Anno 2 - Numero 3 - 2015

Ematologia Oncologica.it

Linfoma follicolare

Organo Ufficiale
della **Fondazione Matarelli** - Milano

Con il supporto non condizionato di

Ematologia Oncologica.it

www.ematologiaoncologica.it

Linfoma follicolare

Biologia
Guido Ghilardi, Davide Rossi, Gianluca Gaidano 7

Quadri clinici e percorsi diagnostici
Massimiliano Bonifacio, Alberto Zamò, Giovanni Pizzolo 15

Terapie convenzionali
Salvatore Perrone, Alice Di Rocco, Maurizio Martelli 25

Terapie innovative
Maura Nicolosi, Umberto Vitolo 37

Trapianto di cellule staminali
Corrado Tarella, Angela Gueli, Simona Sammassimo, Anna Vanazzi 45

Ematologia Oncologica.it
Vol 2 - n.3 - 2015

Direttore Responsabile
Giorgio Maggiani

Direttore Scientifico
Giorgio Lambertenghi Deliliers
Fondazione Matarelli, Milano

Comitato Editoriale
Sergio Amadori
Università degli Studi Tor Vergata, Roma

Mario Boccadoro
Università degli Studi, Torino

Alberto Bosi
Università degli Studi, Firenze

Michele Cavo
Università degli Studi, Bologna

Antonio Cuneo
Università degli Studi, Ferrara

Marco Gobbi
Università degli Studi, Genova

Cristina Mecucci
Università degli Studi, Perugia

Fabrizio Pane
Università degli Studi, Napoli

Francesco Passamonti
Università degli Studi, Varese

Gianni Pizzolo
Università degli Studi, Verona

Giorgina Specchia
Università degli Studi, Bari

Ematologia Oncologica.it
è una rivista quadrimestrale monotematica, di aggiornamento in lingua italiana, che ha essenzialmente lo scopo educativo di rendere disponibili le informazioni più aggiornate su argomenti pertinenti le malattie del sangue, in particolare quelle neoplastiche. Per raggiungere questo obiettivo la rivista desidera coinvolgere gli specialisti italiani più qualificati e informare il lettore sui più recenti progressi nel campo della ricerca di base, della clinica e della terapia.

La rivista si attiene alle raccomandazioni indicate dal World Association of Medical Editors (WAME) riguardante l'etica delle pubblicazioni in ambito sanitario.

Registrazione Tribunale di Milano
n. 348 del 19/11/2013

Progetto grafico
Dynamicom srl

Sito Internet
www.ematologiaoncologica.it

Coordinamento editoriale
Dynamicom - Milano
Tel. (+39)0289693750 - Fax (+39)02201176

Editore
Fondazione Matarelli

Periodicità
Quadrimestrale

Avvertenze ai lettori
L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni eventualmente citati negli articoli, ed invita il lettore a controllare personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

Norme per gli Autori
- L'accettazione dei testi inviati è comunque subordinata al parere del Comitato Editoriale che deve verificare la loro compatibilità con le norme redazionali.
- Gli Autori dei testi sono gli unici responsabili del loro contenuto, e della riproduzione delle immagini allegate.
- Il primo Autore è tenuto ad ottenere l'autorizzazione di "Copyright" qualora utilizzi figure e/o tabelle già pubblicate altrove.
- La proprietà dell'articolo, una volta pubblicato, appartiene alla Fondazione Matarelli, (Largo Crocetta, 2 - 20122 MI) che ha depositato il nome della rivista presso il Tribunale di Milano in data 19/11/2013
- Il manoscritto deve essere inviato a Dynamicom Edizioni (segreteria@ematologiaoncologica.it) che, dopo averlo controllato ed impaginato, lo invierà al Direttore Scientifico (giorgio.lambertenghi@unimi.it) per la revisione e il controllo della stesura secondo le norme redazionali. Le bozze di stampa verranno quindi rinviate all'Autore per le opportune correzioni, che dovrà provvedere entro cinque giorni lavorativi a rinviarle a: segreteria@ematologiaoncologica.it

Norme redazionali
Il contenuto dell'articolo, redatto utilizzando il programma Microsoft Word per Windows o Macintosh, non deve superare le 30-35 cartelle dattiloscritte (2000 battute cad.) compresa la bibliografia, e corredato delle illustrazioni (tabelle, grafici, figure) nel numero che l'Autore ritiene necessario, in file ad alta risoluzione (salvate in formato pdf, jpg o eps).

Lo stile del manoscritto, le citazioni bibliografiche e il loro riferimento nel testo del manoscritto devono seguire le raccomandazioni dell'International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). Per le relative informazioni, gli Autori sono pregati di consultare il sito http://www.icmje.org.

L'articolo deve essere così strutturato:
- **Titolo conciso** e pertinente con il tema della rivista;
- **Prima pagina** con nome e cognome degli Autori, istituzione di appartenenza, foto tessera a colori del primo Autore;
- **Introduzione iniziale** che esponga in maniera chiara lo scopo dell'articolo;
- **Corpo del testo** suddiviso in sottocapitoli a contenuto omogeneo;

Pagina finale:
1) nome e cognome del primo autore, con telefono, fax, e-mail al quale andrà indirizzata la corrispondenza;
2) eventuali **ringraziamenti** a persone e/o associazioni;
3) 3-5 parole chiave.

Bibliografia
Per lo stile nella stesura seguire le seguenti indicazioni o consultare il sito "lnternational Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements far Manuscripts Submitted to Biomedical Journals Sample References".
Le **voci bibliografiche** non devono superare il numero massimo di 150, numerate secondo l'ordine di comparsa nel testo, citate tra parentesi con il testo in apice e con i numeri arabi, tenendo presente gli esempi sottostanti.

Articoli con 1-6 autori
Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Articoli con più di 6 autori
Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E, De Giglio I, Baldoni A, et al. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Abstract e Congressi
Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. ASH Annual Meeting Abstracts. 2000;100(10):1000.

Capitoli di libri
Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. In: Spagnoletti M. ed. The Hemoglobin, Vol 10. London: Raven Livingstone. 1980:10-15.

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 1980:10-15.

Editoriale

Giorgio Lambertenghi Deliliers
Fondazione Matarelli - Milano

Ematologia Oncologica.it dedica questo numero al linfoma follicolare, una malattia dove le informazioni scientifiche di base sono state rapidamente trasferite in ambito clinico, suscitando ottimistiche previsioni per un significativo prolungamento della sopravvivenza libera da malattia e forse anche per l'eradicazione del clone neoplastico.
È considerato il prototipo dei linfomi indolenti e caratterizzato dalla presenza di cellule con un genoma/epigenoma tumorale, frammiste ad elementi non neoplastici. Le più recenti acquisizioni biologiche hanno evidenziato che accanto alla nota traslocazione t(14;18), altre mutazioni addizionali e aberrazioni cromosomiche si susseguono nel tempo, così da sovvertire il programma di espressione genica fisiologico delle cellule B del centro germinativo e favorire la proliferazione neoplastica. Le modalità di presentazione clinica sono diverse e spesso il riscontro è occasionale. La diagnosi è soprattutto anatomo-patologica ed attualmente facilitata dalla disponibilità di specifici marcatori immunofenotipici, citogenetici e molecolari.
La valutazione citologica quantitativa delle componenti centroblastica/centrocitica ed il riscontro di alcuni parametri clinici e di laboratorio sono importanti per una valutazione sia del grado di malignità al momento della diagnosi, sia della stratificazione del rischio evolutivo. L'insieme di tutte queste informazioni di ordine biologico, morfologico e clinico è indispensabile per la programmazione terapeutica che può variare da un'astensione vigile *(Wait and Watch)* a decisioni di interventi precoci. Anche se particolarmente chemiosensibile, il linfoma follicolare è stato in passato considerato incurabile per la tendenza a recidivare. Tuttavia tale andamento è stato drasticamente modificato con l'avvento dell'anticorpo monoclonale anti-CD20 rituximab, associato alla chemioterapia convenzionale o al trapianto di cellule staminali. Per gli stadi iniziali l'indicazione alla sola radioterapia è oggi disattesa, e la decisione di iniziare un trattamento dipende dalle caratteristiche biologiche della malattia. Negli stadi avanzati è opportuno valutare nei pazienti asintomatici le dimensioni della massa neoplastica per decidere sull'astensione terapeutica o sull'inizio di una polichemioterapia che deve sempre includere il rituximab, anche come mantenimento dopo la remissione. Ma gli aspetti più innovativi in campo terapeutico riguardano l'eradicazione della malattia minima residua, responsabile del ripetersi delle recidive e della riduzione dell'aspettativa di vita. Nuovi anticorpi monoclonali anti-CD20 dotati di maggiore citotossicità diretta, la combinazione con citochine immunomodulanti e il recente impiego di anticorpi monoclonali diretti verso antigeni diversi dal CD20 hanno promosso *trials clinici* di grande interesse. Anche i farmaci immunomodulatori e gli inibitori del *B-cell receptor* sembrano offrire un sensibile miglioramento della prognosi dei pazienti recidivati e per la prima volta un approccio *chemo-free*, anche in prima linea. L'introduzione del rituximab nei programmi di mobilizzazione e purificazione delle cellule staminali periferiche e nei protocolli ad alte dosi sequenziali di chemioterapia ha migliorato significativamente la potenzialità terapeutica dal trapianto autologo. Sebbene non giustificato come scelta di prima linea per l'incidenza di mielodisplasie secondarie, il suo ruolo sembra più definito nei pazienti in recidiva, se in condizioni cliniche ed ematologiche compatibili per un trattamento intensificato.
Anche il trapianto allogenico ha avuto una evoluzione nel corso degli ultimi anni, soprattutto con l'introduzione e lo sviluppo dei regimi di condizionamento ad intensità ridotta per i pazienti in progressione dopo trattamenti convenzionali. L'opzione trapiantologica, anche se ha dimostrato di poter offrire un prolungamento della sopravvivenza, deve essere oggi valutata alla luce dei nuovi farmaci a bersaglio molecolare.

Biologia

Guido Ghilardi, Davide Rossi, Gianluca Gaidano

Divisione di Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università degli Studi del Piemonte Orientale Amedeo Avogadro

Introduzione

Il linfoma follicolare (LF) è il secondo tipo di linfoma per frequenza e insorge mediamente all'età di 60 anni [1,2]. Nonostante si presenti nella maggior parte dei pazienti come malattia disseminata al momento della diagnosi e sia generalmente ritenuto incurabile, esso è considerato il prototipo dei linfomi indolenti e, come tale, è caratterizzato da una lenta progressione di malattia ed alti tassi di risposta alla terapia. La sopravvivenza globale dei pazienti affetti da LF raggiunge infatti mediamente i 10 anni, o tempi addirittura maggiori con le attuali terapie [3]. Ciononostante, la maggior parte dei pazienti può sviluppare nel tempo una malattia sempre più resistente ai trattamenti, e, nel 30% dei casi, il linfoma originariamente indolente si trasforma in un sottotipo più aggressivo. Questa trasformazione avviene con un rischio annuo cumulativo del 3% ed è associata ad una prognosi sfavorevole [4-6].

Le attuali strategie terapeutiche per il LF sono stratificate in base allo stadio clinico di malattia. Per i pazienti con una malattia ancora in stadio localizzato è prevista la radioterapia, mentre per i pazienti con una malattia in stadio avanzato è previsto l'impiego di anticorpi monoclonali anti-CD20 (es. rituximab), da soli o in associazione alla chemioterapia [7]. I pazienti asintomatici e/o con un carico tumorale limitato non necessitano trattamento e possono essere mantenuti in osservazione [7]. Il rituximab è stato il primo farmaco che, quando impiegato in prima linea, ha dimostrato di essere in grado di incrementare di diversi anni la sopravvivenza globale dei pazienti affetti da LF, migliorandone la prognosi [8-14]. Per i pazienti con una malattia resistente ai trattamenti di prima linea e con un buon *performance status* sono previsti approcci più aggressivi contenenti alte dosi di chemioterapici ed il trapianto di cellule staminali emopoietiche autologhe o allogeniche.

Patologia

Morfologicamente il LF è caratterizzato dalla proliferazione di linfociti B neoplastici, le cui controparti normali, centrociti e centroblasti, costituiscono i tipi cellulari predominanti nel fisiologico centro germinativo reattivo (GCB), frammiste a cellule non maligne quali linfociti T, cellule follicolari dendritiche (CFD) e macrofagi [15]. La proporzione relativa del numero di centrociti per centroblasti osservabili sui preparati istologici sta alla base del sistema con cui viene attualmente attribuito il *grading* del LF. Agli estremi di questa classificazione, il LF di grado 1 si caratterizza per la presenza di un basso numero di centroblasti (0-5 per campo ad alto ingrandimento), mentre il LF di grado 3B è caratterizzato dalla presenza di un tappeto compatto di centroblasti [16].

Mediante colorazione immunoistochimica è possibile evidenziare il classico pattern di crescita follicolare del LF sfruttando i marcatori delle CFD quali CD21 o CD23. La traslocazione t(14;18)(q32;q21), valutabile tramite *fluorescence in situ hybridization* (FISH), ricorre nell'85% dei casi e determina l'iperespressione della proteina anti-apoptotica BCL2. Questa traslocazione, nonostante sia considerata caratteristica del LF, non è né necessaria né sufficiente per porne la diagnosi. La traslocazione t(14;18) risulta infatti assente nel 15% dei LF, mentre è presente in circa il 20-30% dei linfomi diffusi a grandi cellule B (DLBCL) di tipo GCB [15,17].

Cellula di origine

L'osservazione che le cellule neoplastiche del LF si organizzano in follicoli, esprimono i marcatori di superficie tipici delle cellule del centro germinativo come BCL6 e CD10, e presentano il caratteristico profilo di espressione genica dei centrociti e/o dei centroblasti [15,18] suggerisce che il LF origini da un linfocita B maturo del centro germinativo [19]. Una serie di evidenze tuttavia suggerisce che l'inizio del processo oncogenetico che porta alla trasformazione del linfocita B a LF sia estremamente complesso e preveda l'esistenza di una cellula progenitrice comune più precoce rispetto alle cellule GCB.

Il primo evento nella cascata oncogenetica che porta alla formazione del LF è comunemente attribuito alla traslocazione t(14;18), sulla base della frequenza con cui questa specifica aberrazione genomica viene riscontrata nei LF e sul suo supposto meccanismo d'azione nella linfomagenesi. La traslocazione consegue ad una rot-

tura a doppio filamento a livello del locus dei geni per le immunoglobuline *IGH* localizzati sul cromosoma 14, e ad una rottura sul locus del gene *BCL2* posto sul cromosoma 18, attribuite ad una disfunzione del meccanismo di ricombinazione di VDJ operato da RAG [20,21]. Siccome la ricombinazione VDJ avviene negli stadi precoci dello sviluppo dei linfociti B, quando questi sono ancora localizzati all'interno del midollo osseo, la traslocazione t(14;18) quale primo evento genetico nella linfomagenesi avviene verosimilmente all'interno del midollo osseo. Successivamente, i linfociti B naïve che portano la traslocazione t(14;18) escono dal midollo osseo e colonizzano i tessuti linfatici secondari dove subiscono la reazione del centro germinativo, dimostrando un vantaggio in termini di sopravvivenza grazie all'espressione costitutiva di BCL2, normalmente non espresso nei linfociti del centro germinativo [22]. Oltre a garantirne la sopravvivenza, BCL2 può anche salvare queste cellule dall'apoptosi causata dalla debole affinità del loro recettore B (*B cell receptor*, BCR) per gli antigeni presentati [22-25].
I progenitori precoci del LF acquisiscono quindi alterazioni genetiche secondarie promuoventi l'evoluzione verso il LF grazie all'instabilità genetica prodotta dalla *activation induced cytidine deaminase* (AID), enzima responsabile del fenomeno di ipermutazione somatica e switch di classe dei geni per le immunoglobuline [26].
Questa ipotesi vede i linfociti B naïve circolanti positivi per la traslocazione t(14;18) come potenziali precursori tumorali nella patogenesi del LF ed è sostenuta anche dall'osservazione che cellule simili possono venire ritrovate a livello del sangue periferico nel 50-70% degli individui sani, alcuni dei quali svilupperanno successivamente un LF [27-31].
Prove riguardanti l'esistenza di precursori del LF derivano inoltre da case reports che hanno descritto casi di LF insorti successivamente a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche, [32,33] e dalla recente osservazione di soggetti sani portatori di un LF in situ scoperto accidentalmente in linfonodi normali [34,35].

Genetica

Poiché cellule caratterizzate dalla traslocazione t(14;18) sono presenti anche in individui sani [27-29] e poiché i modelli murini transgenici caratterizzati dall'iperespressione di *BCL2* non riproducono fedelmente la patogenesi del LF,[36-38] è verosimile che la iperespressione di *BCL2* non sia sufficiente per indurre la linfomagenesi.
L'identificazione di un numero crescente di lesioni genetiche addizionali alla traslocazione t(14;18) ha supportato ulteriormente l'ipotesi che altri eventi genetici contribuiscano alla patogenesi del LF (Figura 1). Accanto alla traslocazione t(14;18), le aberrazioni cromosomiche più comunemente riscontrate nel LF includono delezioni delle porzioni 1p36 e 6q così come duplicazioni di porzioni dei cromosomi 7, 18 e X [39-42]. Recentemente, accurate analisi dei geni presenti all'interno di queste regioni hanno portato all'identificazione di potenziali geni chiave nella linfomagenesi del LF. *TNFAIP3/A20*, un regolatore negativo del *signaling* di NF-κB, ed il recettore tirosin-chinasico *EPHA7* sono i soppressori tumorali che mappano all'interno della regione 6q ricorrentemente deleta nel LF [45,46].
All'interno della regione 1p36, frequentemente bersaglio di delezioni in eterozigosi e perdita di eterozigosi senza variazioni del numero di alleli, è localizzato il gene *TNFRSF14* che è ricorrentemente mutato nel 20-45% dei pazienti affetti da LF [43,44]. La maggior parte delle mutazioni di *TNFRSF14* porta alla formazione di una proteina tronca e priva del dominio trans-membrana, causando una diminuzione della sua espressione sulla superficie cellulare. Le mutazioni di *TNFRSF14*, e la sua conseguente diminuita espressione, forniscono un primo indizio riguardo il legame esistente tra la genetica del LF ed il microambiente. Infatti, *TNFRSF14* è in grado di trasmettere sia segnali inibitori che stimolatori alle cellule T a seconda del ligando con cui interagisce.
Gli approcci genomici hanno mostrato che il LF, come altri linfomi derivanti dal centro germinativo, è caratterizzato da mutazioni di geni modificanti gli istoni [47-50].
Nel LF sono state riportate mutazioni ricorrenti nelle istone metiltransferasi *MLL2* (89%) e *EZH2* (7%), nelle istone acetilasi *CREBBP* (32%) e *EP300* (8%), ed in *MEF2B* (15%) (47,48,50-52). *EZH2* codifica per l'unità catalitica del *polycomb repressive complex* 2. Mutazioni della Tyr641, localizzata all'interno del dominio SET di *EZH2*, sono in grado di determinare un incremento della trimetilazione della Lys27 dell'istone H3 (H3K27me3),[43,53,54] sovvertire il programma di espressione genica fisiologico delle cellule B del centro germinativo e stabilizzare le cellule di LF in un profilo trascrizionale che favorisce la proliferazione [55,56].
Una serie di vie di trasduzione del segnale risultano inoltre molecolarmente deregolate in una frazione di LF, tra cui la via di JAK-STAT e di NF-κB [57,58].

Ruolo del microambiente

L'importanza del microambiente nella biologia del LF è suggerita dal fatto che:

- le cellule neoplastiche sono frammiste ad una proporzione variabile di cellule immunitarie di natura non maligna; [59-63]
- i casi di LF caratterizzati da una predominante espressione di geni correlati a cellule T o a macrofagi mostrano una sopravvivenza più lunga, mentre i casi caratterizzati dalla espressione di geni di origine macrofagica o dendritica mostrano una prognosi sfavorevole [59,60, 64-76].

Il microambiente svolge una duplice e interconnessa funzione nella biologia del LF:

- sostiene la crescita e sopravvivenza delle cellule tumorali;
- sopprime la risposta immune antitumorale.

Varie popolazioni cellulari non neoplastiche interagiscono con le cellule neoplastiche e promuovono il LF. Le cellule esprimono ele-

CREBBP
BCL2
MLL2
TNFRSF14
EZH2
STAT6
TP53
SOCS1
RAPGEF1
CLMN
ENTPD4
HIST1H2AC
ITGAX
SLC9A6
ZCCHC11
CALR
CTSS
POTEG
BCR
CTAGE9
ERBB2
ZMYM3
BCAS3
CCAR1
TIE1
CASZ1
ZNF462
PRAGC
Q9Y6V0-3
SIK3
POU2AF1
OR2M3
MEF2BNB-MEF2B
CEP112
GNAI2
KIR2DL3
HNRNPU
DMBT1
BAZ2B
NOTCH1
DIRAS3
FAS
CARD11
FAT2
ATP6AP1
PIM1
PCLO
HIST1H1C
MEF2B
HIST1H2BK
MATN2
FOXO1
ROS1
C4orf149
GNE
MXRA5
PEX14
BRWD3
EP300
AUTS2
VMA21
ZNF280C
ZNF257
SKOV2L
CNOT2
ABCF3
SQTA
HOXB8
HMCN1
ACTB
VRK2
PLEC
CD36
CD84
ATRN
ATP6V1B2
WWP1
ADCYAP1R1
CD163L1
NTRK1
PERM
SLC45A4
SPTLC2
TABD
OLFM2
KCNE1
LRRC8A
CYP1B1
ZNF672
ETV1
TPM1
MYPN
USP47
PRMT1
SSFA2
SLC34A1
PDCD10
ZNF672
SETD1A
TSC3D8
AMY2A

toposte le cellule neoplastiche durante tutta la storia di malattia, è possibile riconoscere molteplici cloni coesistenti che differiscono fra loro per il carico mutazionale nelle regioni variabili dei loci immunoglobulinici. I risultati degli studi che hanno analizzato questo fenomeno suggeriscono l'esistenza di un intenso traffico di cloni cellulari tra diversi follicoli adiacenti[93,94], ed anche che la progressione tumorale avviene prevalentemente attraverso evoluzione divergente a partire da un'ipotetica cellula progenitrice comune [32, 95,96].
L'evoluzione della malattia nel linfoma follicolare è quindi meglio compresa secondo una prospettiva darwiniana, in cui il clone dominante è costantemente mantenuto sotto pressione selettiva dai segnali di sopravvivenza prodotti delle stesse cellule di linfoma e dal loro microambiente associato. Questa teoria aiuta a spiegare il tipico modello di progressione clinica osservato e lo spontaneo andamento altalenante di malattia osservato nei pazienti in assenza di trattamento.
Durante il decorso della malattia, il 30% dei pazienti affetti da LF va incontro a trasformazione in linfoma aggressivo.[4-6,97] Clinicamente questa trasformazione è accompagnata da un esordio con sintomi B (febbre, sudorazioni notturne, e perdita di peso) e dallo sviluppo di malattia extranodale e/o una rapida crescita tumorale. La mediana di sopravvivenza dei pazienti affetti da LF trasformato (LFT) è significativamente inferiore a quella osservata nei LF normali e varia da 1 a 2 anni [4,5]. Va sottolineato che queste informazioni provengono da studi in cui i pazienti analizzati non erano stati trattati inizialmente con rituximab e ad oggi non è ancora stato chiarito in che modo rituximab possa diminuire l'incidenza di trasformazione nei LF e/o cambiarne la prognosi. Le caratteristiche istologiche del LFT somigliano a quelle del DLBCL, ma possono essere osservate anche altri tipi di istologie [98]. Il LFT mostra un profilo di espressione genica ed un immunofenotipo distinto da quello del LF originale [99].
Il processo di trasformazione nel LF avviene preferenzialmente attraverso una evoluzione divergente a partenza da un clone sviluppatosi da un progenitore comune [32]. Rimane tuttora irrisolto se il LFT insorga a partire da un sub-clone già esistente nell'antecedente LF o se sia il risultato di eventi casuali genetici, epigenetici o del microambiente, insorti durante il decorso clinico del LF. Numerosi studi hanno confrontato le biopsie di LF e LFT appartenenti agli stessi pazienti ed hanno fornito informazioni riguardanti le associazioni tra le alterazioni genetiche e il processo di trasformazione. Gli eventi genetici più ricorrenti associati alla trasformazione sono la attivazione del proto-oncogene MYC, successiva a traslocazioni, amplificazioni o mutazioni,[99-102] la inattivazione di *CDKN2A* tramite delezioni [103] e la inattivazione di *TP53* tramite delezioni o mutazioni (Figura 2) [100,104,105]. Globalmente, queste osservazioni suggeriscono che non esiste un evento genetico comune coinvolto nel processo di trasformazione, ma che l'evoluzione in un linfoma aggressivo coinvolge la deregolazione di una serie di programmi cellulari, tra cui proliferazione, ciclo cellulare e riparo del DNA [57,58].
Alla trasformazione è anche stata attribuita la proprietà di portare modifiche nel microambiente, distorcendo l'intricata trama delle CFD,[60] aumentando il numero delle cellule T CD4+, causando una localizzazione follicolare dei Tregs FOXP3+,[65] ed un aumento della densità di microvasi [85].

