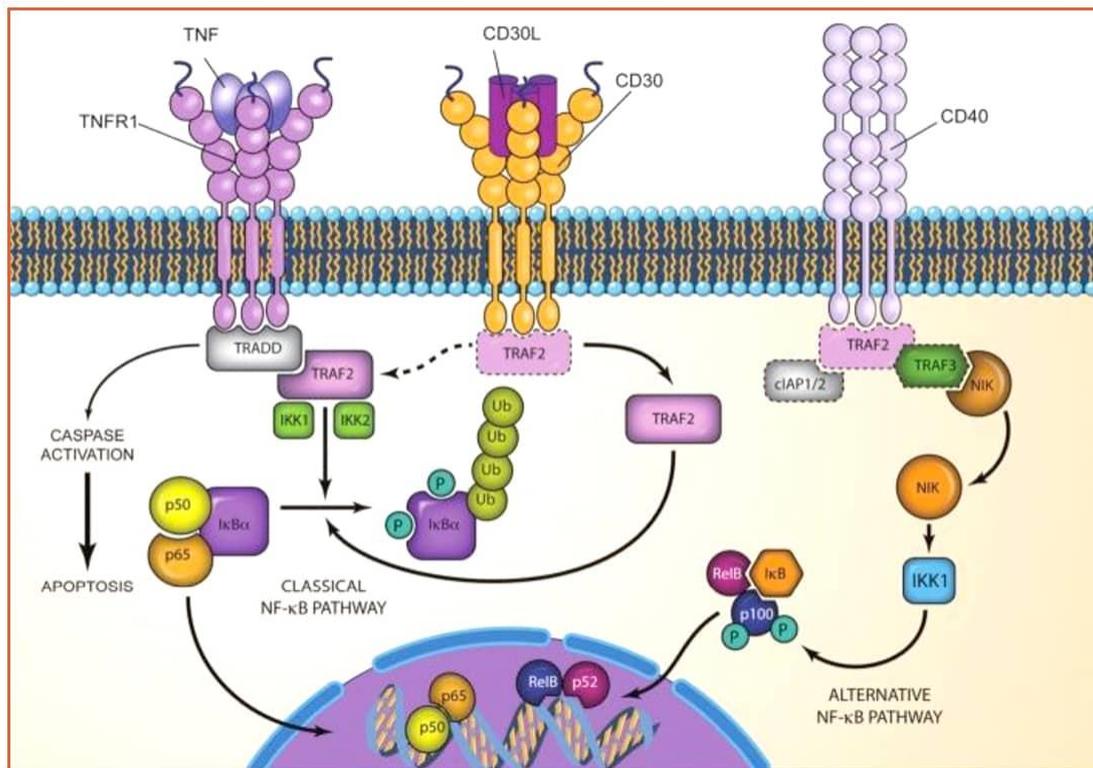


Figura 6. Vie di segnale attivate dal CD30 [21]

Il ligando di tale antigene è il CD30L (CD153), il cui gene è presente sul cromosoma 9q33 e appartenente anch'esso alla superfamiglia del TNF. È normalmente espresso sui linfociti B e T attivati (Th1 e Th2) e a bassa intensità sui monociti e sui granulociti [22-23].

Il CD30 è implicato in numerosi meccanismi tra cui i processi di proliferazione e sopravvivenza cellulare, la regolazione della produzione di citochine e l'apoptosi, sebbene molti dettagli di tali azioni siano ancora da definire. Il sistema CD30-CD30L entra nel controllo di vari aspetti della risposta linfocitaria B e T e nella regolazione della sopravvivenza timocitaria come dimostrato da studi in vitro e in modelli animali [21].

Le cellule di Reed-Stenberg iperesprimono, inoltre, le molecole PD-L1 e PD-L2 (Programmed Death Ligand) che si legano a PD-1 presente sulle cellule T del microambiente, inibendone l'attivazione e la proliferazione ed evadendo così la risposta immunitaria.

In un contesto fisiologico il legame tra PD-L1/2 e PD-1 svolge un'azione inibitoria sulle cellule T attivate, limitando l'espansione della risposta immune e facilitando quindi la risoluzione del processo infiammatorio.

Nella forma classica di LH, alterazioni genetiche a livello del cromosoma 9p24.1 provocano un aumento dell'espressione di PD-L1 e PD-L2 e studi preclinici indicano che le cellule di Reed-Stenberg sono in grado di utilizzare il pathway di PD-1 per evadere l'attacco degli effettori immunitari. I nuovi farmaci, inibitori del checkpoint, sono volti a bloccare tale via di

segnale e permetterebbero di rimodulare la risposta immune del microambiente tumorale contro la cellula neoplastica [24].

1.1.2 Clinica, diagnosi, stadiazione e prognosi

Da un punto di vista clinico, la maggioranza dei pazienti si presenta all'esordio di malattia con un ingrossamento linfonodale asintomatico (70% dei casi). Il linfonodo coinvolto appare più frequentemente al collo, in regione cervicale e/o sovraclaveare nel 60-80% dei pazienti. Nel 10-20% dei casi sono coinvolti i linfonodi ascellari e nel 6-12% le regioni inguinali. I linfonodi superficiali interessati si presentano aumentati di volume, di consistenza duro-parenchimatosa, confluendo tra essi e aderendo ai piani circostanti. Sebbene non evidenziabili all'esame obiettivo, i linfonodi mediastinici sono interessati dal processo linfoproliferativo nel 60-70% dei pazienti a diagnosi, mentre quelli in sede retro peritoneale risultano coinvolti nel 25% dei casi. Linfadenopatie sottodiaframmatiche esclusive sono infrequenti, verificandosi in meno del 10% dei pazienti. La scoperta di una massa mediastinica ad una radiografia del torace rappresenta il secondo tipo di presentazione d'esordio più comune. La massa può risultare piuttosto grande senza però produrre sintomi locali o al contrario, meno frequentemente, presentarsi clinicamente in maniera aspecifica con dolore retro sternale, tosse o respiro corto. La definizione di massa mediastinica o massa bulky varia leggermente a seconda dei criteri adottati dalle varie istituzioni: l'European Organization for the Treatment of Cancer (EORTC) codifica come bulky una massa che abbia un rapporto con il diametro massimo trasverso trans-toracico, misurato a livello del quinto-sesto spazio intervertebrale, $>0,35$. L'UK National Cancer Research Institute (NCRI) e il German Hodgkin Study Group (GHSG) usano come limite di significatività un rapporto $>0,33$. Infine l' US National Comprehensive Cancer Network (NCCN) definisce la massa bulky se il rapporto è $>0,33$ o il diametro massimo è superiore ai 10 cm. In questo caso è possibile, seppur raramente, evidenziare piccole falde di versamento pleurico e/o pericardico. Fenomeni compressivi sulla vena cava superiore tali da determinare una sindrome da ostruzione sono piuttosto rari [25].

Sintomi sistemici, definiti sintomi B, sono presenti in meno del 20% dei pazienti in stadio I e II, ma fino al 50% negli stadi avanzati. Essi sono stati definiti formalmente e sono: la febbre (temperatura superiore ai 38°C), il calo ponderale maggiore del 10% nei sei mesi che hanno preceduto l'esordio clinico della malattia e le sudorazioni notturne profuse. Sebbene non incluso tra i sintomi B il prurito è riferito da circa il 10-15% dei pazienti.

È progressivo, localizzato prevalentemente al dorso e agli arti e talvolta, data la forte intensità, si può associare a diffuse lesioni da grattamento. I pazienti possono presentare una varietà di sintomi aspecifici legati ad interessamento d'organo o allo sviluppo di sindromi paraneoplastiche tra cui: discomfort, dolore nelle regioni paravertebrali per grosse masse retro peritoneali, epatomegalia, splenomegalia, ostruzione ureterale, dolore a livello dello

linfadenopatie in caso di ingestione di alcolici, dolore osseo (l'osso è coinvolto nel 15% dei casi di LH [26]), ipercalcemia, anemia ed eosinofilia.

La diagnosi di Linfoma di Hodgkin viene ottenuta grazie alla valutazione istologica del tessuto linfonodale coinvolto. È possibile adottare quali procedure di raccolta del tessuto la biopsia escissionale, oppure la “core needle biopsy”.

Prima di iniziare il trattamento, è necessario definire lo stadio clinico e la presenza di comorbidità sulla base di:

- Anamnesi ed esame obiettivo;
- Emocromo, velocità di eritrosedimentazione, LDH e profilo biochimico;
- Definizione dello status sierologico per HIV/EBV/HBV/HCV/HSV;
- Radiografia del torace;
- PET-TC totalbody con ¹⁸Fluorodeossiglucosio;
- Biopsia ossea e agoaspirato midollare (può essere omessa nei pazienti stadiati con la PET) [27];
- Valutazione preliminare della funzionalità cardiaca, polmonare e tiroidea (in vista dell'utilizzo di schemi terapeutici includenti le antracicline, la bleomicina e la radioterapia).

La stadiazione, ovvero la valutazione dell'estensione della malattia al momento della diagnosi, rappresenta un elemento fondamentale per il corretto approccio terapeutico dei pazienti affetti da LH. Attualmente la stadiazione della malattia passa attraverso l'utilizzo integrato di diverse metodiche di imaging, tali da garantire la possibilità di definire limiti, morfologia e volumi delle localizzazioni linfomatose. Il sistema standard di stadiazione in uso per il LH venne proposto alla conferenza tenutasi nel 1971 ad Ann Arbor e fu successivamente modificato al Cotswolds Meeting del 1988 [28]. Esso prende in considerazione le sedi anatomiche coinvolte e la diffusione ai due lati del diaframma della malattia, oltre che la presenza dei sintomi B (Tabella 2).

STADIO	SEDI COINVOLTE
I	Una singola regione linfonodale (I) o un unico sito extralinfatico (Iε)
II	Due o più regioni linfonodali dallo stesso lato del diaframma (II) o un'estensione locale extralinfatica in aggiunta a una o più regioni dallo stesso lato del diaframma (IIε)
III	Regioni linfonodali da entrambi i lati del diaframma che potrebbero essere accompagnati da un'estensione locale extralinfatica (IIIε)
IV	Interessamento diffuso di uno o più organi o siti extralinfatici
Fattori aggiuntivi	<p>A = assenza di sintomi sistemici</p> <p>B = presenza di almeno uno dei seguenti sintomi nei precedenti sei mesi: perdita di peso superiore al 10%; febbre superiore ai 38 °C; sudorazioni notturne ricorrenti</p> <hr/> <p>Bulky: una singola massa che presenta il diametro maggiore superiore ai 10 cm o una massa mediastinica che eccede di un terzo il massimo diametro trasverso trans toracico misurato a livello del disco intervertebrale T5-T6.</p>

Tabella 2. Stadiazione secondo Ann Arbor/ Cotswold .

I pazienti con Linfoma di Hodgkin sono suddivisi in tre gruppi con valore prognostico differente: stadi precoci favourable (stadi I e II senza fattori prognostici sfavorevoli), stadi precoci unfavourable (stadi I e II con fattori prognostici sfavorevoli), stadi avanzati (stadi III e IV). Per gli stadi I e II, i fattori prognostici favorevoli e sfavorevoli sono stati ben definiti da alcuni trials clinici condotti dall'European Organization for the Treatment of Cancer (EORTC) [29], dal German Hodgkin Study Group (GHSG) [30], dal National Cancer Institute of Canada (NCIC) e dal NCCN (National Comprehensive Cancer Network) e possono essere riassunti come segue (Tabella 3):

FATTORI DI RISCHIO	GHSB	EORTC	NCIC	NCCN
Età		≥50	≥40	
Istologia			MC ¹ o LD ²	
VES e sintomi B	≥50 se A ≥30 se B	≥50 se A ≥30 se B	≥50 o alcuni sintomi B	≥50 o alcuni sintomi B
Massa mediastinica	MMR ³ > 0.33	MTR ⁴ > 0.35	MMR > 0.33 o >10 cm	MMR > 0.33
Siti linfonodali	≥ 3	> 3	> 3	> 3
Lesioni Extranodali	Presenza			
Bulky				>10 cm

Tabella 3. Fattori di rischio sfavorevoli per gli stadi I e II

Per quanto riguarda gli advanced stage (III e IV), sono stati identificati sette fattori prognostici sfavorevoli, ognuno dei quali riduce la percentuale di sopravvivenza del 7-8% a 5 anni. Questi fattori sono la base per la definizione dell'International Prognostic Score (IPS) [31] (Tabella 4):

International Prognostic Score (IPS)
<ul style="list-style-type: none"> • Età ≥ 45 • Sesso maschile • Albumina < 4 mg/dl • Emoglobina < 10,5 mg/dl Stadio IV • Leucocitosi (conta leucocitaria ≥ 15.000/mm³) • Linfocitopenia (percentuale dei linfociti ≤ 8 % e/o conta linfocitaria ≤ 600/mm³)

Tabella 4. Fattori prognostici advanced stages

¹ MC: cellularità mista

² LD: deplezione linfocitaria

³ MMR: mediastinal mass ratio, massima larghezza della massa o del massimo diametro intratoracico

⁴ MTR: mediastinal thoracic ratio, larghezza massima della massa mediastinica o del diametro intratoracico a livello di T5-6

1.2 La valutazione della risposta e il ruolo della PET/TC

I criteri di risposta secondo le linee guida dell'International Harmonization Group (2007) [32] prevedono l'esecuzione di una ^{18}F FDG-PET alla fine della terapia (6-8 settimane dopo la chemioterapia e 8-12 settimane dopo radioterapia) e permettono di inquadrare il paziente nelle seguenti categorie:

- **Remissione completa (CR):** scomparsa di tutti i segni e sintomi di malattia sia clinicamente che con tecniche di *imaging* (^{18}F FDG- PET/TC);
- **Remissione completa, ma con residuo di malattia** evidenziabile con tecniche di *imaging* (**CRr**);
- **Remissione parziale (PR):** presenza della malattia, ma con una riduzione significativa di tutte le lesioni e una riduzione di più del 50% della maggioranza dei siti linfonodali o della malattia localizzata a livello dei siti extranodali;
- **Persistenza della malattia:** mancato raggiungimento della RC o PR;
- **Recidiva o progressione:** presenza di nuove lesioni o incremento del 25% di almeno una delle lesioni già presenti durante la terapia o dopo 3 mesi senza trattamento.

