

**UNIVERSITÀ DEGLI
"TOR VERGATA"**



STUDI DI ROMA

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA IN EMATOLOGIA

CICLO DEL CORSO DI DOTTORATO XX

Titolo della tesi

**Fotoaferesi extracorporea come terapia di prima linea nel
trattamento della GVHD cronica dopo trapianto allogenico
di cellule staminali**

Nome e Cognome del dottorando
ANDREA TENDAS

Docente Guida/Tutor: Prof. PAOLO DE FABRITIIS

Coordinatore: Prof. SERGIO AMADORI

INDICE

INTRODUZIONE	3
RAZIONALE DELLO STUDIO	13
OBIETTIVI	15
PAZIENTI E METODI	16
PIANO DI TRATTAMENTO	19
VALUTAZIONE DI FATTIBILITÀ E SICUREZZA	21
VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO	23
RISULTATI	24
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	29
BIBLIOGRAFIA	31
TABELLE	34
ABSTRACT e PAROLE CHIAVE	42

INTRODUZIONE

La graft versus host disease (GVHD) cronica rappresenta una delle maggiori cause di morbilità e mortalità nei pazienti sopravvissuti a lungo termine dopo trapianto allogenico di cellule staminali. Tale complicanza si manifesta nel 30 % circa dei trapianti effettuati da donatore familiare HLA-identico e in circa il 60-70% dei pazienti trapiantati da donatore non correlato e/o mismatched (1).

L'incidenza della GVHD cronica è in aumento a causa di svariati fattori tra cui l'incremento della popolazione dei pazienti e della disponibilità di donatori, nonché i cambiamenti delle procedure trapiantologiche. L'uso del sangue periferico come fonte alternativa di cellule staminali ad esempio, sembra apparentemente correlare con un aumentato rischio di incidenza della GVHD cronica a causa del più elevato numero di cellule T (circa 10 volte superiore rispetto al midollo osseo), del maggior contenuto in monociti e dell'assenza di cellule mesenchimali presenti nel graft (2,3). L'incremento dell'età media dei pazienti e l'utilizzo di donatori non familiari o mismatched inoltre determinano anche essi un aumento del rischio di sviluppare una GVHD cronica. Le strategie di trapianto non mieloablativo seguite

dalla infusione dei linfociti del donatore per raggiungere un chimerismo completo, ovvero il trattamento di malattia residua utilizzando la strategia delle DLI costituiscono altrettanti fattori responsabili dell'aumento della incidenza di sviluppo di una GVHD cronica.

Il tempo di insorgenza tipico della GVHD cronica è tra i 3 ed i 18 mesi post-trapianto; in base alla modalità di insorgenza si può distinguere una forma che evolve a partire da precedente GVHD acuta definita come "*progressive-type of onset*" (PTO), può insorgere dopo la risoluzione di una GVHD acuta ed in tal caso viene definita "*quiescente*" o può insorgere senza precedenti manifestazioni, come GVHD cronica "*de novo*" (4).

Talvolta, alcune infezioni come l'herpes zoster possono provocare l'insorgenza di manifestazioni più tardive di GVHD cronica.

Clinica e stadiazione della GVHD

Le manifestazioni cliniche della GVHD cronica sono rappresentate più frequentemente da lesioni lichenoidi della cute e/o delle mucose, vitiligine, iperpigmentazione periorbitaria, odinofagia, cheratocongiuntivite secca, xerostomia, alopecia, sclerodermia, colestasi e suscettibilità alle infezioni. Nelle donne, secchezza e/o restringimenti vaginali fino alla stenosi possono rappresentare l'unico segno di GVHD cronica. Meno comuni sono altre manifestazioni quali le polsierositi, la bronchiolite obliterante ed il malassorbimento intestinale; inoltre, i pazienti affetti da GVHD cronica possono presentare un'insidiosa perdita di peso ed un deficit articolare funzionale (4). Tuttavia, nella maggior parte dei casi la GVHD cronica non limita in maniera importante la qualità di vita dei pazienti anche se è sempre

associata ad un deficit immunitario sia cellulare che umorale tale da porre il paziente a rischio di sviluppare infezioni severe che possono risultare anche fatali (1).

Le classificazioni più utilizzate per stadiare la GVHD cronica prevedono la suddivisione dal punto di vista clinico- istologico rispettivamente in forme limitate e in forme estese secondo la classificazione di Schulman (Tabella 1) o in forme miti e moderato-severe secondo la classificazione riportata in Tabella 2.

Benché entrambe riescano a descrivere in modo valido il fenomeno clinico, le due classificazioni riportate rispondono solo parzialmente alla necessità di correlare stadiazione clinica e prognosi e quindi di studiare approcci terapeutici differenziati per categorie di rischio differenti.

Di recente è stato identificato un “prognostic score” (PS) che permette di stratificare i pazienti con determinate caratteristiche alla diagnosi di GVHD cronica in pazienti a rischio favorevole, intermedio o alto (6). Il PS si basa su un calcolo matematico che prende in considerazione 3 fattori considerati “di rischio” perché risultati, in un vasto insieme di variabili analizzate, gli unici fattori in grado di incidere in maniera statisticamente indipendente sulla mortalità trapianto correlata. Tali fattori sono rappresentati da:

1. estensione delle manifestazioni cutanee a oltre il 50% della superficie corporea
2. conta piastrinica $< 100000/\text{mm}^3$
3. progressive-type of onset

il calcolo del PS viene effettuato utilizzando la seguente formula:

$$\text{PS} = [1.949 \times (\text{estension cutanea}^*)] + [1.293 \times (\text{conta PLTS}^\wedge)] + [0.514 \times (\text{tipo di cGVHD}^\circ)]$$

* se superficie cutanea coinvolta > 50% inserire 1, altrimenti 0

^\wedge se conta PLTS < 100000/mm³ inserire 1, altrimenti 0

^\circ se la cGVHD è una forma "progressive" inserire 1, altrimenti 0

I pazienti che alla diagnosi di GVHD cronica presentano un PS=0 sono considerati a rischio basso; i pazienti che presentano PS maggiore di 0 , ma inferiore a 2 sono considerati a rischio intermedio; quelli che presentano PS maggiore di 2 risultano ad alto rischio di mortalità trapianto correlata.

Nel gruppo di pazienti analizzato nel lavoro iniziale di Akpek G et Al. (6) la sopravvivenza cGVHD-specifica a 3 anni era per le tre categorie di rischio considerate rispettivamente del 92% per il basso rischio, del 71% per il rischio intermedio e del 9% per il rischio alto.

Terapia della GVHD cronica

Il trattamento della GVHD cronica si basa sull'impiego di farmaci ad azione immunosoppressiva utilizzati anche nella prevenzione e nel trattamento della GVHD acuta.

La ciclosporina rimane, assieme al cortisone, il farmaco di prima scelta. Essa agisce attraverso una inibizione della espressione del gene della IL-2, inibendo la attivazione dei linfociti T e svolgendo quindi la sua azione immunosoppressiva.