Conclusioni

LF è una malattia caratterizzata dalla presenza di cellule con un genoma/epigenoma tumorale frammiste a cellule non neoplastiche infiltranti il tumore. La maggior parte delle recenti scoperte è derivata dall'applicazione di pannelli genomici e dalla tecnologia *next-generation sequencing*, che hanno dimostrato come i LF siano

***Figura 2** – Ipotesi patogenetica del LTF. I linfociti B caratterizzati dalla traslocazione di BCL2 e da mutazioni di MLL2, una volta giunti nel centro germinativo, possono dare origine al linfoma follicolare classico, oppure, dopo avere accumulato ulteriori alterazioni genetiche, comprese la perdita di CDKN2A, perdita di TP53 e la deregolazione di MYC, assumere un fenotipo maggiormente aggressivo simile a quello dei DLBCL.*

caratterizzati, oltre che dalla traslocazione t(14;18), da altre alterazioni genetiche ricorrenti, tra cui la deregolazione mutazionale di *MLL2* presente in più del 70% dei casi di LF. La cellula di origine in cui queste lesioni genetiche insorgono e la sequenza temporale con cui vengono acquisite sono attualmente sconosciute. La loro identificazione aiuterà a far luce sugli eventi che guidano la trasformazione di un linfocita B normale in LF.

La progressiva acquisizione di conoscenze relative alla biologia del LF sta attualmente guidando i nuovi approcci terapeutici basati sull'identificazione di bersagli molecolari. Alcuni esempi includono le molecole inibitrici che prevengono l'attivazione del BCR bloccando il segnale a valle della proteina kinasi PI3K o composti capaci di indurre apoptosi nelle cellule del LF contrastando l'overespressione di BCL2 (es. venetoclax) [106].

Grazie alle nostre conoscenze sempre maggiori dell'intricata relazione tra tumore e sottogruppi di cellule immunitarie associate a LF sono in via di sviluppo nuovi approcci di trattamento basati su agenti bloccanti il *signaling* pro-tumorale garantito dal microambiente, compresa l'inibizione delle cellule T mediata da CTLA4 dei Tregs [107].

Bibliografia

1. Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. J Clin Invest 2012;122(10):3424-3431.
2. Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. Ann Oncol. 1998;9(7):717–720.
3. Fisher RI, LeBlanc M, Press OW, Maloney DG, Unger JM, Miller TP. New treatment options have changed the survival of patients with follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2005;23(33):84478452.
4. Al-Tourah AJ, Gill KK, Chhanabhai M, Hoskins PJ, Klasa RJ, Savage KJ, et al. Population-based analysis of incidence and outcome of transformed non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(32):5165–5169.
5. Bastion Y, Sebban C, Berger F, Felman P, Salles G, Dumontet C, et al. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. J Clin Oncol. 1997;15(4):1587–1594.
6. Montoto S, Davies AJ, Matthews J, Calaminici M, Norton AJ, Amess J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol. 2007;25(17):2426–2433.
7. Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2011;22(suppl 6):vi59–vi63.
8. Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, Catalano JV, Dmoszynska A, Raposo JC, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(28):4579–4586.
9. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: Results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood. 2005;106(12):3725–3732.
10. Herold M, Haas A, Srock S, Neser S, Al-Ali KH, Neubauer A, et al. Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma: an East German Study Group Hematology and Oncology Study. J Clin Oncol. 2007;25(15):1986–1992.
11. Salles G, Seymour JF, Offner F, López-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. Lancet. 2011;377(9759):42–51.
12. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Vitolo U, Soubeyran P, Tilly H, et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(32):5156–5164.
13. Vidal L, Gafter-Gvili A, Salles G, Dreyling MH, Ghielmini M, Hsu Schmitz SF, et al. Rituximab maintenance for the treatment of patients with follicular lymphoma: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. J Natl Cancer Inst. 2011;103(23):1799–1806.
14. van Oers MH, Van Glabbeke M, Giurgea L, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, et al. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. J Clin Oncol. 2010;28(17):2853–2858.
15. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2008.
16. Salaverria I, Siebert R. Follicular lymphoma grade 3B. Best Pract Res Clin Haematol. 2011;24(2):111–119.
17. Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, Cleary ML. Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. N Engl J Med. 1987;317 (19):1185–1189.
18. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling Nature. 2000;403(6769):503–511.
19. Kuppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. Nat Rev Cancer. 2005;5(4):251–262.
20. Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. Science. 1985;229(4720):1390–1393.
21. Tsai AG, Lu H, Raghavan SC, Muschen M, Hsieh CL, Lieber MR. Human chromosomal translocations at CpG sites and a theoretical basis for their lineage and stage specificity. Cell. 2008;135(6):1130–1142.
22. Roulland S, Faroudi M, Mamessier E, Sungalee S, Salles G, Nadel B. Early steps of follicular lymphoma pathogenesis. Adv Immunol. 2011;111:1-46.
23. Zuckerman NS, McCann KJ, Ottensmeier CH, Barak M, Shahaf G, Edelman H, et al. Ig gene diversification and selection in follicular lymphoma, diffuse large B cell lymphoma and primary central nervous system lymphoma revealed by lineage tree and mutation analyses. Int Immunol. 2010;22(11):875-887.
24. Bahler DW, Levy R. Clonal evolution of a follicular lymphoma: evidence for antigen selection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992;91(15):6770-6774.
25. Coelho V, Krysov S, Ghaemmaghami AM, Emara M, Potter KN, Johnson P, et al. Glycosylation of surface Ig creates a functional bridge between human follicular lymphoma and microenvironmental lectins. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107 (43):18587–18592.
26. Pasqualucci L, Bhagat G, Jankovic M, Compagno M, Smith P, Muramatsu M, et al. AID is required for germinal center-derived lymphomagenesis. Nat Genet. 2008;40(1):108–112.
27. Limpens J, Stad R, Vos C, de Vlaam C, de Jong D, van Ommen GJ, et al. Lymphoma-associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. Blood. 1995;85(9):2528–2536.
28. Dolken G, Illerhaus G, Hirt C, Mertelsmann R. BCL-2/JH rearrangements in circulating B cells of healthy blood donors and patients with nonmalignant diseases. J Clin Oncol. 1996;14(4):1333–1344.

29. Schüler F, Dölken L, Hirt C, Kiefer T, Berg T, Fusch G, et al. Prevalence and frequency of circulating t(14;18)-MBR translocation carrying cells in healthy individuals. Int J Cancer. 2009;124(4):958–963.
30. Hirt C, Dolken G, Janz S, Rabkin CS. Distribution of t(14;18)-positive, putative lymphoma precursor cells among B-cell subsets in healthy individuals. Br J Haematol. 2007;138(3):349–353.
31. Roulland S, Navarro JM, Grenot P, Milili M, Agopian J, Montpellier B, et al. Follicular lymphoma-like B cells in healthy individuals: a novel intermediate step in early lymphomagenesis. J Exp Med. 2006;203(11):2425–2431.
32. Carlotti E, Wrench D, Matthews J, Iqbal S, Davies A, Norton A, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma may occur by divergent evolution from a common progenitor cell or by direct evolution from the follicular lymphoma clone. Blood. 2009;113(15):3553–3557.
33. Weigert O, Kopp N, Lane AA, Yoda A, Dahlberg SE, Neuberg D, et al. Molecular ontogeny of donorderived follicular lymphomas occurring after hematopoietic cell transplantation. Cancer Discovery. 2012;2:47–55.
34. Jegalian AG, Eberle FC, Pack SD, Mirvis M, Raffeld M, Pittaluga S, et al. Follicular lymphoma in situ: clinical implications and comparisons with partial involvement by follicular lymphoma. Blood. 2011;118(11):2976–2984.
35. Cong P, Raffeld M, Teruya-Feldstein J, Sorbara L, Pittaluga S, Jaffe ES. In situ localization of follicular lymphoma: description and analysis by laser capture microdissection. Blood. 2002;99(9):3376–3382.
36. Zinkel S, Gross A, Yang E. BCL2 family in DNA damage and cell cycle control. Cell Death Differ. 2006;13(8):1351–1359.
37. McDonnell TJ, Korsmeyer SJ. Progression from lymphoid hyperplasia to high-grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14;18). Nature. 1991; 349(6306):254–256.
38. Egle A, Harris AW, Bath ML, O'Reilly L, Cory S. VavP-Bcl2 transgenic mice develop follicular lymphoma preceded by germinal center hyperplasia. Blood. 2004;103(6):2276–2283.
39. Schwaenen C, Viardot A, Berger H, Barth TF, Bentink S, Döhner H,, et al. Microarray-based genomic profiling reveals novel genomic aberrations in follicular lymphoma which associate with patient survival and gene expression status. Genes Chromosomes Cancer. 2009;48(1):39–54.
40. Johnson NA, Al-Tourah A, Brown CJ, Connors JM, Gascoyne RD, Horsman DE. Prognostic significance of secondary cytogenetic alterations in follicular lymphomas. Genes Chromosomes Cancer. 2008;47(12):1038–1048.
41. Cheung KJ, Shah SP, Steidl C, Johnson N, Relander T, Telenius A, et al. Genome-wide profiling of follicular lymphoma by array comparative genomic hybridization reveals prognostically significant DNA copy number imbalances. Blood. 2009; 113(1):137–148.
42. Horsman DE, Connors JM, Pantzar T, Gascoyne RD. Analysis of secondary chromosomal alterations in 165 cases of follicular lymphoma with t(14;18). Genes Chromosomes Cancer. 2001;30(4):375–382.
43. Cheung KJ, Johnson NA, Affleck JG, Severson T, Steidl C, Ben-Neriah S, et al. Acquired TNFRSF14 mutations in follicular lymphoma are associated with worse prognosis. Cancer Res. 2010;70(22):9166–9174.
44. Launay E, Pangault C, Bertrand P, Jardin F, Lamy T, Tilly H, et al. High rate of TNFRSF14 gene alterations related to 1p36 region in de novo follicular lymphoma and impact on prognosis. Leukemia. 2012;26(3):559–562.
45. Oricchio E, Nanjangud G, Wolfe AL, Schatz JH, Mavrakis KJ, Jiang M,, et al. The Eph-receptor A7 is a soluble tumor suppressor for follicular lymphoma. Cell. 2011;147(3):554–564.
46. Dawson DW, Hong JS, Shen RR, French SW, Troke JJ, Wu YZ, et al. Global DNA methylation profiling reveals silencing of a secreted form of Epha7 in mouse and human germinal center B-cell lymphomas. Oncogene. 2007;26(29):4243–4252.
47. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. Nature. 2011;476(7360):298–303.
48. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, Ma J, Rossi D, Chiarenza A, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. Nat Genet. 2011;43(9):830–837.
49. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, Auclair D, Chapuy B, Sougnez C, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(10):3879–3884.
50. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, Fabbri G, Grunn A, Trifonov V, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. Nature. 2011;471(7337):189–195.
51. Morin RD, Johnson NA, Severson TM, Mungall AJ, An J, Goya R, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. Nat Genet. 2010;42(2):181–185.
52. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. Nat Rev Cancer. 2011;11(10):726–734.
53. Sneeringer CJ, Scott MP, Kuntz KW, Knutson SK, Pollock RM, Richon VM, et al. Coordinated activities of wildtype plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107(49):20980–20985.
54. Yap DB, Chu J, Berg T, Schapira M, Cheng SW, Moradian A, et al. Somatic mutations at EZH2 Y641 act dominantly through a mechanism of selectively altered PRC2 catalytic activity, to increase H3K27 trimethylation. Blood. 2011;117(8):2451–2459.
55. van Galen JC, Dukers DF, Giroth C, Sewalt RG, Otte AP, Meijer CJ, et al. Distinct expression patterns of polycomb oncoproteins and their binding partners during the germinal center reaction. Eur J Immunol. 2004;34(7):1870–1881.
56. Velichutina I, Shaknovich R, Geng H, Johnson NA, Gascoyne RD, Melnick AM, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing in germinal center B cells contributes to proliferation and lymphomagenesis. Blood. 2010;116(24):5247–5255.
57. Okosun J, Bödör C, Wang J, Araf S, Yang CY, Pan C, et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. Nat Genet. 2014;46(2):176-81.
58. Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, Vasishtha M, Messina M, Holmes AB, et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. Cell Rep. 2014;6(1):130-40.
59. Dave SS, Wright G, Tan B, Rosenwald A, Gascoyne RD, Chan WC,, et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. N Engl J Med. 2004;351(21):2159–2169.
60. Glas AM, Knoops L, Delahaye L, Kersten MJ, Kibbelaar RE, Wessels LA, et al. Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2007;25(4):390–398.
61. Husson H, Carideo EG, Neuberg D, Schultze J, Munoz O, Marks PW, et al. Gene expression profiling of follicular lymphoma and normal germinal center B cells using cDNA arrays. Blood. 2002;99(1):282–289.
62. Glas AM, Kersten MJ, Delahaye LJ, Witteveen AT, Kibbelaar RE, Velds A, et al. Gene expression profiling in follicular lymphoma to assess clinical aggressiveness and to guide the choice of treatment. Blood. 2005;105(1):301–307.
63. Harjunpää A, Taskinen M, Nykter M, Karjalainen-Lindsberg ML, Nyman H, Monni O, et al. Differential gene expression in non-malignant tumour microenvironment is associated with outcome in follicular lymphoma patients treated with rituximab and CHOP. Br J Haematol. 2006;135(1):33–42.
64. Farinha P, Masoudi H, Skinnider BF, Shumansky K, Spinelli JJ, Gill K, et al. Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL). Blood. 2005;106(6):2169–2174.
65. Farinha P, Al-Tourah A, Gill K, Klasa R, Connors JM, Gascoyne RD. The architectural pattern of FOXP3-positive T cells in follicular lymphoma is an independent predictor of survival and histologic transformation. Blood. 2010;115(2):289–295.
66. Wahlin BE, Aggarwal M, Montes-Moreno S, Gonzalez LF, Roncador G, Sanchez-Verde L, et al. A unifying microenvironment model in follicular lymphoma: outcome is predicted by programmed death-1--positive, regulatory, cytotoxic, and helper T cells and macrophages. Clin Cancer Res. 2010;16(2):637–650.
67. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. Blood. 2006;108(9):2957–2964.
68. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Roncador G, Villamor N, Colomo L, Martinez A, et al. High numbers of tumor-infiltrating programmed cell death 1-positive regulatory lymphocytes are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2009;27(9):1470–1476.

69. Alvaro T, Lejeune M, Camacho FI, Salvadó MT, Sánchez L, García JF, et al. The presence of STAT1-positive tumor-associated macrophages and their relation to outcome in patients with follicular lymphoma. Haematologica. 2006;91(12):1605–1632.

70. Alvaro T, Lejeune M, Salvadó MT, Lopez C, Jaén J, Bosch R, et al. Immunohistochemical patterns of reactive microenvironment are associated with clinicobiologic behavior in follicular lymphoma patients. J Clin Oncol. 2006;24(34):5350–5357.

71. Sweetenham JW, Goldman B, LeBlanc ML, Cook JR, Tubbs RR, Press OW, et al. Prognostic value of regulatory T cells, lymphoma-associated macrophages, and MUM-1 expression in follicular lymphoma treated before and after the Introduction of monoclonal antibody therapy: a Southwest Oncology Group Study. Ann Oncol. 2010;21(6):1196–1202.

72. Lee AM, Clear AJ, Calaminici M, Davies AJ, Jordan S, MacDougall F, et al. Number of CD4+ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. J Clin Oncol. 2006;24(31):5052–5059.

73. Taskinen M, Karjalainen-Lindsberg ML, Leppa S. Prognostic influence of tumor-infiltrating mast cells in patients with follicular lymphoma treated with rituximab and CHOP. Blood. 2008;111(9):4664–4667.

74. Taskinen M, Karjalainen-Lindsberg ML, Nyman H, Eerola LM, Leppa S. A high tumor associated macrophage content predicts favorable outcome in follicular lymphoma patients treated with rituximab and cyclophosphamide-doxorubicin-vincristineprednisone. Clin Cancer Res. 2007;13(19):5784–5789.

75. de Jong D, Koster A, Hagenbeek A, Raemaekers J, Veldhuizen D, Heisterkamp S, et al. Impact of the tumor microenvironment on prognosis in follicular lymphoma is dependent on specific treatment protocols. Haematologica. 2009;94(1):70–77.

76. Canioni D, Salles G, Mounier N, Brousse N, Keuppens M, Morchhauser F, et al. High numbers of tumor-associated macrophages have an adverse prognostic value that can be circumvented by rituximab in patients with follicular lymphoma enrolled onto the GELA-GOELAMS FL-2000 trial. J Clin Oncol. 2008;26(3):440–446.

77. Trentin L, Cabrelle A, Facco M, Carollo D, Miorin M, Tosoni A, et al. Homeostatic chemokines drive migration of malignant B cells in patients with non-Hodgkin lymphomas. Blood. 2004;104(2):502–508.

78. Burger JA, Ghia P, Rosenwald A, Caligaris-Cappio F. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. Blood. 2009;114(16):3367–3375.

79. Zhu D, McCarthy H, Ottensmeier CH, Johnson P, Hamblin TJ, Stevenson FK. Acquisition of potential N-glycosylation sites in the immunoglobulin variable region by somatic mutation is a distinctive feature of follicular lymphoma. Blood. 2002;99(7):2562–2568.

80. Pangault C, Amé-Thomas P, Ruminy P, Rossille D, Caron G, Baia M, et al. Follicular lymphoma cell niche: identification of a preeminent IL-4-dependent T(FH)-B cell axis. Leukemia. 2010;24(12):2080–2089.

81. Guilloton F, Caron G, Ménard C, Pangault C, Amé-Thomas P, Dulong J, et al. Mesenchymal stromal cells orchestrate follicular lymphoma cell niche through the CCL2–dependent recruitment and polarization of monocytes. Blood. 2012;119 (11):2556–2567.

82. Amé-Thomas P, Maby-El Hajjami H, Monvoisin C, Jean R, Monnier D, Caulet-Maugendre S, et al. Human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and lymphoid organs support tumor B-cell growth: role of stromal cells in follicular lymphoma pathogenesis. Blood. 2007;109(2):693–702.

83. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. Trends Immunol. 2002;23(11):549–555.

84. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. J Clin Invest. 2012;122(3):787–795.

85. Farinha P, Kyle AH, Minchinton AI, Connors JM, Karsan A, Gascoyne RD. Vascularization predicts overall survival and risk of transformation in follicular lymphoma. Haematologica. 2010;95(12):2157–2160.

86. Clear AJ, Lee AM, Calaminici M, Ramsay AG, Morris KJ, Hallam S, et al. Increased angiogenic sprouting in poor prognosis FL is associated with elevated numbers of CD163+ macrophages within the immediate sprouting microenvironment. Blood. 2010;115(24):5053–5056.

87. Laurent C, Müller S, Do C, Al-Saati T, Allart S, Larocca LM, et al. Distribution, function, and prognostic value of cytotoxic T lymphocytes in follicular lymphoma: a 3-D tissue-imaging study. Blood. 2011;118(20):5371–5379.

88. Ramsay AG, Clear AJ, Kelly G, Fatah R, Matthews J, Macdougall F, et al. Follicular lymphoma cells induce T-cell immunologic synapse dysfunction that can be repaired with lenalidomide: implications for the tumor microenvironment and immunotherapy. Blood. 2009;114(21):4713–4720.

89. Yang ZZ, Grote DM, Ziesmer SC, Niki T, Hirashima M, Novak AJ, et al. IL–12 upregulates TIM–3 expression and induces T cell exhaustion in patients with follicular B cell non–Hodgkin lymphoma. J Clin Invest. 2012;122(4):1271–1282.

90. Yang ZZ, Novak AJ, Stenson MJ, Witzig TE, Ansell SM. Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2006;107(9):3639–3646.

91. Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Attenuation of CD8(+) T-cell function by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Cancer Res. 2006;66(20):10145–10152.

92. Ai WZ, Hou JZ, Zeiser R, Czerwinski D, Negrin RS, Levy R. Follicular lymphoma B cells induce the conversion of conventional CD4+ T cells to T-regulatory cells. Int J Cancer. 2009;124(1):239–244.

93. Oeschger S, Brauninger A, Kuppers R, Hansmann ML. Tumor cell dissemination in follicular lymphoma. Blood. 2002;99(6):2192–2198.

94. Aarts WM, Bende RJ, Vaandrager JW, Kluin PM, Langerak AW, Pals ST, et al. In situ analysis of the variable heavy chain gene of an IgM/IgG-expressing follicular lymphoma: evidence for interfollicular trafficking of tumor cells. Am J Pathol. 2002;160(3):883–891.

95. Ruminy P, Jardin F, Picquenot JM, Parmentier F, Contentin N, Buchonnet G, et al. S(mu) mutation patterns suggest different progression pathways in follicular lymphoma: early direct or late from FL progenitor cells. Blood. 2008;112(5):1951–1959.

96. Irish JM, Myklebust JH, Alizadeh AA, Houot R, Sharman JP, Czerwinski DK, et al. B-cell signaling networks reveal a negative prognostic human lymphoma cell subset that emerges during tumor progression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107 (29):12747–12754.

97. Garvin AJ, Simon RM, Osborne CK, Merrill J, Young RC, Berard CW. An autopsy study of histologic progression in non-Hodgkin's lymphomas. 192 cases from the National Cancer Institute. Cancer. 1983;52(3):393–398.

98. Lossos IS, Gascoyne RD. Transformation of follicular lymphoma. Best Pract Res Clin Haematol. 2011;24(2):147–163.

99. Lossos IS, Alizadeh AA, Diehn M, Warnke R, Thorstenson Y, Oefner PJ, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large-cell lymphoma: alternative patterns with increased or decreased expression of c-myc and its regulated genes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(13):8886–8891.

100. Davies AJ, Rosenwald A, Wright G, Lee A, Last KW, Weisenburger DD, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma proceeds by distinct oncogenic mechanisms. Br J Haematol. 2007;136(2):286–293.

101. Davies AJ, Lee AM, Taylor C, Clear AJ, Goff LK, Iqbal S, et al. A limited role for TP53 mutation in the transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. Leukemia. 2005;19(8):1459–1465.

102. Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O, Ben-Neriah S, Woods R, Steidl C, et al. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. Blood. 2009;114(11):2273–2279.

103. Gentles AJ, Alizadeh AA, Lee SI, Myklebust JH, Shachaf CM, Shahbaba B, et al. A pluripotency signature predicts histologic transformation and influences survival in follicular lymphoma patients. Blood. 2009;114(15):3158–3166.

104. Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, Offit K, Chaganti RS, Dalla-Favera R. p53 mutations are associated with histologic transformation of follicular lymphoma. Blood. 1993;82(8):2289–2295.

105. Fitzgibbon J, Iqbal S, Davies A, O'shea D, Carlotti E, Chaplin T, et al. Genome-wide detection of recurring sites of uniparental disomy in follicular and transformed follicular lymphoma. Leukemia. 2007;21(7):1514–1520.

106. Cheson BD. New agents in follicular lymphoma. Best Pract Res Clin Haematol. 2011;24(2):305–312.

107. Brody J, Kohrt H, Marabelle A, Levy R. Active and passive immunotherapy for lymphoma: proving principles and improving results. J Clin Oncol. 2011;29(14): 1864–1875.

Linfoma linfocitico leucemizzato
(G. Lambertenghi Deliliers: Archivio di Microscopia Elettronica)

Parole Chiave

Linfoma follicolare, biologia, genetica, microambiente

Indirizzi per la corrispondenza

Gianluca Gaidano
Divisione di Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale,
Università degli Studi del Piemonte Orientale Amedeo Avogadro,
Via Solaroli 17, 28100 Novara
Tel (+39) 0321660655
Fax (+39) 0321620421
E-mail: gaidano@med.uniupo.it

Quadri clinici e percorsi diagnostici

Massimiliano Bonifacio[1], Alberto Zamò[2], Giovanni Pizzolo[1]

[1] *Dipartimento di Medicina, Sezione di Ematologia, Università di Verona*
[2] *Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Sezione di Anatomia Patologica, Università di Verona*

Introduzione

Il linfoma follicolare (LF) costituisce il 20-25% dei linfomi non Hodgkin (LNH) ed è il più frequente linfoma a cellule B nei paesi occidentali. La modalità di presentazione e le caratteristiche istopatologiche ne consentono in genere una diagnosi agevole e riproducibile, anche se sono stati identificati alcuni quadri di presentazione più rari. Nella maggior parte dei casi il LF ha andamento indolente; tuttavia, il 10-20% dei pazienti di nuova diagnosi può andare incontro a una rapida evoluzione verso una forma aggressiva, il che rende necessaria una adeguata stratificazione del rischio in tutti i pazienti alla diagnosi. Tradizionalmente, sono stati definiti dei criteri piuttosto omogenei per distinguere, in base ai sintomi, all'estensione della malattia e alla sua massa complessiva *(tumor burden)*, quali pazienti beneficino di un trattamento immediato piuttosto che di una strategia di sola osservazione e monitoraggio (vigile attesa o Watchful Waiting, W&W). A tutt'oggi mancano evidenze aggiornate sui possibili benefici dei nuovi trattamenti immunochemioterapici somministrati fin dall'esordio della malattia *(front-line)* nel migliorare l'outcome nei pazienti con basso *tumor burden*. IL LF continua ad essere considerato, nonostante il suo decorso generalmente indolente, una forma inguaribile.