Nei più recenti anni, la PET/TC è stata anche utilizzata per la valutazione della risposta in corso di trattamento, rivestendo un ruolo fondamentale nella scelta del prosieguo terapeutico [33].

Nel 2009 sono stati introdotti i criteri di Deauville per l'interpretazione della PET/TC sia ad interim che a fine trattamento.

Questi criteri utilizzano una scala di cinque punti (5-PS) per valutare correttamente l'uptake del ^{18}F FDG nei siti di coinvolgimento, rispetto al mediastino e al fegato (Tabella 5).

SCORE	RISULTATI PET/TC
1	<i>No uptake</i>
2	<i>Uptake \leq al mediastino</i>
3	<i>Uptake $>$ del mediastino, ma \leq al fegato</i>
4	<i>Uptake moderatamente più alto del fegato</i>
5	<i>Uptake marcatamente più alto del fegato e/o comparsa di nuove lesioni</i>
X	<i>Comparsa di nuove aree di uptake probabilmente non correlate al linfoma</i>

Tabella 5. Score di Deauville

PET/TC con score da 1 a 3 sono considerate negative, mentre quelle con score 4 o 5 sono considerate positive [34].

1.3 Le terapie di prima linea negli stadi precoci e avanzati

L'approccio terapeutico di prima linea per i pazienti con LH risulta guidato, in primo luogo, dalla definizione dello stadio e dei fattori prognostici. Per i pazienti che rientrano nella categoria early stage favourable la combinazione del regime chemioterapico ABVD seguito da radioterapia involved-field (IF) rappresenta lo standard di trattamento più utilizzato con una overall survival (OS) superiore al 90% a dieci anni [35]. L'utilizzo della sola radioterapia, a campi allargati ed alto dosaggio (40-44Gy), schema molto usato in passato, risulta inaccettabile oggi per l'alto tasso (fino al 20-40%) di neoplasie solide a cui i pazienti andavano incontro e il relapse rate che raggiungeva fino al 20%. Possibili approcci combinati sono rappresentati da:

- ABVD per 2 cicli seguito da irradiazione *involved field* per una dose totale di 20 Gy (regime a più bassa tossicità) [36].
- schema ABVD per 3-4 cicli seguito da irradiazione *involved field* a dosi non massimali (inferiori a 30 Gy) e campi non estesi (tale approccio rappresenta quello con tassi di recidive inferiori) [37].

Il trial HD10 del German Hodgkin Study Group non ha dimostrato differenze in termini di OS, freedom from treatment failure (FFTF) e Progression Free Survival (PFS) tra 4 e 2 cicli di ABVD e tra 20 e 30 Gy di radioterapia del tipo IF attestando quindi per i pazienti con stadio precoce senza fattori di rischio, lo standard di 2 cicli di ABVD più 20 Gy di IFRT [36]. Le linee guida della SIE 2009 prevedono che lo standard tedesco oggi venga seguito nell'ambito di studi clinici controllati, mentre lo schema ABVD 4 cicli più radioterapia con un massimo di 30 Gy quale terapia di scelta [37].

Le più recenti raccomandazioni NCCN 2017 prevedono modalità di trattamento con sola chemioterapia o con successiva radioterapia in base alla valutazione tramite PET/TC ad interim [38].

Diversi trials in Europa hanno valutato il ruolo della PET/TC ad interim per definire la reale necessità della IFRT negli stadi IA e IIA favorevoli. EORTC H10 trail ha mostrato la superiorità dell'ABVD seguito da IFRT 30 Gy rispetto all'ABVD da solo, con PET/TC di rivalutazione dopo 2 cicli di ABVD [39].

Secondo il trial HD10 del GHSG [36], sono raccomandati 2 cicli di ABVD seguiti da PET/TC di rivalutazione. In caso di una risposta con score di Deauville compreso tra 1 e 4, è raccomandata IFRT 20 Gy. Per score Deauville pari a 5, è necessaria valutazione istologica tramite biopsia della nuova lesione.

Il trial RAPID predilige un approccio con sola chemioterapia; sono raccomandati, infatti, 3 cicli di ABVD seguiti da PET/TC di rivalutazione e successivo approccio in base allo score di Deauville [40].

I pazienti con unfavourable early stage disease, in accordo ai criteri EORTC ricevono chemioterapia per un numero di cicli compreso tra 4 e 6 seguiti da radioterapia IF (30 Gy con eventuale boost di 6 Gy sul residuo bulky), seguendo le linee guida SIE 2009. Il trial HD 11 ha dimostrato che 4 cicli di ABVD seguiti da IFRT 30 Gy, sia la migliore scelta terapeutica per questi pazienti [41].

Le raccomandazioni NCCN 2017, per gli stadi I e II sfavorevoli senza e con bulky, possono essere riassunte come segue (Figure 7-8):

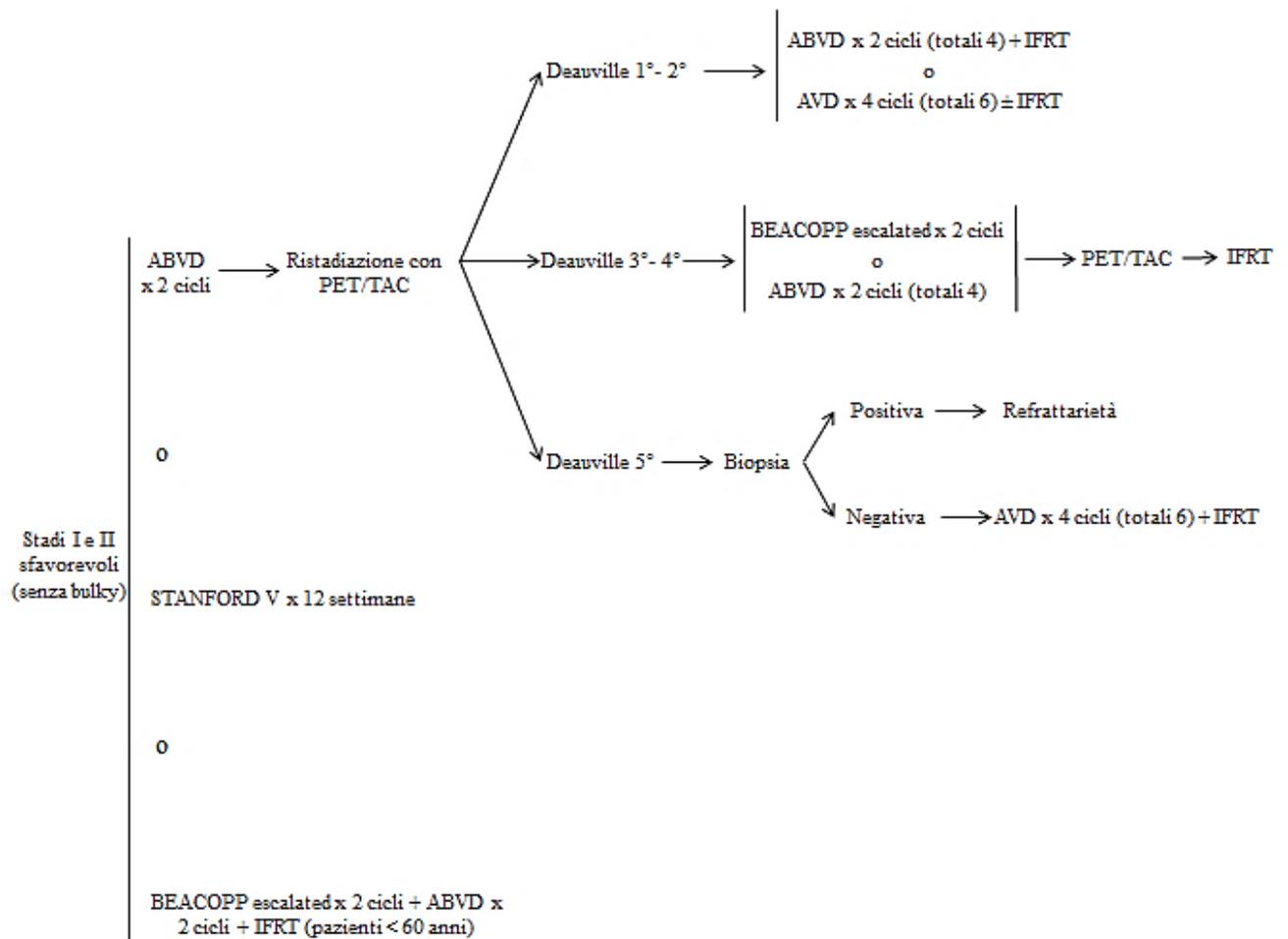


Figura 7. Strategia terapeutica per stadi I e II sfavorevoli senza bulky [38]

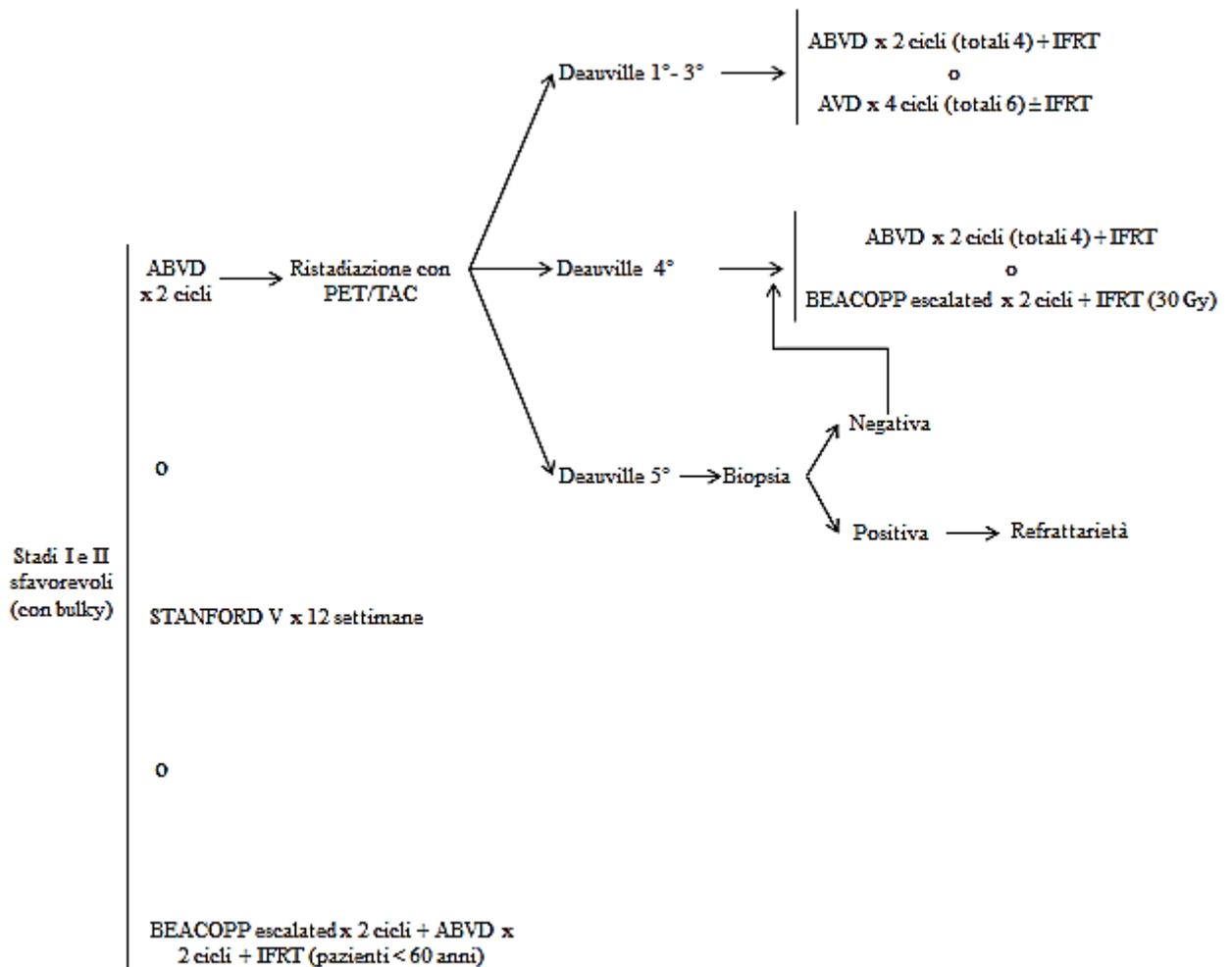


Figura 8. Strategia terapeutica per stadi I e II sfavorevoli con bulky [38]

Per i pazienti trattati con regimi quali STANFORD e BEACOPP (ovviamente non utilizzati in Italia), il prosieguo terapeutico è dettato dalla rivalutazione con PET/TC secondo lo score di Deauville.

Lo schema ABVD rappresenta lo standard chemioterapico anche per i pazienti inclusi negli advanced stages. Secondo le linee guida della Società Italiana di Ematologia (SIE) i pazienti con malattia allo stadio avanzato, dovrebbero infatti ricevere 6-8 cicli di ABVD come terapia di prima linea.

Le linee guida NCCN 2017 suggeriscono, per gli advanced stage: ABVD per 2 cicli seguiti da rivalutazione PET/TC; in caso di score di Deauville compreso tra 1 e 3 si prosegue con AVD per 4 cicli e a seguire follow-up o IFRT solo sui siti iniziali bulky o su lesioni PET positive. Per score di Deauville tra 4 e 5 sono suggeriti 4 cicli di BEACOPP escalated oppure ABVD per 2 cicli (totali 4) e successiva rivalutazione con PET/TC. Nel secondo caso, sono raccomandati fino a un massimo di sei cicli totali di ABVD seguiti da IFRT sui siti iniziali

bulky o nuove localizzazioni PET positive, per score di Deauville compresi tra 1 e 4 (il valore pari a 4 deve essere dapprima rivalutato con biopsia) [42].