Il cortisone ha una dimostrata attivita' nella terapia della GVHD cronica soprattutto in associazione alla ciclosporina. Il meccanismo di azione dei vari farmaci ad azione glucocorticoide e' quello linfocitolitico ed antiinfiammatorio.

L'associazione ciclosporina e cortisone e' considerata la terapia standard nel trattamento della GVHD cronica. Meno utilizzati sono altri farmaci immunosoppressori quali il tacrolimus (FK506), con un meccanismo di azione simile a quello della ciclosporina e il micofenolato.

Altri farmaci di uso infrequente sono la rapamicina, un analogo del tacrolimus, l'azatioprina, la thalidomide, l'idrossiclorochina e la pentostatina, tutti farmaci la cui reale utilita' nella terapia della GVHD cronica deve essere ancora adeguatamente definita.

La maggior parte dei pazienti affetti da GVHD cronica richiede terapia immunosoppressiva (di solito con corticosteroidi associati a ciclosporina o tacrolimo) in grado di provocare danni d'organo che regrediscono solo dopo lunghi periodi di tempo (7). I tentativi di ridurre fino a sospendere la terapia immunosoppressiva risultano spesso in un fallimento e costringono il paziente ad effettuare ulteriori cicli di terapia che comportano un periodo di immunosoppressione estremamente lungo.

La irradiazione con UVA dopo fotosensibilizzazione con metossipsoralene e la piu' recente fotochemioterapia extracorporea da essa derivata, costituiscono strategie alternative di trattamento particolarmente promettenti, soprattutto per il basso spettro di tossicita' che esibiscono.

La fotoaferesi extracorporea è una procedura generalmente utilizzata nel trattamento dei linfomi cutanei a cellule T e si è dimostrata attiva anche nella cura di patologie autoimmuni come la sclerodermia, il lupus eritematoso sistemico, il pemfigo volgare oltre che nel trattamento del rigetto dopo trapianto d'organo.

Gli studi finora effettuati sull'utilizzo delle fotoaferesi nel trattamento della GVHD cronica sono stati rivolti a pazienti non rispondenti o recidivati dopo molteplici linee di terapia immunosoppressiva ed i risultati ottenuti possono essere considerati estremamente incoraggianti sia in termini di efficacia, che sulla possibilità di ridurre o di sospendere gli altri farmaci immunosoppressivi gravati di pesante tossicità a lungo termine (9, 10).

Fotoaferesi

La fotochemioterapia extracorporea (ECP) è una terapia immunologica che si caratterizza per l'esposizione extracorporea dei leucociti all'irradiazione della luce ultravioletta (UVA) in presenza di un farmaco fotosensibilizzante chiamato 8-methoxypsoralene (8-MOP). L'8-MOP è un derivato della furocumarina, biologicamente inerte, finché non viene esposto ai raggi UVA, dopo di che diventa fotoattivo e capace di stabilire legami covalenti e crociati con la doppia elica del DNA, dando luogo all'inizio del processo di apoptosi.

Nel nostro studio è stato utilizzato il sistema Therakos, Exton, Pa, USA (Johnson & Johnson) con l'apparecchiatura UVAR® XTS TM.

L'ECP viene effettuata prelevando i linfociti al paziente attraverso un processo di leucoaferesi ed incubandoli con 8-MOP e UVA in circolazione extracorporea. Il farmaco è attivato dalla

presenza delle radiazioni UVA , pertanto solo le cellule esposte a tale luce sono modificate.

L'emivita dell' 8-MOP fotoattivato è estremamente breve, per cui le cellule possono essere reinfuse al termine del trattamento con scarsi effetti collaterali per il paziente. Il completamento di ogni singola procedura richiede di solito dalle 3 alle 5 ore; è importante un buon accesso venoso del paziente da vena periferica o da catetere venoso centrale.

Il paziente viene collegato all'apparecchiatura con una sola linea venosa eparinata con ago da 1,7 mm., parte di un kit sterile monouso sigillato che comprende in circuito chiuso la centrifuga da 125 ml., il modulo di controllo logico dei fluidi, il modulo di fotoattivazione (dispositivo trasparente ai raggi UV dello spessore di 1 mm. in cui circola il buffy coat), le sacche di fisiologica eparinata, di raccolta del buffy coat, e di reinfusione, collegate tra loro con le linee adeguate. Le fasi di trattamento della fotoferesi comprendono la raccolta del sangue arricchito di leucociti, la fotoattivazione e la reinfusione.

Nella fase di raccolta il sangue intero viene trattato in 6 cicli di raccolta. Il sistema di controllo automatico Fluid Logic preleva il sangue intero dal paziente e lo immette nella centrifuga. Il sensore ottico della centrifuga riconosce l'interfaccia globuli rossi/crema leucocitaria e segnala la raccolta della crema leucocitaria. Il sensore ottico ed il sensore per l'ematocrito selezionano assieme la crema leucocitaria ottimale, con un ematocrito non superiore al 2%, che viene raccolta nella sacca apposita. I globuli rossi concentrati ed il plasma in eccesso vengono automaticamente reinfusi al paziente alla fine di ogni ciclo di raccolta. Nel ciclo finale di raccolta si aggiunge un' operazione in più per aumentare la concentrazione. Tutto il buffy

coat raccolto viene nuovamente passato nella centrifuga per creare una crema leucocitaria finale con un ematocrito ancora inferiore ed una concentrazione più alta di leucociti. Nella sacca del buffy coat così raccolto viene aggiunto 8-MOP in forma liquida (1 fiala da 100.000 ng), quindi inizia la fotoattivazione. Il tempo di fotoattivazione viene calcolato automaticamente dalla macchina in base alla quantità di volume del buffy coat raccolto (circa 240 ml.), all'ematocrito del buffy coat e alla potenza residua delle lampade UV. Durante la fase di fotoattivazione (esposizione ai raggi UVA di intensità 2 Joule/cm²) la frazione ematica arricchita di leucociti viene pompata in un circuito circolare continuo dal modulo di fotoattivazione alla sacca di circolazione continua. Dopo la fotoattivazione il buffy coat viene ripompato al paziente.

E' fondamentale monitorare attentamente la pressione arteriosa durante l'intera procedura, perché quando si agisce in circolazione extracorporea con una macchina a flusso discontinuo, il rischio ipotensivo da ipovolemia è elevato.

Nel caso in cui la fotoafèresi fosse eseguita con un separatore cellulare a flusso continuo, saranno processati 1-2 volumi ematici. Attraverso 4 cicli di afèresi si otterranno circa 150 ml di leucoafèresato che verranno poi diluiti con soluzione fisiologica fino a raggiungere un volume finale di 300 ml che verrà posto in un'apposita sacca Maco Pharma UVA-B (XUV8501Q). Dopo l'aggiunta di 200 µg di 8-MOP, il tutto verrà distribuito in un apposito dispositivo di plastica con spessore interno di 1 mm ed esposto ad irradiazione con luce UVA

(intensità 2 Joule/cm²) per 20 minuti (UVA: Viber Lormayt UV-A irradiation system) e quindi reinfuso al paziente.