Epidemiologia

In uno studio epidemiologico recente condotto su una popolazione inglese di 5.796 pazienti con diagnosi di LNH (anni 2004-2012), la frequenza del LF era del 15,9% (923 casi), con un'età mediana alla diagnosi significativamente più bassa negli uomini (63,1 anni) che nelle donne (66,3 anni). Il LF era inoltre l'unico tipo di linfoma con una significativamente maggior prevalenza femminile (M/F ratio 0,95; range 0,90-0,99; p = 0,02) [(1)]. Anche uno studio retrospettivo condotto su una popolazione svedese di 2.641 pazienti con nuova diagnosi di LF tra il 2000 e il 2010 ha evidenziato che gli uomini hanno un'età alla diagnosi inferiore (64 vs 66 anni, rispettivamente). Inoltre, il genere maschile è emerso come fattore prognostico sfavorevole indipendente di sopravvivenza globale, ma solo nei pazienti trattati in anni più recenti: gli Autori hanno infatti suddiviso il periodo di osservazione in tre fasce definite come epoca pre-rituximab (2000-2002), periodo di transizione (2003-2007) ed epoca rituximab (2008-2010). L'impiego crescente del rituximab ha consentito di migliorare la sopravvivenza globale dei pazienti a 10 anni dal 51% al 59%, ma tale beneficio è risultato maggiore nelle donne che negli uomini, in particolare nella fascia di età >60 anni [(2)].Una possibile ragione di questa osservazione è la differente distribuzione farmacocinetica del rituximab tra i generi, dal momento che la clearance del farmaco nelle donne è più lenta e, quindi, l'esposizione è maggiore [(3)]. Per questo motivo è stato ipotizzato che la dose standard di rituximab (375 mg/mq per via endovenosa) possa essere inadeguata negli uomini e nelle donne giovani e che l'impiego di nuovi regimi (1400 mg per via sottocutanea) potrebbe generare dati di efficacia e sopravvivenza diversi.

Modalità di presentazione

La modalità più comune di presentazione del LF è la presenza di uno o più linfonodi superficiali ingranditi, in genere di piccole-medie dimensioni, spesso presenti da molto tempo e non valorizzati dal paziente fino al riscontro occasionale durante una visita medica o un esame radiologico o all'insorgenza di sintomi. Tutte le sedi linfonodali superficiali possono essere coinvolte. I linfonodi del LF di solito non sono dolenti alla palpazione, sono di consistenza elastica e sono mobili sui piani superficiali e profondi. La seconda più comune modalità di presentazione del LF è la presenza di vaghi disturbi addominali, anche in questo caso presenti per molto tempo, legati alla crescita lenta e progressiva di linfonodi addominali, a livello retroperitoneale, mesenterico o iliaco: in questi casi l'identificazione del linfoma è in genere tardiva dato che i linfonodi possono impiegare anni per confluire tra loro e formare voluminosi conglomerati adenopatici definiti come *bulky*. L'interessamento dei linfonodi mediastinici è poco frequente. Il coinvolgimento splenico isolato è altrettanto raro [(4)]. La presenza di

sintomi B è poco frequente (20-25% dei casi) così come uno scaduto performance status alla diagnosi (meno del 5% dei pazienti ha un indice WHO-ECOG pari o superiore a 2) [2].

Il 60-80% dei pazienti alla diagnosi presenta infiltrazione, più o meno estesa, del midollo osseo. Circa il 10% dei LF viene diagnosticato partendo dall'osservazione di una persistente linfocitosi: il LF si può presentare in fase leucemica nel 10-30% dei casi alla diagnosi e l'analisi immunofenotipica del sangue periferico può evidenziare la presenza di cellule B clonali con il caratteristico profilo immunofenotipico in oltre il 50% dei casi alla diagnosi, anche in assenza di una leucemizzazione vera e propria.

Meno comunemente, il LF può esordire con interessamento esclusivo di sedi extranodali. Il LF del tratto gastroenterico è un'entità clinica ben individuata, anche se rappresenta solo l'1-3% dei linfomi gastrointestinali, sede molto più frequentemente interessata da altre varianti istologiche di LNH come il linfoma MALT e il linfoma B diffuso a grandi cellule [5]. Il duodeno è la sede più frequentemente coinvolta (90% dei casi) anche se in pazienti studiati con endoscopia dell'intero tratto digerente sono state dimostrate localizzazioni plurifocali, in particolare al piccolo intestino [6].

Di norma i pazienti sono asintomatici o lamentano vaghi fastidi addominali, e la diagnosi avviene occasionalmente in corso di una EGDS eseguita per altre ragioni: l'aspetto nodulare della mucosa duodenale, con rilievi multipli di dimensioni tra 1 e 2 cm è caratteristico del LF del tratto gastroenterico [7].

Il linfoma cutaneo follicolare rappresenta circa il 50% dei LNH B con interessamento primario della cute (nei restanti casi le varianti istologiche più frequenti sono il linfoma marginale e il linfoma diffuso a grandi cellule) [8]. Si presenta con lesioni eritematose o placche singole o multiple, non confluenti, piane, in genere asintomatiche e localizzate al capo e al tronco, molto più raramente agli arti inferiori (5% dei casi, con decorso più aggressivo). Pur essendo una variante originariamente inclusa nella classificazione WHO, le caratteristiche immunofenotipiche e molecolari (assenza di riarrangiamento BCL2-IGH, assenza di iperespressione di bcl2) e cliniche (decorso assai indolente, prognosi favorevole, interessamento cutaneo in genere limitato e scarsa tendenza alla recidiva) lo rendono un'entità distinta rispetto al LF nodale [9]. L'iperespressione di BCL2 nelle biopsie cutanee di un LF a localizzazione apparentemente primitiva è predittiva dell'interessamento sistemico fin dalla diagnosi o comunque della diffusione extracutanea nel corso del follow-up [10].

La localizzazione testicolare è stata descritta in un numero limitato di casi nei bambini [11] e negli adulti [12]: anche in questo caso si tratta di neoplasie a localizzazione extranodale primitiva limitata (stadio IE) e decorso favorevole. Dal punto di vista istopatologico la maggior parte dei casi descritti ha caratteristiche aggressive (grado 3) e, analogamente alle altre forme di LF extranodale primitivo, manca del riarrangiamento di BCL2. Negli ultimi anni è stata infine descritta la presenza di LF in situ, caratterizzati dalla presenza di uno o pochi follicoli esprimenti BCL2 con alta intensità nel contesto di un linfonodo altrimenti istologicamente normale. L'espressione di BCL2, unita al monomorfismo e al basso indice proliferativo, ne consentono la distinzione rispetto ai follicoli reattivi; al tempo stesso le cellule sono positive per CD10 e BCL6 ma l'architettura linfonodale è conservata e gli elementi neoplastici sono assenti nelle regioni interfollicolari, consentendone la distinzione rispetto al LF classico [13]. Nella maggior parte dei casi, trattandosi di linfonodi di modeste dimensioni, la diagnosi istopatologica è occasionale, ad esempio perché i linfonodi vengono individuati ecograficamente nell'ambito di un programma di *screening* mammario o per stadiazione di altre neoplasie. In una casistica di 34 pazienti con diagnosi incidentale di LF in situ, ad un follow-up mediano di 41 mesi si è registrato un singolo caso di evoluzione in LF classico [14]. Sono stati segnalati dei casi di forme composite di LF in situ associato a una diversa forma linfoproliferativa (ad esempio linfoma linfocitico o linfomi della zona marginale).

Quadri istopatologici e genetica molecolare

La diagnosi di LF richiede sempre l'esame istologico di un tessuto coinvolto dalla malattia. In presenza di adenopatie superficiali è sempre preferibile procedere con la biopsia escissionale di un linfonodo: l'esame citologico con agoaspirato in questi casi è inutile e inconclusivo. La biopsia osteomidollare può consentire una diagnosi di compatibilità/probabilità, quando non sia possibile ottenere una biopsia linfonodale, grazie alla tipologia dell'infiltrato linfomatoso e alla presenza di caratteristici marcatori immunoistologici e genetico-molecolari come il riarrangiamento cromosomico t(14;18) associato alla iperespressione della molecola antiapoptotica BCL2 (Figura 1). Tale lesione è presente nell'80-90% dei casi di LF ed è classicamente ritenuta di primaria rilevanza patogenetica.

Nella maggior parte dei casi la diagnosi istopatologica di LF si basa sui criteri morfologici e immunoistologici: in alcuni casi tuttavia la distinzione del LF rispetto ad altri LNH a presentazione nodale come il linfoma B a cellule del mantello e il linfoma della zona marginale può risultare difficile. Le anomalie più comuni del follicolo neoplastico comprendono la diminuzione di eterogeneità morfologica (monomorfismo), la netta diminuzione dei macrofagi centrofollicolari (con perdita dell'aspetto *starry-sky* che caratterizza il centro germinativo reattivo), la riduzione o completa scomparsa delle aree mantellari, la perdita di polarizzazione e la riduzione dell'attività mitotica (e conseguentemente dell'indice proliferativo valutabile tramite immunocolorazione con Ki-67) (Figura 2).

Il profilo immunofenotipico classico dei linfociti neoplastici del

LF comprende i marcatori di linea B (CD19, CD20, CD79a) e, nella maggioranza dei casi, il CD10 , BCL6, LMO2 e l'iperespressione di BCL2; normalmente sono negativi per CD5, CD23 e ciclina D1, così come per tutti i marcatori di lineage T. I caratteri morfologici e immunofenotipici guidano anche la distinzione tra quadri di LF e di iperplasia follicolare reattiva: in quest'ultimo caso la popolazione CD10+ esprime tale antigene con minore intensità rispetto al LF (anche se alcuni LF hanno un'espressione eterogenea o ridotta di CD10), e non è dimostrabile l'iperespressione di BCL2 nei centri germinativi. La diagnosi differenziale si può anche giovare della dimostrazione della clonalità plasmacellulare: le plasmacellule sono infatti politipiche nei casi di iperplasia follicolare reattiva e monotipiche, kappa o lambda, nei casi di LF con differenziazione plasmacellulare intrafollicolare, che però rappresentano una piccola minoranza dei casi.

La valutazione citologica quantitativa delle componenti centroblastica/centrocitica consente la definizione di 3 gradi: il grado 1 comprende 0-5 centroblasti (CB) per campo a forte ingrandimento (CFI, inteso come campo di 0,159 mm^2), espresso come media di una conta che comprenda almeno 10 follicoli neoplastici; il grado 2 comprende 6-15 CB x CFI, il grado 3 oltre 15 CB x CFI (Figura 3). Vi è una scarsa riproducibilità interlaboratorio della differenza tra grado 1 e 2, e la maggior parte degli autori ritiene che non vi siano differenze prognostiche clinicamente rilevanti tra questi due gruppi.[15] La classificazione attualmente in uso distingue inoltre un grado 3A (con presenza di una quota residua di centrociti) e un grado 3B (assenza di centrociti).

Figura 1 – Espressione del marcatore BCL2 nei follicoli neoplastici di LF.

Figura 2 – A) Aspetto istologico del LF: si evidenzia una alterazione della struttura del linfonodo, che comprende un infiltrato linfoide a carattere nodulare, composto da follicoli incrementati per numero, in posizione anomala, fittamente stipati, di aspetto monotono, con perdite del mantello e senza macrofagi con corpi tingibili. B) Confronto tra l'espressione di Ki67 in un follicolo iperplastico (sopra) e un follicolo neoplastico di LF (sotto).

Figura 3 – A) LF, grado 1: in questo campo si notano numerosissimi centrociti e solo rari centroblasti (uno indicato dalla freccia). B) LF, grado 3A: in questo campo si notano numerosissimi centroblasti e solo rari centrociti.

Quest'ultima condizione presenta caratteristiche genetico-molecolari (ad esempio bassa frequenza della t(14;18) e presenza di mutazioni a carico di 3q27/BCL6)[16-17] e andamento clinico simili a quello dei linfomi aggressivi e come tale viene normalmente trattata. Per definizione, nei preparati istologici classificati come grado 3A o 3B devono essere assenti aree diffuse, che orienterebbero per una diagnosi di linfoma B a grandi cellule (associato o meno ad una componente di LF). Considerate queste restrittive caratteristiche, il LF 3B è un'entità rara, e in una prossima revisione della classificazione WHO è prevedibile la sua inclusione nell'ambito dei linfomi B aggressivi. In un ampio studio retrospettivo con un follow-up mediano di 10 anni nessun paziente classificato come LF 3B e curato in modo appropriato mostrava relapse dopo 5 anni dalla diagnosi, confermando un andamento diverso rispetto a quello recidivante seppure indolente dei LF[18].

Dal punto di vista genetico e molecolare sono state identificate alcune alterazioni ricorrenti nel LF, in alcuni casi con rilevanza prognostica. Ad esempio, le delezioni a carico delle regioni 1p36, 6q21-24, 6q25-26 e 9p21 (CDKN2A/B) sono state associate a un maggior rischio di trasformazione istologica e a una ridotta sopravvivenza [19,20] e mutazioni a carico di geni coinvolti in fenomeni epigenetici (tra cui EZH2, MLL, CREBBP e EP300) sono individuabili in una percentuale di casi variabile nei diversi studi dal 10 al 90% dei LF [21,22].

Gli studi sul ruolo del microambiente hanno dato risultati contrastanti tra loro e, al momento, questi dati non possono essere generati in maniera riproducibile dalla maggior parte dei laboratori e pertanto non sono utili ai fini classificativi o prognostici [23].

A livello osteomidollare il pattern più comune di interessamento del LF è l'infiltrazione focale paratrabecolare [24] da parte di elementi linfoidi di piccola taglia a fenotipo B, esprimenti invariabilmente l'antigene CD20 e meno frequentemente rispetto alla controparte linfonodale l'antigene CD10 (Figura 4). La trama reticolare può essere focalmente addensata in corrispondenza degli aggregati linfoidi. Un pattern di presentazione puramente follicolare (analogo a quello individuato a livello linfonodale) è stato descritto nel 10% circa dei casi [25] e di ciò occorre tener conto perché tradizionalmente la presenza di aggregati linfoidi interstiziali, in assenza del più caratteristico coinvolgimento paratrabecolare, è considerato indice di benignità [26]. L'esame istologico osteomidollare deve essere integrato con l'analisi immunofenotipica e con l'indagine molecolare per la determinazione del riarrangiamento bcl-2 sulle cellule del sangue midollare. All'immunofenotipo le cellule del LF sono positive per gli antigeni di lineage B (CD19, CD20, CD22, CD79a): l'antigene CD20 è espresso in maniera particolarmente brillante, in accordo con il fatto che le cellule del centro germinativo da cui il LF deriva esprimono tale antigene con intensità maggiore rispetto alle cellule B delle altre aree del linfonodo [27].

Figura 4 – Biopsia osteomidollare di un paziente con LF: la colorazione con CD20 mostra la caratteristica disposizione paratrabecolare dell'infiltrato neoplastico.

L'espressione delle immunoglobuline di superficie è in genere intensa, con prevalenza degli isotipi IgM e/o IgD, meno frequentemente IgG e IgA. La positività per CD10, benché non universale, è molto utile per guidare la diagnosi verso il LF, mentre la negatività per CD5 e CD43 consente la distinzione rispetto alla leucemia linfatica cronica/linfoma linfocitico e al linfoma a cellule del mantello, rispettivamente. Contrariamente alle cellule della *hairy cell leukemia*, quelle del LF sono generalmente positive per CD11a e negative per CD11c. Generalmente sono assenti anche i marcatori CD23 e CD30, anche se sono stati osservati casi esprimenti tali antigeni [28]. Le caratteristiche immunofenotipiche degli infiltrati midollari di LF sono analoghe a quelle dei linfociti neoplastici circolanti nel sangue periferico nei casi leucemizzati: in questo caso si possono osservare al microscopio linfociti di piccole dimensioni caratterizzati da incisure nucleari, ma talora coesistono elementi di piccole e grandi dimensioni.

Indagini di stadiazione

L'inquadramento iniziale del paziente con diagnosi di LF deve comprendere un accurato esame obiettivo che consenta di valutare il numero e le dimensioni delle adenopatie sia nelle sedi superficiali più comuni (cervicali, sovraclaveari, ascellari, inguinali) che in quelle meno frequentemente interessate (epitrocleari, poplitee); inoltre va documentata la presenza di epatomegalia o splenomegalia palpabile. È obbligatoria l'esecuzione di esami ematochimici comprendenti emocromo, chimica clinica (incluso il dosaggio di LDH, beta2microglobulina, dosaggio delle immunoglobuline sieriche e ricerca di componenti monoclonali sieriche) e sierologia virologica per HBV, HCV e HIV.

Una TAC collo-torace-addome-pelvi con mezzo di contrasto (o una RM nei pazienti con intolleranza/controindicazione all'impiego del mezzo di contrasto) è indispensabile in tutti i pazienti. Sulla base della sede di insorgenza e dei sintomi di presentazione possono essere utili anche la TAC/RM cerebrale, lo studio radiologico e/o endoscopico del tratto gastroenterico e l'esame citologico e chimico-fisico del liquido cefalo-rachidiano.

L'esecuzione della FDG-PET è oggi un'indagine raccomandata alla diagnosi - anche se non obbligatoria - in tutti i pazienti con linfomi nodali captanti il FDG (ossia tutte le istologie ad eccezione del linfoma linfocitico, del linfoma linfoplasmocitico e dei linfomi della zona marginale) [29]. La FDG-PET risulta più efficiente rispetto alla TAC nell'individuare soprattutto le localizzazioni extralinfonodali [30] e consente di attribuire uno stadio superiore rispetto alle metodiche radiologiche convenzionali (inclusa la TAC) nel 15-30% dei pazienti [31-33]. Per valutare l'impatto di tale differenza nella gestione terapeutica del paziente, un gruppo australiano ha condotto uno studio prospettico su 74 pazienti con LF per i quali i medici erano chiamati a proporre un piano di trattamento prima di sapere il risultato e dopo aver eseguito la FDG-PET: nel 34% dei pazienti si è registrato un cambiamento del piano di cura proposto [34]. Un'analisi condotta su 142 pazienti arruolati nello studio prospettico randomizzato multicentrico FOLL05 della Fondazione Italiana Linfomi ha dimostrato che la FDG-PET individua un diverso numero di siti nodali ed extranodali rispetto alla TAC nel 43% dei pazienti; in particolare 15 su 24 pazienti classificati in stadio iniziale con la stadiazione convenzionale sono risultati essere in stadio III o IV sulla base della FDG-PET e il 24% dei pazienti era allocato in un diverso gruppo di rischio FLIPI [35].

Una metanalisi dei lavori che hanno impiegato la FDG-PET nella stadiazione dei LF ha stimato che il 19% dei pazienti possa ricadere in uno stadio diverso da quello definito dalla radiologia convenzionale; tuttavia, va ricordata la possibilità di false positività e, in particolare nel caso di lesioni PET-positive inusuali o a distanza dai siti nodali maggioramente interessati, i rilievi PET andrebbero confermati istologicamente prima di prendere decisioni terapeutiche sulla base di essi [33].

La biopsia osteomidollare rappresenta un'indagine di stadiazione obbligatoria in tutti i casi di LF alla diagnosi: non solo consente di precisare il livello di diffusione della malattia, e quindi di definirne lo stadio clinico, ma ha anche implicazioni rilevanti sulla gestione terapeutica e sul monitoraggio della malattia residua dopo trattamento. Informazioni particolarmente utili a questo riguardo sono fornite dallo studio dell'amplificazione tramite PCR della traslocazione bcl-2/IgH e la dimostrazione di riarrangiamento clonale dei geni IgH.

Stratificazione del rischio

Molti pazienti con LF, pur presentando esteso coinvolgimento linfonodale e interessamento osteomidollare, hanno un'aspettativa di vita molto lunga e spesso possono differire di molti anni l'inizio del trattamento. Tale comportamento indolente pur in presenza di uno stadio avanzato secondo il tradizionale sistema classificativo di Ann Arbor rende questo schema poco informativo dal punto di vista prognostico. Anche l'applicazione dell'*International Prognostic Index* (IPI), concepito, validato e impiegato su vasta scala nei linfomi aggressivi, non ha dato risultati del tutto soddisfacenti, vista l'esiguità dei pazienti classificati ad alto rischio con tale schema. L'analisi retrospettiva di oltre 4.000 casi di LF ha consentito di elaborare un modello prognostico specifico, il *Follicular Lymphoma International Prognostic Index* (FLIPI), basato su cinque fattori indipendenti e facilmente determinabili in ogni paziente alla diagnosi: età ≥60 anni, stadio III-IV di Ann Arbor, emoglobina <12g/dl, livelli sierici di LDH aumentati, >4 stazioni nodali coinvolte. I pazienti che presentano 0 o 1 fattore di rischio hanno una probabilità di sopravvivenza a 10 anni del 70% circa, significativamente superiore a quella dei pazienti ad alto rischio (3 o più fattori progno-

stici sfavorevoli) che hanno una sopravvivenza a 10 anni del 35%.[36] Un secondo indice prognostico, denominato FLIPI2, è stato sviluppato in maniera prospettica in pazienti trattati nell'era rituximab: le variabili prognostiche indipendenti individuate in questo score sono l'età ≥60 anni, la presenza di adenopatie >6 cm, livelli elevati di ß2-microglobulina, emoglobina <12 g/dl e la presenza di interessamento midollare [37]. Anche in questo caso la sopravvivenza è significativamente diversa nei pazienti a basso, intermedio e alto rischio (79% vs 51% vs 20% a 5 anni, rispettivamente) (Figura 5). Il FLIPI ha dei punti di forza, in particolare è stato validato anche nell'ambito di studi di coorte [38] e mantiene il proprio valore prognostico anche nei pazienti che rispondono al trattamento con immunochemioterapia: un'analisi prospettica su 362 pazienti con LF avanzato, trattati con rituximab-CHOP, ha dimostrato che il tempo al fallimento della terapia nei pazienti ad alto rischio è significativamente inferiore rispetto ai pazienti a rischio basso e intermedio (TTF a 2 anni del 67% vs 90% e 92% rispettivamente) [39]. Uno dei principali limiti degli score FLIPI e FLIPI2 è che non forniscono informazioni sulla necessità di trattamento: ad esempio, un paziente giovane con stadio I o II dato dalla presenza di localizzazione *bulky* addominale con o senza interessamento di altre sedi linfonodali ha generalmente livelli normali di emoglobina e verrebbe classificato a basso rischio pur essendo chiaramente candidato a iniziare subito il trattamento; al contrario, pazienti anziani con adenopatie disseminate di modeste dimensioni sono classificati ad alto rischio pur potendo in molti casi essere gestiti con un approccio di W&W. Non va dimenticato che le raccomandazioni per la definizione del basso *tumor burden* e, conseguentemente, della non necessità di trattamento sono contenute in lavori non recenti e le evidenze circa l'impiego del rituximab anche nei LF con bassa carica di malattia potrebbero cambiare questo paradigma in futuro. D'altra parte, la maggior parte delle informazioni sul beneficio clinico della chemioimmunoterapia nei LF vengono da studi in pazienti con alto *tumor burden* e le conclusioni derivanti da questi studi possono essere applicate solo ai pazienti con analoga estensione di malattia. Da un punto di vista pratico, l'impiego dei criteri per differire il trattamento [40-42] (Tabella 1) nei pazienti con LF fornisce maggiori indicazioni rispetto a decisioni prese sulla base del rischio FLIPI. Anche questi criteri, tuttavia, non hanno lo stesso peso nel guidare le scelte terapeutiche: ad esempio, la leucemizzazione, considerata dalle linee guida SIE-SIES-GITMO [42], se studiata in modo appropriato è frequentemente presente anche in paziente con basso *tumor burden* che non hanno alcuna necessità di un inizio precoce della terapia. Gli studi biologici sul ruolo del microambiente e dei meccanismi di evoluzione del LF hanno recentemente aperto la via al tentativo di integrare i fattori di rischio clinico con fattori biologici. Analizzando i livelli di citochine alla diagnosi in 209 pazienti con LF è stato

Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI e FLIPI2)

Parametro	Fattore prognostico negativo	
	FLIPI	FLIPI2
Età	≥ 60 anni	≥ 60 anni
Stadio sec. Ann Arbor	III-IV	
Livello di emoglobina	< 12 g/dl	< 12 g/dl
Livello di LDH	superiore alla norma	
N° di stazioni linfonodali	> 4	
Beta2-microglobulina		superiore alla norma
Coinvolgimento midollare		presente
Maggior diametro nodale		> 6 cm

Rischio	FLIPI			FLIPI2	
	N° di fattori avversi	OS a 5 anni	OS a 10 anni	N° di fattori avversi	OS a 5 anni
Basso	0-1	90,6%	70,7%	0	79%
Intermedio	2	77,8%	50,9%	1-2	51%
Alto	3-4-5	52,5%	35,5%	3-4-5	20%

Figura 5 – Confronto tra i sistemi prognostici FLIPI[36] e FLIPI2[37] .

GELF *(GROUP POUR L'ETUDE DE LYMPHOME FOLLICULAIRE)* [40]	
Tutte le seguenti condizioni devono essere soddisfatte:	
- diametro della maggior localizzazione linfonodale < 7 cm	- interessamento di < 3 sedi linfonodali
- assenza di sintomi sistemici	- diametro ecografico della milza < 16 cm
- assenza di versamenti significativi	- assenza di rischio per fenomeni di compressione locale
- assenza di cellule linfomatose circolanti	- assenza di insufficienza midollare (Hb < 10 g/dl, GB < 1,5x10^9/l, piastrine < 100x10^9/l)
BNLI *(BRITISH NATIONAL LYMPHOMA INVESTIGATION)* [41]	
Nessuna delle seguenti condizioni deve essere presente:	
- sintomi B o prurito	- segni di rapida progressione sistemica della malattia
- interessamento d'organo *life-threatening*	- segni di insufficienza midollare (Hb < 10 g/dl, GB < 3,0x10^9/l, piastrine < 100x10^9/l)
- interessamento renale	- lesioni ossee
SIE (SOCIETÀ ITALIANA DI EMATOLOGIA), SIES (SOCIETÀ ITALIANA DI EMATOLOGIA SPERIMENTALE) E GITMO (GRUPPO ITALIANO TRAPIANTO MIDOLLO OSSEO) [42]	
Nessuna delle seguenti condizioni deve essere presente:	
- sintomi sistemici	- estesa diffusione di malattia (> 3 linfonodi con diametro > 3 cm o singolo linfonodo > 7 cm)
- localizzazioni di malattia extranodale	- citopenia conseguente a insufficienza midollare
- interessamento splenico	- leucemizzazione
- versamenti sierosi	- interessamento d'organo sintomatico o con pericolo di vita
- segni di rapida progressione	- elevati livelli di LDH sierica

***Tabella 1** – Criteri per il differimento del trattamento nei pazienti con LF di nuova diagnosi.*

recentemente dimostrato che livelli elevati di IL-2R, IL-1RA, IL-12 e CXCL9 siano predittivi di ridotta EFS sia nei pazienti trattati con chemioimmunoterapia che in quelli sottoposti a osservazione o trattamento con solo rituximab [43]. Al momento queste osservazioni non sono impiegabili nella routine clinica ma potrebbero in futuro essere integrate in uno score prognostico clinico-biologico utile a individuare quali pazienti con basso *tumor burden* hanno un profilo di rischio elevato e quindi sono candidati a iniziare precocemente un trattamento, o quali pazienti hanno maggiori probabilità di avere un comportamente aggressivo e di fallire la chemiommunoterapia standard.