Le combinazioni a più farmaci e più intensive sono state studiate per migliorare l'outcome degli stadi avanzati. Il regime STANFORD V, ha prodotto un OS a 5 anni pari al 94%. Questo regime, inizialmente destinato ad essere utilizzato in associazione a trattamento radioterapico di tipo IF, non ha però portato a lungo termine dei risultati soddisfacenti per l'elevato numero di effetti avversi legati all'irradiazione. Il più recente regime utilizzato è il BEACOPP (bleomicina, etoposide, adriamicina, ciclofosfamide, vincristina, procarbazine, prednisone), introdotto dal GHSG, nelle sue varianti baseline ed escalated. Trial clinici randomizzati (HD9 e HD12 [43][44]) hanno comparato le due modalità del regime BEACOPP con un regime alternato COPP/ABVD dimostrando un'OS del 75% con COPP/ABVD, 80% con BEACOPP baseline e 86% con BEACOPP escalated ed una FTF rispettivamente del 64%, 70% e 82%. Criticità del regime BEACOPP sono quelle inerenti la sua tossicità con report di tossicità acuta ematologica, sindromi mielodisplastiche secondarie, leucemie acute ed infertilità. La tossicità del regime BEACOPP appare particolarmente elevata nei pazienti oltre i 65 anni nei quali è proscritto. Due studi clinici randomizzati hanno confermato la superiorità del BEACOPP escalated rispetto all'ABVD in termini di disease control ma senza dimostrare differenze rispetto all'OS grazie alla possibilità di effettuare terapie di salvataggio con chemioterapici ad alte dosi supportate da ASCT in caso di ABVD failure. La superiorità del BEACOPP sull'ABVD in termini di PFS è, invece, particolarmente evidente nei pazienti con fattori prognostici negativi, coloro che presentano a diagnosi un $IPS > 3$. Considerando però che il 60-70% dei pazienti con malattia avanzata può essere curata con ABVD da solo e quindi con minima tossicità, l'ideale sarebbe riservare lo schema BEACOPP a coloro che presentano una prognosi fortemente negativa o a coloro la cui PET/TC ad interim mostra uno score di Deauville superiore a tre.

1.4 Il linfoma di Hodgkin refrattario e/o recidivato

1.4.1 Schemi di terapia di seconda linea e trapianto autologo di midollo

La maggioranza dei pazienti con LH ottiene una remissione completa dopo la prima linea di trattamento. Ciononostante il 10-15% dei pazienti con malattia localizzata e il 25-30% con malattia avanzata recidiva dopo terapia standard. In aggiunta i pazienti refrattari, che risultano quindi resistenti ab initio, rappresentano il 2-5% se consideriamo gli stadi I-II e il 5-10% negli advanced stages [45].

Le procedure di follow-up per l'individuazione delle recidive a distanza invece variano a seconda dell'istituzione. Generalmente sono previsti esami clinici di controllo ogni 3-4 mesi per i primi 2 anni seguiti da una visita a cadenza semestrale fino al raggiungimento del 5° anno e annuale dal sesto al decimo anno. Inoltre l'esecuzione di radiogrammi del torace in proiezione anteroposteriore e laterolaterale ogni 6 mesi permette di individuare eventuali masse mediastiniche. Il sito di recidiva è spesso rappresentato da un'area coinvolta al momento della diagnosi. La ¹⁸FDG-PET permette di dirimere anomalie radiologiche o meglio caratterizzare masse percepite alla visita clinica e rappresenta quindi lo standard per porre diagnosi di recidiva. La recidiva necessita sempre di una conferma istologica tramite biopsia guidata sulla base del giudizio e sospetto del clinico: appare appropriata infatti nel caso di pattern di presentazione anomali, recidiva a distanza di più di 10 anni per il rischio di tumori solidi secondari, o diagnosi alternativa più attendibile. Differenti autori hanno identificato dei fattori prognostici nella corte di pazienti avviati a terapia di salvataggio e ASCT. Il Cancer Control Agency of British Columbia, analizzando una serie di 80 pazienti recidivati dopo terapia primaria ha riconosciuto come significativi: una durata della prima remissione inferiore a 12 mesi, lo stadio IV e la presenza di sintomi B al momento della recidiva [46]. Un report del German Hodgkin's Lymphoma Group ha definito quali fattori prognostici rilevanti: l'insorgenza della recidiva entro 12 mesi, lo stadio III o IV, un valore di emoglobina <10,5 g/dl o <12 g/dl rispettivamente nelle femmine e nei maschi. Questi tre fattori di rischio sono stati incorporati in uno score prognostico che dimostra una OS del 83% in assenza di fattori di rischio, del 66% con un fattore, del 36% con due e del 27% con tre fattori [30]. L'analisi del rischio del paziente risulta imprescindibile nella definizione dello schema terapeutico.

I pazienti con LH refrattario/recidivato vengono sottoposti ad una terapia di salvataggio che può prevedere, a seconda dei fattori prognostici, l'utilizzo di soli schemi chemioterapici adiuvati o meno da radioterapia nei pazienti in cui la ricorrenza di malattia è localizzata, asintomatica e successiva ai 12 mesi oppure chemioterapia con lo scopo di ottenere una

remissione completa o parziale seguita da alte dosi di chemioterapici e trapianto di midollo autologo se la recidiva risulta precoce (<12mesi), la malattia disseminata o se si tratti di seconda recidiva. L'utilizzo della procedura trapiantologica per consolidare la risposta alla terapia di salvataggio appare oggi sempre più diffuso. Questa scelta è supportata da alcuni trial tra cui il GELA che, arruolando 157 pazienti, ha dimostrato un OS del 32% con terapia di salvataggio con regime MINE e del 71% nel braccio in cui al regime MINE seguiva un ASCT [47].

Lo scopo della chemioterapia di II linea è dunque quello di ottenere una remissione della malattia o almeno una risposta parziale per poter dunque procedere al trapianto autologo. Il regime chemioterapico ideale dovrebbe avere un alto tasso di risposta, un profilo di tossicità basso e non andare ad inficiare la seguente mobilizzazione di cellule staminali. Nessun regime terapeutico ha dimostrato superiorità rispetto ad altri ma mancano studi clinici randomizzati che comparino i differenti schemi. Gli schemi più usati in clinica sono quelli indicati in Tabella 6 [48][49]. La chemioterapia di salvataggio è generalmente somministrata per un minimo di due cicli, ma alcuni pazienti necessitano di cicli aggiuntivi. La chemio sensibilità, dimostrata dalla negatività della ¹⁸FDG-PET, dopo regime di salvataggio appare essere il maggior fattore predittivo di risposta al trapianto [50].

<i>SCHEMA</i>	<i>DOSE [mg/mq]</i>	<i>GIORNI</i>
<i>ESHAP (ogni 21-28 gg)</i>		
Etoposide	40	1-8
Citarabina	2000	5
Cisplatino	25	1-4
Metilprednisolone	500	1-4
<i>DHAP (ogni 21-28gg)</i>		
Desametasone	40	1-4
Citarabina	2000	2 (ogni 12 h)
Cisplatino	100	1 (24h)
<i>ICE (ogni 14gg)</i>		
Ifosfamide	5	2
Carboplatino	Max 800	2
Etoposide	100	1-3
G-CSF	5 mcg/kg	5-12
<i>Mini-BEAM (ogni 28gg)</i>		
BCNU	60	1
Etoposide	75	2-5
Cytarabina	100	2-5
Melphalan	30	6
<i>IGEV (ogni 21gg)</i>		
Ifosfamide	2000	1-4
MESNA	2600	1-4
Gemcitabina	800	1-4
Vinorelbina	20	1
Prednisolone	100	1-4
<i>BeGEV (ogni 21 gg)</i>		
Bendamustina	90	1-2
Gemcitabina	800	1
Vinorelbina	20	1

Tabella 6. Terapie di seconda linea

1.4.2 Il fallimento dell'autotrapianto e le terapie di salvataggio

Nonostante l'aggressività delle strategie delineate, la prognosi dei pazienti refrattari agli schemi di terapia o che recidivano dopo procedura autotrapiantologica appare molto scarsa. L'overall survival (OS) a 5 anni è del 26% per i pazienti refrattari, del 46% per i pazienti recidivati entro un anno e del 71% per i pazienti recidivati dopo un anno [51]. Le opzioni terapeutiche per questo subset di pazienti sono limitate ed includono regimi polichemioterapici, agenti biologici e, per i pazienti che raggiungono con tale terapie di terza linea una risposta adeguata, il trapianto allogenico di cellule staminali. Circa la terapia ottimale che possa fungere da ponte per il trapianto non sono stati ancora prodotti dati randomizzati e la maggior parte delle evidenze deriva da studio "a singolo braccio" o studi retrospettivi monocentrici come riportato in Tabella 7 [52].

Author	Therapeutic agent(s) and study design	N1	Median age, years (range)	N2	Response rate	Median duration of response
Baetz <i>et al.</i> ¹⁵	GDP Phase II	23	36 (19–57)	0	ORR = 69%	NR
Bartlett <i>et al.</i> ¹³	GVD Phase I/II	91	33 (19–83)	40	ORR = 70%; CR = 19%	EFS = 10% (4 years)
Gopal <i>et al.</i> ¹⁶	GCD Phase II	14	32	4	ORR = 86%; CR = 50%	NR
Younes <i>et al.</i> ¹⁰	Brentuximab vedotin Phase I	42	36 (20–87)	33	ORR = 38%; CR = 24%	9.7 months
Younes <i>et al.</i> ¹¹	Brentuximab vedotin Phase II	102	31 (15–77)	102	ORR = 75%; CR = 34%	20.5 months for patients in CR
Younes <i>et al.</i> ³⁵	Mocetinostat Phase II	51	34 (19–68)	43	ORR = 33%	
Younes <i>et al.</i> ³⁴	Panobinostat Phase II	129	32 (18–75)	129	ORR = 27%; CR = 4%	6.9 months
Kirschbaum <i>et al.</i> ³⁶	Vorinostat Phase II	25	42 (20–71)	11	ORR = 4%	NR
Younes <i>et al.</i> ²⁹	Rituximab Phase II	22	35 (17–66)	18	ORR = 22%	7.8 months
Johnston <i>et al.</i> ⁴¹	Everolimus Phase II	19	37 (27–68)	16	ORR = 47%; CR = 5%	7.2 months
Moskowitz <i>et al.</i> ²¹	Bendamustine Phase II	35	34 (21–75)	27	ORR = 53%; CR = 33%	5 months
Corazzelli <i>et al.</i> ²⁰	Bendamustine Retrospective	41	33 (18–84)	35	ORR = 78%; CR = 29%	9.3 months (for pts in CR)
Kuruville <i>et al.</i> ⁴⁵	Lenalidomide Phase II	15	37 (18–74)	10	PR = 13%	NR
Böll <i>et al.</i> ⁴⁶	Lenalidomide Phase II	42	NR	NR	ORR = 46%	NR
Fehniger <i>et al.</i> ⁴⁴	Lenalidomide Phase II	38	34 (25–63)	33	ORR = 19%; CR = 16%	15 months
Fehniger <i>et al.</i> ⁴⁷	Lenalidomide Phase II	42	38 (20–83)	31	ORR = 30%	8.2 months
Christian <i>et al.</i> ³⁹	Panobinostat + Lenalidomide Phase I	7	31 (24–72)	3	ORR = 33%	NR

Abbreviations: CR = complete remission; GCP = gemcitabine, carboplatin and dexamethasone; GDP = gemcitabine, dexamethasone and cisplatin; GVD = gemcitabine, vinorelbine and pegylated liposomal doxorubicin; N1 = total number of subjects; N2 = number of subjects who received prior autologous HCT; NR = not reported; ORR = overall response rate; PR = partial remission.

Tabella 7. Terapie di salvataggio [52]

Da un punto di vista farmacodinamico, l'anticorpo si lega al CD30, viene internalizzato e nel processo di degradazione lisosomiale libera la MMAE che agisce sul fuso mitotico con inibizione della polimerizzazione del fuso e conseguente induzione dei meccanismi di apoptosi (figura 10). Una piccola frazione della MMAE può diffondersi anche nello spazio pericellulare esercitando un'azione tossica aspecifica sulle cellule bystander [21].

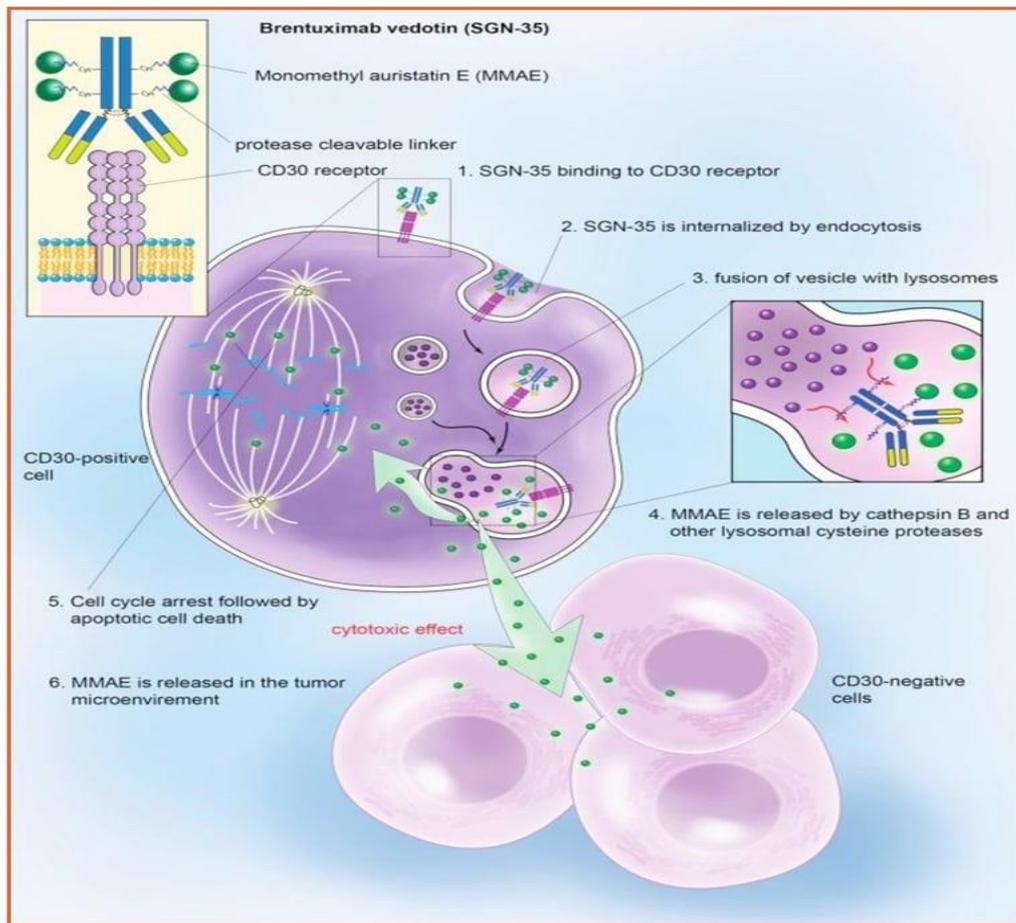


Figura 10. Meccanismo d'azione del Brentuximab Vedotin. L'ADC si lega alla proteina CD 30 espressa sulle cellule neoplastiche e viene internalizzato nel lisosoma dove il ligante viene scisso e così viene rilasciata la molecola antineoplastica MMAE che distrugge la struttura micro tubulare [21].