Meccanismo di azione della fotoaferesi

Il meccanismo di azione della fotoaferesi extracorporea non è stato ancora del tutto chiarito. Studi biologici hanno dimostrato che i pazienti trattati per linfoma cutaneo, sclerodermia o GVHD presentavano, subito dopo tale procedura, linfociti con caratteristiche apoptotiche; dopo la reinfusione tali cellule venivano rapidamente fagocitate e potevano essere coinvolte nella modulazione della risposta immunitaria mediante il rilascio di citochine. Altri studi hanno dimostrato che gli effetti della fotoaferesi nei pazienti affetti da GVHD cronica si traducono anche nella normalizzazione di anomali popolazioni linfocitarie CD4/CD8, nell'incremento della popolazione di cellule NK e nella riduzione di cellule dendritiche circolanti (CD80+, CD123+) (11,12,13,14,15,16).

Queste premesse hanno condotto ad ipotizzare almeno due diversi meccanismi di azione delle fotoaferesi nella GVHD cronica. In primo luogo, cellule dendritiche ridotte per numero e per funzione sarebbero caratterizzate da una inferiore attività nel processo di presentazione di allo antigeni, risultando meno abili nello stimolare meccanismi immunoeffettori. In secondo luogo, le fotoaferesi sortirebbero un effetto diretto su popolazioni di cellule T alloreattive come i linfociti CD8 (10).

Altra ipotesi si basa sull'effetto che l'8-MOP esplicherebbe sui linfociti T autoreattivi, consistente in un up-regolazione degli antigeni HLA di classe I che si tradurrebbe nell'attivazione di una risposta immunitaria guidata da linfociti CD8 citotossici/soppressivi verso i cloni autoreattivi (8). E' verosimile, comunque, che le fotoaferesi agiscano con un effetto più selettivo su un clone di cellule T implicate nella patogenesi della GVHD cronica, non ancora identificato.

RAZIONALE DELLO STUDIO

La scarsa risposta di molti pazienti alla terapia immunosoppressiva convenzionale ha guidato molti Centri Trapianto ad utilizzare terapie innovative quali la fotoaferesi nel trattamento della GVHD cronica.

Gli studi effettuati fino ad oggi hanno dimostrato che tale procedura può produrre miglioramenti clinici sostanziali nei pazienti con malattia estesa refrattaria a precedenti terapie, che risulta particolarmente efficace nel trattamento di GVHD cronica coinvolgente cute e mucose e che buoni risultati si ottengono anche nelle forme ad interessamento epatico. I dati biologici e clinici ad oggi disponibili suggeriscono peraltro che l'inizio delle fotoaferesi in una fase più precoce della malattia potrebbe essere in grado di aumentare la percentuale di risposte favorevoli, nonché di diminuire la frequenza di recidiva o peggioramento della malattia dopo la sospensione della terapia immunosoppressiva in caso di risposta.

Allo stato attuale non esistono parametri clinici o di laboratorio che permettano di identificare quali pazienti affetti da GVHD cronica rispondano meglio alle fotoaferesi. Numerosi sforzi sono stati compiuti per identificare i trapianti in cui l'insorgenza della GVHD cronica è associata ad una peggiore prognosi in termini di mortalità trapianto correlata. In tal modo sono stati individuati i seguenti fattori in grado di predire una scarsa risposta alla terapia:

- a) la estensione della GVHD cronica alla diagnosi;

- b) fattori legati al paziente o al tipo di trapianto;
- c) il Prognostic Score.

Dall'utilizzo di tali fattori si è reso possibile dividere i pazienti in categorie di rischio. Nei pazienti a rischio più elevato, con una prognosi "quoad vitam" (relativamente alle curve di sopravvivenza GVHD specifica) significativamente peggiore rispetto a quella dei pazienti a rischio più basso, è pertanto immaginabile l'utilizzo di terapie innovative, alla ricerca di un programma di trattamento che migliori la prognosi di questo gruppo.

Nel nostro studio pilota abbiamo deciso di destinare a questi pazienti un programma di trattamento più intensivo, rappresentato dall'associazione di terapia standard e fotoafesi extracorporea, per valutare la capacità di tale regime di migliorare il controllo della GVHD cronica e quindi la sopravvivenza a lungo termine di questi pazienti.

OBIETTIVI

L'obiettivo primario di questo studio pilota e' quello di esplorare la fattibilità e la sicurezza della fotoafèresi extracorporea associata a terapia standard utilizzata come prima linea di terapia della GVHD cronica.

Gli obiettivi secondari sono costituiti da:

- 1) valutazione della efficacia della terapia effettuata, basandosi sulle risposte obiettive (parametri clinici, umorali e istologici) e sulla riduzione fino a sospensione della terapia immunosoppressiva standard;
- 2) valutazione della sopravvivenza globale dei pazienti inclusi nello studio e della percentuale di ricadute durante o alla sospensione del trattamento nei pazienti rispondenti alle fotoafèresi.

PAZIENTI E METODI

I criteri di elegibilita' del nostro studio prevedono l'arruolamento dei pazienti con diagnosi di GVHD cronica ad alto e intermedio rischio utilizzando lo score prognostico di Akpek et Al. (6), quelli con GVHD cronica estesa secondo la classificazione di Shulman, quelli con GVHD moderato/severa secondo le caratteristiche illustrate in tabella 2, infine quelli con GVHD cronica limitata associata a caratteristiche tali da aumentare il rischio di evoluzione in GVHD estesa.

Criteri di inclusione

La diagnosi di GVHD cronica e' stata posta sulla base del quadro clinico e verificata, quando possibile, con l'esame istologico della sede interessata.

Al momento della diagnosi i pazienti sono stati quindi valutati per calcolare il Prognostic Score secondo Akpek utilizzando la formula riportata in precedenza; e' stata quindi valutata l'estensione della GVHD e sono stati considerati elegibili i pazienti che presentavano le seguenti caratteristiche:

1. PS > 0 e/o GVHD cronica estesa o moderato/severa secondo tabelle 1 e 2
2. GVHD cronica limitata non rispondente dopo 1 mese di terapia standard o in progressione da una aGVHD;
3. GVHD cronica limitata in pazienti le cui caratteristiche del trapianto sono riconosciute quali fattori di rischio per lo sviluppo di una forma estesa:

- trapianto mismatched (escluso il trapianto da SCO)
- trapianto non correlato (escluso il trapianto da SCO)
- pregressa GVHD acuta di grado > II

GVHD cronica limitata in pazienti che presentavano almeno 2 dei seguenti fattori di rischio alla diagnosi di cGVHD limitata:

- diagnosi di LMC
- età > 18 anni
- donatrice femmina precedentemente immunizzata/ ricevente maschio

Sono stati quindi arruolati nello studio i pazienti che presentavano:

- a) Buon accesso venoso o disponibilità di accesso venoso centrale;
- b) Adeguata funzionalità cardiaca ed emodinamica;
- c) Presenza all'emocromo dei seguenti parametri: Hb > 9g/dl, GB > 1000/mm³,
PLTS > 20000/mm³

Requisito finale all'arruolamento nel protocollo e' stato in tutti i casi la firma di un consenso informato alla procedura.