Trasformazione in linfoma ad alto grado di malignità

La trasformazione del LF in linfoma aggressivo è un evento storicamente identificato come parte della storia naturale di questa malattia [44]. La probabilità di trasformazione in studi condotti in epoca pre-rituximab era stimata attorno al 30% a 10 anni dalla diagnosi [45]. Uno studio prospettico osservazionale su oltre 600 pazienti con LF condotto in epoca rituximab ha mostrato che la frequenza di evoluzione è del 2-3% per anno e, ad un follow-up mediano di 5 anni, la trasformazione era riportata nell'11% dei pazienti [46]. Per quanto i dati degli studi condotti in diverse epoche non siano direttamente confrontabili, è stato suggerito che l'impiego del rituximab non mitighi il rischio di trasformazione istologica, che sembra avvenire a un rate relativamente costante nei primi anni dalla diagnosi, raggiungendo un plateau dopo 10-15 anni, e sembra più legato a intrinseche caratteristiche genomiche ed epigenetiche che non al tipo di trattamento instaurato [47,48].

Nello studio randomizzato tra terapia con rituximab front-line e osservazione il rischio di evoluzione e il tempo alla trasformazione non sono risultati diversi nei bracci sperimentali anche se il follow-up mediano finora pubblicato è di soli 4 anni [49].

Il gold standard per la definizione della trasformazione istologica è l'esecuzione di una biopsia nei siti nodali o extranodali sospetti, tuttavia studi che hanno usato criteri esclusivamente clinici (rapida crescita nodale, aumento della LDH, declino del performance status, comparsa di sintomi sistemici) hanno identificato outcome di risposta e di sopravvivenza molto simili a quelli dei pazienti inseriti in studi in cui la trasformazione era stata documentata istologicamente [46]. La FDG-PET può rappresentare un utile strumento per predire la trasformazione dal momento che SUV superiori a 10 e superiori a 13 sono indicativi di trasformazione con una specificità rispettivamente dell'80% e di oltre il 90% [50]. In uno studio su 38 pazienti con sospetto clinico di trasformazione, questa era stata identificata istologicamente nel 45% dei casi; tra i pazienti con SUV^{max} > 17 il potere predittivo positivo della FDG-PET era del 100% mentre nessun paziente con SUV^{max} < 11 aveva una trasformazione istologicamente documentata [51]. Pertanto, per lo meno in determinate circostanze (pazienti con rapido deterioramento delle condizioni generali e necessità di immediato trattamento, o siti particolarmente difficili da sottoporre a biopsia), una FDG-PET

documentante lesioni ad alta captazione del tracciante può essere considerata un valido surrogato per identificare una trasformazione.

Conclusioni

Il quadro tipico di presentazione del LF (linfoadenopatia diffusa superficiale e/o profonda di piccole dimensioni, con possibile formazione di masse *bulky* per confluenza di più linfonodi, in assenza di sintomi) consente in genere di porre il sopetto diagnostico con relativa facilità. La diagnosi richiede un corretto inquadramento anatomo-patologico che si deve sempre basare sia sui caratteri morfologici che su quelli immunoistologici. La biopsia linfonodale è il gold standard per la diagnosi di LF ma in casi selezionati, e grazie alla disponibilità di marcatori citogenetici e molecolari, la diagnosi può essere fatta anche sulla base della biopsia osteomidollare e/o dell'esame morfologico e immunofenotipico dei linfociti neoplastici circolanti nel sangue periferico. La stadiazione alla diagnosi consente la stratificazione dei pazienti in gruppi prognostici a sopravvivenza significativamente diversa e permette di identificare la presenza o assenza di criteri che giustifichino l'inizio immediato del trattamento. Anche nell'era degli anticorpi monoclonali, una politica di W&W è giustificata nei pazienti con basso *tumor burden* data la natura indolente e non curabile del LF. L'impiego di tutte le tecniche diagnostiche e stadiative oggi a disposizione, inclusa la FDG-PET, è tuttavia indispensabile per classificare correttamente l'estensione di malattia e, in particolare, per identificare precocemente le sedi di malattia sospette per trasformazione istologica.

Bibliografia

1. Smith A, Crouch S, Lax S, Li J, Painter D, Howell D et al. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004-2014: sub-type analyses from the UK's haematological Malignancy Research network. Br J Cancer 2015;112(9):1575-1584.
2. Junlen HR, Peterson S, Kimby E, Lockmer S, Lindén O, Nilsson-Ehle H, et al. Follicular lymphoma in Sweden: nationwide improved survival in the rituximab era, particularly in elderly women: a Swedish Lymphoma Registry Study. Leukemia 2015;29(3):668-676.
3. Muller C, Murawski N, Wiesen MH, Held G, Poeschel V, Zeynalova S et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. Blood 2012;119(14):3276–3284.
4. Goodlad JR, MacPherson S, Jackson R, Batstone P, and White J. Extranodal follicular lymphoma: a clinicopathological and genetic analysis of 15 cases arising at non-cutaneous extranodal sites. Histopathology. 2004;44(3):268-276.
5. Lewis RB, Mehrotra AK, Rodriguez P, Manning MA, and Levine MS. From the radiologic pathology archives: gastrointestinal lymphoma: radiologic and pathologic findings. Radiographics 2014;34(7):1934-1953.
6. Shia J, Teruya-Feldstein J, Pan D, Hegde A, Klimstra D, Chaganti RSK, et al. Primary follicular lymphoma of the gastrointestinal tract: a clinical and pathologic study of 26 cases. Am J Surg Pathol. 2002;26(2):216–224.
7. Schmatz A, Streubel B, Kretschmer-Chott E, Puspok A, Jager U, Mannhalter C, et al. Primary follicular lymphoma of the duodenum is a distinct mucosal/submucosal variant of follicular lymphoma: a retrospective study of 63 cases. J Clin Oncol. 2011;29(11):1445–1451.
8. Suárez AL, Pulitzer M, Horwitz S, Moskowitz A, Querfeld C, and Myskowski PL. Primary cutaneous B-cell lymphomas, part I: clinical features, diagnosis, and classification. J Am Acad Dermatol. 2013;69(3):329.
9. Kim BK, Surti U, Pandya A, Cohen J, Rabkin MS, and Swerdlow SH. Clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular cytogenetic fluorescence in situ hybridization analysis of primary and secondary cutaneous follicular lymphomas. Am J Surg Pathol. 2005;29(1):69-82.
10. Pham-Ledard A, Cowppli-Bony A, Doussau A, Prochazkova-Carlotti M, Laharanne E, Jouary T, et al. Diagnostic and prognostic value of BCL2 rearrangement in 53 patients with follicular lymphoma presenting as primary skin lesions. Am J Clin Pathol 2015;143(3):362-373.
11. Pileri S, Sabattini E, Rosito P, Zinzani PL, Ascani S, Fraternali-Orcioni G, et al. Primary follicular lymphoma of the testis in childhood: an entity with peculiar clinical and molecular characteristics. J Clin Pathol. 2002;55(9):684-688.
12. Bacon CM, Ye H, Diss TC, McNamara C, Kueck B, Hasserjian RP, et al. Primary follicular lymphoma of the testis and epididymis in adults. Am J Surg Pathol. 2007;31(7):1050-1058.
13. Cong P, Raffeld M, Teruya-Feldstein J, Sorbara L, Pittaluga S, and Jaffe ES. In situ localization of follicular lymphoma: description and analysis by laser capture microdissection. Blood. 2002;99(9):3376-3382.
14. Jegalian AG, Eberle FC, Pack SD, Mirvis M, Raffeld M, Pittaluga S, et al. Follicular lymphoma in situ: clinical implications and comparisons with partial involvement by follicular lymphoma, Blood, 2011;118(11):2976–2984.
15. Smith MS. Dissecting follicular lymphoma: high versus low risk. Hematology Am Soc Hematol Edu Program 2013;2013:561-567.
16. Bosga-Bouwer AG, van Imhoff GW, Boonstra R, van der Veen A, Haralambieva E, van den Berg A, et al. Folllicular lymphoma grade 3B includes 3 cytogenetically defined subgroups with primary t(14;18), 3q27, or other translocations: t(14;18) and 3q27 are mutually exclusive. Blood 2003;101(3):1149-1154.
17. Katzenberger T, Ott G, Klein T, Kalla J, Müller-Hermelink HK, and Ott MM. Cytogenetic alterations affecting BCL6 are predominantly found in follicular lymphomas grade 3B with a diffuse large B-cell component. Am J Pathol 2004;165(2):481-90.
18. Wahlin BE, Yri OE, Kimbt E, Holte H, Delabie J, Smeland EB, et al. Clinical significance of the WHO grades of follicular lymphoma in a population-based cohort of 505 patients with long follow-up times. Br J Hematol 2012;156(2):225-233.
19. Viardot A, Möller P, Högel J, Werner K, Mechtersheimer G, Ho AD, et al. Clinicopathologic correlations of genomic gains and losses in follicular lymphoma. J Clin Oncol 2002;20(23):4523-4530.
20. Schwaenen C, Viardot A, Berger H, Barth TF, Bentink S, Döhner H, et al. Microarray-based genomic profiling reveals novel genomic aberrations in follicular lymphoma which associate with patient survival and gene expression status. Genes Chromosomes Cancer 2009;48(1):39-54.
21. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, Fabbri G, Grunn A, Trifonov V, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma Nature 2011;471(7337):189-195.
22. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. Nature 2011;476(7360):298-303.
23. Sander B, de Jong D, Rosenwald A, Xie W, Balagué O, Calaminici M, et al. The reliability of immunohistochemical analysis of the tumor microenvironment in follicular lymphoma: a validation study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. Haematologica 2014;99(4):715-725.
24. Brunning RD, McKenna RW. Bone marrow lymphomas. In: Brunning RD, McKenna RW, eds. Tumors of the Bone Marrow. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1994:369-408. Atlas of Tumor Pathology; Third Series, Fascicle 9.
25. Torlakovic E, Torlakovic G, and Brunning RD. Follicular pattern of bone marrow involvement by follicular lymphoma. Am J Clin Pathol 2002;118(5):780-786.
26. Rosenthal NS, and Farhi DC. Bone marrow findings in connective tissue disease. Am J Clin Pathol. 1989;92(5):650-654.

27. Cornfield D, Mitchell DM, Almasri NM, Anderson JB, Ahrens KP, Dooley EO, et al., Follicular lymphoma can be distinguished from benign follicular hyperplasia by flow cytometry using simultaneous staining of cytoplasmic bcl-2 and cell surface CD20. Am J Clin Pathol 2000;114(2):258-263.

28. Gardner LJ, Polski JM, Evans HL, Perkins SL, and Dunphy CH. CD30 expression in follicular lymphoma. Arch Pathol Lab Med 2001;125(8):1036-1041.

29. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Mueller SP, et al. 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;32(27):3048-3058.

30. Moog F, Bangerter M, Diederichs CG, Guhlmann A, Merkle E, Frickhofen N, et al. Extranodal malignant lymphoma: detection with FDG PET versus CT. Radiology 1998;206(2):475–481.

31. Jerusalem G, Beguin Y, Najjar F, Hustinx R, Fassotte MF, Rigo P, et al. Positron emission tomography (PET) with 18F-fluorodeoxyglucose (18F-FDG) for the staging of low-grade non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Ann Oncol 2001;12(6):825–830.

32. Wirth A, Foo M, Seymour JF, Macmanus MP, and Hicks RJ. Impact of [18f] fluorodeoxyglucose positron emission tomography on staging and management of early-stage follicular non-Hodgkin lymphoma. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008; 71(1):213-219.

33. Smith SD, Redman M, and Dunleavy K. FDG PET-CT in follicular lymphoma: a case-based evidence review. Blood 2015;125(7):1078-1082.

34. Scott AM, Gunawardana DH, Wong J, Kirkwood I, Hicks RJ, Ho Shon I, et al. Positron emission tomography changes management, improves prognostic stratification and is superior to gallium scintigraphy in patients with low-grade lymphoma: results of a multicentre 35. prospective study. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009;36(3):347-353.

35. Luminari S, Biasoli I, Arcaini L, Versari A, Rusconi C, Merli F, et al. The use of FDG-PET in the initial staging of 142 patients with follicular lymphoma: a retrospective study from the FOLL05 randomized trial of the Fondazione Italiana Linfomi. Ann Oncol. 2013;24(8):2108-2112.

36. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. Blood 2004;104(5):1258-1265.

37. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, Luminari S, Lopez-Guillermo A, Vitolo U, et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. J Clin Oncol 2009;27(27):4555-4562.

38. Nooka AK, Nabhan C, Zhou X, Taylor MD, Byrtek M, Millter TP, et al. Examination of the follicular lymphoma international prognostic index (FLIPI) in the National LymphoCare study (NLCS): a prospective US patient cohort treated predominantly in community practices. Ann Oncol 2013;24(2):441-448.

39. Buske C, Hoster E, Dreyling M, Hasford J, Unterhalt M, and Hiddemann W. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome. Blood 2006;108(5):1504-1508.

40. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haïoun C, Moreau P, et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol 1997;15(3):1110-1117.

41. Ardeshna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, MacLennan KA, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. Lancet 2003;362(9383):516-522.

42. Zinzani PL, Marchetti M, Billio A, Barosi G, Carella AM, Lazzarino M, et al. SIE, SIES, GITMO revised guidelines for the management of follicular lymphoma. Am J Hematol 2013;88(3):185-192.

43. Mir MA, Maurer MJ, Ziesmer SC, Slager SL, Habermann T, Macon WR, et al. Elevated serum levels of IL-2R, IL-1RA, and CXCL9 are associated with a poor prognosis in follicular lymhpoma. Blood 2015;125(6):992-998.

44. Cullen MH, Lister TA, Brearley RI, Shand WS, and Stansfeld AG. Histological transformation of non-Hodgkin's lymphoma: a prospective study. Cancer 1979;44(2):645-651.

45. Montoto S, Davies AJ, Matthews J, Calaminici M, Norton AJ, Amess J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol. 2007;25(17):2426-2433.

46. Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS, Ansell SM, Macon WR, Syrbu SI, et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. J Clin Oncol. 2013;31(26):3272-3278.

47. Wagner-Johnston ND, Link BK, Taylor M, and Bartlett NL. Risk factors for early transformation of follicular lymphoma (FL): report from the National LymphoCare Study (NLCS) Blood (ASH annual meeting abstracts) 2009;144:abstract 2698.

48. Conconi A, Ponzio C, Lobetti-Bodoni C, Motta M , Rancoita PM, Stathis A, et al. Incidence, risk factors and outcome of histological transformation in follicular lymphoma. Br J Haematol. 2012;157(2):188-196.

49. Ardeshna KM, Qian W, Smith P, Braganca N, Lowry L, Patrick P, et al. Rituximab versus a watch-and-wait approach in patients with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma: an open-label randomised phase 3 trial. Lancet Oncol. 2014;15(4):424-435.

50. Schoder H, Noy A, Gonen M, Weng L, Greend D, Erdi YE, et al. Intensity of 18fluordeoxyglucose uptake in positron emission tomography distinguishes between indolent and aggressive non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2005;23(21):4643-4651.

51. Bodet-Milin C, Kraeber F, Moreau P, Campion L, Dupas B, and Le Gouill S. Investigation of FDG-PET/CT imaging to guide biopsies in the detection of histological transformation of indolent lymphoma. Haematologica. 2008;93(3):471-472.

Parole Chiave

Stadiazione, prognosi, immunoistologia, trasformazione
watchful waiting

Indirizzi per la corrispondenza

Giovanni Pizzolo
Dipartimento di Medicina, Sezione di Ematologia
Università di Verona
Tel (+39) 045 8124420
Fax (+39) 045 8027488

Terapie convenzionali

Salvatore Perrone[1], Alice Di Rocco[1], Maurizio Martelli[1]

[1]Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Istituto di Ematologia - Università "Sapienza" Roma

Introduzione

Il linfoma follicolare (LF) rappresenta la forma più frequente di linfoma non Hodgkin (LNH) indolente con una frequenza pari al 20-25% nelle varie casistiche internazionali [1, 2]. Il LF origina dalle cellule B del centro follicolare ed è costituito dalla presenza di cellule di tipo centrocitico e centroblastico con un aspetto istologico nodulare. Il LF è ulteriormente classificato come grado 1-2 e grado 3 sulla base della presenza di centroblasti (rispettivamente 0-15 vs >15 per campo). Il grado 3 è a sua volta classificato in grado 3a o 3b, quest'ultimo è caratterizzato dall'assenza di centrociti [3].

La decisione terapeutica si basa principalmente sulla presentazione clinica (età ed indice prognostico FLIPI/ FLIPI-2) e sul grado istologico. Il LF di grado 3 è considerato una forma più aggressiva e in particolare il grado 3b viene considerato e trattato come un linfoma a grandi cellule B ed è pertanto escluso dalla nostra trattazione. Il LF di grado 1-2 ha un andamento più indolente e la decisione di trattare il paziente dipende principalmente dalla presenza di sintomi, dal *tumor burden*, da eventuali coinvolgimenti d'organo e del midollo osseo. Per questo sono stati proposti dei criteri internazionali per la definizione di *low* o *high tumor burden* del GELF (*Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires*)[4-6] e della SIE (Società Italiana Ematologia) [7] su cui basare la scelta terapeutica (Tabella. 1).

Storicamente il LF viene considerato una malattia inguaribile e caratterizzato da frequenti recidive con intervalli liberi da malattia che tendono ad accorciarsi dopo vari trattamenti. Tuttavia tale andamento è stato drasticamente modificato dall'avvento del nuovo anticorpo monoclonale anti CD20 rituximab e dalla combinazione di questo con la chemioterapia convenzionale [8-10].

Questo capitolo si focalizzerà sul trattamento del LF in era post-rituximab con malattia localizzata stadio I–II, stadio avanzato III-

CRITERI SIE 2012 [7]	CRITERI DEL GELF [4-6]
Pazienti con stadio II-IV Presenza di sintomi sistemici	Alta estensione di malattia: - Diametro > 7 cm - 3 linfonodi in 3 aree distinte con diametro > 3 cm - Splenomegalia sintomatica - Compressione d'organo - Versamento ascitico o pleurico
Alta estensione di malattia (>3 linfonodi Ø> 3 cm o 1 linfonodo Ø> 7 cm)	Presenza di sintomi sistemici
Malattia extranodale	*Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) > 1
Citopenia da infiltrazione midollare	LDH o ß2-microglobulina > del normale
Splenomegalia (=16 cm alla TC)	Citopenie: Leucociti <1x10^9/l e/o Piastrine< 1x10^{11}/l)
Leucemizzazione	Leucemizzazione (>5,0 x 10^9/l)
Versamenti sierosi	
Coinvolgimento d'organo sintomatico, rischio di vita	
Rapida progressione	

***Tabella 1** – Criteri SIE e GELF per la definizione di malattia low e high tumor burden nei LF.*

IV con *low* e *high tumor-burden* e la terapia di consolidamento/mantenimento nei pazienti con *high tumor burden* con malattia in remissione. La terapia del paziente in recidiva o refrattario verrà trattata solo in parte e ripresa nei successivi capitoli relativi al trapianto di cellule staminali e ai nuovi farmaci.

Stadio localizzato I-II

Circa il 15-20% dei pazienti con LF si presentano in stadio localizzato I-II e, in considerazione della loro elevata radiosensibilità, molte linee guida internazionali raccomandano l'impiego della radioterapia ristretta sulle sedi coinvolte dalla malattia [11]. Studi non recenti, soprattutto in epoca pre-rituximab, hanno dimostrato che una radioterapia localizzata permetteva di ottenere una possibilità di cura nel 40-50% dei pazienti [12-15]. Allo stato attuale le dosi e i campi di irradiazione non sono ancora universalmente definiti, comunque un recente studio ha dimostrato come una dose di 24 Gy su campi localizzati possa essere considerata l'approccio terapeutico standard consigliato [16].

Tuttavia un studio del *National Lymphocare* in 471 pazienti con LF stadio I ha dimostrato come l'aderenza a questo standard sia bassa con solo il 30-40% di pazienti effettivamente trattati con sola radioterapia rispetto alla semplice osservazione, all'impiego del rituximab in monoterapia o in combinazione alla chemioterapia [17]. Tutto questo dimostra come nella pratica clinica l'indicazione al solo trattamento radioterapico per i LF a stadio localizzato sia generalmente disattesa e non basata su criteri basati sull'evidenza clinica.

Il paziente con LF eleggibile ad un trattamento radioterapico deve comunque eseguire un'adeguata stadiazione di malattia comprendente una FDG-PET e la biopsia osteomidollare per una precisa definizione di malattia in stadio localizzato. Per quanto riguarda i pazienti con stadio II la radioterapia trova indicazione solo se i campi di irradiazione dei diversi siti linfonodali possono essere compresi in un solo campo di irradiazione. Soprattutto in era post-rituximab altri approcci come la radioterapia seguita da rituximab, l'impiego di rituximab in monochemioterapia o in combinazione con la chemioterapia sono frequentemente impiegati nel tentativo di ottenere una migliore possibilità di cura in queste forme di LF [18, 19]. Per i pazienti con stadio localizzato I-II un approccio *Wait and Watch* (W&W) non è in genere raccomandato, essendo gli altri approcci potenzialmente curativi [12]. La decisione di quando iniziare un trattamento andrebbe presa considerando il singolo paziente, in accordo con le caratteristiche biologiche del LF e del paziente (età, ECOG, comorbidità) ed in accordo con le intenzioni/necessità del paziente.

Pertanto esiste una reale necessità e sarebbe auspicabile trattare i pazienti con LF in stadio localizzato nell'ambito di trial clinici prospettici che possano rispondere a tali quesiti ancora aperti.

Stadio avanzato III-IV con *low tumor burden*

In considerazione dell'andamento indolente del LF e dalla mancanza di trattamenti curativi la strategia di procrastinare il trattamento dei pazienti asintomatici e con *low tumor burden* fino a comparsa di segni di progressione di malattia (W&W) appare un approccio terapeutico razionale. La validità di un approccio di W&W è stata confermata in epoca pre–rituximab in uno studio inglese randomizzato riportato da Ardeshna [20] dove in 151 pazienti del braccio W&W il 19% dei pazienti a 20 anni dalla diagnosi non ha richiesto terapia né sono morti per cause diverse dal linfoma, pur considerando che la maggior parte degli altri pazienti richiedeva un trattamento entro i primi 3-4 anni (Figura 1). Inoltre la dimostrazione che più di tutte favoriva il W&W è che rispetto al braccio convenzionale di controllo (chlorambucil in monochemioterapia) non si dimostrava un miglioramento della overall survival (OS) [20]. Recentemente in era post-rituximab lo stesso Ardeshna [21] ha riportato i risultati di un ampio studio randomizzato dove si ponevano a confronto tre diverse strategie di terapia: W&W, rituximab per 4 dosi settimanali e rituximab per 4 dosi settimanali seguito da 2 anni di mantenimento con rituximab. Sebbene lo studio abbia dimostrato un vantaggio significativo in termini di prolungamento del tempo d'inizio del trattamento successivo in favore dell'impiego precoce del rituximab + mantenimento, nessuna differenza significativa è stata messa in evidenza per la sopravvivenza globale e per il tempo alla trasformazione istologica (Figura 2). Tuttavia i pazienti trattati precocemente con rituximab presentavano un miglioramento della qualità di vita (QoL) soprattutto in termini di riduzione significativa dei livelli di ansia rispetto ai pazienti in W&W. I risultati di questo studio ci impongono comunque delle necessarie domande. La riduzione del livello di ansietà può essere considerato un criterio sufficiente per cambiare il nostro atteggiamento di W&W? Analizzando il gruppo di pazienti arruolati nel W&W è evidente come il 46% dei pazienti non richieda alcun trattamento per i primi tre anni, da questo si deduce che nel gruppo trattato con rituximab circa il 50% dei pazienti è stato trattato troppo precocemente o che ha ricevuto un sovra-trattamento con rituximab. Il trattamento precoce con rituximab potrà ridurre l'efficacia del successivo trattamento combinato chemio-immunoterapico? Infine è veramente necessario ricevere 2 anni di mantenimento con rituximab per ottenere i benefici descritti? I risultati dello studio RESORT [22] riportati dal gruppo ECOG hanno chiaramente dimostrato che non c'è alcuna differenza tra i pazienti con LF che avevano eseguito una breve somministrazione di rituximab (4 cicli settimanali) e ritrattati in caso di progressione rispetto a quelli mantenuti per 2 anni, in termini di *time treatment failure* (TTF) con un ovvio risparmio eco-

Figura 1 – Studio prospettico randomizzato W&W vs chlorambucil nei LF (Ardenshna et al. Lancet 2003) [20]. ***a.*** *Sopravvivenza libera da malattia dei pazienti in W&W.* ***b.*** *Sopravvivenza globale dei pazienti trattati con chlorambucil o osservati.*

Figura 2 – Studio prospettico randomizzato W&W versus rituximab x 4 + R-mantenimento [21] ***a.*** *Progression Free Survival (PFS)* ***b.*** *Overall survival (OS).*

nomico per il farmaco nel caso della prima strategia (4,5 vs 15,8 dosi) (Figura 3). Infine anche nei risultati dello studio prospettico F2 non si è dimostrato alcuno svantaggio in termini di sopravvivenza per i pazienti con LF a *low tumor burden* che inizialmente non hanno ricevuto alcun trattamento [23].