Brentuximab vedotin ha ricevuto l'autorizzazione all'utilizzo in monoterapia per le seguenti indicazioni: (1) il trattamento di pazienti adulti con HL CD-30 positivo recidivante o refrattario in seguito a un trapianto autologo di cellule staminali (ASCT) o in seguito ad almeno due precedenti terapie quando l'ASCT o la polichemioterapia non sono un'opzione terapeutica, e (2) il trattamento di pazienti adulti con sALCL (Linfoma anaplastico a grandi cellule) recidivante o refrattario. Attualmente sono registrati oltre 40 trial clinici con oggetto di studio il Brentuximab in monoterapia o in associazione con altri schemi chemioterapici, sia in ambito pediatrico che nell'adulto.

Nel subset del linfoma di Hodgkin l' SGN-35 ha riportato, nello studio di Younes et al., un ORR del 75% (CR=34%) con un PFS di 5.6 mesi e nei pazienti con CR di 20,5 mesi su un totale di 102 pazienti [56]. Inoltre sono stati da poco pubblicati i primi risultati dell'ECHELON 1-trial, che prevedeva il suo utilizzo come frontline-therapy associato a adriamicina, doxorubicina e vinblastina, mostrando una PFS a due anni del 82% nel gruppo A+ AVD rispetto al 77% nel gruppo ABVD.

Non sono stati promettenti gli inibitori dell'istone deacetilasi (HDAC) tra cui il Panobinostat e l'Everolimus, inibitore di mTOR, mostrando, rispettivamente, una ORR del 35 % in uno studio di fase I [57] e del 47 % [58] . Scarsi risultati si sono avuti anche dalla lenalidomide che nel trial multicentrico di Fenhiger [59] ha raggiunto un ORR del 19%.

Negli ultimi anni si sono affacciate altre molecole in grado di modulare la risposta immune nei confronti delle cellule tumorali, agendo in particolare sull'asse immunitario che si istaura tra le cellule di Reed-Stemberg e i linfociti T del microambiente tumorale.

Nel corso del 2015 e 2016, sono stati pubblicati i risultati di alcuni studi con due differenti anticorpi monoclonali anti-PD1 (Nivolumab e Pembrolizumab) nel setting dei pazienti recidivati/refrattari [60][61].

Nivolumab è un anticorpo monoclonale di classe IgG4 umanizzato che si lega a PD-1 impedendone il legame con PD-L1/2, mentre pembrolizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato di classe IgG4/kappa in grado anch'esso di legarsi a PD-1.

Nello studio di fase I di Ansell et al., pubblicato a gennaio 2015 [60] sono stati trattati 23 pazienti con LH recidivato refrattario, mostrando una CR del 87% ed una PFS a 2 anni del 86%. Sulla base di questi risultati incoraggianti, è stato quindi lanciato un più ampio trial di fase II multicentrico (studio Checkmate 205) per studiare l'efficacia e la sicurezza dei pazienti con LH già sottoposto a trapianto autologo e già pretrattati con Brentuximab. A settembre 2016 su Lancet Oncology sono stati pubblicati i primi risultati [62]. Con un tempo mediano di follow-up di 8,9 mesi, il 66 % dei 53 pazienti arruolati, ha mostrato una risposta radiologica valutata con PET/TC.

A novembre 2016 sono stati pubblicati su Journal of Clinical Oncology i dati di uno studio di fase IB (studio KEYNOTE-013) che prevedeva l'utilizzo del pembrolizumab nel trattamento dei pazienti con linfoma di Hodgkin recidivato/refrattario, già sottoposti ad autotrapianto o inelleggibili ad esso e resistenti a trattamento con Bv [61]. Sono stati arruolati 31 pazienti, ottenendo una CR nel 16 % dei pazienti e una PR nel 48%. La PFS a 6 mesi, dopo un follow-up mediano di 17 mesi è stata del 69 %.

Ad oggi il Nivolumab è in indicazione per il linfoma di Hodgkin recidivato/refrattario dopo autotrapianto e fallimento a terapia con Brentuximab, mentre il pembrolizumab può essere utilizzato anche per i pazienti non eleggibili a trapianto e dopo fallimento con il Brentuximab. Infine, è tornato in auge, un chemioterapico alchilante, la bendamustina cloridrato, che ha mostrato risultati incoraggianti in numerosi trials. La Bendamustina è stata inizialmente sviluppata nella Germania dell'Est negli anni '60 ma, complice la guerra fredda, solo a partire dal 2008, è stata approvata dal FDA per il trattamento di alcune patologie ematologiche quali la leucemia linfatica cronica e il linfoma non-Hodgkin indolente. La bendamustina è un agente antineoplastico peculiare in quanto oltre all'azione alchilante (derivante dalla mostarda azotata) esplica anche un'attività di antimetabolita grazie alla presenza di un gruppo azotato in posizione 5 sull'anello benzoimidazolico simile alla purina. Induce l'apoptosi cellulare con un meccanismo p53 dipendente, con un effetto di inibizione della replicazione del DNA più efficace e maggiormente duraturo rispetto agli alchilanti tradizionali, con i quali condivide una parziale cross-resistenza. La Bendamustina possiede inoltre un'azione diretta sulla mitosi cellulare, inibendo parzialmente i punti di controllo che intervengono nella divisione mitotica della cellula.

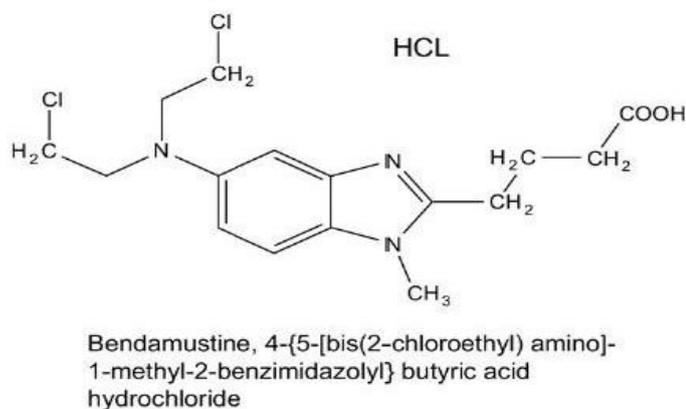


Figura 11. Bendamustina cloridrato

Uno studio recente di fase II condotto al Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ha riportato in 36 pazienti (il 75% dei quali aveva recidivato dopo autotrapianto), trattati con bendamustina come single agent, un ORR del 53% (CR 33%) [63]. Corrazzelli et al (2013) e Ghesquieres et al (2013) hanno osservato tassi di risposta globali molto simili pari al 58 e 50% rispettivamente [64][65]. Questi dati suggeriscono che la bendamustina possa rappresentare una buona opzione per in pazienti con LH refrattario/recidivato che hanno fallito l'autotrapianto. I dati circa la durata della remissione risultano meno eclatanti, nella serie del MSKCC la PFS media calcolata è di 5.7 mesi. Il più efficace utilizzo del farmaco

potrebbe quindi essere quello di fungere da ponte verso terapie consolidative con risposte a lungo termine, come il trapianto allogenico di cellule staminali. L'associazione della Bendamustina con il Brentuximab Vedotin, è stata valutata in vari trials clinici.

L'associazione Brentuximab Vedotin e Bendamustina, con dosaggi e schedula differente dagli studi precedentemente pubblicati, sarà oggetto del nostro studio.

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio prospettico e monocentrico di fase II ha valutato la sicurezza e l'efficacia dell'associazione Bendamustina e Brentuximab Vedotin, nei pazienti con linfoma di Hodgkin classico refrattario o recidivato.

Obiettivi primari dello studio sono stati:

- Valutare l'efficacia del trattamento in accordo con i Criteri di risposta secondo le linee guida dell'International Harmonization Group (2007) [32]
- Valutare l'ORR (Overall Response Rate)

Obiettivi secondari sono stati:

- Valutare la PFS (Progression-free Survival)
- Determinare l'OS (Overall Survival)
- Determinare il profilo di sicurezza. Gli eventi avversi sono stati riportati e classificati per tipologia e grado usando i criteri NCI-CTCAE (Versione 4.03) [65].

3. MATERIALI E METODI

3.1 Pazienti: criteri di eleggibilità

I pazienti eleggibili per lo studio dovevano rispettare le seguenti caratteristiche:

- Linfoma di Hodgkin classico refrattario o recidivato, documentato con esame istologico
- Fallimento di autotrapianto o ineleggibilità per refrattarietà o recidiva dopo almeno due linee terapeutiche
- Età >18 anni
- Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status ≤ 3
- Documentazione circa le precedenti linee di induzione e di salvataggio inclusa la radioterapia
- Work-up laboratoristico preliminare al trattamento
- Staging della malattia tramite procedure di imaging (PET/TC)

3.2 Disegno dello studio

Lo schema di trattamento Bendamustina + Brentuximab (Bv + B) prevedeva la somministrazione del Brentuximab in giornata 1 alla dose di 1.8 mg/kg e la Bendamustina nelle giornate 1 e 2 alla dose di 120 mg/m². Il ciclo veniva ripetuto ogni 21 giorni.

Durante la chemioterapia è stato effettuato stretto monitoraggio dell'infezione da Citomegalovirus (determinazione del CMV DNA ad ogni ciclo chemioterapico) e profilassi primaria con fattore di crescita granulocitario peghilato al giorno 6 di ogni ciclo. I pazienti hanno ricevuto terapia antibiotica cotrimossazolo per prevenire infezioni da *Pneumocystis carinii* e altri patogeni opportunisti.

Durante la fase del trattamento chemioterapico sono stati registrati tutti gli eventi di tossicità acuta riscontrati. La valutazione della risposta finale è stata effettuata sulla base della risposta ¹⁸FDG-PET.

Lo studio è stato disegnato e coordinato dall'unità di Ematologia del Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'azienda Ospedaliera Universitaria Federico II di Napoli (Direttore Prof. Fabrizio Pane) e approvato dal Comitato Etico Scientifico della stessa Azienda Ospedaliera. La raccolta, il controllo dei dati e l'analisi dei risultati sono stati effettuati anch'essi nella suddetta unità di Ematologia. Il consenso informato è stato sottoposto a tutti i pazienti eleggibili in accordo con i principi di eticità della Dichiarazione di Helsinki del 2008.

3.3 Endpoints e analisi statistica

L'efficacia del trattamento è stata valutata e categorizzata, in accordo con i Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma [32], come risposta completa (CR), risposta parziale (PR), malattia stabile (SD), malattia progressiva (PD). Il tasso di risposta globale (ORR: CR+PR) è stato altresì valutato. Sono state elaborate curve di sopravvivenza con l'analisi della Progression Free Survival (PFS) e dell'Overall Survival (OS), calcolate dal primo giorno del primo ciclo somministrato fino alla progressione di malattia o il decesso del paziente. Le curve di sopravvivenza sono state stimate utilizzando il metodo di Kaplan-Meier. L'analisi di Kaplan-Meier è il metodo di analisi univariata più largamente utilizzato per la costruzione e il confronto delle curve di sopravvivenza. La sua peculiarità consiste nel mettere in rapporto un certo esito o evento con il fattore tempo.

Nell'ottica di una valutazione di tipo "intention to treat" sono stati considerati nell'analisi tutti i pazienti che avessero terminato almeno un ciclo completo di Bv + B (Bendamustina + Brentuximab), al fine di considerare nell'analisi tutti gli eventi, compresi quelli precoci verificatisi in corso di chemioterapia.

È stata inoltre valutata la percentuale di pazienti avviata a procedura trapiantologica auto o allogenica e lo status clinico post-trapianto. Gli eventi avversi sono stati riportati e classificati per tipologia e grado usando i criteri NCI-CTCAE (v. 4.0) [66]. Per l'analisi dei dati è stato utilizzato il software GraphPad Prism® versione 6.