Criteri di esclusione

1. Pazienti affetti da GVHD cronica limitata senza alcun fattore di rischio

2. Trapianto T-depleto o trapianto con cellule CD34+ selezionate
3. Pazienti in trattamento con altri farmaci sperimentali per GVHD
4. Gravi reazioni trasfusionali dopo trasfusione di sangue ed emoderivati
5. Infezioni gravi
6. Assenza di adeguato accesso venoso

PIANO DI TRATTAMENTO

Basandosi sulle conoscenze disponibili relative alle fotoaferesi e sulla possibilità di selezionare i pazienti a più alto rischio, questo studio si propone di utilizzare la fotoaferesi quale terapia di prima linea per il trattamento delle forme croniche di GVHD severe o dei pazienti che presentano particolari caratteristiche di rischio (17).

I pazienti arruolati nello studio riceveranno una terapia immunosoppressiva basata sull'impiego di corticosteroidi e ciclosporina a giorni alterni implementata dall'uso delle fotoaferesi. Essi dovranno iniziare il primo ciclo di fotoaferesi entro 15 giorni dalla diagnosi di GVHD cronica ed il trattamento consisterà in 2 procedure per 2 giorni consecutivi con frequenza bimensile nei primi 3 mesi di trattamento, quindi con frequenza mensile fino al 12° mese di terapia.

La terapia standard è rappresentata dal cortisone 1 mg/kg/die + ciclosporina 6 mg/kg x 2/die per 15 giorni, seguita dalla riduzione dei 2 farmaci gradualmente fino a raggiungere le stesse dosi a giorni alterni entro 8 – 12 settimane dall'inizio del trattamento, tempo ottimale per l'ottenimento dell'effetto delle fotoaferesi. La successiva riduzione fino a sospensione della terapia standard dovrà avvenire molto lentamente e solo in presenza di risposta completa o parziale valutata al 3° mese di trattamento. Nei pazienti rispondenti, si procederà con la riduzione del cortisone a 0.5 mg/kg a di alterni con la ciclosporina a dosaggio immodificato,

tra la 12^a e la 16^a settimana di trattamento; ulteriore riduzione fino a sospensione del cortisone e della ciclosporina tra la 24^a e la 30^a settimana. I pazienti con risposta parziale, seguita da stabilità della malattia potranno continuare le fotoaferesi con frequenza bimensile fino a 6 mesi, ed intanto proseguire con la riduzione del cortisone e della ciclosporina fino a sospensione entro la 30^a settimana di trattamento. I pazienti giudicati non rispondenti al 3° mese dall'inizio del trattamento usciranno dallo studio e saranno quindi suscettibili di qualsiasi modifica terapeutica.

Terapia di supporto

La terapia di supporto consiste nella profilassi per la prevenzione di *Pneumocystis Carinii*, delle infezioni da germi capsulati e della infezione da CMV.

La profilassi antivirale in modo particolare e' stata effettuata solo se l'insorgenza della GVHD cronica si e' verificata entro 12 mesi dal trapianto, nei casi di precedenti infezioni da CMV, nei pazienti trapiantati da donatore non correlato e nei pazienti con conta assoluta di linfociti <300/mm³. In tutti i pazienti e' stata comunque ripristinata la sorveglianza del CMV mediante l'esame periodico dell'antigenemia.

VALUTAZIONE DI FATTIBILITÀ E SICUREZZA

La fattibilità e la sicurezza della procedura sono state continuamente valutate durante il trattamento e nel periodo di follow up attraverso:

1. esame obiettivo
2. valutazione della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca
3. emocromo completo
4. coagulazione (PT, PTT, ATIII e fibrinogeno)
5. emocolture delle 2 vie dell'accesso venoso centrale (qualora il paziente ne sia portatore)

Tali controlli sono stati effettuati almeno ogni 15 giorni per i primi 3 mesi; per poi passare ad una valutazione con periodicità mensile in presenza di buona tollerabilità alla procedura.

Tutti gli eventi avversi legati alla procedura sono stati segnalati.

Criteri di uscita dallo studio

I criteri in base ai quali si è deciso di far uscire i pazienti dallo studio sono stati:

1. sviluppo di complicanze infettive severe controindicanti un trattamento immunosoppressivo intensificato;
2. necessità di interrompere il trattamento fotoaferetico (per impossibilità / controindicazione sopraggiunta) per un periodo superiore ad 1 mese;
3. impossibilità sopraggiunta al trattamento con ciclosporina o cortisone;

4. necessità di aggiungere altri trattamenti immunosoppressivi (es. inizio II linea in caso di risposta non soddisfacente al trattamento in corso);
5. ritiro del consenso da parte del paziente.

La modifica dei dosaggi di ciclosporina e cortisone rispetto a quanto preventivato e modifiche minori del programma fotoferetico, sono state considerate modifiche minori tali da non escludere il paziente dallo studio, ma sono state comunque registrate (tabella 8).

La fattibilità e' stata definita in base all'uscita dei pazienti dal protocollo per cause indipendenti dalla risposta non soddisfacente al trattamento, ovvero dipendente dal verificarsi di una delle condizioni ai punti 1,2,3 e 5.

La sicurezza è stata definita in base alla incidenza di complicanze occorse nel gruppo di pazienti trattati.

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO

La prima valutazione è stata effettuata dopo 12 settimane dall' inizio del trattamento. Le successive valutazioni sono state effettuate trimestralmente fino al completamento di un anno di terapia con fotoaferesi.

Per la valutazione sono stati utilizzati:

- la risposta clinica obiettiva della cute e/o delle mucose interessate,
- gli indici di funzionalità epatica in caso di interessamento epatico,
- l'esame chimico delle feci in caso di interessamento intestinale,
- emogasanalisi ed esami spirometrici in caso di interessamento delle vie respiratorie,
- valutazione autoanticorpi per i pazienti risultati positivi alla diagnosi.

Le seguenti definizioni sono state utilizzate per la valutazione della risposta al trattamento:

1. Risposta completa = regressione di tutti i parametri clinici, umorali e/o istologici presenti alla diagnosi.
2. Risposta parziale = miglioramento parziale $\geq 30\%$ (ottima risposta parziale , vgPR se $\geq 70\%$).
3. Nessuna risposta o peggioramento: necessità di ulteriori terapie per il controllo della GVHD cronica.