I dati finora riportati enfatizzano l'importanza della comunicazione col paziente per far comprendere allo stesso, in un periodo in cui i media si sono molto concentrati sull'importanza della diagnosi precoce nella cura delle malattie neoplastiche, la scelta dell'astensione terapeutica. D'altra parte, il *feed-back* dal paziente può mettere in allerta il medico su quali pazienti possano sviluppare un effettivo disagio durante il W&W e quindi decidere per l'inizio della terapia. Il messaggio che si dovrebbe trasmettere al paziente è che il W&W rimane un approccio basato su criteri di evidenza clinica e sull'ottimismo di fondo per un futuro in cui si potrà curare il LF in modo più efficace e forse meno tossico. In conclusione, allo stato attuale il W&W rappresenta ancora la strategia di scelta per i pazienti con LF asintomatici con *low tumor burden*.

Figura 3 – Studio prospettico randomizzato (RESORT): LF con low tumor burden: ritrattamento con rituximab versus R-mantenimento [22]
a. *Disegno dello studio* ***b.*** *Treatment failure-free survival (TTF).*

Stadio avanzato III-IV con *high tumor burden*

Per i pazienti sintomatici o con *high tumor burden* che quindi necessitano di un trattamento la combinazione di rituximab + chemioterapia (R-chemioterapia) rappresenta lo standard di cura della terapia di prima linea. Quattro studi prospettici hanno dimostrato un significativo incremento della risposta globale, della *progression free survival* (PFS) e soprattutto della OS nei pazienti trattati con R-chemioterapia rispetto ai pazienti trattati con sola chemioterapia [24-29] (Tabella 2).

Nonostante questo brillante risultato rimane però aperta la domanda di quale sia il miglior schema di chemioterapia da utilizzare in combinazione con rituximab. Nello studio PRIMA, dove il regime di chemioterapia non era randomizzato ma basato sulla pratica clinica del centro, si metteva in evidenza come il regime R-CHOP fosse quello maggiormente impiegato (75% dei pazienti arruolati) nella pratica clinica delle varie istituzioni. Lo studio prospettico randomizzato (FOLL-05) coordinato dalla Fondazione Italiana Linfomi (FIL) ha cercato di rispondere a questa domanda ponendo a confronto tre diversi regimi di prima linea: R-CVP vs R-CHOP vs R-FM. Lo studio condotto in 504 pazienti ha dimostrato una significativa riduzione della percentuale di risposta e della PFS per il regime R-CVP e, a parità di efficacia, una maggiore tossicità di R-FM rispetto a R-CHOP. Pertanto R-CHOP poteva essere candidato come il possibile migliore regime di chemioterapia convenzionale di prima linea [30] (Figura 4).

Recentemente Rummel [31], per il gruppo cooperatore tedesco STIL, ha riportato i risultati definitivi di uno studio randomizzato che poneva a confronto R-CHOP-21 vs la combinazione di bendamustina e rituximab (BR) in un ampio gruppo di pazienti con linfoma indolente trattati in prima linea. Lo studio includeva 513 pazienti totali di cui 279 con LF (R-CHOP=140, BR= 139). Dopo un follow up mediano di 32 mesi la risposta completa (RC) risultava signifi-

Autore, Anno [ref.]	Numero Pazienti	Trattamenti	Follow-up mediano (anni)	Risposte	Sopravvivenza
Bachy et al, 2013 [24] Salles et al, 2008 [25]	358	R-CHVP + IFN (n = 175) *versus* CHVP + IFN (n = 183)	8.3	94% *versus* 85% (p < 0,001)	8 anni: 78.6% *versus* 69.8% (p = 0,076)
Marcus et al, 2005 e 2008 [26,27]	321	R-CVP (n = 159) *versus* CVP (n = 162)	4.4	81% *versus* 57% (p < 0,0001)	4 anni: 83% *versus* 77% (p = 0,029)
Hiddemann et al, 2005 [28]	428	R-CHOP (n = 223) *versus* CHOP (n = 205)	1.5	96% *versus* 90% (p = 0,011)	2 anni: 95% *versus* 90% (p = 0,016)
Herold et al, 2007 [29]	(358) 201	R-MCP (n = 105) *versus* MCP (n =9 6)	4.1 *versus* 3.5	92% *versus* 75% (p = 0,0009)	4 anni: 87% *versus* 74% (p = 0,0096)

Tabella 2 *– Studi prospettici randomizzati di fase III nei LF: chemioterapia vs R-chemioterapia.*

cativamente migliore per il gruppo di pazienti trattati con BR (40,1% vs 30,8% p = 0.03) con un miglioramento significativo della PFS ma non della = OS nel gruppo trattato con BR (Figura 5). Il regime BR risultava inoltre significativamente meno tossico in termini di alopecia, cardiotossicità, neuropatia periferica, infezioni e mucosite. Tuttavia un successivo studio multicentrico di fase III randomizzato (BRIGHT) condotto in USA su 447 pazienti ha ridimensionato i risultati dello studio precedente ponendo a confronto BR (224 pazienti) con R-CVP/R-CHOP (223 pazienti). La scelta di eseguire R-CVP o R-CHOP si basava sulla pratica clinica del centro e sulle caratteristiche del paziente. I risultati di tale studio, basato su criteri di non inferiorità, non ha dimostrato differenze significative nella riposta globale (97% vs 91%) né sulle percentuali di RC (31% vs 25% p = 0,022). Il follow up, ancora troppo breve al momento della pubblicazione dello studio non ha ancora permesso alcuna valutazione della OS e PFS. Per quanto riguarda la tossicità BR veniva associato ad un aumento di reazioni di ipersensibilità, nausea e vomito mentre gli altri regimi hanno dimostrato una maggiore incidenza di neuropatia ed alopecia. I risultati dello studio concludevano che BR non era inferiore allo standard R-CVP/ R-CHOP con un accettabile profilo di tossicità [32]. In base ai risultati di questi due studi si può affermare che BR rappresenta ad oggi una valida alternativa ad R-CHOP nel trattamento di prima linea dei pazienti con LF.

In conclusione possiamo affermare che allo stato attuale i regimi di R-chemioterapia consentono di ottenere una OS pari al 90% e una RC pari al 30-60% dei casi di LF, con una durata della sopravvivenza libera da malattia superiore a 4-5 anni. Pertanto l'impiego

Figura 4 *– Studio FIL-FOLL 05 [30]: progression- free survival (PFS) per tipo di trattamento: R-CHOP vs R-FM vs R-CVP.*

Figura 5 *– Studio StiL LNH 1-2003 [31]: progression free survival (PFS) R-CHOP vs R-bendamustina.*

del rituximab in combinazione con la chemioterapia nel trattamento di prima linea del paziente rappresenta uno dei maggiori successi nel trattamento di questa patologia.

Mantenimento e consolidamento

Nonostante la migliore possibilità di cura ottenuta dalla chemio-immunoterapia nel trattamento di prima linea del LF, la maggior parte dei pazienti con LF in stadio avanzato sono destinati a ripresentare la malattia anche dopo un periodo di alcuni anni. L'obiettivo di una terapia di mantenimento/consolidamento nei LF è:

- quello di prolungare la remissione ottenuta e quindi migliorare la sopravvivenza;
- migliorare la qualità della risposta ottenuta (ottenere una RC da RP);
- eradicare la malattia minima residua (MRD) a livello molecolare.

Per tale motivo nel corso del tempo sono state attuate diverse strategie terapeutiche al fine di prolungare la durata della risposta completa, cercando di consolidare la risposta ottenuta dopo la terapia di prima linea con diversi approcci terapeutici come la radio-immunoterapia, il trapianto di cellule staminali autologhe (ASCT) o con la possibilità di continuare la stessa immunoterapia con rituximab in un regime di mantenimento.

Radioimmunoterapia

La radioimmunoterapia (RIT) si basa sulla radiosensibilità del LF e la possibilità di dirigere il farmaco radioattivo direttamente sulla cellule linfomatose coniugandolo con anticorpi monoclonali anti-CD20. L' ^{90}yttrium–ibritumomab è il farmaco maggiormente impiegato nella terapia dei LF dimostrando una notevole attività sia nel trattamento di prima linea che nel paziente ricaduto/refrattario[33-35]. Pertanto una radio-immunoterapia con ^{90}yttrium-ibritumomab potrebbe essere considerata una valida opzione terapeutica per il consolidamento della prima remissione di malattia ottenuta con la chemio-immunoterapia convenzionale.

In uno studio internazionale randomizzato di fase III Morschhauser [34] in 414 pazienti con LF in remissione parziale o completa dopo chemioimmunoterapia di prima linea ha confrontato il trattamento con ^{90}y-ibritumomab (208 casi) con la semplice osservazione (206 casi). Dopo un follow up mediano di 3,5 anni il consolidamento con ^{90}y-ibritumomab ha prolungato in maniera significativa (36,5 vs 13,3 mesi p = 0,0001) la PFS indipendentemente dalla risposta parziale o completa ottenuta dopo la terapia di prima linea.

Il problema di questo studio era che solo il 15% dei pazienti arruolati aveva eseguito rituximab come terapia d'induzione e che in questo ristretto gruppo di pazienti la terapia di consolidamento con ^{90}y-ibritumomab (RIT) non migliorava in maniera significativa la PFS, dimostrando cosi l'efficacia del consolidamento solo nei pazienti rituximab naïve. Più recentemente Press [36] ha riportato i risultati di uno studio randomizzato dello SWOG in cui si poneva a confronto R-CHOP vs CHOP seguito da ^{131}iodine tositumomab in pazienti con LF in prima linea di trattamento. I risultati dello studio non hanno evidenziato alcuna differenza significativa nella PFS a 2 anni (R-CHOP=76% vs CHOP-RIT=80%). In definitiva questi due studi non hanno chiarito se una RIT di consolidamento migliori la sopravvivenza nei pazienti con LF trattati con R-chemioterapia di prima linea e pertanto l'impiego della RIT come terapia di consolidamento rimane ad oggi solo di tipo investigativo.

Trapianto di cellule staminali autologhe

Un'altra strategia utilizzata per migliorare i risultati nel LF è stata l'impiego delle alte dosi di chemioterapia (HDT) seguito da trapianto autologo di cellule staminali (ASCT) come consolidamento della terapia di prima linea[37]. In tre di quattro studi randomizzati si è dimostrato un miglioramento della PFS nel gruppo di pazienti che avevano eseguito ASCT di consolidamento ma in nessuno dei quattro studi si è documentato un miglioramento della sopravvivenza [38-41]. Sulla base di questi risultati il consolidamento con HDT-ASCT non ha trovato alcun ruolo nella pratica clinica quotidiana. Pertanto le principali linee guida nazionali[7] ed internazionali[4, 42-44] non raccomandano, anche in considerazione della maggiore tossicità, il consolidamento con HDT-ASCT nella terapia di prima linea del LF. L'ASCT mantiene invece il suo ruolo primario nel trattamento dei pazienti con malattia recidivante o refrattaria.

Rituximab

Il rituximab rappresenta un farmaco ideale per una terapia di mantenimento perché:

- ha una minima e non cumulativa tossicità anche nel tempo;
- l'antigene CD20 è presente sempre nel tempo nella malattia residua o ricorrente;
- ha una lunga emivita;
- i livelli sierici di rituximab mantenuti nel tempo correlano con la risposta clinica.

Tuttavia nonostante questi fondati presupposti, la terapia di mantenimento con rituximab dopo un trattamento immuno-chemioterapico convenzionale è ancora dibattuta. Il primo studio che ha dimostrato l'efficacia del mantenimento è quello dell'ECOG, dove 303 pazienti, di cui 282 pazienti con LF grado 1-2 trattati con CVP in induzione venivano randomizzati a ricevere rituximab o osservazione per 2 anni. I pazienti che avevano ricevuto mantenimento con rituximab presentavano un significativo aumento della PFS a 4 anni (58% vs 34%) indipendentemente dalla malattia residua e dall'iniziale massa di malattia. Nessuna differenza significativa si era dimostrata per la OS [45]. Ovviamente questo studio dimostrava che rituximab di mantenimento migliorava la PFS di

Figura 6 – Studio PRIMA [46] disegno dello studio.

Figura 7 – Studio PRIMA [47]: progression free survival (PFS): R-mantenimento vs osservazione (aggiornamento a 6 anni).

pazienti trattati solo con CVP in prima linea e quindi non confermava il ruolo del mantenimento dopo una R-chemioterapia.
La risposta a questa domanda è arrivata dallo studio internazionale prospettico randomizzato di fase III (PRIMA) coordinato dal GELA [46] dove venivano arruolati 1217 pazienti con LF all'esordio di malattia in stadio avanzato e con *high tumor burden*.
Lo studio si proponeva di valutare l'efficacia e il profilo di tossicità della terapia di mantenimento con rituximab in pazienti rispondenti ad un trattamento di prima linea non randomizzato ma basato sulla scelta clinica del centro: R-CHOP (75%), R-CVP (22%), R-FM (3%). La terapia di mantenimento con rituximab veniva somministrata ogni 2 mesi per 2 anni vs la semplice osservazione (Figura 6). L'obiettivo primario dello studio era la PFS a 2 anni che ad un follow up mediano di 25 mesi si dimostrava significativamente migliore per il gruppo in mantenimento (82% vs 66% p < 0,0001) [46].
I dati dello studio sono stati recentemente aggiornati con un follow up mediano di 73 mesi e hanno confermato che il mantenimento con rituximab manteneva ancora un aumento della PFS a 6 anni pari al 59,2% rispetto al 42,7% dei pazienti senza mantenimento (p<0,0001) [47] (Figura 7). L'efficacia del mantenimento si confermava indipendente dal tipo di terapia d'induzione eseguita, dall'età, dal tipo di risposta ottenuta (RC o RP) e nei diversi gruppi di rischio secondo il FLIPI *score*.
Inoltre, nello stesso studio si è anche osservato un incremento della percentuale di remissioni complete alla fine dei due anni di mantenimento rispetto alle risposte ottenute post terapia di induzione. Comunque allo stato attuale nessuna differenza statisticamente significativa per la OS è stata documentata. Sulla base di tali risultati molti autori sono convinti che il solo miglioramento della PFS senza un miglioramento della OS non sia sufficiente a giustificare l'impiego della terapia di mantenimento. Altri invece sono convinti che il solo prolungamento della PFS, ottenuto senza una eccessiva tossicità, possa giustificare il ruolo del mantenimento.
Tuttavia, bisogna anche tener conto che la terapia con rituximab si associa ad un incremento dei costi per la spesa farmaceutica e della tossicità.
Nello studio PRIMA i pazienti nel gruppo mantenimento hanno presentato più effetti collaterali soprattutto in termini di complicanze infettive di grado 2-4 (197/501 (39%) pazienti in mantenimento contro 123/508 (24%) dei pazienti non trattati *risk-ratio* 1·62, p < 0,0001)[46].
Per quanto riguarda la durata del mantenimento i dati ottenuti ad oggi dimostrano che 2 anni possono essere considerati sufficienti anche se non ci sono dati di confronto disponibili con maggiori durate.
Riassumendo, nonostante non siano ancora disponibili i dati del mantenimento sulla sopravvivenza globale, due anni di mantenimento con rituximab somministrato ogni 8 settimane dopo una R-chemioterapia di induzione convenzionale sono oggi ampiamente considerati il nuovo trattamento standard per la prima linea dei pazienti con LF in stadio avanzato [7] (Figura 8).
Tuttavia ulteriori studi prospettici di confronto saranno necessari per chiarire ancora alcuni quesiti irrisolti nella terapia di mantenimento di prima linea.

Figura 8 – Strategia terapeutica attuale nei LF in stadio avanzato, con high tumor burden.

Prospettive future

In attesa dello sviluppo e della conferma di nuovi, più attivi e meno tossici agenti biologici per la terapia dei LF dovremmo forse meglio impiegare le terapie attuali, tenendo conto degli attuali e dei nuovi fattori prognostici biologici correlati alla malattia e dei nuovi parametri nella valutazione della risposta. Nuovi studi biologici e molecolari di sequenziamento genico potranno identificare diversi e distinti sottogruppi biologico/molecolari con diverso andamento prognostico nell'ambito dei LF che quindi potrebbero giovarsi di differenti approcci terapeutici [48-50]. Recentemente numerosi studi hanno dimostrato una elevata correlazione prognostica nei LF a stadio avanzato tra la risposta valutata con la PET al termine della R-chemioterapia e la durata della PFS e della OS [51-53]. In questi studi la negatività o la positività della PET si dimostrava superiore alle definizioni convenzionali di risposta completa e parziale e correlava in modo significativo con la durata della PFS e della OS. Questi risultati hanno contribuito a modificare i criteri di valutazione post-terapia suggeriti nel 2007 per i LF inserendo la valutazione PET come obbligatoria nella valutazione della risposta[54, 55]. Un adattamento individuale della terapia può essere inoltre possibile grazie ad un attento monitoraggio della risposta con la determinazione e la quantificazione di BCL2-IGH per il riarrangiamento della t(14;18) con la metodica della PCR [56]. Il monitoraggio con PCR della MRD dopo un trattamento citoriduttivo chemioimmunoterapico si è dimostrato altamente predittivo per la durata della risposta [56-59] ed è stato inoltre impiegato come criterio per una terapia pre-*emptive* in pazienti con malattia MRD positiva post ASCT [60-63]. Quindi il monitoraggio della MRD può permettere una ottimizzazione e un adattamento della attuale terapia. Per esempio nella terapia di mantenimento questa potrebbe essere sospesa se si raggiunge uno stato di malattia MRD negativa e ripresa nei casi di ricomparsa del segnale MRD.

Quindi una valutazione precoce della risposta con la PET e il monitoraggio molecolare della MRD potrebbero guidare la scelta terapeutica del paziente con LF adattando le diverse opzioni terapeutiche allo stato di malattia del singolo paziente. Attualmente nell'ambito della Fondazione Italiana Linfomi (FIL) è in corso uno studio prospettico di fase III per il trattamento dei LF a stadio avanzato in prima linea denominato FOLL 12 che utilizza i criteri di risposta PET e della MRD al termine della immuno-chemioterapia nella scelta terapeutica nel braccio sperimentale (Figura 9).

Terapia della recidiva/progressione

Allo stato attuale per i pazienti in recidiva o che presentano una malattia refrattaria non vi sono dei regimi terapeutici standard. Esistono infatti molte opzioni terapeutiche da poter considerare dopo un'attenta valutazione di diversi fattori che possono incidere sulla scelta del miglior trattamento di seconda linea come l'età del paziente alla recidiva, la presenza di comorbidità, la storia delle precedenti terapie e della loro efficacia e lo stato della malattia al momento della recidiva. Prima di iniziare ogni terapia deve essere eseguita una nuova biopsia soprattutto ove esista il sospetto di una trasformazione a linfoma a grandi cellule basandosi sulla rapida progressione dell'adenopatia, gli elevati valori della lattato deidrogenasi e/o lo sviluppo di sintomi B [7].

Le opzioni terapeutiche possono prevedere: una re-induzione con solo rituximab o con una nuova associazione di chemio-immunoterapia possibilmente con un regime di chemioterapia non utilizzato

Figura 9 – FIL FOLL-12: disegno dello studio.

in prima linea (minimizzando gli effetti collaterali e la cross-resistenza della malattia), il trapianto autologo e la radio-immunoterapia con ^{90}y-ibritumomab tiuxetan. Lo studio retrospettivo REFOLL, promosso dalla FIL, ha cercato di individuare delle correlazioni tra il trattamento di prima linea e la risposta alle seconde linee di terapia. I pazienti che avevano ricevuto un regime contenente antraciclina in prima linea (regimi CHOP/CHOP-*like*) tendevano a rispondere meglio a qualunque II linea. La bendamustina che ora è una valida terapia di prima linea non era disponibile nel periodo di inizio dello studio e quindi non è stata considerata. Nel 29% dei casi è stata impiegata una terapia ad alte dosi seguita da ASCT che ha rappresentato la terapia di seconda linea con la miglior PFS [64].

Nella scelta di una chemioterapia di seconda linea è sempre raccomandata l'associazione con rituximab ad eccezione dei casi di malattia considerata refrattaria a rituximab ossia nelle recidive entro sei mesi dall'esposizione di rituximab o nella malattia refrattaria in corso di chemio-immnunoterapia [42].

Nei pazienti anziani o non candidabili ad una intensificazione con ASCT può essere indicata una monoterapia di seconda linea con ^{90}y-ibritumomab tiuxetan [7, 42]. Nel lavoro di Gordon si è avuta una risposta pari all'84% dei pazienti, con una tossicità contenuta e soprattutto ematologica in genere limitata nel tempo [65].

Prima che il trattamento con BR venisse considerato per la prima linea del paziente con LF, tale regime era già stato approvato per la malattia in recidiva e refrattaria. Due studi molto simili multicentrici di gruppi tedeschi e americani pubblicati hanno valutato la combinazione BR nei linfomi indolenti e mantellari in recidiva/refrattari di cui circa il 50% dei casi erano LF. In entrambi i lavori è stata dimostrata un risposta globale vicina al 90% con una percentuale di risposte complete pari al 40-60% dei casi. La durata della PFS era di 20-25 mesi, con una OS non ancora raggiunta. La tossicità riportata è stata principalmente ematologica con una leucopenia di grado 3-4 nel 16% e nel 36% dei casi rispettivamente e trombocitopenia nel 3% e nel 9% dei casi [66, 67].

Nel paziente giovane senza comorbidità, diversi studi hanno dimostrato come il trapianto autologo in seconda linea sia efficace a migliorare sia la PFS che la OS [68, 69].

Il rituximab può avere un ruolo importante di *purging* in vivo al momento della raccolta di staminali [70]. In pazienti giovani (<65 anni), soprattutto se in recidiva dopo autotrapianto andrebbe presa inoltre in considerazione l'opzione di un trapianto allogenico [7, 42], avendo questo un potenziale curativo. L'aspetto del trapianto nei LF sarà comunque ripreso in maniera più estesa e sistematica nel capitolo ad esso dedicato.

Terapie con nuovi anticorpi monoclonali o con nuovi farmaci biologici rappresentano l'aspetto più innovativo della futura terapia del paziente con LF recidivato/refrattario. Di queste nuove opzioni terapeutiche verrà ampiamente trattato nel capitolo delle terapie innovative. L'utilizzo di una terapia di mantenimento con rituximab nel LF recidivato/refrattario è oggi ancora dibattuto.

In uno studio di fase III internazionale multicentrico con LF in recidiva o refrattario 474 pazienti sono stati randomizzati a ricevere CHOP o R-CHOP come terapia di salvataggio e quelli che rispondevano venivano ulteriormente randomizzati a ricevere rituximab ogni 3 mesi per due anni verso una osservazione. Il braccio con rituximab di mantenimento ha ottenuto una PFS, valutata dalla seconda randomizzazione, pari a 49,3 mesi rispetto a 12,6 mesi dell'osservazione ($p < 0,001$) [71].

La differenza in PFS si confermava significativa sia nei pazienti trattati in induzione con CHOP o R-CHOP sia nei pazienti che al termine della terapia presentavano una risposta completa o parziale. Comunque l'attuale ampio uso di rituximab nella terapia di prima linea come induzione e mantenimento pone molti dubbi nell'applicare e confermare questi dati alla popolazione di pazienti recentemente trattati per LF. Tuttavia, un paziente che non ha ricevuto terapia di mantenimento con rituximab nella sua prima linea di trattamento trova indicazione ad una terapia di mantenimento con rituximab se rispondente al trattamento di salvataggio per la sua malattia in recidiva/progressione [7].