4. RISULTATI

4.1 Caratteristiche della coorte di pazienti

Quindici pazienti, trattati tra Settembre 2013 e Ottobre 2018 sono stati inclusi nello studio e sono stati valutati in merito ad outcome clinico, tossicità e possibilità di essere avviati a procedura trapiantologica. La mediana di follow-up dal primo ciclo di somministrazione di Bv + B è risultata pari a 26,6 mesi con un range compreso tra 1 e 68 mesi. La mediana di età al momento dell'inizio del trattamento Bv + B risultava di 40 anni (range 23-54 anni), con una rappresentanza maschile del 40%. L'istotipo più frequente è risultato la sclerosi nodulare (87%), 2 pazienti (13%) presentavano un istotipo a cellularità mista. Al momento della ristadiazione pre Bv + B, 4 pazienti (27%) presentavano uno stadio I-II, mentre 11 pazienti (73%) uno stadio III-IV. Di questi 11 pazienti in stadio avanzato, l'IPS era maggiore o uguale 3 nel 67%. Sei pazienti su 15 (40%) mostravano un coinvolgimento extranodale, solo 1 paziente (7%) presentava localizzazione midollare, 4 pazienti (27%) avevano una malattia bulky, mentre i sintomi B erano presenti nel 54% della popolazione in esame. L'ECOG è risultato tra 0 e 1 in 9 pazienti (60%) e maggiore o uguale a 2 in 6 pazienti (40%).

Tutti i pazienti avevano ricevuto come terapia di prima linea l'ABVD. Quattro pazienti (27%) avevano inoltre ricevuto trattamento radioterapico involved field come regime di consolidamento post-chemioterapia. L'outcome dopo terapia di prima linea era risultato in progressione di malattia (PD progression disease) in 4/15 pazienti (27%) e in refrattarietà di malattia (SD stable disease) in 5/15 pazienti (33%).

La malattia si era ripresentata come recidiva entro 1 anno in 2 pazienti, e dopo una mediana di 42 mesi (range 14-110) in altri 4.

Le linee terapeutiche complessive precedenti all'arruolamento sono risultate comprese tra 2 e 5 con una mediana di 3. Il 40% (6/15 pazienti) aveva effettuato massimo 2 linee di terapia, il 53% (8/15 pazienti) aveva effettuato 3 o 4 linee di terapia e solo 1 paziente (7%) aveva ricevuto più di quattro linee di terapia.

Nel dettaglio, gli schemi terapeutici utilizzati come salvataggio, prima dell'arruolamento, comprendevano: IGEV in 12 pazienti (80%), seguito in 4 pazienti su 12 da DHAP, per mancata risposta. Brentuximab vedotin in monoterapia è stato somministrato in 2 pazienti, dopo fallimento con DHAP o IGEV (13%). Solo un paziente ha ricevuto trattamento con BEACOPP, perché arruolato in un trial clinico. Un solo paziente aveva ricevuto solo

radioterapia come trattamento di seconda linea, mentre un solo paziente aveva ricevuto DHAP seguito da GEMOX e radioterapia.

Solo un paziente era già stato sottoposto ad autotrapianto di cellule staminali, e solo un altro a doppio autotrapianto; nessuno a procedura allo-trapiantologica.

Tutti i pazienti hanno mobilizzato con G-CSF con gli schemi sopraelencati, raccogliendo una quantità di CD34 sufficienti per doppia procedura autotrapiantologica.

Per quanto riguarda la valutazione della risposta all'ultima linea di terapia: 4 pazienti (27%) sono risultati sensibili, mostrando però una risposta parziale (RP); 7 pazienti (46%) sono risultati in progressione di malattia (PD) e 4 pazienti (27%) refrattari.

Sesso		n
Femmine	9	(60%)
Maschi	6	(40%)
Età		
Mediana (range)	40	(23-54)
Sottotipo istologico		
Sclerosi nodulare	13	(87%)
Cellularità mista	2	(13%)
Deplezione linfocitaria	-	-
Ricco in linfociti	-	-
Predominanza linfocitaria	-	-
Non altrimenti specificato	-	-
Caratteristiche al momento della recidiva		
Bulky mediastinico	3	(20%)
Interessamento extranodale	6	(40%)
Interessamento di più di due siti linfonodali	12	(80%)
Interessamento midollare	1	(7%)
VES ≥ 50	6	(40%)
LDH > Valori normali	7	(47%)
IPS* ≥ 3	6	(40%)
Stadiazione di Ann Arbor/ Costworld		
I-II	4	(27%)
III-IV	11	(73%)
Sintomi B	8	(53%)
ECOG-PS		
0-1	9	(60%)
≥ 2	6	(40%)
Risposte all'ultima linea di terapia		
PR (Partial response)	6	(40%)
PD (Progression disease)	4	(27%)
SD (Stable disease)	5	(33%)
Numero di linee precedenti		
2	6	(40%)
3-4	8	(53%)
> 4	1	(7%)
Mediana (range)	3	(2-5)
Regimi terapeutici precedenti		
IGEV	12	(80%)
DHAP	5	(33%)
Bv	2	(13%)
BEACOPP	1	(7%)
Radioterapia (IF)	4	(27%)
GEMOX	1	(7%)
Precedente trapianto		
Singolo AUTO-BMT	1	(7%)
Doppio AUTO-BMT	1	(7%)

Tabella 8. Caratteristiche demografiche e cliniche dei 13 pazienti

4.2 Valutazione di efficacia

Al termine di una mediana di 4 cicli di Bv + B, i pazienti sono stati valutati con l'esecuzione di una ¹⁸FDG-PET e categorizzati secondo le linee guida dell'International Harmonization Group (2007) [28]. L'ORR del gruppo è risultato pari al 100%, con 15 CR (complete remission).

Al termine di una mediana di follow-up di 26,6 mesi dal primo ciclo di Bv + Bendamustina (range 1-68 mesi) è stata stimata la Progression Free Survival (PFS), intesa come periodo di tempo in cui la malattia non progredisce e che intercorre tra la data di inserimento nello studio clinico e la data di progressione di malattia documentata tramite imaging. Alla fine di questo periodo ciascun paziente è stato descritto da una coppia di valori: "t" (tempo o durata dell'osservazione) e "c" (condizione o evento assumendo come 0 l'assenza dell'evento progressione e 1 l'evento progressione). I pazienti sono rimasti nell'analisi fino al momento in cui sono stati disponibili dati circa il loro stato di salute. Graficamente la stima di Kaplan-Meier è una curva a gradini continua che parte da 1 e decresce nel tempo. Ha una caduta in ogni istante "t" in cui si verifica almeno un evento: parte infatti da un livello di sopravvivenza pari al 100% (infatti, per definizione, tutti i pazienti sono vivi al tempo "0", che coincide con il momento della diagnosi di recidiva/refrattarietà e l'inizio della terapia nel nostro studio) e decresce nel tempo fino a tendere allo zero.

La PFS globale valutata a 26,6 mesi dall'inizio della terapia con Bv + Bendamustina, è risultata pari al 91,6 %, con solo due pazienti che dall'inizio del trattamento hanno presentato progressione di malattia (Figura 12).

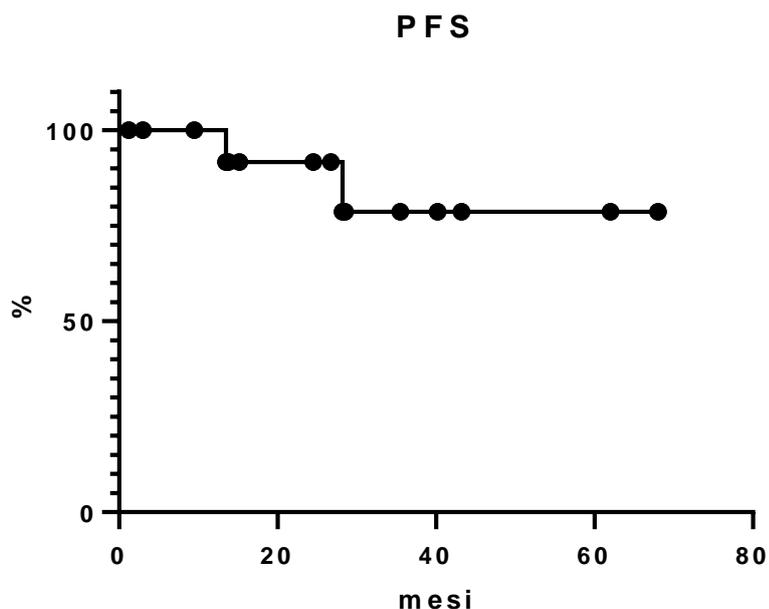


Figura 12. Progression Free Survival

Come obiettivo secondario, al termine di un follow-up mediano di 26,6 mesi dall'inizio del trattamento con Bv + Bendamustina è stata stimata la sopravvivenza globale della coorte dei pazienti (OS), risultando pari al 100 %.

Infine abbiamo valutato le percentuali di pazienti avviati a procedura trapiantologica (bridge to transplant) dopo i cicli di bendamustina: sono stati avviati ad autotrapianto 9 pazienti, ad allotrapianto 2 pazienti, mentre i restanti 2 sono stati appena rivalutati e verrà considerata la loro idoneità per autotrapianto (figura 13).

Nello swimmers plot (figura 14) abbiamo descritto sia l'outcome dei 15 pazienti sia le terapie antecedenti all'inizio Bv + B. Due pazienti sono ancora considerati in corso di terapia. Quattro pazienti sono stati sottoposti a terapia di mantenimento con Brentuximab in monosomministrazione dopo autotrapianto, fino a un massimo di 6 cicli.

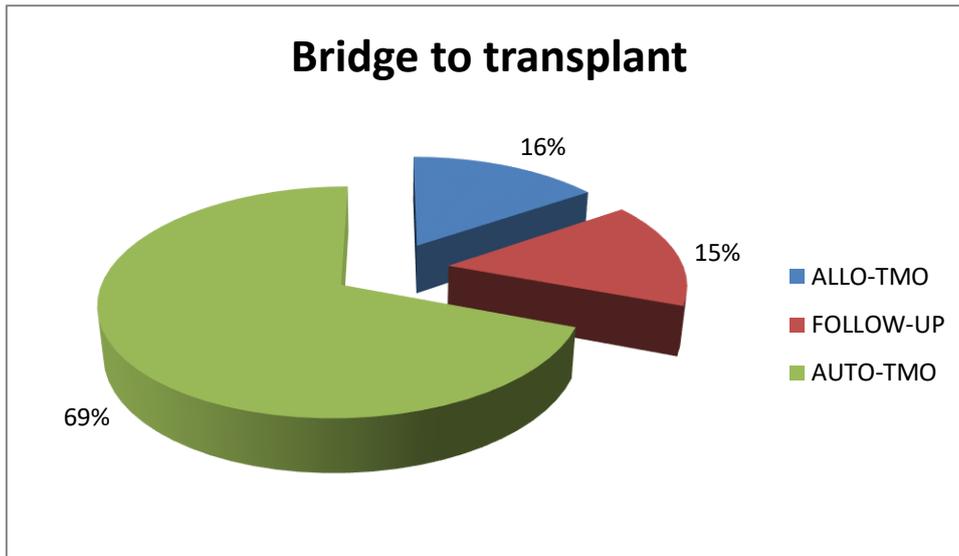


Figura 13. Bridge to transplant

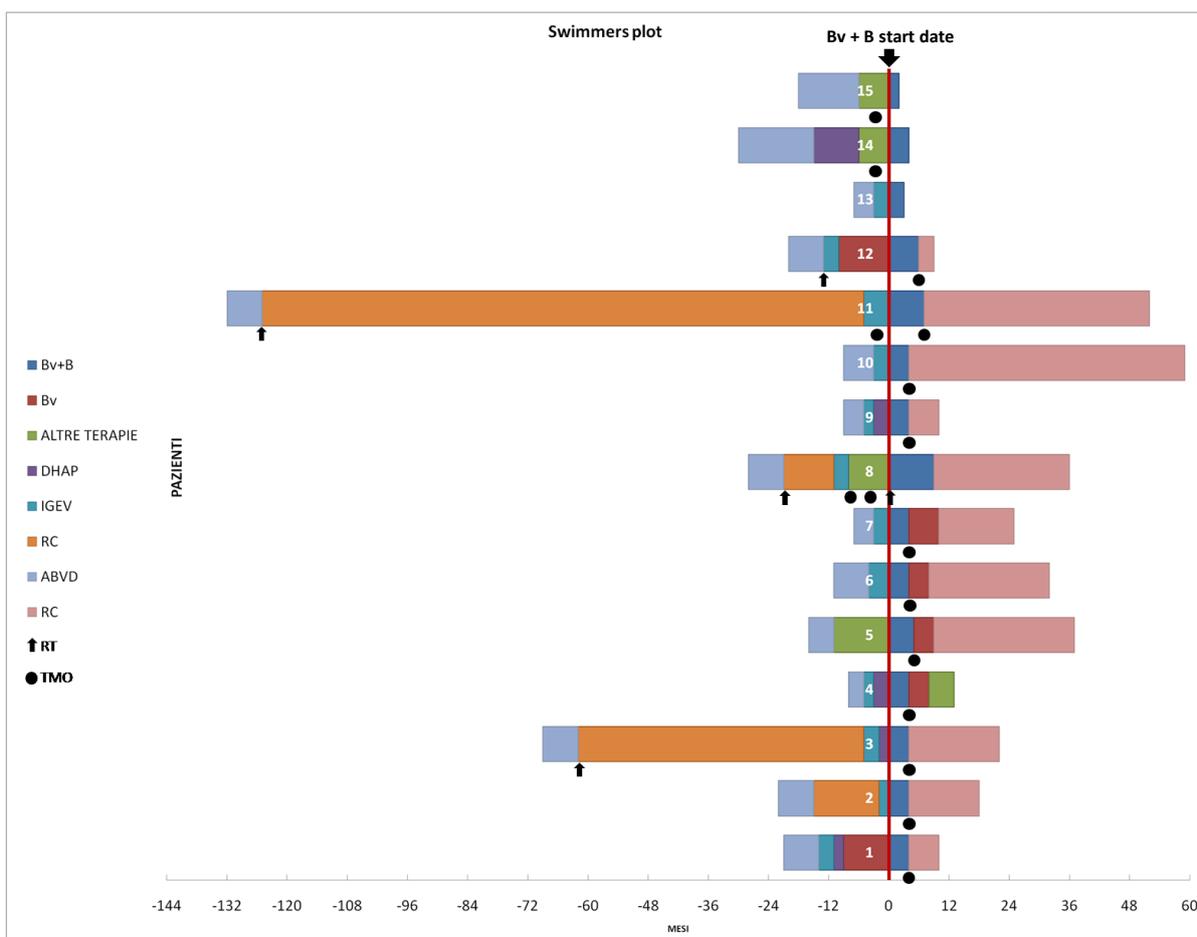


Figura 14. Swimmers plot. Durata della risposta dopo l'inizio di Bv + B. L'asse verticale indica l'inizio di Bv + B. Alla sua sx sono indicati tutti i trattamenti che hanno preceduto l'inizio di Bv + B. Alla sua dx viene descritto tutto ciò che ha fatto seguito. Il colore blu a destra dell'asse indica la durata della risposta completa in ogni paziente. Le frecce verticali indicano la radioterapia; i puntini la procedura trapiantologica.