RISULTATI

Nell'intervallo di tempo compreso tra Gennaio 2004 e Marzo 2008 è stata effettuata presso il nostro Centro diagnosi di GVHD cronica all'esordio in 16 pazienti. Di questi, 10 sono stati considerati elegibili per lo studio per la presenza dei fattori di rischio richiesti dai criteri di inclusione, ma 2 pazienti sono stati esclusi per rifiuto del trattamento fotoferetico. Sono stati quindi arruolati nello studio 8 pazienti in totale (Tabella 3).

Le caratteristiche cliniche degli 8 pazienti arruolati sono riportate nella Tabella 4. In 7 casi il trapianto è stato eseguito utilizzando donatori familiari HLA identici, mentre solo in 1 caso è stato effettuato un trapianto da donatore non correlato HLA identico (MUD) (Tabella 5). La raccolta delle cellule staminali è stata in tutti i casi effettuata da sangue periferico e sono state reinfuse una media di 5.8×10^6 /kg di CD34+ (range tra 2.79 e 7.8).

Il condizionamento è stato di tipo standard in 7 casi e a ridotta intensità in 1 caso; in quest'ultimo, la profilassi della GVHD è stata effettuata con ciclosporina e micofenolato, mentre in tutti gli altri casi con ciclosporina e metotrexate (Tabella 5).

5 pazienti hanno sviluppato una GVHD cronica de novo, 1 paziente cGVHD "progressive type" e 2 pazienti una cGVHD quiescente (pressa GVHD acuta regredita). Alla diagnosi, tutti e 8 i pazienti presentavano forme estese e moderato-severe secondo le classificazioni riassunte in tabella 1 e tabella 2; in base alle caratteristiche di estensione cutanea, numero di

piastrine e modalita' di insorgenza, 3 casi presentavano uno score prognostico (PS) secondo Akpek superiore a 0 (Tabella 6).

Interessamento cutaneo con estensione variabile era presente alla diagnosi in tutti e 8 i pazienti (2 pz >50% e 5 pz <=50%), interessamento del cavo orale in 5 pazienti, interessamento oculare anch' esso in 5 pazienti; solo 2 pazienti presentavano altri organi coinvolti al momento della diagnosi (fegato in 1 paziente e stomaco/intestino in un altro paziente).

La Tabella 7 riassume i risultati per trimestre di trattamento sintetizzati in termini di risposta al trattamento della cGVHD (CR= risposta completa, PR= risposta parziale, vgPR=ottima risposta parziale, NR= non risposta) e di aderenza al piano di trattamento previsto dal protocollo (In= in protocollo senza modifiche al trattamento previsto, Mod= in protocollo con modifiche al trattamento previsto, Out= fuori protocollo). In caso di uscita dal protocollo ne è riportata la causa.

Fattibilità. I pazienti arruolati nello studio hanno seguito il programma di trattamento nei 3 mesi successivi all'arruolamento in 6 casi su 8, in 5 casi senza modifiche al piano previsto, in 1 caso con modifiche minori; 2 pazienti hanno dovuto interrompere le procedure fotoferetiche a causa della comparsa di complicanze infettive (vedi sotto) e pertanto sono uscite dallo studio.

La valutazione di risposta a 3 mesi di trattamento eseguita in 6 pazienti ha dimostrato un quadro di risposta completa, con regressione dei parametri presenti alla diagnosi di cGVHD in 4 casi, con 2 casi di non risposta.

I 6 pazienti avviati al II trimestre di trattamento hanno completato il programma a 6 mesi in 4 casi, in 2 casi senza modifiche al piano previsto, in 2 casi con modifiche minori; 1 paziente ha dovuto interrompere le procedure fotoferetiche a causa della comparsa di complicanze non infettive (vedi sotto) e pertanto è uscito dallo studio; 1 paziente è uscita dallo studio per progressione della cGVHD e modifiche maggiori del programma di trattamento.

La valutazione a 6 mesi di trattamento eseguita quindi in 4 pazienti ha dimostrato un quadro di risposta completa, con regressione dei parametri presenti alla diagnosi di cGVHD 1 caso, 1 caso di vgPR, 2 casi di PR.

Tutti i 4 pazienti avviati al III trimestre di trattamento hanno completato il programma a 9 mesi, in 1 caso senza modifiche al piano previsto, in 3 casi con modifiche minori.

La valutazione a 9 mesi di trattamento eseguita quindi in 4 pazienti ha dimostrato un quadro di risposta completa, con regressione dei parametri presenti alla diagnosi di cGVHD in 1 caso, 2 caso di vgPR , 1 caso di PR.

I 4 pazienti avviati al IV trimestre di trattamento hanno completato il programma a 12 mesi in 3 casi, in tutti i casi con modifiche minori al piano previsto; 1 paziente è uscito dello studio per progressione della cGVHD e modifiche maggiori del programma di trattamento..

La valutazione a 12 mesi di trattamento eseguita quindi in 3 pazienti ha dimostrato un quadro di vgPR in 1 paziente e di PR in 2 pazienti.

Uscita dallo studio ed eventi avversi durante il trattamento

Nel corso del trattamento sono usciti dallo studio 5 pazienti su 8; in 2 casi il motivo di uscita è stato lo sviluppo di complicanze infettive severe nel primo trimestre che hanno controindicato la prosecuzione di un trattamento intensificato (vedi oltre); 2 pazienti hanno presentato rispettivamente durante il IV e II trimestre una progressione della cGVHD, tale da richiedere una modifica maggiore del programma di trattamento immunosoppressivo; 1 solo paziente ha sviluppato (II trimestre) una complicanza legata al catetere venoso femorale necessariamente posizionato per le procedure aferetiche, tale da controindicare la prosecuzione delle procedure stesse.

Complessivamente le complicanze osservate durante il trattamento possono essere divise in complicanze non infettive e infettive. Le complicanze non infettive si sono verificate in 2 pazienti: 1 caso di trombosi venosa profonda CVC correlata secondaria all'inserimento di un catetere venoso femorale per mancanza di un accesso vascolare alternativo reperibile; 1 caso di HUS (sindrome uremico-emolitica), che ha costretto alla sospensione della ciclosporina.

Le complicanze infettive sono state osservate in 3 pazienti su 8. Una paziente ha sviluppato nel primo trimestre di trattamento una riattivazione del CMV e una polmonite bilaterale di

probabile origine fungina (*Aspergillus niger*); quest'ultima, benché regredita con adeguata terapia, ha costretto ad una protratta interruzione del programma di fotoafesi e ad escludere la paziente dal proseguimento dello studio. Una seconda paziente ha sviluppato una cistite non meglio specificata e una riattivazione del CMV sempre nel primo trimestre di trattamento. Un terzo paziente ha sviluppato una riattivazione del CMV nel primo trimestre, una sepsi CVC-correlata da gram positivo e una condilomatosi diagnosticate rispettivamente nel terzo e quarto trimestre (Tabella 9).