Bibliografia

1. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. Blood. 2006;107(1):265-76.
2. Smith A, Crouch S, Lax S, Li J, Painter D, Howell D, et al. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004-2014: sub-type analyses from the UK's Haematological Malignancy Research Network. Br J Cancer. 2015;112(9):1575-84.
3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
4. McNamara C, Davies J, Dyer M, Hoskin P, Illidge T, Lyttelton M, et al. Guidelines on the investigation and management of follicular lymphoma. Br J Haematol. 2012;156(4):446-67.
5. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haioun C, Moreau P, et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol. 1997;15(3):1110-7.
6. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N, Tendler CL, Brice P, Haioun C, et al. Doxorubicin-containing regimen with or without interferon alfa-2b for advanced follicular lymphomas: final analysis of survival and toxicity in the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires 86 Trial. J Clin Oncol. 1998;16(7):2332-8.
7. Zinzani PL, Marchetti M, Billio A, Barosi G, Carella AM, Lazzarino M, et al. SIE, SIES, GITMO revised guidelines for the management of follicular lymphoma. Am J Hematol. 2013;88(3):185-92.
8. Fisher RI, LeBlanc M, Press OW, Maloney DG, Unger JM, Miller TP. New treatment options have changed the survival of patients with follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2005;23(33):8447-52.
9. Swenson WT, Wooldridge JE, Lynch CF, Forman-Hoffman VL, Chrischilles E, Link BK. Improved survival of follicular lymphoma patients in the United States. J Clin Oncol. 2005;23(22):5019-26.
10. Liu Q, Fayad L, Cabanillas F, Hagemeister FB, Ayers GD, Hess M, et al. Improvement of overall and failure-free survival in stage IV follicular lymphoma: 25 years of treatment experience at The University of Texas MD Anderson Cancer Center. J Clin Oncol. 2006;24(10):1582-9.
11. Illidge T, Specht L, Yahalom J, Aleman B, Berthelsen AK, Constine L, et al. Modern radiation therapy for nodal non-Hodgkin lymphoma-target definition and dose guidelines from the International Lymphoma Radiation Oncology Group. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2014;89(1):49-58.
12. Campbell BA, Voss N, Woods R, Gascoyne RD, Morris J, Pickles T, et al. Long-term outcomes for patients with limited stage follicular lymphoma. Cancer. 2010;116(16):3797-806.
13. Mac Manus MP, Hoppe RT. Is radiotherapy curative for stage I and II low-grade follicular lymphoma? Results of a long-term follow up study of patients treated at Stanford University. J Clin Oncol. 1996;14(4):1282-90.
14. Gospodarowicz MK, Bush RS, Brown TC, Chua T. Prognostic factors in nodular lymphomas: a multivariate analysis based on the Princess Margaret Hospital experience. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1984;10(4):489-97.
15. Hudson BV, Hudson GV, MacLennan K, Anderson La, Linch D. Clinical stage 1 non-Hodgkin's lymphoma: long-term follow up of patients treated by the British National Lymphoma Investigation with radiotherapy alone as initial therapy. Br J Cancer. 1994;69(6):1088.
16. Lowry L, Smith P, Qian W, Falk S, Benstead K, Illidge T, et al. Reduced dose radiotherapy for local control in non-Hodgkin lymphoma: a randomised phase III trial. Radiother Oncol. 2011;100(1):86-92.
17. Friedberg JW, Byrtek M, Link BK, Flowers C, Taylor M, Hainsworth J, et al. Effectiveness of first-line management strategies for stage I follicular lymphoma: analysis of the National LymphoCare Study. J Clin Oncol. 2012;30(27):3368-75.
18. Ganti AK, Bociek RG, Bierman PJ, Lynch JC, Bast MA, Vose JM, et al., editors. Combined Chemotherapy and Radiation Is Associated with Improved Outcomes in Stage I Follicular Lymphoma. Blood. 2004;104(11):4567.
19. Seymour JF, Pro B, Fuller LM, Manning JT, Hagemeister FB, Romaguera J, et al. Long-term follow up of a prospective study of combined modality therapy for stage I–II indolent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2003;21(11):2115-22.
20. Ardeshna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, MacLennan KA, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. Lancet. 2003;362(9383):516-22.
21. Ardeshna KM, Qian W, Smith P, Braganca N, Lowry L, Patrick P, et al. Rituximab versus a watch-and-wait approach in patients with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma: an open-label randomised phase 3 trial. Lancet

Oncol. 2014;15(4):424-35.
22. Kahl BS, Hong F, Williams ME, Gascoyne RD, Wagner LI, Krauss JC, et al. Rituximab extended schedule or re-treatment trial for low-tumor burden follicular lymphoma: eastern cooperative oncology group protocol e4402. J Clin Oncol. 2014;32(28):3096-102.
23. Solal-Céligny P, Bellei M, Marcheselli L, Pesce EA, Pileri S, McLaughlin P, et al. Watchful waiting in low–tumor burden follicular lymphoma in the rituximab era: Results of an F2-study database. J Clin Oncol. 2012;30(31):3848-53.
24. Bachy E, Houot R, Morschhauser F, Sonet A, Brice P, Belhadj K, et al. Long-term follow up of the FL2000 study comparing CHVP-interferon to CHVP-interferon plus rituximab in follicular lymphoma. Haematologica. 2013;98(7):1107-14.
25. Salles G, Mounier N, de Guibert S, Morschhauser F, Doyen C, Rossi J-F, et al. rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients: results of the GELA-GOELAMS FL2000 study 2008 Blood 2008;112(13): 4824-31.
26. Marcus R, Imrie K, Belch A, Cunningham D, Flores E, Catalano J, et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. Blood. 2005;105(4):1417-23.
27. Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, Catalano JV, Dmoszynska A, Raposo JC, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(28):4579-86.
28. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood. 2005;106(12):3725-32.
29. Herold M, Haas A, Srock S, Neser S, Al-Ali KH, Neubauer A, et al. Rituximab Added to First-Line Mitoxantrone, Chlorambucil, and Prednisolone Chemotherapy Followed by Interferon Maintenance Prolongs Survival in Patients With Advanced Follicular Lymphoma: An East German Study Group Hematology and Oncology Study. J Clin Oncol. 2007;25(15):1986-92.
30. Federico M, Luminari S, Dondi A, Tucci A, Vitolo U, Rigacci L, et al. R-CVP versus R-CHOP versus R-FM for the initial treatment of patients with advanced-stage follicular lymphoma: results of the FOLL05 trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. J Clin Oncol. 2013;31(12):1506-13.
31. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, Banat GA, von Grunhagen U, Losem C, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. Lancet. 2013;381(9873):1203-10.
32. Flinn IW, van der Jagt R, Kahl BS, Wood P, Hawkins TE, Macdonald D, et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R-CHOP/R-CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGHT study. Blood. 2014;123(19):2944-52.
33. Gordon LI, Molina A, Witzig T, Emmanouilides C, Raubtischek A, Darif M, et al. Durable responses after ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for CD20+ B-cell lymphoma: long-term follow up of a phase 1/2 study. Blood. 2004;103(12):4429-31.
34. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Vitolo U, Soubeyran P, Tilly H, et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90–ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(32):5156-64.
35. Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, Emmanouilides C, Czuczman MS, Saleh MN, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2002; 20(15):3262-9.
36. Press OW, Unger JM, Braziel RM, Maloney DG, Miller TP, LeBlanc M, et al. Phase II trial of CHOP chemotherapy followed by tositumomab/iodine I-131 tositumomab for previously untreated follicular non-Hodgkin's lymphoma: five-year follow up of Southwest Oncology Group Protocol S9911. J Clin Oncol. 2006;24(25): 4143-9.
37. Al Khabori M, de Almeida JR, Guyatt GH, Kuruvilla J, Crump M. Autologous stem cell transplantation in follicular lymphoma: a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst. 2012;104(1):18-28.
38. Deconinck E, Foussard C, Milpied N, Bertrand P, Michenet P, Cornillet-LeFebvre P, et al. High-dose therapy followed by autologous purged stem-cell transplantation and doxorubicin-based chemotherapy in patients with advanced follicular lymphoma: a randomized multicenter study by GOELAMS. Blood. 2005;105(10):3817-23.
39. Ladetto M, De Marco F, Benedetti F, Vitolo U, Patti C, Rambaldi A, et al. Prospective, multicenter randomized GITMO/IIL trial comparing intensive (R-HDS) versus conventional (CHOP-R) chemoimmunotherapy in high-risk follicular lymphoma at diagnosis: the superior disease control of R-HDS does not translate into an overall survival advantage. Blood. 2008;111(8):4004-13.
40. Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E, Forstpointner R, Wandt H, Freund M, et al. Myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission prolongs progression-free survival in follicular lymphoma: results of a prospective, randomized trial of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood. 2004;104(9):2667-74.
41. Sebban C, Mounier N, Brousse N, Belanger C, Brice P, Haioun C, et al. Standard chemotherapy with interferon compared with CHOP followed by high-dose therapy with autologous stem cell transplantation in untreated patients with advanced follicular lymphoma: the GELF-94 randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). Blood. 2006;108(8):2540-4.
42. Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U, Ladetto M, et al. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. Ann Oncol. 2014;25(Suppl)3:76-82.
43. López-Guillermo A, Caballero D, Canales M, Provencio M, Rueda A, Salar A. Clinical practice guidelines for first-line/after-relapse treatment of patients with follicular lymphoma. Leuk Lymphoma. 2011;52(S3):1-14.
44. Kuruvilla J, Assouline S, Hodgson D, MacDonald D, Stewart D, Christofides A, et al. A Canadian Evidence-Based Guideline for the First-Line Treatment of Follicular Lymphoma: Joint Consensus of the Lymphoma Canada Scientific Advisory Board. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2015;15(2):59-74.
45. Hochster H, Weller E, Gascoyne RD, Habermann TM, Gordon LI, Ryan T, et al. Maintenance rituximab after cyclophosphamide, vincristine, and prednisone prolongs progression-free survival in advanced indolent lymphoma: results of the randomized phase III ECOG1496 Study. J Clin Oncol. 2009;27(10):1607-14.
46. Salles G, Seymour JF, Offner F, Lopez-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. Lancet. 2011;377(9759):42-51.
47. Seymour JF, Feugier P, Offner F, Lopez-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Updated 6 year follow up of the PRIMA study confirms the benefit of 2-year rituximab maintenance in follicular lymphoma patients responding to frontline immunochemotherapy. Blood. 2013;122(21):509.
48. Farinha P, Al-Tourah A, Gill K, Klasa R, Connors JM, Gascoyne RD. The architectural pattern of FOXP3-positive T cells in follicular lymphoma is an independent predictor of survival and histologic transformation. Blood. 2010;115(2):289-95.
49. Dave SS, Wright G, Tan B, Rosenwald A, Gascoyne RD, Chan WC, et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. N Engl J Med. 2004;351(21):2159-69.
50. Glas AM, Kersten MJ, Delahaye LJ, Witteveen AT, Kibbelaar RE, Velds A, et al. Gene expression profiling in follicular lymphoma to assess clinical aggressiveness and to guide the choice of treatment. Blood. 2005;105(1):301-7.
51. Luminari S, Biasoli I, Versari A, Rattotti S, Bottelli C, Rusconi C, et al. The prognostic role of post-induction FDG-PET in patients with follicular lymphoma: a subset analysis from the FOLL05 trial of the Fondazione Italiana Linfomi (FIL). Ann Oncol. 2014;25(2):442-7.
52. Dupuis J, Berriolo-Riedinger A, Julian A, Brice P, Tychyj-Pinel C, Tilly H, et al. Impact of [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography response evaluation in patients with high–tumor burden follicular lymphoma treated with immunochemotherapy: A prospective study from the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte and GOELAMS. J Clin Oncol. 2012;30(35):4317-22.
53. Trotman J, Fournier M, Lamy T, Seymour JF, Sonet A, Janikova A, et al. Positron emission tomography–computed tomography (PET-CT) after induction therapy

is highly predictive of patient outcome in follicular lymphoma: analysis of PET-CT in a subset of PRIMA trial participants. J Clin Oncol. 2011;29(23):3194-200.
54. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J Clin Oncol. 2007;25(5):579-86.
55. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. J Clin Oncol. 2014;32(27):3059-67.
56. Pott C, Brüggemann M, Ritgen M, van der Velden VH, van Dongen JJ, Kneba M. MRD detection in B-cell non-Hodgkin lymphomas using Ig gene rearrangements and chromosomal translocations as targets for real-time quantitative PCR. Lymphoma: Springer; 2013. p. 175-200.
57. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, Soiffer RJ, Anderson KC, Fisher DC, et al. Long-term follow up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. Blood. 1999;94(10):3325-33.
58. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C, Carlotti E, Arcaini L, Baccarani M, et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. Blood. 2002;99(3):856-62.
59. Ladetto M, Lobetti-Bodoni C, Mantoan B, Ceccarelli M, Boccomini C, Genuardi E, et al. Persistence of minimal residual disease in bone marrow predicts outcome in follicular lymphomas treated with a rituximab-intensive program. Blood. 2013;122(23):3759-66.
60. Hirt C, Schuler F, Kiefer T, Schwenke C, Haas A, Niederwieser D, et al. Rapid and sustained clearance of circulating lymphoma cells after chemotherapy plus rituximab: clinical significance of quantitative t(14;18) PCR monitoring in advanced stage follicular lymphoma patients. Br J Haematol. 2008;141(5):631-40.
61. Mangel J, Buckstein R, Imrie K, Spaner D, Franssen E, Pavlin P, et al. Pharmacokinetic study of patients with follicular or mantle cell lymphoma treated with rituximab as "in vivo purge" and consolidative immunotherapy following autologous stem cell transplantation. Ann Oncol. 2003;14(5):758-65.
62. Hicks L, Woods A, Buckstein R, Mangel J, Pennell N, Zhang L, et al. Rituximab purging and maintenance combined with auto-SCT: long-term molecular remissions and prolonged hypogammaglobulinemia in relapsed follicular lymphoma. Bone Marrow Transplant. 2009;43(9):701-8.
63. Morschhauser F, Recher C, Milpied N, Gressin R, Salles G, Brice P, et al. A 4-weekly course of rituximab is safe and improves tumor control for patients with minimal residual disease persisting 3 months after autologous hematopoietic stem-cell transplantation: results of a prospective multicenter phase II study in patients with follicular lymphoma. Ann Oncol. 2012;23(10):2687-95.
64. Rossi G, Marcheselli L, Dondi A, Bottelli C, Tucci A, Luminari S, et al. The use of anthracycline at first-line compared to alkylating agents or nucleoside analogs improves the outcome of salvage treatments after relapse in follicular lymphoma. The REFOLL study by the Fondazione Italiana Linfomi. Am J Hematol. 2015;90(1): 56-61.
65. Gordon LI, Molina A, Witzig T, Emmanouilides C, Raubtischek A, Darif M, et al. Durable responses after ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for CD20+ B-cell lymphoma: long-term follow up of a phase 1/2 study. Blood. 2004;103(12): 4429-31.
66. Rummel MJ, Al-Batran SE, Kim S-Z, Welslau M, Hecker R, Kofahl-Krause D, et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2005;23(15):3383-9.
67. Robinson KS, Williams ME, van der Jagt RH, Cohen P, Herst JA, Tulpule A, et al. Phase II multicenter study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed indolent B-cell and mantle cell non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(27):4473-9.
68. Rohatiner AZ, Nadler L, Davies AJ, Apostolidis J, Neuberg D, Matthews J, et al. Myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma at the time of second or subsequent remission: long-term follow up. J Clin Oncol. 2007;25(18):2554-9.
69. Sebban C, Brice P, Delarue R, Haioun C, Souleau B, Mounier N, et al. Impact of rituximab and/or High-Dose Therapy With Autotransplant at Time of Relapse in Patients With Follicular Lymphoma: A GELA Study. J Clin Oncol. 2008;26(21):3614-20.
70. Pettengell R, Schmitz N, Gisselbrecht C, Smith G, Patton WN, Metzner B, et al. Rituximab Purging and/or Maintenance in Patients Undergoing Autologous Transplantation for Relapsed Follicular Lymphoma: A Prospective Randomized Trial From the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. J Clin Oncol. 2013;31(13):1624-30.
71. Van Oers MH, Van Glabbeke M, Giurgea L, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, et al. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. J Clin Oncol. 2010;28(17):2853-8.

Parole Chiave

Linfoma follicolare, rituximab, chemioterapia, radioterapia, radioimmunoterapia

Indirizzi per la corrispondenza

Maurizio Martelli
Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia,
Istituto di Ematologia. Università "Sapienza",
Via Benevento 6 Roma 00161.
Tel (+39) 0649974779
Fax (+39) 0644241984
E-mail: martelli@bce.uniroma1.it

Terapie innovative

Maura Nicolosi, Umberto Vitolo

Ematologia, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Città della salute e della scienza, Torino

Introduzione

Il linfoma follicolare (LF) rappresenta il principale linfoma non Hodgkin (LNH) di tipo indolente, la frequenza delle nuove diagnosi è di circa il 25% sul totale delle patologie linfoproliferative [1-3].

Il trattamento convenzionale del LF, già discusso nella sezione precedente, mostra come questa patologia sia, a seconda del diverso grado di malattia [4,5], altamente responsiva alla chemioterapia. Tuttavia, nonostante l'andamento indolente, il LF è caratterizzato da frequenti e precoci recidive, per tale motivo soprattutto in epoca pre rituximab, è sempre stato considerato una patologia inguaribile [6]. Diversi studi randomizzati hanno evidenziato come la strategia dell'immunochemioterapia e quindi dell'aggiunta dell'anticorpo monoclonale anti-CD20 alla chemioterapia tradizionale prolunghi la sopravvivenza di tali pazienti [7-9]. Numerosi progressi nel campo delle biotecnologie hanno permesso di porre l'attenzione sulla biologia del LF, sulla disregolazione dei *pathway* intracellulari coinvolti, sulle risposte antitumorali di tipo immunologico e sul particolare ruolo del microambiente; tali scoperte hanno permesso di sviluppare, recentemente, nuovi approcci terapeutici basati sul concetto *chemo-free,* con l'utilizzo quindi di nuovi farmaci biologici e agenti immunomodulanti attivi sui meccanismi di crescita e sopravvivenza della cellula tumorale del LF. Lo scopo della seguente trattazione vuole essere un focus sulle nuove possibilità di trattamento, già validate o ancora in corso di analisi nel paziente refrattario/recidivato affetto da LF, lasciando spazio alle strategie di trapianto di cellule staminali al successivo capitolo. Saranno presi in considerazione gli anti-CD20 in single agent, i nuovi anticorpi monoclonali, gli immunomodulatori, gli Inibitori del B-cell receptor e il recente utilizzo dell'anti-BCL2. Lo sviluppo di questi nuovi agenti e delle loro diverse combinazioni si basa sul razionale scientifico e sui dati di diversi studi clinici che evidenziano come le scoperte in campo biologico sulla patogenesi del LF possono offrire strategie terapeutiche utili a superare i numerosi meccanismi di farmaco-resistenza e quindi migliorare l'outcome dei pazienti stessi.

Anticorpi monoclonali anti-CD20: rituximab

Il rituximab è stato utilizzato per la prima volta nel LF in uno studio di fase I in pazienti refrattari recidivati, mostrando un buon profilo di sicurezza e di efficacia; con un *overall response rate* (ORR) del 48% e un periodo libero di malattia di 13 mesi in pazienti che presentavano una storia di linfoma da più di 15 anni [10,11]. Altri trials hanno confermato gli stessi risultati con un tempo libero da progressione di malattia di 1 anno [12-14]. Diversi studi di farmacocinetica dimostrerebbero come la concentrazione del rituximab sia correlata all'efficacia [12].

Diversi studi hanno mostrato l'attivita del rituximab, come agente singolo, in pazienti recidivati rituximab naive; Colombat et al [15,16] avevano riportato inizialmente un ORR del 73% con 26% di risposte complete (RC). Negli anni successivi alla terapia i risultati sono stati confermati con un aumento sia dell'ORR e della RC, rispettivamente del 80% e del 52%.

Studi di farmacocinetica si sono focalizzati sulla correlazione tra la concentrazione del farmaco e la risposta al trattamento. Ghielmini et al [17,18] hanno valutato come un trattamento prolungato di 4 somministrazioni settimanali più una somministrazione ogni 2 mesi con rituximab in pazienti *naive* o pretrattati, con un follow up mediano di 35 mesi, mostri risposte in termini di sopravvivenza libera da eventi (EFS) a favore di quei pazienti che non erano mai stati trattati precedentemente con rituximab.

Numerosi altri studi hanno mostrato come l'utilizzo del rituximab *single agent*, sia in pazienti *naive* o pre-trattati mantenga una buona attività. Tuttavia sono ancora poco chiari quali siano i fattori che predicano o influenzino la risposta al trattamento con solo rituxiamb e cosa predice la refrattarietà al rituximab stesso.

Nonostante siano in atto da molti anni numerosi trials sul rituximab e sul suo meccanismo d'azione, ad oggi alcune caratteristiche rimangono sconosciute. Solo recentemente alcuni studi hanno posto l'attenzione sulla possibilità che esistano dei fattori di variabilità

interindividuali di risposta e resistenza al farmaco.
Questi meccanismi sono numerosi e possono includere direttamente la morte cellulare per citotossicità dipendente dal complemento (CDC) e meccanismi mediati dal recettore Fcy. Gli studi di farmacocinetica hanno evidenziato come la variabilità alla risposta dipenda in parte da polimorfismi individuali del gene FCGR3A [19,20].
Al fine di aumentare l'efficacia, superare le resistenze e le variabilità interindividuali, ridurre la tossicità e favorire una somministrazione più rapida, sono stati studiati anticorpi monoclonali di II e III generazione.

Nuovi anticorpi monoclonali anti-CD20

GA101 obinutuzumab

È un nuovo anticorpo monoclonale anti-CD20 di tipo II umanizzato, glicoingegnerizzato, dotato di un'aumentata citotossicità diretta, grazie ad una differente angolazione della parte Fab e di una aumentata attività citotossica cellulare mediata da anticorpi (ADCC); grazie ad una maggiore affinità nei confronti del FcyRIIIa, ottenuta modificando il frammento Fc con la rimozione di un residuo di fucosio tramite glicoingegnerizzazione [21,22].
Studi preclinici hanno mostrato come GA101 sia superiore al rituximab in termini di eliminazione delle cellule linfomatose e in termini di deplezione delle cellule B linfomatose nei primati e come abbia un attività maggiore in termini di attività ADCC.
Nello studio di fase I GAUSS, studio randomizzato che confrontava l'efficacia del rituximab e dell'obinutuzumab in pazienti a cui veniva somministrato anche un mantenimento per 2 anni, GA101 si è dimostrato ben tollerato e con un'incoraggiante efficacia. Nello studio sono state somministrate 4 dosi settimanali di GA101 (range 200 mg/2000 mg): i risultati preliminari indicherebbero un vantaggio in termini di ORR a favore di GA101 (43% versus 28%), ma nessuna differenza in termini di PFS. Lo studio ha ottenuto un tasso di risposta del 32% in 22 pazienti pesantemente pretrattati [23,24].
Nella I fase dello studio GAUGUIN sono stati arruolati 21 pazienti con linfoma non-Hodgkin indolente CD20+ pesantemente pretrattati, recidivati o refrattari [25]. I pazienti hanno ricevuto obinutuzumab a dosi scalari per 8 cicli di 21 giorni; la maggior parte degli eventi avversi sono stati di grado 1 e 2 (114 su 132 eventi avversi totali) [25]. Le reazioni correlate all'infusione sono state gli eventi avversi più comuni, con la maggior parte di essi che si è verificata durante la prima infusione e si è risolta prontamente. Tre pazienti hanno avuto reazioni correlate all'infusione del farmaco di grado 3 o 4. La migliore risposta complessiva è stata del 43%, con 5 RC e 4 remissioni parziali (RP). In conclusione, i dati hanno indicato che obinutuzumab è risultato ben tollerato e ha dimostrato attività incoraggianti fino a dosaggi di 2000 mg nei pazienti con LNH trattati in precedenza.
La fase II dello studio di fase I/II GAUGUIN ha valutato l'efficacia e la sicurezza di due diverse dosi di obinutuzumab (GA101) [26].
I pazienti sono stati assegnati in maniera randomizzata a ricevere 8 cicli di obinutuzumab alla dose fissa di 400 mg nei giorni 1 e 8 del ciclo 1 e anche al giorno 1 dei cicli da 2 a 8 (400/400 mg) oppure 1600 mg nei giorni 1 e 8 del ciclo 1 e 800 mg al giorno 1 dei cicli da 2 a 8 (1600/800 mg). Sono stati arruolati 40 pazienti, inclusi 34 con LF; 38 su 40 pazienti avevano precedentemente ricevuto rituximab e 22 su 40 erano refrattari al rituximab. Il tasso di risposta globale al termine del trattamento è stato pari al 55% nel gruppo 1600/800 mg (9% con risposta completa) e 17% nel gruppo 400/400 mg (nessuna risposta completa).
Cinque dei 10 pazienti refrattari a rituximab hanno mostrato una risposta di fine trattamento nel gruppo 1600/800 mg *versus* 1 su 12 nel gruppo 400/400 mg. La sopravvivenza mediana libera da progressione è stata di 11,9 mesi nel gruppo 1600/800 mg e di 6,0 mesi nel gruppo 400/400 mg. Gli eventi avversi più comuni sono state reazioni legate all'infusione, osservate nel 73% dei pazienti, risultate di grado da 3 a 4 solo in 2 pazienti (entrambi nel gruppo 1600/800 mg). Nessuna delle reazioni correlate all'infusione è stata considerata grave e nessun paziente ha sospeso il trattamento a causa di reazioni associate all'infusione. In conclusione, il regime di somministrazione 1600/800 mg di obinutuzumab ha mostrato attività incoraggiante con un profilo di sicurezza accettabile nel linfoma non-Hodgkin indolente recidivato/refrattario. Tuttavia la dose iniziale di 1600 mg è stata poco pratica sia per i tempi di infusione che per la discreta maggior frequenza di reazioni infusionali.
Studi di farmacocinetica e modelli matematici hanno evidenziato che un profilo farmacocinetico analogo si ottiene con una dose di 1000 mg i giorni 1, 8 e 15. Tale schema terapeutico è diventato quindi la posologia standard per il GA101 come agente singolo o in combinazione con la chemioterapia nei LF e nei linfomi diffusi a grandi cellule B.

Ofatumumab

È un altro anticorpo monoclonale IgG1 interamente umano che ha come bersaglio un piccolo epitopo sulla molecola CD20. Ha una capacità ADCC simile al rituximab ma induce maggiore CDC e induce apoptosi nelle cellule tumorali CD20 positive e nelle linee cellulari resistenti al rituximab con bassa espressione CD20.
In uno studio di fase I/II su pazienti affetti da LF recidivato, la maggior parte di eventi avversi sono stati di grado 1 o 2 [27]. I migliori risultati in termini di ORR sono stati del 60% nel gruppo di pazienti trattati con 1000 mg, con un tempo mediano alla progressione di 8,8 mesi globale. In uno studio di fase II sono stati arruolati 116 pazienti affetti da LF refrattari al rituximab. L'ORR è stato solo dell'11%, ma ha raggiunto il 22% nei pazienti refrattari al rituximab in monoterapia. La PFS mediana è stata 5,8 mesi. Sebbene ben tollerato, l'efficacia di ofatumumab nei pazienti LF rituximab refrattario è quindi scarsa [28].