4.3 Tossicità, riduzione della dose e rinvii del trattamento

Gli eventi avversi sono stati riportati e classificati per tipologia e grado usando i criteri NCI-CTCAE (v. 4.0) [66] (tabella 9). Per quanto riguarda la tossicità ematologica, l'evento maggiormente verificatosi è stato la neutropenia con una percentuale totale del 34% di grado 1-2 e del 7% di grado 3. Dei 15 pazienti, 13 (87%) hanno ricevuto profilassi primaria con G-CSF.

La percentuale di pazienti che ha manifestato anemia di grado 1-2 è stata pari al 34%. Nessuno ha presentato anemia di grado 3 e 4, laddove intendiamo come tale la presenza di sintomi con un valore di emoglobina inferiore a 8 g/dl e con necessità di trasfusioni nonostante trattamento profilattico con fattori di crescita. Piastrinopenia di grado 1-2 si è presentata nel 14 % dei pazienti.

La tossicità extraematologica da noi analizzata ha incluso: infezioni del distretto respiratorio e riattivazioni da citomegalovirus; eventi avversi sull'apparato gastrointestinale; sul sistema nervoso periferico; reazioni infusionali e dermatologiche.

Come tossicità extraematologica i sintomi più comuni sono stati: la fatigue nel 20% e le mialgie nel 20%.

La valutazione della tossicità a livello gastrointestinale ha incluso: nausea e vomito, diarrea, stipsi e mucositi. La nausea è stato l'evento avverso di tipo gastroenterico più comune, con un tasso del 27%; tutti gli eventi erano, però, di grado 1 con nausea riportata solo nel giorno della somministrazione della terapia ed in quello successivo e responsiva ai comuni anti-emetici. Solo un paziente ha presentato vomito di grado 1 (7%). Nessuno ha presentato mucositi. La stipsi di grado lieve si è verificata in un solo paziente (7%). La diarrea si è verificata in tre pazienti (20%); tutti gli eventi sono stati di grado lieve.

Si è avuto un solo caso di polmonite che ha richiesto trattamento con antibiotici per via intramuscolare; il 20 % ha avuto febbre di grado 1, trattata con antibiotici orali; solo un paziente ha avuto tosse. Il 40% dei pazienti ha avuto riattivazione del CMV, documentata mediante amplificazione genica (PCR) del genoma del patogeno, presentando malessere e febbre.

Un altro evento avverso riconducibile a questo schema di trattamento, in particolar modo al Brentuximab, è a carico del sistema nervoso periferico. In particolare il 27% dei pazienti riferivano i sintomi di una neuropatia sensoriale: ipoestesia, iperestesia, parestesia, discomfort, sensazione di bruciore, dolore neuropatico o debolezza. Sono stati tutti eventi di grado 1 o 2 con limitazione da lieve a moderata delle normali ADL (activity daily living) dei

pazienti. La neuropatia Brentuximab-indotta, è tipicamente cumulativa e generalmente reversibile.

Nessuno ha presentato tossicità epatica.

Le reazioni legate all'infusione sono avvenute nel 13% dei pazienti di grado 1 e in un paziente (7%) di grado 2; nessuno ha richiesto sospensione dell'infusione e sono state trattate con comuni antistaminici e cortisonici. La profilassi con antistaminici e cortisonici è stata poi utilizzata come profilassi nei cicli successivi. Nei giorni successivi alla terapia si è avuto rash maculopapulare di grado 1-2 nel 33% dei pazienti, associato a prurito di grado lieve nel 20 % dei pazienti.

La mediana dei cicli di Bv + B somministrati è risultata pari a 4 (range 3-8); tuttavia 4 pazienti (27%) hanno necessitato di riduzione della dose di bendamustina fino al 25% e 4 pazienti (27%) hanno richiesto riduzione della dose di brentuximab fino al 10%.

Il 13% (2/15) ha avuto un ritardo fino a tre settimane nella somministrazione della schedula. Gli eventi avversi che hanno causato ritardi e riduzioni della dose sono stati i processi infettivi e la neuropatia periferica sensoriale.

Nel nostro periodo di osservazione con una mediana pari a 26,6 mesi dal primo ciclo di Bv + Bendamustina (range 1-68), non abbiamo constatato casi di tossicità cronica e tutti coloro che avevano avuto neuropatia periferica, hanno mostrato regressione della sintomatologia alla sospensione del trattamento.

TOSSICITÀ	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	G4 (%)
Anemia	4 (27)	1 (7)	0	0
Piastrinopenia	1 (7)	1 (7)	0	0
Neutropenia	1 (7)	4 (27)	1 (7)	0
Stipsi	1 (7)	0	0	0
Diarrea	3 (20)	0	0	0
Nausea	4 (27)	0	0	0
Vomito	1 (7)	0	0	0
Tosse	1 (7)	0	0	0
Fatigue	3 (20)	0	0	0
Mialgie	3 (20)	0	0	0
Neuropatia periferica	1 (7)	3 (20)	0	0
Cefalea	0	0	0	0
Vertigini	0	0	0	0
Reazioni legate all'infusione	2 (13)	1 (7)	0	0
Prurito	3 (20)	0	0	0
Rash maculopapulare	5 (33)	1 (7)	0	0
Polmoniti	0	1 (7)	0	0
Febbre	3 (20)	0	0	0

Tabella 9. Eventi avversi acuti

5. *DISCUSSIONE*

I pazienti con LH non responsivo a diverse linee di trattamento e quindi ineleggibili a procedura trapiantologica oppure recidivati post-trapianto, risultano difficilmente responsivi agli schemi terapeutici standard.

La bendamustina, nel panorama variegato di molecole proposte ha attirato negli ultimi anni l'attenzione della comunità scientifica mostrando risultati promettenti in diverse casistiche. Nel nostro gruppo di pazienti con LH refrattario o recidivato, già pretrattati con una mediana di 3 linee terapeutiche e con autotrapianto nel 13% dei casi, la bendamustina, in associazione al Brentuximab vedotin, si è rivelata un agente terapeutico efficace determinando una ORR del 100%, con 15 RC.

La PFS è risultata pari a 91,6 % con una mediana di follow-up dalla prima somministrazione di Bv + B pari a 26,6 mesi; solo due pazienti sono andati incontro a progressione di malattia dopo Bv + B e autotrapianto, nonostante abbiano ottenuto una remissione completa alla PET/TC di rivalutazione. Un paziente era stato sottoposto ad autotrapianto e a successivo mantenimento con Brentuximab in monosomministrazione, ma è andato incontro a ripresa di malattia; successivamente è stato avviato a terapia con Nivolumab, ma è attualmente ancora in malattia. Il secondo paziente è risultato in progressione di malattia alla rivalutazione PET/TC effettuata a 6 mesi dal trapianto autologo di cellule staminali.

Importante è risultata la percentuale di pazienti che ha potuto effettuare il trapianto, fino al 80%. In particolare il 66 % dei pazienti è stato avviato a procedura autotrapiantologica e il 13% a procedura allotrapiantologica, perché già sottoposti ad autotrapianto.

Il numero di linee precedenti all'utilizzo dello schema Bv + B ($p=0.48$) e l'aver già ricevuto un autotrapianto ($p=0.65$), non hanno influenzato l'outcome finale.

Da sottolineare anche che Brentuximab Vedotin era già stato utilizzato in monoterapia in due pazienti, comportando una progressione di malattia.

I pazienti hanno poi ottenuto una remissione completa, utilizzando l'associazione Bv + Bendamustina.

La tossicità maggiormente riportata è stata quella ematologica di grado 1-2, riscontrando anemia nel 34% dei pazienti e neutropenia nel 41%. Solo un paziente ha avuto una neutropenia di grado 3, che tuttavia non ha richiesto tuttavia l'interruzione del trattamento.

Tossicità extraematologica verificatasi, sempre di grado 1-2, è stata la nausea nel 27% dei casi, trattata con i comuni antiemetici e la diarrea nel 20% dei casi.

L'evento più invalidante riferito dai pazienti è stato la neuropatia sensoriale nel 27% dei pazienti (grado 1-2), senza però modificare in maniera significativa le ADL (Activities Daily Living) degli stessi.

Altri tipi di tossicità extraematologica riportati sono stati: reazioni legate all'infusione, con un tasso del 20%; prurito e tossicità cutanea con rash maculopapulare, rispettivamente nel 20 % e nel 40 % dei casi.

Il 13% ha avuto un ritardo fino a tre settimane nella somministrazione della schedula; il 27% ha necessitato riduzione della dose prevista e un altro 40% ha mostrato una riattivazione del CMV-DNA documentata laboratoristicamente. Gli eventi avversi che hanno causato ritardi e riduzioni della dose sono stati i processi infettivi e la neuropatia periferica sensoriale.

Analizzando i dati della letteratura è stato possibile confrontare i risultati del nostro studio con quelli, di tipo retrospettivo e di fase II, condotti presso altre Istituzioni.

La bendamustina è stata utilizzata al dosaggio di 120 mg/m² in monoterapia e di seguito riportiamo una serie di studi pubblicati negli ultimi anni.

Nel 2013, la Fondazione Italiana Linfomi ha pubblicato uno studio retrospettivo sull'uso della bendamustina in monoterapia nei pazienti con LH recidivato dopo trapianto autologo o allogenico analizzando i dati di un totale di 67 pazienti [67]. In questo subset di pazienti complessi, Anastasia et al sono riusciti ad ottenere un ORR del 57% con il 25% di CR con dosaggi di bendamustina compresi tra i 90 e i 120 mg/m².

Lo studio condotto al Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ha riportato in 36 pazienti (il 75% dei quali aveva recidivato dopo autotrapianto) un ORR del 53% (CR 33%) [63]. Corrazzelli et al e Ghesquieres et al hanno osservato tassi di risposta globali molto simili pari al 58 e 50% rispettivamente [64][65]. Questi tassi di risposta sono stati ottenuti con dosaggi compresi tra i 90 e i 120 mg/m² con cicli ripetuti ogni 21 o 28 giorni.

Nello studio di Corazzelli et al. [64] l'evento avverso più comunemente riportato è stato la piastrinopenia fino al 29 %, in quello di Moskowitz et al [63]), la percentuale di piastrinopenia riportata è stata lievemente inferiore (20%).

Nella nostra popolazione la piastrinopenia non è stato l'evento avverso maggiormente riscontrato e si è verificata in solo il 14 % dei pazienti, sempre di grado 1-2.

Più di recente la Bendamustina è stata utilizzata, a diversi dosaggi, in associazione al Brentuximab.

Ahmes Sawas et al. [68], hanno pubblicato su Blood i risultati di uno studio multicentrico di fase I-II riguardanti una popolazione di 42 pazienti con LH e ALCL recidivati post trapianto o ineleggibili a procedura trapiantologica. Nella fase I è stata effettuata un'escalation di dose sia

per il Brentuximab che per la Bendamustina fino ad arrivare alla dose raccomandata in fase II di 1.8 mg/kg per il Brentuximab in giornata 1 e 90 mg/m² per la Bendamustina in giornata 1 e 2. La ORR è risultata pari al 67% con il 19 % di CR. La tipologia di tossicità di grado 3-4 maggiormente osservata in fase II è stata la neutropenia fino al 14 % dei pazienti e gli eventi broncopneumonici fino al 14 % della popolazione.

Risultati simili a quelli della nostra popolazione, si sono avuti in una corrispondenza pubblicata su British Journal of Hematology nel 2016 da Kalac M et al [69]: dieci pazienti con LH recidivato/refrattario sono stati sottoposti a trattamento di salvataggio con Bendamustina in associazione a Brentuximab. Non è stato specificato il dosaggio di Bendamustina utilizzato, ma il 90 % dei pazienti ha mostrato una CR alla fine del trattamento. Dopo una mediana di 367 giorni dall'inizio di Bv + B, la OS è risultata pari al 100 % e la EFS del 80 %.

Su Lancet Oncology, nel dicembre 2017, Owen A O'Connor et al. [70] hanno pubblicato uno studio internazionale di fase I-II a singolo braccio che ha stabilito nella fase II, un dosaggio ottimale di Bendamustina pari a 90 mg/m², associata al Brentuximab Vedotin al dosaggio di 1.8 mg/kg. Il 18% dei pazienti ha mostrato una tossicità di grado 3 in fase II. La ORR è risultata pari al 78% per i pazienti in fase II.

All'ultimo ASH del 2017 sono stati pubblicati dal gruppo dell'Istituto Seragnoli di Bologna [71] i primi risultati di uno studio di fase II riguardanti una popolazione di 25 pazienti con PTCL e di 40 pazienti con LH recidivati/refrattari trattati con Bendamustina in associazione al Brentuximab. Anche in questo caso il dosaggio utilizzato è stato di 1.8 mg/kg per il Brentuximab e di 90 mg/m² per la Bendamustina in giornata 1 e 2. Per i PTCL la ORR è risultata pari al 67 %, con una CR del 19%; per i LH la ORR è risultata del 93% con una CR del 73 %. La tossicità riportata di grado superiore al 3, è stata maggiormente di tipo cutaneo.