Nel gruppo di 8 pazienti in protocollo è stato osservato un unico caso di recidiva di malattia (LAM) e un unico caso di decesso per TRM (transplant related mortality); entrambi si sono verificati dopo l'uscita dal protocollo per complicanze infettive.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente studio ha dimostrato una discreta fattibilità del programma di fotoafèresi in aggiunta alla terapia standard per il trattamento di prima linea della cGVHD a rischio medio-alto; i 2 casi di rifiuto di adesione allo studio sperimentale proposto sono stati determinati principalmente da motivi logistici (necessità di eseguire fotoafèresi presso altro centro). Su 8 pazienti sottoposti al trattamento, 3 hanno dovuto interrompere per complicanze, come da criteri predefiniti di uscita dallo studio, ma nessuno ha ritirato il consenso precedentemente dato. Non è possibile effettuare valutazioni comparative di fattibilità con altri trattamenti, ma nel complesso la incidenza delle complicanze maggiori, che hanno costretto alla uscita dallo studio, unitamente a quella delle complicanze minori, non sembra essere dissimile dalla incidenza di complicanze in corso di terapia immunosoppressiva standard in pazienti affetti da cGVHD; peraltro il ruolo della fotoafèresi nell'aggravare l'immunosoppressione e quindi il rischio infettivo stesso, sembra essere marginale. In base ai dati di fattibilità si può pertanto prevedere un discreto arruolamento in un eventuale studio prospettico.

Per quanto riguarda i risultati, obiettivo secondario, lo studio ha mostrato che, a fronte di una discreta probabilità di risposta completa dopo la prima fase più intensiva di trattamento, la risposta si riduce frequentemente contestualmente alla riduzione della terapia immunosoppressiva; solo 1 paziente è giunto, alla sospensione, peraltro temporanea (al

termine dei primi 9 mesi di trattamento), della terapia con cortisone e ciclosporina, come previsto dal protocollo. Non è stato effettuato un confronto con dati relativi ai risultati nel primo anno di trattamento in corso di terapia standard, comunque verosimilmente non dissimili da quelli osservati nel presente studio. L'esperienza clinica dimostra infatti la frequente necessità di incrementare o ripristinare la terapia immunosoppressiva per progressione o ricomparsa dei segni di cGVHD, e contemporaneamente la difficoltà di mantenere la sospensione della terapia farmacologica, laddove ciò sia stato possibile. Nella nostra casistica, con un follow up mediano di 47 mesi, una stabile sospensione è stata ottenuta solo in 1 dei pazienti trattati.

Un confronto sui risultati è stato possibile, anche se con i limiti della bassa numerosità della nostra casistica, prendendo in considerazione la mortalità trapianto correlata e la recidiva.

Nei pazienti arruolati in protocollo è stato osservato 1 solo caso di mortalità trapianto correlata e 1 caso di recidiva di malattia.

La comparazione con un gruppo di controllo storico, costituito da pazienti affetti da cGVHD e trattati con terapia standard in prima linea presso il nostro centro, mostra un trend in miglioramento per quanto concerne la sopravvivenza cGVHD specifica (mortalità trapianto correlata considerata evento; recidiva e termine del follow up considerati motivi di censorizzazione) nei pazienti trattati con la fotoafèresi (mortalità cGVHD specifica a 48 mesi 40% vs 18%; $p=0,28$; Figura 1). Lo stesso trend in miglioramento sembra emergere anche dal confronto con i dati in letteratura (6).

I principali limiti del presente studio sono costituiti dalla numerosità ridotta e dalla durata del follow up ancora troppo breve. L'incidenza di complicanze nel nostro programma infatti, pur sembrando in linea con quella attesa durante il solo trattamento standard, andrà valutata su un campione più ampio e con un follow-up sufficientemente lungo. Peraltro solo incrementando il periodo di osservazione sarà possibile ottenere stime sulla effettiva capacità di tale programma di migliorare la prognosi del gruppo di pazienti a rischio intermedio – alto, dimostrando così l'efficacia della intensificazione con fotoafèresi nel trattamento di prima linea della cGVHD.

Bibliografia

1. Antin JH. Long-term care after hematopoietic-cell transplantation in adults. *N Engl J Med* 2003; 347 : 36 - 42
2. Besinger WI, Martin PJ, Storer B et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells as a source of stem cells for allogeneic transplant. *N Engl J Med* 2001; 344: 175-181.
3. Heldal D, Tjonnfiord G, Brinch L et al. A randomised study of allogeneic transplantation with stem cells from blood or bone marrow. *Bone Marrow transplant.* 200; 25: 1129-1136.
4. Ringden O, Deeg HJ. Clinical spectrum of graft versus host disease. 1997 - Chapter 19th of *Graft versus host disease* edited by Ferrara JLM, , Deeg HJ and Burakoff SJ.
5. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man; a long term clinicopathological study of 20 Seattle patients. *Am J Med.* 1980; 69: 204-217.
6. Akpek G, Lee SJ, Flowers ME et al. Performance of a new clinical grading system for chronic graft-versus-host disease : a multi-center study. *Blood,* Aug 2003; 102: 802-809.
7. Koc S, Leisenring W, Flowers MED et al. Therapy for chronic graft-versus-host disease: a randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone. *Blood* 2002; 100: 48-51.

8. Bishop M, Flowers MED, Foss FM, et al. Emerging strategies in the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood and Marrow Transplantation Reviews* 2002; 12: 4-14.
9. Foss FM, Gorgun G and Miller KB. Extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow transplant.* 2002; 29: 719-725.
10. Seaton DE, Szydlo RM, Kanfer E et al. Influence of extracorporeal photopheresis on clinical and laboratory parameters in chronic graft-versus-host disease and analysis of predictors of response. *Blood* 2003; 102: 1217-1223
11. Alcindor T, Gorgun G, Miller KB et al. Immunomodulatory effects of extracorporeal photochemotherapy in patients with extensive chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2001; 98: 1622-1625.
12. Gorgun et al; Immunologic mechanism of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2002 Aug 1 ; 100(3):941-7.
13. Di Renzo et al, Extracorporeal photopheresis affects co-stimulatory molecule expression and interleukin-10 production by dendritic cells in graft-versus-host disease patients. *Clin Exp Immunol* 2008 Mar; 151(3):407-13
14. Biagi et al. Extracorporeal photochemotherapy is accompanied by increasing levels of circulating CD4+CD25+GITR+Foxp3+CD62L+ functional regulatory T-cells in patients with graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2007 Jul 15;84(1):31-9

15. Setterblad et al. Extracorporeal photopheresis increases sensitivity of monocytes from patients with graft-versus-host disease to HLA-DR-mediated cell death. *Transfusion*. 2008 Jan;48(1):169-77. Epub 2007 Sep 27
16. Bladon et al. Lymphocytes treated by extracorporeal photopheresis can down-regulate cytokine production in untreated monocytes. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005 Dec;21(6):293-302
17. Remberger M, Kumlien G, Aschan J et al. Risk factors for moderate-to-severe chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplant*. 2002; 8: 674 – 682.