Veltuzumab

È un anticorpo monoclonale umanizzato anti CD20 strutturalmente simile al rituximab. In uno studio pilota, 17 pz con LNH indolente tra cui 14 pazienti affetti da LF sono stati trattati con veltuzumab in somministrazione sc: i risultati in termini di ORR sono stati del 47% con 24% di RC e un profilo di sicurezza soddisfacente [29]. In un altro studio multicentrico sono stati arruolati 82 pazienti e i tassi di ORR sono stati del 44% nei pazienti con LF con il 27% di RC [30]. La durata media della risposta è stata di 19,7 mesi. La deplezione delle cellule B è avvenuta maggiormente dopo la prima somministrazione.

Ublituximab

È un nuovo anticorpo monoclonale glicoingegnerizzato capace di targettare un unico epitopo dell'antigene CD20 con un attività ADCC maggiore rispetto al rituximab. Gli studi presentati all'ASCO 2014 mostrano dati contrastanti nei pazienti con LF (con il 27% di ORR nei pazienti refrattari/recidivati, precedentemente esposti al rituximab, confrontati con risposte del 67% nei pazienti con leucemia linfatica cronica o linfoma della zona marginale (CLL o MZL) [31, 32].

Citochine immunomodulanti e rituximab

Sulla base dei diversi meccanismi di azione e di resistenza al rituximab, diversi studi di fase II hanno provato a combinare l'anticorpo monoclonale anti CD20 con vari agenti immunomodulanti, ad esempio l'alfa-interferone (INF-α), l'interleuchina-2 (IL-2) e il GM-CSF (fattore stimolante le colonie granulocito-macrofagiche). Alcuni di questi studi hanno suggerito che l'associazione con interferon mostra una durata della risposta più prolungata, altri un più alto tasso di RC con l'utilizzo del GM-CSF [33].

Con IL-2, studi in vitro riportano un aumento dell'espansione delle cellule NK, dato che correla con la risposta clinica [34]. Tuttavia, un ampio studio randomizzato di confronto tra rituximab versus rituximab più INF-α non ha evidenziato differenze in termini di tempo al fallimento del trattamento e la maggior parte degli AE sono stati correlati al rilascio di citochine (febbre, stanchezza) [35].

Nuove immunocitochine come l'anti-CD20-IL2 o altri CD20-mirati a struttura tetramerica mirata, sono in fase di sviluppo e potrebbero mostrare un interessante impiego clinico in futuro.

Altre molecole come l'anti-C3bi, MoAb5S e ß-glucani hanno dimostrato di migliorare l'efficacia del rituximab [36].

Anticorpi monoclonali non anti-CD20

Recenti studi stanno al momento valutando l'impiego di altri anticorpi monoclonali (MoAb) diretti verso antigeni di superficie diversi dal CD20. Il CD22 è espresso sulla superficie delle cellule B solo nelle fasi mature dello sviluppo con una forte espressione nei LF, MCL e linfomi B della zona marginale. Nelle neoplasie a cellule B, la sua espressione è stata riportata tra il 60% e l'80% dei casi, ma la sua funzione non è chiaramente compresa. L'epratuzumab è la versione umanizzata dell'anticorpo IgG1 LL2, un MoAb murino di tipo IgG2a diretto contro l'antigene CD22, che ha dimostrato attività in vitro contro le cellule di linfoma. Nel 2003, Leonard et al [37] hanno riportato uno studio di fase I, in cui sono stati arruolati 55 pazienti pesantemente pretrattati con linfoma indolente. L'epratuzumab è stato ben tollerato senza evidenze di tossicità dose-limitante (DLT). L'ORR è stata del 18% e la RC è stata osservata solo in 3 pazienti. Nel 2008, lo stesso gruppo ha segnalato l'associazione di epratuzumab con rituximab [38]; in questo studio multicentrico internazionale, sono stati arruolati 41 pazienti con LF in recidiva o refrattario, l'ORR è stata del 54% con il 24% di RC. La durata mediana della risposta è stata di 13,4 mesi. Un altro studio di fase II atto a valutare la stessa combinazione aveva arruolato 33 pazienti con LF mostrando un ORR del 64% con il 33% di RC e una durata media della risposta di 16 mesi [39]. Grant et al [40] recentemente hanno riportato i risultati di questa associazione in pazienti con LF precedentemente non trattati evidenziando un ORR dell'88% con il 45% di RC. La stima della PFS a 3 anni è stata del 60%.

Un altro anticorpo monoclonale di recente sviluppo è l'orlentuzumab (o TRU-016). È un anticorpo monoclonale specifico diretto verso la proteina-CD37, quest'ultima appartiene alla superfamiglia delle tetraspanine, molecole coinvolte nella regolazione delle cellule B. È una molecola fortemente glicosilata ed espressa sulla superficie delle cellule B sane e patologiche, ma non sulle cellule plasmatiche, e rappresenta quindi un bersaglio promettente [41]. Gopal et al,[42] nello studio di fase Ib, iniziato nell'Ottobre 2012 , ha valutato l'efficacia e la sicurezza della combinazione di otlertuzumab e rituximab in pazienti con una diagnosi di LLC: 24 pazienti precedentemente non trattati hanno ricevuto orlentuzumab (20 mg/kg), seguito da rituximab (375 mg/m^2 la prima dose, 500 mg/m^2 per le dosi successive). L'ORR è stata del 96% e la RC del 33%. Un altro studio ha valutato la combinazione di orlentuzumab con rituximab e bendamustina: l'ORR migliore è stato dell'83% nel linfoma indolente recidivato [43].

Milatuzumab è un MoAb umanizzato anti CD74, proteina transmembrana di tipo II coinvolta nei meccanismi di segnalazione e con un ruolo nella proliferazione delle cellule B e nella sopravvivenza della cellula malata, grazie alla capacità di attivare le vie dei PI3K (fosfatidilinositolo 3-chinasi)/Akt e NFκB (fattore nucleare kappa-*light*-catena-*enhancer* delle cellule B attivate). Milantuzumab possiede un'attività antiproliferativa che è stata dimostrata in linee cellulari e xenografe [44], e la sua combinazione con rituximab ha mostrato attività terapeutica in uno studio preclinico, evidenziando un'attivita sinergica tra i due MoAb. Nel MM è stato condotto uno studio di fase I che ha mostrato un buon profilo di sicurezza, nonché buona attività farmacodinamica [46]. Nei pazienti con LNH a

cellule B recidivato/refrattario l'associazione di milatuzumab con veltuzumab è stata riportata in uno studio di fase I/II; considerando che la popolazione era costituita da pazienti pesantemente pretrattati inclusi i pazienti refrattari al rituximab, l'ORR è stata del 22% [47].
Galiximab è un MoAb chimerico con attività anti-CD80, attività ADCC, pro-apoptotica e anti-proliferativa. Il CD80 è una glicoproteina transmembrana coinvolta nella regolazione della risposta immunitaria, compresa l'attivazione e la regolazione delle cellule T, ed è costitutivamente espresso sulle cellule B maligne. In uno studio di fase I/II, galiximab è stato ben tollerato e ha mostrato una modesta attività nei pazienti recidivati con LF [48]. Leonard et al [49] in una fase I/II, hanno valutato l'associazione con il rituximab in 73 pazienti affetti da LF refrattario. L'ORR è stata del 66% con il 19% di RC e con una PFS mediana di 1 anno.
In un successivo studio di fase II è stata valutata l'associazione dei due anticorpi con 4 dosi settimanali in pazienti con LF non precedentemente trattati, seguiti da una infusione ogni due mesi per quattro volte. Un totale di 61 pazienti ha ricevuto la terapia e non vi sono stati problemi in termini di sicurezza. L'ORR è stata del 72% con il 47,5% di RC / RCu *(unconfirmed complete response)*, la PFS mediana era 2,9 anni, [50]. Questi risultati deludenti hanno dato un punto di interruzione per lo sviluppo di galiximab in questo campo competitivo di nuove terapie nel linfoma.

Anticorpi bi-specifici

Nonostante i risultati promettenti dei nuovi anticorpi monoclonali, sono necessari ulteriori miglioramenti nel campo dell'immunoterapia. L'associazione, all'interno di una sola molecola, di due anticorpi mirati, diretti verso due differenti antigeni di superficie cellulare rappresenta un approccio in attuale via di sviluppo. Come già accennato, la combinazione di rituximab e epratuzumab ha mostrato un maggiore effetto anti-proliferativo e un buon profilo di sicurezza.
Al fine di superare la complessità di gestione di due diversi anticorpi, si è sviluppato un progetto ormai iniziato che riguarda la possibilità di utilizzare un solo anticorpo monoclonale ma bidirezionale, in grado di targettare sia il CD22 che il CD20.
Il blinatumomab è un anticorpo bi-specifico anti CD19-CD3, in grado di depletare le cellule B periferiche e attivare contemporaneamente le cellule T effettrici, inducendo una citotossicità sulle cellule linfomatose. Tale anticorpo ha dimostrato di indurre una risposta clinica nei pazienti con LNH recidivato e nella leucemia linfoblastica acuta B. In uno studio di fase I, 52 pazienti con LNH recidivato, di cui 18 LF, blinatumumab ha mostrato una durata mediana della risposta di 26 mesi [51]. Gli eventi avversi più frequenti sono stati la cefalea la piressia e l'astenia. Disturbi del SNC come tremori, disturbi del linguaggio, disorientamento e aprassia e hanno determinato la sospensione del trattamento. Ulteriori studi clinici sono in corso.
Infine, è in fase di sviluppo un anticorpo esavalente bispecifico anti CD20-CD74 che in fase di sperimentazione di fase precoce ha mostrato un 16% di RC [52].

Immunomodulazione con anticorpi monoclonali

Il microambiente svolge un ruolo critico nella patologia dei LF ed è ormai noto come nei LF vi siano cellule T difettive, cosa che induce una tolleranza sul tumore, favorendone lo sviluppo.
È quindi in corso di studio un altro approccio terapeutico basato sulla possibilità di favorire la risposta immunitaria antitumorale utilizzando nuovi anticorpi monoclonali da soli o in associazione con rituximab al fine di migliorare l'attività degli anti-CD20.
Il recettore PD-1 co-inibitorio è un membro della famiglia dei recettori B7, è espresso dalle cellule T attivate, dalle cellule B e natural killer (NK) ed è implicato nella regolazione delle risposte anti tumorali cellule T mediate. Il blocco del PD-1 tramite i ligandi PD-L1 o PD-L2, espressi dalle cellule del linfoma e dagli istiociti all'interno della zona ricca di cellule T sarebbe in grado di indurre un esaurimento della risposta T-cellulare [53].
Le cellule CD4 positive esprimendo PD-1 nel follicolo dei pazienti affetti da LF sembrano perdere la loro capacità di reattività citochinica. La dimostrazione di segnali di soppressione evidenziati in vivo dalle cellule T infiltranti nel LF ha portato allo sviluppo di anticorpi anti-PD-1 allo scopo di interrompere il legame tra PD-1 e PD-L1 [54]. Il blocco di PD-1 e PDL-1 tramite anticorpi specifici determina la riattivazione della morte cellulare T-mediata, determinando un ripristino dell'immunità anti-tumore.
In uno studio di fase II, è stata valutata l'associazione tra pidilizumab, un MoAb umanizzato anti-PD-1 e il rituximab in pazienti con LF recidivato/refrattario. Sono stati inclusi 32 pazienti e la combinazione è stata ben tollerata. L'ORR è stata del 66% con il 52% di RC e la PFS mediana era 18,8 mesi, dato che suggerisce come tale associazione possa essere un promettente approccio terapeutico.
Un altro MoAb anti-PD-1, il nivolumab o MK-3475, ha mostrato efficacia nel melanoma e nel linfoma di Hodgkin [55]. Un ulteriore studio con l'utilizzo del nivolumab è attualmente in corso (NCT02038946).
Nel melanoma, nella prostata e nel tumore dell'ovaio l'anti-CTLA-4, ipilimumab, ha dimostrato efficacia clinica nel migliorare la resistenza ospite-tumore.
Tali anticorpi sono in corso di valutazione nei linfomi a cellule B. In uno studio di fase I l'ipilimumab è stato somministrato a 18 pazienti affetti da LNH a cellule B recidivato/refrattario, il trattamento è stato ben tollerato e 2 pazienti hanno ottenuto una risposta clinica: 1 paziente con DLBCL ha ottenuto una RC (> 31 mesi) e un paziente con LF ha ottenuto un RP (19 mesi). Nel

31% dei pazienti si era verificato un aumento della proliferazione delle cellule T [56]. È in corso di valutazione (NCT 01953692) l'utilizzo del penbrolizumab.

Inibitori del *B-cell receptor*

Inibitori Bruton tirosin-chinasi

L'ibrutin è un inibitore della Bruton tirosin-chinasi (BTK), che ha mostrato sorprendenti risultati nel trattamento di diverse patologie linfoproliferative, tra cui la LLC e MCL.

Nel LF, ibrutinib è stato valutato in un piccolo studio di fase I, in cui sono stati arruolati 16 pazienti con LF recidivato/refrattario [57]. Ibrutinib è stato somministrato per via orale una volta al giorno a diversi dosaggi. L'efficacia è stata valutata in pazienti trattati con 2,5 mg/kg o più e il numero mediano di precedenti terapie era 3, il 100% dei pazienti aveva ricevuto rituximab.

In più del 25% dei pazienti trattati, gli eventi avversi più frequenti sono stati la diarrea (50%), l'astenia (44%), la nausea (38%), la tosse (31%) e le mialgie (25%). Per gli 11 pazienti valutabili per l'efficacia, la ORR è stata del 54,5%, la durata della risposta 12,3 mesi e la PFS mediana di 13,4 mesi. Sulla base dei risultati precedenti la dose consigliata per il successivo studio di fase 2 è stata definita in 5mg/kg/die.

Altri studi di fase II sono in corso con ibrutinib da solo o in associazione per pazienti con LF. Nei pazienti con LF rituximab-refrattario un trial (NCT01849263) sta attualmente reclutando e valutando ibrutinib in monoterapia. Al momento è in corso un ulteriore studio per pazienti con LF (NCT01980654) che valuta l'associazione di rituximab e ibrutinib.

Un altro farmaco che si sta facendo sempre più strada nel trattamento delle patologie linfoproliferative è l'idelalisib; si tratta di un inibitore orale della fosfatidilinositolo 3-chinasi subunità δ. L'attivazione del PI3K è alla base dell'attivazione di molti enzimi intracellulari e di *pathway* capaci di indurre la proliferazione, la sopravvivenza e la motilità cellulare. Esistono quattro diverse subunità catalitiche di PI3K: α, β, γ e δ. Le isoforme α e β sono ampiamente espresse in molti tessuti, mentre la γ e δ sembrano essere specifici del sistema ematopoietico. L'isoforma δ svolge un ruolo chiave nello sviluppo e nella funzione delle cellule B come trasduttore di segnali cellulari di superficie. Questa subunità è un bersaglio ideale per la terapia del linfoma. La fase I dello studio Flinn et al [58] ha previsto la somministrazione di idelalisib in 64 pazienti con LNH indolente recidivato. Gli EA più frequenti sono stati diarrea (36%), astenia (36%), nausea (25%), rash (25%), piressia (20%) e brividi (20%). Le principali alterazioni ematologiche sono state neutropenia, anemia, trombocitopenia e l'innalzamento delle transaminasi sieriche. Il protocollo è stato interrotto a causa degli AE nel 19% dei pazienti. L'ORR è stata del 47%, con durata della risposta di 18,4 mesi e con una PFS mediana di 7,6 mesi.

Basandosi su questa promettente attività anti-tumorale, uno studio internazionale fase II è stato condotto in una popolazione di pazienti refrattari al rituximab e agli agenti alchilanti. Questi 125 pazienti (di cui 72 LF) hanno ricevuto idelalisib 150 mg due volte al giorno fino a progressione [59]. L'ORR è stata del 57% con il 6% di RC e la durata mediana della risposta di 12,5 mesi, la popolazione in studio era costituita da pazienti pesantemente pretrattati e altamente resistenti.

Il profilo di sicurezza è stato tollerabile con il 13% di diarrea di grado ≥3, il 7% di polmonite di grado ≥3 e neutropenia frequenti. L'aumento delle transaminasi, evento non raro, si è risolto con la temporanea interruzione del farmaco.

È interessante notare che il trattamento ha indotto un miglioramento in termini di qualità di vita nei pazienti [60]. Sulla base di questi risultati, uno studio di fase III valuterà la sicurezza e l'efficacia di idelalisib rispetto al placebo in combinazione con rituximab in pazienti precedentemente trattati affetti da LNH indolente (NCT01732913). Al momento sono in via di sviluppo altri inibitori PI3K rivolti a due diverse subunità cellulari.

Uno studio di fase I recentemente riportato all'ASCO (società americana di Oncologia Clinica) ha mostrato risultati promettenti per l'inibitore delle subunità δ e γ (IPI-145) in coorti di pazienti affetti da LNH indolente [61].

Uno studio di fase II sta valutando il copansilib, un ulteriore PI3K rivolto verso la subunità α e δ[62].

Inibitori del BCL2

Nel LF è ormai indubbio il ruolo patogenetico dell'overespressione di BCL2. Al momento sono in fase di studio agenti capaci di inibire l'attività del BCL2. Obatoclax promuove l'apoptosi e ha dato promettenti risultati in altri tumori maligni delle cellule B, principalmente CLL. L'ABT-199 è una piccola molecola dotata di attività inibitrice nei confronti del BCL2, somministrato per via orale, valutato in un recente studio di fase I comprendente LNH LF recidivato/refrattario [63]. Sono stati arruolati 44 pazienti, di cui 11 (26%) affetti da LF; i principali eventi avversi sono stati la nausea (34%) le infezioni delle vie respiratorie (27%), la diarrea (25%) e l'astenia (21%).

La sindrome da lisi tumorale di grado 3 si è verificata dopo la prima somministrazione in un paziente con diagnosi di MCL e un paziente affetto da DLBCL. L'efficacia è stata valutata in 40 pazienti e l'ORR è stata del 48% (3/11 per LF). In tutti pazienti, affetti da LF o DLBCL, le risposte ottenute si sono verificate con una posologia superiore ai 600 mg. Al momento è in fase di arruolamento lo studio di fase II CONTRALTO che prevede la somministrazione dell'ABT 199 in pazienti con LF refrattari/recidivati, alla dose standard di 800 mg /die per la durata di 1 anno associato alla somministrazione settimanale di rituximab.

Conclusioni

L'introduzione del rituximab nel trattamento dei LF ha radicalmente modificato l'outcome del pazienti con linfoma follicolare sia con il suo impiego come agente singolo che in associazione alla chemioterapia. Tuttavia molti pazienti continuano a recidivare e soprattutto per i pazienti in recidiva precoce entro due anni dalla terapia di induzione o in corso di mantenimento, l'aspettativa di vita è sensibilmente ridotta. L'ampia disponibilità di nuovi anticorpi monoclonali e nuovi inibitori di *pathways* specifici della proliferazione delle cellule linfomatose, sopra esposti, ha permesso un sensibile miglioramento della prognosi dei pazienti recidivati e per la prima volta la possibilità di una approccio terapeutico *chemo-free* che si è rilevato molto efficace anche in prima linea terapeutica. Gli attuali e futuri studi clinici in corso potranno rapidamente chiarire meglio il ruolo di ciascuno di questi nuovi farmaci o le loro potenziali associazioni.

Bibliografia

1. Ganti AK, Bociek RG, Bierman PJ, Enke CA, Vose JM, Armitage JO. Follicular lymphoma: expanding therapeutic options. Oncology. 2005;19(2):213-239.
2. Morton LM, Turner JJ, Certhan JR, Linet MS, Treseler PA, Clarke CA, et al. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphom Epidemiology Consortium (InterLymph). Blood. 2007;110(2):695-708.
3. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Alterkruse SF, et al. SEER Cancer Statistic Rewiew, 1975-2009. Bethesda: National Cancer Institude.
4. Harris N, Swerdlow S, Jaffe E, Ott G, Nathwani B, de Jong D, et al. Follicular Lymphoma. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 2008;220-226.
5. Bierman PJ. Natural history of follicular grade 3 non Hodgkin's lymphoma. Curr Opin Oncol. 2007;19(5):433-437.
6. Peterson BA, Petroni GR, Frizzera G, Barcos M, Bloomfield CD, Nissen NI et al. Prolonged single agent versus combination chemoterapy in indolent follicular lymphomas: a study of the cancer and leukemia group B. J Clin Oncol. 2003;21(1):5-15.
7. Czuczman MS, Fallon A, Mohr A,Bernstein ZP, McCarthy P, Skipper M, et al. Rituximab in combination with CHOP or fludarabine in low-grade lymphoma. Semin Oncol. 2002;29(1):36-40.
8. Hiddeman W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood. 2005;106(12):3725-32.
9. Marcus R, Imirie K, Belch A, Cunningham D, Flores E, Catalano J, et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first line treatment for advanced follicular lymphoma. Blood. 2005;105(4):1417-23
10. Maloney DG, Grillo-López AJ, Bodkin DJ, White CA, Royston I,Warns C et al. IDEC-C2B8: results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 1997;15(10):3266-3274.
11. Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK, Waldichuk C, Rosenberg J, Grillo-Lopez A et al. Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B cell lymphoma. Blood. 1994;84(8):2457-2466.
12. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. J Clin Oncol. 1998;16(8):2825-33.
13. Feuring-Buske M, Kneba M, Unterhalt M, Engert A, Gramatzki M, Hiller E et al. IDEC-C2B8 (rituximab) anti-CD20 antibody treatment in relapsed advanced-stage follicular lymphomas: results of a phase-II study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Ann Hematol. 2000;79(9):493-500.
14. Piro LD, White CA, Grillo-Lopez AJ, Janakiraman N, Beck TM, Varns C et al. Extended rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) therapy for relapsed or refractory low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 1999;10(6):655-61.
15. Colombat P, Salles G, Brousse N, Eftekhari P, Soubeyran P, Delwail V et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumor burden: clinical and molecular evaluation. Blood. 2001;97(1):101-106.
16. Colombat P, Brousse N, Salles G, Morschhauser F, Brice P, Soubeyran P et al. Rituximab induction immunotherapy for first-line low tumor-burden follicular lymphoma: survival analyses with 7-year follow up. Ann. Oncol. 2012;23(9):2380-2385.
17. Ghielmini M, Schmitz S-FH, Cogliatti SB, Pichert G, Hummerjohann J, Waltzer U, et al. Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly x 4 schedule. Blood. 2004;103(12):4416-4423.
18. Ghielmini M, Rufibach K, Salles G, Leroncini-Francisci, Cogliatti S, Fey M et al. Single agent rituximab in patients with follicular or mantle cell lymphoma: clinical and biological factors that are predictive of response and event free survival as well as the effect of rituximab on the immune system: a study of the Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). Ann. Oncol. 2005;16(10):1675-1682.
19. Dall'Ozzo S, Tartas S, Paintaud G, Cartron G, Colombat P, Bardos P et al. Rituximab-dependent cytotoxicity by natural killer cells: influence of FCGR3A polymorphism on the concentration-effect relationship. Cancer Res. 2004;64(13):4664-4669.
20. Cartron G, Dacheux L, Salles G, Bardos P, Colombat P et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcgammaRIIIa gene. Blood. 2002;99(3):754-758.
21. Mossner E, Brunker P, Moser S, Puntener U, Schmidt C, Herter S et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new tipe II anti CD20 antybody with enhanced direct and immune effector cell-mediated B-cell cytotoxicity. Blood. 2010;115(22):4393-402.
22. Hertes S, Herting F, Waldhauer I, Mundigl O, Weinzierl T, Fauti T et al. Preclinical activity of the tipe II CD20 antibody GA101 (obinutuzumab) compared with rituximab and ofatumumab in vitro and in xenograft models. Mol Cancer Ther. 2013;12(10):2031-42.
23. Sehn LH, Assouline SE, Stewart DA, Mangel J, Gascoyne RD, Fine G et al. A phase 1 study of obinutuzumab induction followed by 2 years of manteinance in patients with releapsed CD20-positive B-cell malignancies. Blood. 2012;119(22):5118-25.
24. Sehn LH, Goy A, Offner FC, Martinelli G, Caballero MD, Gadeberg O et al. Randomized Phase II trial Comparing GA101 (obinutuzumab) with rituximab in Patients with relapsed CD20 Indolent B-Cell Non Hodgkin Lymphoma: Preliminary Analisys of the GAUSS Study. Blood. 2011;118:A269.
25. Salles G, Morschhauser F, Lamy T, Milpied N, Thieblemont C, Tilly H et al. Phase 1 study results of the type II glycoengineered humanized anti-CD20 monoclonal antibody obinutuzumab (GA101) in B-cell lymphoma patients. Blood. 2012;119(22):5126-32.

26. Salles G, Morschhauser F, Solal-Céligny P, Thieblemont C, Lamy T, Tilly H, et al. Obinutuzumab (GA101) in Patients with relapsed/Refractory Indolent Non Hodgkin lymphoma: result From the Phase II GAUGUIN Study. J Clin Oncol. 2013;31(23):2920-6.

27. Hagenbeek A, Gadeberg O, Johnson P, Pedersen LM, Hellmaan A,Walewski J. et al. First clinical use of ofatumumab, a novel fully human anti-CD20 monoclonal antibody in relapsed or refractory follicular lymphoma: results of a phase 1/2 trial. Blood. 2008;111(12):5486-95.

28. Czuczman MS, Fayad L, Delwail V, Cartron G, Jacobsen E, Kuliczkowski K, et al. Ofatumumab monotherapy in rituximab-refractory follicular lymphoma: results from a multicenter study. Blood. 2012;119(16):3698-704.