Nel 2018 è stato pubblicato su Blood da Ann. S LaCasce et al. [72]: è uno studio di fase I-II a singolo braccio, che valutava la sicurezza e l'efficacia della Bendamustina utilizzata a un dosaggio di 90 mg/m² in associazione al Brentuximab utilizzato a 1.8 mg/kg per una popolazione di 55 pazienti con LH recidivati/refrattari (28 primary refractory e 27 ricaduti). La ORR (valutata su 53 pazienti dopo una mediana di due cicli di trattamento) è risultata pari al 92,5%, con una CR del 73,6%. La tossicità maggiormente riportata è stata quella relativa alle reazioni infusionali e la nausea.

In tutti gli studi finora citati, la Bendamustina è stata utilizzata al dosaggio di 90 mg/m² in giornata 1 e 2 e il Brentuximab a un dosaggio di 1.8 mg/kg.

La Bendamustina a 120 mg/m² in associazione al Brentuximab 1.8 mg/kg, è stata utilizzata dal gruppo di Locatelli [73], in una popolazione pediatrica; i risultati di quest'analisi retrospettiva sono stati pubblicati in un abstract all'ultimo ASH 2017. Una popolazione di 23 pazienti pediatrici e di giovani adulti con LH recidivato/refrattario e positività al CD30, che faceva riferimento a tre centri italiani, è stata trattata con la schedula Bv + Bendamustina e analizzata retrospettivamente. Il 52% ha ottenuto remissione completa e il 13% una remissione parziale. La mediana dei cicli di terapia somministrati era 4. La OS a 2 anni è risultata del 77%, mentre la PFS del 33%. Nonostante il dosaggio della Bendamustina, la tossicità di grado 3-4 maggiormente riscontrata è stata quella ematologica, senza, però, causare interruzioni del trattamento. La neuropatia periferica, osservata in solo il 13% dei pazienti, si è mostrata reversibile e di grado non superiore a 2.

Sebbene i limiti di uno studio retrospettivo e del tipo di popolazione più giovane, i risultati ottenuti sono quelli più facilmente paragonabili ai nostri per il tipo di schedula utilizzata. Il tasso di CR ottenuto è stato del 52%, rispetto al 100% ottenuto presso il nostro centro. Interessante è, però, il dato relativo alla tossicità. Nonostante il dosaggio più elevato, rispetto agli altri gruppi non si è avuta una tossicità di grado 3-4 molto importante, mostrando un buon profilo di tollerabilità.

Anche il confronto con regimi di salvataggio differenti esplorati nei diversi studi monocentrici mostra una superiorità della bendamustina, che nel nostro studio ha ottenuto un ORR globale del 100% (100% di CR) nell'intera coorte.

Di seguito (Tabelle 10-11) abbiamo riportato un confronto tra i vari studi in cui la bendamustina è stata utilizzata sia in monosomministrazione a più dosaggi, sia in associazione al Brentuximab a un dosaggio più basso.

Utilizzando la Bendamustina a un dosaggio pari a 120 mg/m² e in associazione al Brentuximab, si è avuto un outcome migliore, con un'ORR superiore al 60%, mostrando un profilo di tollerabilità e sicurezza analogo.

Gli schemi a base di gemcitabina come il GVD e il GDP, hanno ottenuto una ORR del 70% (CR=19%), nello studio del CALGB [53], e del 69% (CR=17%), nello studio di Baetz et al [53]. L'SGN-35 (Brentuximab Vedotin) ha riportato nello studio di Younes et al. una ORR del 75% (CR=34%) [56]. Il confronto con le molecole biologiche come il panobinostat (ORR 27%) [38] e la lenalidomide (ORR 19%) [59], depone invece nettamente a favore per l'uso della bendamustina.

STUDIO	PTS	SCHEDULA/DOSE BENDAMUSTINA GG 1-2	OUTCOME
Moskowitz et al. (J. Clin Oncol 2013)	34	120mg/m ²	ORR 53% CR 33%
Corrazzelli G. et al (Br J hematology 2013)	41	120mg/m ² 100 mg/m ² 90 mg/m ²	ORR 58% CR 31%
Ghesquières et al. (Leuk and lymph 2013)	28	120mg/m ² 90 mg/m ²	ORR 50% CR 29%
Anastasia et al. (Br J hematology 2014)	67	90mg/m ²	ORR 57% CR 25%

Tabella 10. Confronto tra gli studi con Bendamustina in monoterapia.

STUDIO	PTS	SCHEDULA/DOSE BV GG 1 + BENDAMUSTINA GG 1-2	OUTCOME
Ahmed Sawas et al. (Blood 2015)	41 LH 1 ALCL	Bv 1.8 mg/kg Benda 90 mg/m ²	ORR 67% CR 19%
Vittorio Stefoni et al. (Blood 2017)	25 PTCL 40 LH	Bv 1.8 mg/kg Benda 90 mg/m ²	ORR 67%- CR 19% ORR 93%-CR 73%
Luciana Vinti, Franco Locatelli et al. (Blood 2017)	23	Bv 1.8 mg/kg Benda 120 mg/m ²	ORR 65 % CR 52%
Kalac M et al. (Br J Haematol. 2018)	10	NON SPECIFICATO	EFS 80% CR 90%
Ann S. LaCasce et al. (Blood 2018)	55	Bv 1.8 mg/kg Benda 90 mg/m ²	ORR 93% CR 74%
O'Connor OA et al. (Lancet Oncol. 2018)	37	Bv 1.8 mg/kg Benda 90 mg/m ²	ORR 78% CR 43%
AOU FEDERICO II	15	Bv 1.8 mg/kg Benda 120 mg/m ²	ORR 100 % CR 100 %

Tabella 11. Confronto tra gli studi con Bv + Bendamustina a diversi dosaggi.

A supporto del fatto che la bendamustina a dosaggi più elevati abbia un'efficacia maggiore, abbiamo riportato uno studio del 2012 in cui è stata valutato in vitro l'effetto concentrazione dipendente della bendamustina sul ciclo cellulare, sul danno al DNA, sulla risposta dei checkpoint e sulla morte cellulare nelle Hela Cell. Basse concentrazioni di bendamustina arresterebbero il ciclo cellulare in fase G2, mentre concentrazioni quattro volte più alte, arresterebbero il ciclo cellulare in fase S. Il danno al DNA sarebbe efficacemente riparato a una concentrazione di 50 micromoli entro 48 ore, a differenza di una concentrazione di 200 micromoli, suggerendo una differenza nella riparazione del danno alle differenti concentrazioni. Le cellule arrestate in fase G2 con basse dosi di bendamustina, entrano in mitosi e si dividono normalmente, a differenza di quelle arrestate in fase S, che presenterebbero mitosi aberranti con cromosomi frammentati [74].

Già precedentemente era stata studiata l'attività apoptotica della bendamustina nelle cellule di pazienti con leucemia linfatica cronica. Utilizzando il farmaco da solo in concentrazioni differenti, da 1 microgrammo/ml fino a 50 microgrammi/ml, poteva essere osservata una citotossicità dose e tempo dipendente che era rispettivamente del 30 % e del 94 %, dopo 48 ore [75].

Inoltre, è stato dimostrato un sinergismo in vitro per l'associazione dei due farmaci [76]. Difatti, un'esposizione prolungata alla Bendamustina determina una overespressione dell'antigene di superficie CD30 e riduce i livelli di HLA-DR e PDL-1. L'overespressione del CD30 migliora la sensibilità e gli effetti citotossici del Brentuximab Vedotin. La selezione di cellule neoplastiche con esaltata espressione di CD30 e ridotta espressione di HLA-DR/PDL-1 può sicuramente costituire uno spunto per future nuove terapie di associazione che comprendano la combinazione Bendamustina – Brentuximab Vedotin – Inibitori di PD1.

Da quanto riportato in letteratura e dai risultati avuti dal nostro studio, seppure su una piccola casistica, possiamo senz'altro affermare l'efficacia dello schema terapeutico Bv + Bendamustina ad alte dosi qualificandolo, grazie all'alto tasso di risposte e il buon profilo di tossicità, come uno dei più promettenti per la terapia di salvataggio dopo fallimento di trapianto.

6. CONCLUSIONI

Il linfoma di Hodgkin refrattario o recidivato dopo diverse linee terapeutiche o dopo trapianto autologo di cellule staminali rappresenta un' importante sfida terapeutica. In questo setting di pazienti la chemioterapia di salvataggio (con schemi basati su gemcitabina, ifosfamide, bendamustina e altro) o l'immunoterapia (per esempio col Brentuximab Vedotin, Nivolumab o Pembrolizumab) sono essenziali quale terapia citoriduttiva ponte verso terapie consolidative di lunga durata come il trapianto autologo o allogenico. Circa la scelta della terapia ottimale non sono stati ancora prodotti dati randomizzati e la maggior parte delle evidenze deriva da studio "a singolo braccio" o studi retrospettivi monocentrici. L'obiettivo del nostro studio è stato quello di testare in maniera prospettica l'efficacia di un chemioterapico già ampiamente utilizzato in ematologia, la Bendamustina in associazione al Brentuximab Vedotin e valutare, oltre all'efficacia della combinazione dei due farmaci, il profilo di tollerabilità della Bendamustina utilizzata ad alte dosi.

I risultati ottenuti sono stati più che promettenti; la ORR nell'intera coorte di pazienti è stata del 100%, con un tasso di CR del 100% e una percentuale del 73% che ha potuto effettuare procedura trapiantologica.

Il suo profilo di sicurezza è risultato accettabile e gli eventi avversi maneggevoli nonostante le alte dosi. Pertanto, sia i dati relativi al nostro centro, sia quelli riportati in letteratura, ci inducono a pensare che il farmaco possa essere somministrato più efficacemente alla dose di 120/m² senza che la tollerabilità venga inficiata eccessivamente.

Il limite principale dello studio è risultato la bassa numerosità della popolazione studiata, motivo per il quale ci si propone di allargare lo studio ad altri centri di riferimento per il trattamento della patologia. Un filone inoltre da perseguire con studi sperimentali, sia in vitro che in vivo, è la scelta dei regimi di combinazione più efficaci che possano incrementare i tassi di risposta, garantire una risposta di più lunga durata e avviare un numero maggiore di pazienti a trapianto.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59:225.
- [2] Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116:3724.
- [3] Correa P, O'Connor GT. Epidemiologic patterns of Hodgkin's disease. *Int J Cancer* 1971; 8:192.
- [4] National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review 1975- 2008. Surveillance Epidemiology and End Results.
- [5] Levine PH, Pallesen G, Ebbesen P, et al. Evaluation of Epstein– Barr virus antibody patterns and detection of viral markers in the biopsies of patients with Hodgkin's disease. *International Journal of Cancer*. 1994;59(1):48–50.
- [6] Zander T., Wolf J., Diehl V., et al. Epidemiology and etiology of Hodgkin's lymphoma. Department of Internal Medicine I, University of Cologne, Cologne, Germany. *Annals of Oncology* (Impact Factor: 6.58). 02/2002; 13 Suppl 4:147-52.
- [7] Mack T.M., Cozen W., Shibata D.K., et al. Concordance for Hodgkin's disease in identical twins suggesting genetic susceptibility to the young-adult form of the disease. *New England Journal of Medicine* 1995; 332: 413–418.
- [8] Bellas C., Santon A., Manzanal A., et al. Pathological, immunological, and molecular features of Hodgkin's disease associated with HIV infection. Comparison with ordinary Hodgkin's disease. *The American Journal of Surgical Pathology* 1996;20:1520–4.
- [9] Pileri S.A., Ascani S.A., Leoncini L., et al. Hodgkin's lymphoma: the pathologist's view point. *Journal of Clinal pathology*. 2002 mar;
- [10] Von Wasielewski R, Seth S, Franklin J, et al. Tissue eosinophilia correlates strongly with poor prognosis in nodular sclerosing Hodgkin's disease, allowing for known prognostic factors. *Blood* 2000; 95:1207.
- [11] Jon C Aster, MD Epidemiology, pathologic features, and diagnosis of classical Hodgkin lymphoma. Uptodate May 2014.
- [12] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
- [13] Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Stefano A. Pileri, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016 127:2375-2390.

- [14] Carbone A, Gloghini A. Hodgkin lymphoma classification: Are we at a crossroads? *Cancer* 2017 Oct 1;123(19): 3654-3655.
- [15] Weiss LM, Warnke RA, Hansmann ML, et al, Pathology of Hodgkin Lymphoma. In: Hodgkin Lymphoma, 2nd ed, Hoppe RT, Mauch PT, Armitage JO, et al, (Eds), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2007. Copyright © 2007 Lippincott Williams & Wilkins.
- [16] Ioachim HL, Medeiros LJ. Hodgkin lymphoma: Nodular lymphocyte predominant. In: Ioachim's Lymph Node Pathology, 4th ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2009. Copyright © 2009 Lippincott Williams & Wilkins.
- [17] Von Wasielewski R, Mengel M, Fischer R, et al. Classical Hodgkin's disease. Clinical impact of the immunophenotype. *Am J Pathol* 1997; 151:1123.
- [18] Browne P, Petrosyan K, Hernandez A, Chan JA. The B-cell transcription factors BSAP, Oct-2, and BOB.1 and the pan-B-cell markers CD20, CD22, and CD79a are useful in the differential diagnosis of classic Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2003; 120:767.
- [19] Adam Jona, Peter Szodoray, Arpad Illés. Immunologic pathomechanism of Hodgkin's lymphoma. December 2013 Volume 41, Issue 12, Pages 995–1004.
- [20] Vardhana S, Younes A. The immune microenvironment in Hodgkin lymphoma: T cells, B cells, and immune checkpoints. *Haematologica*. 2016 Jul;101(7):794-802.
- [21] Vaklavas C, Forero-Torres A. Safety and efficacy of brentuximab vedotin in patients with Hodgkin lymphoma or systemic anaplastic large cell lymphoma. *Ther Adv Hematol*. 2012 Aug;3(4):209-25.
- [22] Nadali G. et al. Serum level of the soluble form of the CD30 molecule identifies patients with Hodgkin's disease at high risk of unfavorable outcome. *Blood*. 1998 Apr 15;91(8):3011-6.
- [23] Visco C, Nadali G, Vassilakopoulos TP, et al. Very high levels of soluble CD30 recognize the patients with classical Hodgkin's lymphoma retaining a very poor prognosis. *Eur J Haematol* 2006; 77: 387-394.
- [24] Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. *NEJM* 2016; 375: 1767-1778.
- [25] Bradley A.J., Carrington B.M., Lawrance J.A., et al. Assessment and significance of mediastinal bulk in Hodgkin's disease: comparison between computed tomography and chest radiography. *J Clin Oncol*. 1999;17:2493-8.
- [26] Vassilakopoulos TP, Angelopoulou MK, Constantinou N et al. Development and validation of a clinical prediction rule for bone marrow involvement in patients with Hodgkin lymphoma. *Blood* 2005; 105: 1875–1880.
- [27] Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, Lister TA. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and

non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 20;32(27):3059-68.