Tabella 1

GRADING DELLA GVHD CRONICA (Dal giorno +100)

Estesa: coinvolgimento clinico multiorgano;

Limitata: solo coinvolgimento cutaneo clinicamente evidente;

Subclinica: solo evidenza istologica.

GVHD CRONICA LIMITATA	GVHD CRONICA ESTESA
<p>Uno o entrambi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. coinvolgimento cutaneo localizzato; 2. disfunzione epatica causata da GVHD cronica. 	<p>Uno fra:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. coinvolgimento cutaneo generalizzato; 2. coinvolgimento cutaneo localizzato e/o disfunzione epatica causata da GVHD cronica più: <ul style="list-style-type: none"> • istologia epatica con evidenza di epatite cronica aggressiva, necrosi a ponte o cirrosi; • coinvolgimento oculare: Schirmer's test < 5mm; • coinvolgimento delle ghiandole salivari minori o mucosa orale dimostrata su biopsia labiale; • coinvolgimento di qualsiasi organo target.

Referenza: Schulman et al, Am J Med 69: 204-217 (1980)- adattata.

Tabella 2

CLASSIFICAZIONE CLINICA DELLA GVHD CRONICA IN MITE E MODERATA/SEVERA

1. Per GVHD cronica non richiedente trattamento sistemico o **forma mite** si intende quella patologia coinvolgente un singolo sito, in pazienti con PLTS >100000 in assenza di terapia steroidea all'insorgenza della GVHD cronica stessa, ovvero:
 - a) Anomali del cavo orale compatibili con diagnosi di cGVHD, biopsia positiva della cute o delle labbra, in assenza di altre manifestazioni;
 - b) Modeste anomalie di funzionalità epatica ($ALP \leq 2$ volte il limite superiore della norma, AST o $ALT \leq 3$ volte il limite superiore della norma e bilirubina totale ≤ 1.6) con biopsia cutanea o delle labbra positiva, in assenza di altre manifestazioni;
 - c) Meno di 6 placche papulo-squamose, rash maculo-papulare o lichenoides esteso a meno del 20% della superficie corporea (BSA), biopsia sulla pelle positiva, in assenza di altre manifestazioni;
 - d) Secchezza oculare (test di Schiermer's ≤ 5 mm con non più sintomi oculari minimi)
 - e) Anormalità vaginali o vulvari con biopsia positiva, e nessun'altra manifestazione di cGVHD
2. Per GVHD cronica richiedente trattamento sistemico o **forma moderata/severa** si intende quella patologia coinvolgente siti multipli, oppure pazienti che presentano PLTS < 100000, o trattamento steroide in atto all'esordio della cGVHD, ovvero:
 - a) Coinvolgimento di due o più organi con sintomi o segni di cGVHD, con biopsia documentata di cGVHD in ogni organo;
 - b) Perdita di peso corporeo $\geq 15\%$ non dovuta ad altre cause, con biopsia documentata di cGVHD in ogni organo;
 - c) coinvolgimento della cute più esteso di quello definito per la cGVHD clinica mite, confermato attraverso biopsia;
 - d) Sclerodermia o morphea;
 - e) Onicolisi o onichiodistrofia rappresentativa di cGVHD, con documentazione di malattia in ogni organo;
 - f) Diminuzione motoria al polso o alla caviglia dovuta a infiammazioni dei fasci muscolari causato da cGVHD;
 - g) Contratture suggestive per cGVHD;
 - h) Coinvolgimento orale con deficit funzionali, refrattario ai trattamenti topici;
 - i) Coinvolgimento vaginale con ridotta funzionalità refrattaria ai trattamenti topici;
 - j) Bronchiolite obliterante non dovuta ad altre cause;
 - k) Biopsia epatica positiva, o funzionalità epatica anomala non dovuta ad altre cause con $ALP \geq 2$ volte il limite superiore della norma, AST o $ALT \geq 3$ volte il limite superiore della norma o bilirubina totale ≥ 1.6 , e cGVHD documentata in ogni organo;
 - l) Biopsia dell'apparato gastrointestinale positiva;
 - m) Infiammazione dei fasci muscolari o sierosità suggestiva per cGVHD e non dovuta ad altre cause.

Tabella 3

Selezione dei pazienti AGGIORNATA	
DIAGNOSI DI cGVHD	16
PAZIENTI ELEGIBILI	10
PAZIENTI ARRUOLATI	8
PAZIENTI VALUTABILI	<u>8</u>

Tabella 4

Caratteristiche dei pazienti arruolati					
UPN		Diagnosi	Eta'	Sesso	Stato di malattia al trapianto
0141.1	MV	LLA Ph+	43	M	Recidiva
0139.1	DPE	LMA	30	F	I CR
0130.1	PG	LMA	40	M	I CR
0131.1	LG	MDS	60	F	Esordio
0119.1	NM	LMA	37	M	I CR
0154.1	RM	APL	46	F	II CR
0224.1	CA	APL	33	M	II CR
0245.1	PC	LMA	39	F	I CR

Tabella 5

Caratteristiche del trapianto AGGIORNATA		
Donatore	Familiare	7
	MUD	1
Condizionamento	Standard	7
	Ridotta intensita'	1
Profilassi GVHD	CyA + MTX	7
	CyA + MMF	1

Tabella 6

Caratteristiche cGVHD		
Intervallo TMO-GVHD (mesi)		2*,4,4,5,7,9,9,18 * cGVHD progressive type
Grading clinico (Shulman)	Estesa	8
	Limitata	0
Grading clinico (Tabella 2)	Moderato/Severa	8
	Mite	0
Estensione cutanea	>50%	2
	≤50% / assente	5 / 1 assente (rossi)
Piastrine	<100,000	2
	≥100,000	6
Modalita' di insorgenza	Progressive type	1
	De Novo / Quiescente	5 / 2 (CA e PC)
Score Prognostico	PS>0 (0.5 – 3.2)	3
	PS=0	5
Organi interessati	Cute	7
	Cavo orale / Gh. Saliv.	5
	Occhio	5
	Altri organi	2 (fegato (CA) + Gastroenter (RM))

Tabella 7

UPN	INIT	PS	3 mo		6 mo		9 mo		12 mo	
			Protocol status	cGVHD status	Protocol status	cGVHD status	Protocol status	cGVHD status	Protocol status	cGVHD status
0141.1	MV	0	In	CR	In	PR	Mod	vgPR	Mod	vgPR
0139.1	DPE	3.2	Out	<i>Infectious complication</i>						
0130.1	PG	3.2	In	CR	Mod	CR	Mod	CR	Out for cGVHD progr	
0.131.1	LG	0.5	In	CR	In	vgPR	In	vgPR	Mod	PR
0119.1	NM	0	In	CR	Out	<i>Non-Infectious complication</i>				
154.1	RM	0	Out	<i>Infectious and Non-Infectious complications</i>						
0221.1	CA	0	Mod	NR	Mod	PR	Mod	PR	Mod	PR
0245.1	PC	0	In	NR	Out	cGVHD progressione				

Tabella 8

Complicanze					
UPN		3 mm	6 mm	9 mm	12 mm
0141.1	MV	no	no	no	no
0139.1	DPE	Polmonite CMV ag +			
0130.1	PG	no	no	no	no
0131.1	LG	no	no	no	no
0119.1	NM	CV-rel TVP			
0154.1	RM	CMV ag + Cistite HUS			
0224.1	CA	CMV ag +	no	CVC-rel inf (shock settico)	Condilomatosi

Background. Chronic graft versus host disease (cGVHD) is the major late complication after allogeneic stem cell transplantation. Standard therapy is steroid and Cyclosporine-A (CyA); however, immune suppression (ISS) related infections or unresponsiveness to ISS, are major mortality causes. Extracorporeal photopheresis (ECP) has shown activity in treatment of cGVHD, but its use has been limited to first-line-unresponsive cGVHD.