[28] Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Costwolds meeting. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1630-1636.

[29] Cosset JM, Henry-Amar M, Meerwaldt JH, et al. The EORTC trials for limited stage Hodgkin's disease. The EORTC Lymphoma Cooperative Group. *Eur J Cancer* 1992; 28A:1847.

[30] Josting A., Franklin J., May M., et al. New prognostic score based on treatment outcome of patients with relapsed Hodgkin's lymphoma registered in the database of the German Hodgkin's lymphoma study group. *J Clin Oncol.*2002; 20:221-30.

[31] Hasenclever D. and Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 1998; 339:1506.

[32] Cheson et al. International Harmonization Project on Lymphoma Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007 Feb 10;25(5):579-86. Epub 2007 Jan 22.

[33] Hutchings, M., Loft, A., Hansen, M. et al. FDG-PET after two cycles of chemotherapy predicts treatment failure and progression free survival in Hodgkin Lymphoma. *Blood.* 2006; 107: 52–59.

[34] Sally F. Barrington, N. George Mikhaeel, Lale Kostakoglu, Michel Meignan, Martin Hutchings, Stefan P. Müller, Lawrence H. Schwartz, Emanuele Zucca, Richard I. Fisher, Judith Trotman, Otto S. Hoekstra, Rodney J. Hicks, Michael J. O'Doherty, Roland Hustinx, Alberto Biggi, and Bruce D. Cheson. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 20; 32(27): 3048–3058.

[35] Gianni Bonadonna, Valeria Bonfante, Simonetta Viviani, Anna Di Russo, Fabrizio Villani, and Pinuccia Valagussa ABVD Plus Subtotal Nodal Versus Involved-Field Radiotherapy in Early-Stage Hodgkin's Disease: Long-Term Results. *J Clin Oncol* 22:2835-2841.

[36] Engert A, Plutschow A, Eich HT, et al. Reduced treatment intensity in patients with early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2010; 363(7):640–652.

[37] Brusamolino E, Bacigalupo A, Barosi G, Biti G, Gobbi PG, Levis A et al. Hodgkin's lymphoma in adults: guidelines of the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology, and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation on initial work-up, management, and follow-up. *Haematologica* 2009; 94: 550–565.

[38] Hoppe RT, Advani RH, Ai WZ, Ambinder RF, Aoun P et al. Hodgkin Lymphoma Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017 May;15(5):608-638.

- [39] Raemaekers JM, Andre MP, Federico M, et al. Omitting radiotherapy in early positron emission tomography-negative stage I/II Hodgkin lymphoma is associated with an increased risk of early relapse: clinical results of the preplanned interim analysis of the randomized EORTC/LYSA/FIL H10 trial. *J Clin Oncol* 2014;32:1188–1194.
- [40] Radford J, Illidge T, Counsell N, et al. Results of a trial of PET-directed therapy for early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015;372:1598–1607.
- [41] Eich HT, Diehl V, Gorgen H, et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved-field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD11 trial. *J Clin Oncol* 2010;28:4199–4206.
- [42] Johnson P, Federico M, Kirkwood A, et al. Adapted treatment guided by interim PET-CT scan in advanced Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2016;374:2419–2429.
- [43] Engert A, Diehl V, Franklin J, et al: Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study. *J Clin Oncol* 27:4548- 4554, 2009.
- [44] Borchmann P, Haverkamp H, Diehl V, et al. Eight cycles of escalated-dose BEACOPP compared with four cycles of escalated- dose BEACOPP followed by four cycles of baseline-dose BEACOPP with or without radiotherapy in patients with advanced-stage hodgkin's lymphoma: final analysis of the HD12 trial of the German Hodgkin Study Group. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4234-4242.
- [45] Kuruvilla J. Standard therapy of advanced Hodgkin Lymphoma. *Hematology Am Soc Hematolog Educ Program*, 2009:497-506.
- [46] Lohri A, Barnett M, Fairey RN, et al. Outcome of treatment of first relapse of Hodgkin's disease after primary chemotherapy: identification of risk factors from the British Columbia experience 1970 to 1988. *Blood* 1991; 77:2292.
- [47] Fermé C, Mounier N, Diviné M, et al. Intensive salvage therapy with high-dose chemotherapy for patients with advanced Hodgkin's disease in relapse or failure after initial chemotherapy: results of the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte H89 Trial. *J Clin Oncol* 2002; 20:467.
- [48] Kuruvilla J, Keating A, Crump M. How I treat relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2011 Apr 21;117(16):4208-17.
- [49] Santoro A, Mazza R, Pulsoni A, Re A2, Bonfichi M, Zilioli VR, Salvi F, Merli F, Anastasia A, Luminari S, Annechini G, Gotti M, Peli A, Liberati AM, Di Renzo N, Castagna L, Giordano L, Carlo-Stella C. Bendamustine in Combination With Gemcitabine and Vinorelbine Is an Effective Regimen As Induction Chemotherapy Before Autologous Stem-Cell Transplantation for Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma: Final Results of a Multicenter Phase II Study. *J Clin Oncol*. 2016 Sep 20;34(27):3293-9. Epub 2016 Jul 5.

- [50] Hutchings, M., Loft, A., Hansen, M. et al. FDG-PET after two cycles of chemotherapy predicts treatment failure and progression free survival in Hodgkin Lymphoma. *Blood*. 2006; 107: 52–59.
- [51] Josting A, Rueffer U, Franklin J, Sieber M, Diehl V, Engert A. Prognostic factors and treatment outcome in primary progressive Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2000 Aug 15;96(4):1280-6
- [52] MA Kharfan-Dabaja, M Hamadani, H Sibai and BN Savani. Managing Hodgkin lymphoma relapsing after autologous hematopoietic cell transplantation: a not-so-good cancer after all! *Bone Marrow Transplantation* (2014) 49, 599–606
- [53] Bartlett NL, Niedzwiecki D, Johnson JL, Friedberg JW, Johnson KB, van Besien K et al. Gemcitabine, vinorelbine, and pegylated liposomal doxorubicin (GVD), a salvage regimen in relapsed Hodgkin's lymphoma: CALGB 59804. *Ann Oncol* 2007; 18: 1071–1079.
- [54] Baetz T, Belch A, Couban S, Imrie K, Yau J, Myers R et al. Gemcitabine, dexamethasone and cisplatin is an active and non-toxic chemotherapy regimen in relapsed or refractory Hodgkin's disease: a phase II study by the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *Ann Oncol* 2003; 14: 1762–1767.
- [55] Blum KA, Jung SH, Johnson JL, Lin TS, Hsi ED, Lucas DM et al. Serious pulmonary toxicity in patients with Hodgkin's lymphoma with SGN-30, gemcitabine, vinorelbine, and liposomal doxorubicin is associated with an FcγRIIIa-158 V/F polymorphism. *Ann Oncol* 2010; 21: 2246–2254.
- [56] Younes A, Gopal AK, Smith SE, Ansell SM, Rosenblatt JD, Savage KJ et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2183–2189.
- [57] Dickinson M, Ritchie D, DeAngelo DJ, Spencer A, Ottmann OG, Fischer T et al. Preliminary evidence of disease response to the pan deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) in refractory Hodgkin Lymphoma. *Br J Haematol* 2009; 147: 97–101.
- [58] Johnston PB, Inwards DJ, Colgan JP, Laplant BR, Kabat BF, Habermann TM et al. A phase II trial of the oral mTOR inhibitor everolimus in relapsed Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol* 2010; 85: 320–324.
- [59] Fehniger TA, Larson S, Trinkaus K, Siegel MJ, Cashen AF, Blum KA et al. A phase 2 multicenter study of lenalidomide in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2011; 118: 5119–5125.
- [60] Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, Schuster SJ, Millenson MM, Cattray D, Freeman GJ, Rodig SJ, Chapuy B, Ligon AH, Zhu L, Grosso JF, Kim SY, Timmerman JM, Shipp MA, Armand P. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 2015 Jan 22;372(4):311-9. Epub 2014 Dec 6.

- [61] Armand P, Shipp MA, Ribrag V, Michot JM, Zinzani PL, Kuruvilla J, Snyder ES, Ricart AD, Balakumaran A, Rose S, Moskowitz CH. Programmed Death-1 Blockade With Pembrolizumab in Patients With Classical Hodgkin Lymphoma After Brentuximab Vedotin Failure. *J Clin Oncol*. 2016 Nov 1;34(31):3733-3739.
- [62] Younes A, Santoro A, Shipp M, Zinzani PL, Timmerman JM, Ansell S et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Sep;17(9):1283-94. Epub 2016 Jul 20.
- [63] Moskowitz AJ, Hamlin Jr. PA, Perales MA, Gerecitano J, Horwitz SM, Matasar MJ et al. Phase II study of bendamustine in relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2013; 31: 456–460.
- [64] Corazzelli G, Angrilli F, D'Arco A, Ferrara F, Musto P, Guarini A et al. Efficacy and safety of bendamustine for the treatment of patients with recurring Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2013; 160: 207–215.
- [65] Ghesquieres, H., Stamatoullas, A., Casanovas, O., Morschhauser, F., Gyan, E., Gabarre, J., Malphettes, M., Clement, L., Ferlay, C. & Brice, P. (2013) Clinical experience of bendamustine in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: a retrospective analysis of the French compassionate use program in 28 patients. *Leukemia & Lymphoma*, doi: 10.3109/10428194.2013.776165.
- [66] Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 Published: May 28, 2009 (v4.03: June 14, 2010). U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES National Institutes of Health National Cancer Institute.
- [67] Anastasia A, Carlo-Stella C, Corradini P, et al. Bendamustine for Hodgkin lymphoma patients failing autologous or autologous and allogeneic stem cell transplantation: a retrospective study of the Fondazione Italiana Linfomi. *Br J Haematol* 2014
- [68] Ahmed Sawas, Joseph M. Connors, John G. Kuruvilla, Celeste Rojas, Renee Lichtenstein, Ellen Neylon, Emily Lichtenstein, Changchun Deng, Jennifer E Amengual, Diego Villa, Michael Crump and Owen A. O'Connor. The Combination of Brentuximab Vedotin (Bv) and Bendamustine (B) Demonstrates Marked Activity in Heavily Treated Patients with Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma (HL) and Anaplastic Large T-Cell Lymphoma (ALCL): Results of an International Multi Center Phase I/II Experience. *Blood* 2015 126:586
- [69] Kalak M, Lue JK, Lichtenstein E, Turenne I, Rojas C, Amengual JE, Sawas A, Deng C, Mapara MY, Connors JM, Kuruvilla J, O'Connor OA. Brentuximab vedotin and bendamustine produce high complete response rates in patients with chemotherapy refractory Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*. 2018 Mar;180(5):757-760. Epub 2016 Dec 16.

[70] O'Connor OA, Lue JK, Sawas A, Amengual JE, Deng C, Kalac M, Falchi L, Marchi E, Turenne I, Lichtenstein R, Rojas C, Francescone M, Schwartz L, Cheng B, Savage KJ, Villa D, Crump M, Prica A, Kukreti V, Cremers S, Connors JM, Kuruvilla J. Brentuximab vedotin plus bendamustine in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: an international, multicentre, single-arm, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol.* 2018 Feb;19(2):257-266. Epub 2017 Dec 21.

[71] Vittorio Stefoni, Beatrice Casadei, Barbara Botto, Paolo Corradini, Antonello Pinto, Alessandro Re, Stefania Badiali, Lisa Argnani and Pier Luigi Zinzani. The Bbv Regimen: A Phase II Study with Bendamustine Plus Brentuximab Vedotin in Hodgkin Lymphoma and CD30+ Peripheral T-Cell Lymphoma in First Salvage Setting. *Blood* 2017 130:4087;

[72] Ann S. LaCasce, R. Gregory Bociek, Ahmed Sawas, Paolo Caimi, Edward Agura, Jeffrey Matous, Stephen M. Ansell, Howland E. Crosswell, Miguel Islas-Ohlmayer, Caroline Behler, Eric Cheung, Andres Forero-Torres, Julie Vose, Owen A. O'Connor, Neil Josephson, Yinghui Wang and Ranjana Advani. Brentuximab vedotin plus bendamustine: a highly active first salvage regimen for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018: 40-48.

[73] Luciana Vinti, Franco Locatelli, Pietro Merli, Rosanna Parasole, Salvatore Buffardi, Marta Pillon, Luisa Strocchio and Katia Girardi. Brentuximab Vedotin in Combination with Bendamustine in Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma: A Retrospective Analysis on 23 Paediatric Patients or Young Adults. *Blood* 2017 130:4090;

[74] Beeharry N, Rattner JB, Bellacosa A, Smith MR, Yen TJ. Dose dependent effects on cell cycle checkpoints and DNA repair by bendamustine. *PLoS One.* 2012;7(6):e40342. Epub 2012 Jun 29.

[75] Schwänen C, Hecker T, Hübinger G, Wölfle M, Rittgen W, Bergmann L, Karakas T. In vitro evaluation of bendamustine induced apoptosis in B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2002 Oct;16(10):2096-105.

[76] De Filippi R, Cillo M, Criscri S, et al Continuous exposure to Bendamustine (BDM) results in stable upregulation of CD30 and increased sentivity to Brentuximab Vedotin (BV) in tumor cells of Hodgkin Lymphoma (HL) *Blood* 2015 126:2479