Aim of the study. This is a single center pilot study testing feasibility of a programme of photopheresis in association with standard therapy as first line treatment in high risk cGVHD. High risk was defined as the presence of parameters predicting high cGVHD-related mortality. Secondary objectives were response and complications incidence.

Patients. Among 10 pts fitting enrolling criteria, 2 refused due to logistic problem or low compliance with the procedure, 8 were enrolled. Median age was 40. Donor was HLA identical sibling in 7 cases and MUD in 1. All cases presented with extensive/moderate-severe cGVHD; Akpek score was > 0 in 3/8 pts.

Treatment plan. Pts started with Prednison (PDN) 1 mg/kg and CyA at cGVHD diagnosis; ECP was started with a frequency of 4 application/month in the first 3 months and 2/month for the subsequent 9 months; PDN and CyA were slowly reduced until suspension, or otherwise modulated. Study duration was 1 year. Pts were ruled out the study in case of ECP suspension, requirement of other ISS drugs in case of GVHD progression unresponsive to standard therapy, or severe infections. Response was evaluated with standard criteria, as progression, partial response (PR), very good PR (vgPR) or complete response (CR).

Results. Adherence to protocol was: 6/8 pts at 3 months, 4/8 at 6 and 9 months, 3/8 at 12 mm; exit from the study was due to infectious complications (2), ECP suspension due to venous access related thrombosis (1) and clear cGVHD progression (2). In evaluable pts, response (CR+very good PR / <=PR) per trimester was 4/6, 2/4 and 3/4 at I, II and III respectively; at the IV trimester, 1 very good PR, 2 PR and 1 progression were observed. Complications were observed in 4 pts with : 1 case of pneumonia, 1 case of urinary tract infection, 3 cases of CMV antigenemia activation, 1 case of condilomatosis, 1 case of catheter related infection, 1 case of catheter related thrombosis and 1 case of hemolytic uremic syndrome. At 1 year, 2/8 pts died (1 TRM, 1 relapse).

Conclusion. ECP in association with standard therapy is feasible; complications incidence seems to be similar to those observed in patients not treated with ECP; a larger group of patients is needed to evaluate response in this setting.

ABSTRACT ITALIANO

Introduzione. La malattia del trapianto verso l'ospite cronica (cGVHD) è la più importante complicanza dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche. La terapia standard è l'associazione di ciclosporina (CyA) e cortisone; le complicanze infettive correlate alla terapia immunosoppressiva (ISS) o la insoddisfacente risposta al trattamento sono la principale causa di mortalità. La fotoafèresi extracorporea (ECP) si è dimostrata efficace nel trattamento della cGVHD, ma il suo utilizzo è stato prevalentemente limitato alla cGVHD resistente a trattamento di prima linea.

Scopo dello studio. Il presente studio pilota ha l'obiettivo di valutare la fattibilità di un programma di ECP in associazione a terapia standard per il trattamento di prima linea della cGVHD ad alto rischio. Il rischio elevato si definisce in base alla presenza di parametri che predicono una elevata mortalità cGVHD correlata. Obiettivi secondari sono la risposta e la incidenza di complicanze (sicurezza).

Pazienti. Su 10 pazienti che rispettavano i criteri di arruolamento, 2 hanno rifiutato di aderire allo studio per problemi logistici o rifiuto di un protocollo sperimentale, 8 sono stati arruolati. L'età media è stata di 40 anni. Il donatore era un donatore familiare HLA identico in 7 casi e un donatore non familiare in 1 caso. Tutti i pazienti presentavano cGVHD estesa o moderato/severa; lo score prognostico (secondo Akpek) era >0 in 3/8 pazienti.

Trattamento. I pazienti hanno iniziato il trattamento con Prednisone (PDN) 1 mg/kg e CyA alla diagnosi di cGVHD; la ECP è stata iniziata con una frequenza di 4 sedute / mese nei primi 3 mesi e 2 / mese per i successivi 9 mesi; PDN e CyA sono stati lentamente scalati sino alla sospensione se possibile, altrimenti modulati. La durata dello studio è stata di 1 anno. I criteri di uscita dallo studio erano la sospensione della ECP, la necessità di inserire altri farmaci immunosoppressivi per progressione della cGVHD o infezioni severe. La risposta è stata valutata secondo criteri standard come progressione, risposta parziale (PR), ottima PR (vgPR) o risposta completa (CR).

Risultati. La aderenza al protocollo è stata: 6/8 pazienti a 3 mesi, 4/8 a 6 e 9 mesi, 3/8 a 12 mesi; l'uscita dallo studio è stata determinata da complicanze infettive in 2 pazienti, sospensione della ECP in 1 paziente a causa di una trombosi correlata al catetere venoso (CV) femorale inserito per le procedure di ECP, in 2 pazienti per chiara progressione della cGVHD. Nei pazienti valutabili la risposta (CR + vgPR / <=PR) per trimestre è stata 4/6, 2/4 and 3/4 al I, II e III trimestre rispettivamente; dopo il IV trimestre di trattamento sono state osservate 1 vgPR, 2 PR e 1 progressione. Complicanze sono state osservate in 4 pazienti per un totale di 9 episodi: 1 caso di polmonite, 1 caso di infezione delle vie urinarie, 3 casi di riattivazione di CMV, 1 caso di condilomatosi, 1 caso di infezione CVC correlata, 1 caso di trombosi CV femorale correlata, 1 caso di sindrome uremicoemolitica. Ad 1 anno 2 pazienti su 8 sono deceduti (1 caso per mortalità trapianto correlata, 1 caso per recidiva).

Conclusioni. La ECP in associazione a terapia standard è fattibile; la incidenza di complicanze sembra essere sovrapponibile a quella osservata nei pazienti non sottoposti a ECP. Per valutare adeguatamente la risposta e la sicurezza di questo trattamento sarà necessario un numero più ampio di pazienti.

PAROLE CHIAVE

Photopheresis - cGVHD - Cyclosporin – Prednison – Transplantation – HSCT