29. Negrea GO, Elstrom R, Allen SL, Rai KR, Abbassed RM, Farber CM et al. Subcutaneous injections of low-dose veltuzumab (humanized anti-CD20 antibody) are safe and active in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma. Haematologica. 2011;96(4):567-73.

30. Morschhauser F, Leonard JP, Fayad L, Coiffier B, Petillon MO, Coleman M, et al. Humanized anti-CD20 antibody, veltuzumab, in refractory/recurrent non-Hodgkin's lymphoma: phase I/II results. J Clin Oncol. 2009;27(20):3346-53.

31. O'Connor OA, Deng C, Amengual JE, Khalil MY, Shreeder MT, Mahadevan D et al. A phase I trial of ublituximab (TG-1101), a novel glycoengineered anti-CD20 monoclonal antibody (mAb) in B-cell nonHodgkin lymphoma patients with prior exposure to rituximab. J Clin Oncol. 2014;32(5):A8524.

32. Salles G, Morschhauser F, Lamy T, Milpied N, Thieblemont C, Tilly H, et al. Phase 1 study results of the type II glycoengineered humanized anti-CD20 monoclonal antibody obinutuzumab (GA101) in B-cell lymphoma patients. Blood. 2012;119(22):5126-32.

33. Cartron G, Zhao-Yang L, Baudard M, Kanouni T, Rouille' V, Quittet P, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor potentiates rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: results of a phase II study. J. Clin. Oncol. 2008;26(16):2725-2731.

34. Gluck WL, Hurst D, Yuen A, Levine AM, Dayton MA, Gockerman JP et al. Phase I studies of interleukin (IL)-2 and rituximab in B-cell non-Hodgkin's lymphoma: IL-2 mediated natural killer cell expansion correlations with clinical response. Clin Cancer Res. 2004;10(7):2253-2264.

35. Kimby E, Ostenstad B, Brown P de N, Holte HJ, Hangberg H,Herlanson M et al. Rituximab (R) in Combination with Interferon-α2a (IFN) Versus Single R in Patients with Follicular or Other CD20+ Low-Grade (indolent) Lymphoma. Final Results From a Randomized Phase III Study From the Nordic Lymphoma Group. ASH Annual Meeting Abstracts. 2012;120(21):794.

36. Modak S, Koehne G, Vickers A, O'Reilly RJ, Cheung N-KV. Rituximab therapy of lymphoma is enhanced by orally administered (1-->3),(1-->4)-D-beta-glucan. Leuk Res. 2005;29(6):679-683.

37. Leonard JP, Coleman M, Ketas JC,Chadburn A, Ely S, Furman RR, et al. Phase I/II trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) in indolent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2003;21(16):3051-9.

38. Leonard JP, Schuster SJ, Emmanouilides C,Couture F, Teoh N,Wegener WA et al. Durable complete responses from therapy with combined epratuzumab and rituximab: final results from an international multicenter, phase 2 study in recurrent, indolent, non-Hodgkin lymphoma. Cancer. 2008;113(10):2714-2723.

39. Strauss SJ, Morschhauser F, Rech J, Repp R, Solal-Celigny P, Zinzani PL et al. Multicenter phase II trial of immunotherapy with the humanized anti-CD22 antibody, epratuzumab, in combination with rituximab, in refractory or recurrent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2006;24(24):3880-3886.

40. Grant BW, Jung SH, Johnson JL,Kostakoglu L, His E ,Byrd JC et al. A phase 2 trial of extended induction epratuzumab and rituximab for previously untreated follicular lymphoma: CALGB 50701. Cancer. 2013;119(21):3797-804.

41. Byrd JC, Pagel JM, Awan FT, Forero A,Flinn IW, Deauna-Limayo DP et al. A phase 1 study evaluating the safety and tolerability of otlertuzumab, an anti-CD37 mono-specific ADAPTIR therapeutic protein in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2014;123(9):1302-8.

42. Gopal AK, Tarantolo SR, Bellam N, Green DJ, Griffin M, Feldman T, et al. Phase 1b study of otlertuzumab (TRU-016), an anti-CD37 monospecific ADAPTIR™ therapeutic protein, in combination with rituximab and bendamustine in relapsed indolent lymphoma patients. Invest New Drugs. 2014;32(6):1213-25.

43. Gopal AK, Tarantolo SR, Bellam N, Green DJ, Griffin M, Feldman T et al. Phase 1b Study of TRU-016, an Anti-CD37 SMIPTM Protein, in Combination with rituximab and Bendamustine in Relapsed Indolent Lymphoma. Blood. 2012;120:Abstract3678.

44. Stein R, Mattes MJ, Cardillo TM, Hansen HJ, Chang CH, Burton J et al. CD74: A New Candidate Target for the Immunotherapy of B-Cell Neoplasms. Clinical Cancer Research. 2007;13(18):5556s-5563s.

45. Alinari L, Yu B, Christian BA, Shin J, Lapalombella R, Hertlein E et al. Combination anti-CD74 (milatuzumab) and anti-CD20 (rituximab) monoclonal antibody therapy has in vitro and in vivo activity in mantle cell lymphoma. Blood. 2011;117(17):4530-4541.

46. Kaufman JL, Niesvizky R, Stadtmauer EA, Chanan-Khan A, Siegel D, Horne H et al. Dose-escalation trial of milatuzumab (humanized anti-CD74 monoclonal antibody) in multiple myeloma. J Clin Oncol 2009;27(15S):8593.

47. Christian B, Alinari L, Earl CT, Benson DM, Flinn JM, Porcu P et al. A Phase I Study of Milatuzumab, a Humanized Anti-CD74 Antibody, and Veltuzumab, a Humanized Anti-CD20 Antibody, In Patients with Relapsed and Refractory B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. ASH annual Meeting Abstract. 2011;118(21):3707.

48. Czuczman MS, Thall A, Witzig TE,Vose JM, Younes A, Emmanouilides C et al. Phase I/II study of galiximab, an anti-CD80 antibody, for relapsed or refractory follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2005;23(19):4390-8.

49. LeonardJP, Friedberg JW, Younes A, Fischer D, Gordon LI, Moore J et al. A phase I/II study of galiximab (an anti-CD80 monoclonal antibody) in combination with rituximab for relapsed or refractory, follicular lymphoma. Ann Oncol. 2007;18(7):1216-23.

50. Czucman MS, Leonard JP, Jung S, Johnson JL, His ED, Byrd JC et al. Phase II trial of galiximab (anti-CD80 monoclonal antybody) plus rituximab (CALGB 50402): Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) score is predictive of upfront immunotherapy responsiveness. Ann Oncol. 2012;23 (9):2356-62.

51. Viardot A, Goebeler M, Scheele JS, Zugmaier G, Noppeney R Knop S et al. Treatment of Patients with Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) with CD19/CD3 Bispecific Antibody Blinatumomab (MT103): Double-Step Dose Increase to Continuous Infusion of 60 {micro}g/m2/d Is Tolerable and Highly Effective. ASH Annual Meeting Abstracts. 2010;116(21):2880.

52. Gupta P, Goldenberg DM, Rossi EA, Cardillo TM, Byrd JC, Muthusamy N et al. Dual-targeting immunotherapy of lymphoma: potent cytotoxicity of anti-CD20/CD74 bispecific antibodies in mantle cell and other lymphomas. Blood. 2012;119(16):3767-3778.

53. Myklebust JH, Irish JM, Brody J, Houot R, Kohrt HE, Timmerman J et al. High PD-1 expression and suppressed cytokine signaling distinguish T cells infiltrating follicular lymphoma tumors from peripheral T cells. Blood. 2013;121(8):1367-76.

54. Westin JR, Chu F, Zhang M, Fayad LE, Kwak LW, Fowler N et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, openlabel phase 2 trial. Lancet Oncol. 2014;15(1):69-77.

55. Ansell SM1, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med. 2015;372(4):311-9.

56. Ansell SM, Hurvitz SA, Koenig PA, LaPlant BR, Kabat BF, Fernando D et al. Phase I Study of Ipilimumab, an Anti-CTLA-4 Monoclonal Antibody, in Patients with Relapsed and Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. Clinical Cancer Research. 2009;15(20):6446-6453.

57. Fowler NH, Advani RH, Sharman J, Smith SM, McGreivy J, Kunkel L, et al. The Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor Ibrutinib (PCI-32765) Is Active and Tolerated in Relapsed Follicular Lymphoma. ASH Annual Meeting. 2012;120(21):A156.

58. Flinn IW, Kahl BS, Leonard JP, Furman RR, Brown JR, Byrd JC et al. Idelalisib, a selective inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase-delta, as therapy for previously treated indolent non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2014;123(22):3406-13.

59. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S, Wagner-Johnson ND, Schuster SJ, Jurczak WJ et

al. PI3Kdelta inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. N Engl J Med. 2014;370(11):1008-18.
60. Wagner-Johnston N, Gopal A, Kahl B. Patient-reported outcomes data from a phase 2 study of idelalisib in patients with refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma (iNHL). J Clin Oncol. ASCO Annual Meeting. 2014;32:A19554.
61. Flinn IW, Horwitz SM, Patel M, Younes A, Porter JR, Sweeney J et al. Clinical Safety and Activity in a Phase 1 Trial of IPI-145, a Potent Inhibitor of Phosphoinositide-3-Kinase-{delta},{gamma}, in Patients with Advanced Hematologic Malignancies. ASH Annual Meeting Abstracts. 2012;120(21):3663.
62. Dreyling M, Morschhauser F, Bron D, Bouabdallah K, Vitolo U, Linton M et al. Preliminary Results of a Phase II Study of Single Agent Bay 80-6946, a Novel PI3K Inhibitor, In Patients With Relapsed/Refractory, Indolent or Aggressive Lymphoma. Blood. 2013;122(21):87-87.
63. Davids MS, Seymour JF, Gerecitano JF, Kahl BS, Pagel JM, Wierda WG et al. Phase I study of ABT199 (GDC-0199) in patients with relapsed/refractory (R/R) non Hodgkin lymphoma (NHL): responses observed in diffuse large B-cell (DLBCL) and follicular lymphoma (FL) at higher cohort doses. J Clin Oncol (ASCO Annual Meeting). 2014;32:A8522.

Parole Chiave

Linfoma follicolare, anticorpi monoclonali, nuovi trattamenti

Indirizzi per la corrispondenza

Umberto Vitolo, M.D
S.C. Ematologia, Dipartimento di Oncologia ed Ematologia
A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino
C.so Bramante 88/90, 10126 Torino
Tel. +39 0116335934/5550
Fax: +39 0116335550
E mail: uvitolo@cittadellasalute.to.it

Trapianto di cellule staminali

Corrado Tarella[1,2], Angela Gueli[1], Simona Sammassimo[1], Anna Vanazzi[1]

[1] *Divisione di Onco-Ematologia, Istituto Europeo di Oncologia – Milano, Italy*
[2] *Dip. Biotecnologie Molecolari e Scienze Salute, Università di Torino*

Trapianto autologo

Epoca pre-rituximab

Il linfoma follicolare (LF), nonostante il decorso clinico indolente e le buone possibilità di risposta alla chemio-immunoterapia, resta una patologia di difficile se non impossibile eradicazione, almeno con gli approcci terapeutici cosiddetti convenzionali, ovvero di tipo non trapiantologico. In effetti, una non trascurabile porzione di pazienti va incontro, nel corso degli anni, a recidiva di malattia e le ricadute successive possono condurre, a lungo termine, a situazioni di difficile gestione, con un esito nel tempo fatale. È proprio nell'ottica di offrire opportunità terapeutiche con maggiore efficacia anti-tumorale che fu introdotto e si è sviluppato l'approccio del trapianto con cellule staminali, conosciuto più semplicemente come trapianto di midollo. Tale strategia ha avuto un ruolo rilevante nel periodo antecedente l'introduzione dei nuovi farmaci non-chemioterapici, in particolare nella cosiddetta era pre-rituximab. Tuttavia, ancora oggi, nell'era della chemio-immunoterapia e dei farmaci intelligenti a bersaglio molecolare, vi sono situazioni ove occorre sfruttare le possibilità del trapianto, sia di tipo autologo che allogenico. In epoca pre-rituximab, negli ultimi decenni del '900, la sopravvivenza libera da malattia nel LF era decisamente scarsa, intorno al 25% a 10 anni, senza un plateau nelle curve di sopravvivenza [(1)]. Sulla base di questi sfavorevoli dati di sopravvivenza si pensò di sviluppare nuove strategie terapeutiche e si orientò l'attenzione all'approccio con trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche (auto-SCT). Tale procedura veniva allora validata nel trattamento della recidiva dei linfomi aggressivi: rispetto ai risultati ottenuti con la chemioterapia convenzionale, si poteva infatti osservare un significativo miglioramento in termini di risposte, di sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza globale [(2)]. Negli anni successivi, visti i risultati nei linfomi aggressivi, l'approccio con auto-SCT venne esteso anche ai pazienti con linfoma di basso grado in recidiva [(3)].

L'uso di progenitori emopoietici mobilizzati nel sangue periferico, PBSC (*peripheral blood stem cells*) come supporto alla chemioterapia ad alte dosi aveva permesso di ridurre drasticamente la tossicità ematologica di questo approccio [(4,5)]. Con l'uso delle PBSC e con il generale miglioramento delle procedure trapiantologiche, l'impiego dell'auto-SCT si è progressivamente esteso ed ha potuto essere utilizzato anche in fasi precoci di malattia, con risultati in termini di sopravvivenza senza malattia e di sopravvivenza globale molto soddisfacenti [(6-12)]. Può essere citato come esemplificativo, lo studio retrospettivo su 111 pazienti affetti da LF in stadio avanzato (stadio III, IV o II *bulky*), sottoposti ad auto-SCT alla diagnosi oppure in recidiva dopo chemioterapia convenzionale [(6)]. Complessivamente, si osservò un miglioramento della sopravvivenza globale, soprattutto nei pazienti trattati in fasi precoci di malattia. I riscontri favorevoli sono rappresentati dall'andamento generale, con una sopravvivenza globale a 44,2 mesi dal trapianto che risultava dell'83% e una sopravvivenza libera da recidiva del 64%, valori decisamente superiori a quanto si poteva ottenere in quell'epoca con la chemioterapia convenzionale. In analisi multivariata risultavano come fattori prognostici sfavorevoli indipendenti l'interessamento di un numero di sedi linfonodali superiore a 8 e la tempistica dell'autotrapianto, in fase di remissione successiva alla prima [(6)]. I risultati, confermati anche da altri studi, indicavano chiaramente l'efficacia dell'auto-SCT e suggerivano di impiegare tale approccio in fasi precoci di malattia [(3-9)].

Con l'uso di approcci intensificati, sin dall'esordio di malattia, si potè osservare la elevata sensibilità del LF al trattamento ad alte dosi con auto-SCT. In particolare, uno studio collaborativo dei gruppi di Milano e Torino con il programma i-HDS (*intensified-high dose sequential regimen*) potè verificare che nei pazienti con LF, sottoposti in prima linea a trattamento intensificato e auto-SCT per malattia a presentazione molto sfavorevole, le aspettative di vita a 12 anni risultavano del 76%, con una elevata possibilità di sopravvivenza senza segni di progressione (PFS), a 12 anni del 60% [(13)]. Inoltre, si potè verificare la possibilità, per i pazienti con LF, di ottenere una remissione molecolare, che poteva essere mantenuta a lungo dall'iniziale trattamento. Tale osservazione, indipendentemente dalla problematica del trapianto, poneva le basi per considerare il LF una

neoplasia potenzialmente eradicabile o, per lo meno, una neoplasia con possibilità di sopravvivenza superiore a 10 anni, senza segni di recidive di malattia.

In Italia, sono stati prodotti risultati di rilievo, impiegando in studi policentrici l'approccio di terapia sequenziale ad alte dosi, a suo tempo sviluppato dai gruppi di Milano e Torino [4,5, 8]. I risultati dello studio prospettico del Gruppo Italiano di Trapianto di Midollo (GITMO) sono stati di rilievo, in quanto hanno permesso di confermare, su una ampia casistica gestita a livello policentrico, che il LF in stadio avanzato, trattato all'esordio con alte dosi e auto-SCT, ha elevate possibilità di ottenere la remissione clinica (RC), con buone probabilità che la malattia minima residua non sia più molecolarmente rilevabile [14]. Complessivamente, nei 92 pazienti dello studio, la RC risultò del 88%, con proiezioni a 4 anni del 84% per la sopravvivenza globale e del 67% per la sopravvivenza senza recidive (DFS). Tali risultati erano impensabili con i soli approcci di chemioterapia convenzionale, specialmente in LF con presentazione clinica avanzata e a prognosi sfavorevole. Va sottolineato il valore dello studio, in quanto i risultati, per quel tempo molto lusinghieri, furono ottenuti in uno studio clinico condotto prospetticamente a livello multicentrico. Inoltre, ad un successivo follow up, si potè osservare che la buona risposta si manteneva a lungo termine, con effetti tossici tardivi contenuti [15].

In conclusione, l'auto-SCT ha rappresentato una importante alternativa terapeutica, in un'epoca ove i trattamenti convenzionali non consentivano di ottenere significativi risultati, in termini di ottenimento di remissioni durature e con un andamento a lungo termine inevitabilmente fatale. Molti pazienti, soprattutto quelli trattati in fasi precoci di malattia, hanno potuto beneficiare dell'auto-SCT, migliorando le proprie aspettative di vita e la sopravvivenza libera da malattia. Infine, l'approccio intensificato con auto-SCT ha cambiato l'approccio al paziente con LF, dimostrando che anche in questo tipo di linfoma può essere ottenuta la RC e la massima riduzione della malattia linfomatosa è la premessa essenziale per poter ottenere prolungate sopravvivenze.

Eradicazione della malattia minima residua

Con l'introduzione della terapia ad alte dosi e l'auto-SCT, risultava quindi chiaro che il LF è in genere una neoplasia chemio-sensibile e la regressione della malattia ha un ruolo rilevante per l'andamento a lungo termine. Al riguardo, va segnalato il riscontro che tra i pazienti avviati all'auto-SCT, quelli che avevano ottenuto la RC al tempo della mobilizzazione avevano infatti una migliore DFS [6]. In questa ottica, si iniziò a pensare di cercare di ottenere nel LF non solo la remissione clinica ma anche quella molecolare. La maggior parte dei pazienti affetti da LF presenta la traslocazione t(14;18) con posizionamento dell'oncogene bcl-2 accanto al gene per le catene pesanti delle immunoglobuline. Sfruttando sia la traslocazione del bcl-2 che il riarrangiamento clonale del gene per le catene pesanti delle immunoglobuline (IgH), è possibile individuare mediante la metodica di PCR (reazione polimerasica a catena) anche una singola cellula tumorale tra 10^4-10^5 cellule normali. È questa la procedura per la determinazione della cosiddetta malattia minima residua (MMR) o malattia molecolare, che si è sviluppata proprio nel LF, a seguito dell'impiego di trattamenti intensificati [16].

Pioniere nello sviluppo dello studio della MMR nel LF è stato il gruppo del Dana Farber di Boston, coordinato dal Prof. Nadler [17]. Lo studio di questo gruppo fu rivoluzionario, per diversi motivi. Innanzitutto si introdusse in clinica il concetto di ottenimento della remissione molecolare. Da allora, questo obiettivo è stato inserito nel trattamento non solo del linfoma follicolare ma anche di molte altre neoplasie, ove si può seguire l'andamento della MMR. Inoltre, lo studio del gruppo del Dana Farber fece vedere, per la prima volta, che cellule midollari possono essere manipolate in vitro con l'obiettivo di eliminare la contaminazione tumorale residua, procedura nota come *purging*, o purificazione, in vitro. Le cellule staminali purificate poterono poi essere reinfuse ai pazienti, con ottenimento anche in vivo della remissione molecolare [17]. A dare maggior rilevanza a questo studio fu la valutazione dell'andamento clinico a distanza dall'auto-SCT, che dimostrò come l'ottenimento della negatività della PCR, ovvero la probabile eradicazione della malattia minima residua, era associata a una minore probabilità di recidiva, con chiari benefici di sopravvivenza libera da malattia [18,19].

Con i lavori pubblicati negli anni '90 dal gruppo del Dana Farber, la valutazione della MMR è diventata parte integrante del trattamento per i LF, soprattutto per i pazienti ad alto rischio, avviati a programmi intensivi ed auto-SCT. Il monitoraggio della remissione molecolare è stata anche una costante degli studi, condotti in Italia, con il programma HDS e sicuramente originale è stata la nostra osservazione che la negativizzazione della PCR può essere ottenuta in vivo con programmi di chemioterapia intensificata, senza dover ricorrere alle procedure di manipolazione in vitro. Nell'iniziale studio condotto dal nostro gruppo a Torino, fu possibile dimostrare che:

i) le cellule periferiche mobilizzate (PBSC) possono essere PCR negative, ovvero presumibilmente prive di contaminazione tumorale, se la raccolta viene effettuata dopo un adeguato trattamento chemioterapico di purificazione in vivo;

ii.) il trapianto con PBSC PCR negative è la premessa per ottenere la remissione clinica e molecolare dopo l'auto-SCT;

iii) la PCR negatività è ottenibile in una percentuale di pazienti significativamente elevata nei LF, mentre è molto meno frequentemente ottenibile, con la sola chemioterapia, in altre patologie linfoproliferative, quali il linfoma mantellare e il linfoma linfocitico [20].

Quest'ultima osservazione ribadisce la spiccata chemio-sensibilità del LF rispetto ad altri tipi di linfoma. Infine, i risultati qui riportati, insieme a quelli di altri gruppi, sottolineano l'importante ruolo avuto

dalle terapie intensificate con auto-SCT nel LF nell'introdurre e sviluppare una procedura di monitoraggio molecolare della malattia, che ha avuto un rilevante impatto nel miglioramento della gestione di molte neoplasie ematologiche, incluso ovviamente il LF.

Epoca rituximab

L'introduzione dell'anticorpo anti-CD20 ha comportato un significativo miglioramento nella terapia e nelle possibilità di sopravvivenza per i linfomi a cellule B, incluso il LF. In effetti, sin dalle iniziali osservazioni, era evidente la potente attività anti-linfoma dell'anticorpo [21]. Successivamente, molti studi hanno dimostrato l'efficacia della combinazione di chemioterapia convenzionale e rituximab, al momento l'approccio ideale per il LF in stadio avanzato [22-23]. Grazie al marcato incremento dell'efficacia anti-tumorale, gli obiettivi della terapia, un tempo essenzialmente ottenibili con l'auto-SCT, ovvero la duratura RC e la remissione molecolare, sono ora abitualmente raggiungibili con la chemio-immunoterapia. In particolare, si è osservato che con combinazioni quali CHOP e rituximab, senza necessariamente ricorrere alla chemioterapia ad alte dosi e dell'autotrapianto, si può ottenere la negativizzazione in PCR della MMR [24]. Anche in questo caso, l'abbattimento della MMR sembra avere un rilevante impatto nell'andamento a lungo termine, come osservato in precedenza nei pazienti sottoposti ad auto-SCT [16, 25].

Parallelamente al miglioramento della chemioterapia, l'introduzione del rituximab ha portato ad una maggiore efficacia anche dei programmi intensivi con auto-SCT. Sfruttando l'efficacia dell'anticorpo monoclonale nell'eliminare le cellule linfomatose circolanti, il rituximab è stato incluso nei programmi di mobilizzazione, con lo scopo di ridurre se non rimuovere del tutto la contaminazione tumorale nelle raccolte di PBSC. In effetti, sin dalla prima sperimentazione, condotta con il programma HDS, si osservò un potente effetto di *purging* in vivo, con raccolte di PBSC purificate da cellule contaminanti, identificabili in PCR, nella maggior parte dei casi di linfoma avviati a mobilizzazione, raccolta e auto-trapianto [26]. I risultati iniziali furono confermati da altri gruppi [27-30]. L'aggiunta di rituximab per la raccolta di PBSC PCR negative risultò poi estremamente efficace proprio nel LF [29]. Sulla base di queste osservazioni e della importanza degli studi pubblicati, l'impiego del rituximab a scopo di *purging* in vivo è altamente raccomandato in tutti i pazienti con LF avviati a programmi di raccolta di PBSC e auto-SCT, così come è indispensabile il monitoraggio molecolare della MMR sulle raccolte di PBSC e nel monitoraggio clinico dopo il trapianto.

Il rituximab ha dunque offerto un duplice vantaggio ai programmi di auto-SCT: una maggiore attività antitumorale e un effetto di *purging* in vivo sui progenitori ottenuti da sangue periferico. Pertanto, non solo la chemioterapia convenzionale, ma anche l'auto-SCT ha potuto beneficiare dei vantaggi offerti dal rituximab. Si è quindi ottenuto un generale miglioramento delle possibilità di cura dell'auto-SCT combinando i programmi di chemioterapia intensificata con il rituximab. Tale fenomeno è stato ben dimostrato da una analisi condotta su un ampio numero di pazienti, 522 con diagnosi di linfoma diffuso a grandi cellule (DLB-CL) e 223 con LF, sottoposti ad alte dosi sequenziali di chemioterapia (HDS) e autotrapianto, con o senza rituximab [31]. L'andamento nel tempo è stato confrontato tra pazienti trattati con il solo programma HDS e quelli che hanno ricevuto un analogo schema supplementato con rituximab. Complessivamente, la sopravvivenza globale a 5 anni è risultata del 69% per i pazienti che avevano ricevuto l'auto-SCT con rituximab e del 60% per quelli che avevano ricevuto il programma con auto-SCT non supplementato da rituximab [31]. Il vantaggio dell'aggiunta del rituximab era evidente sia nei pazienti con DLB-CL che in quelli con LF. Il dato conferma l'indicazione a inserire il rituximab in programmi di terapia ad alte dosi con auto-SCT per i linfomi a cellule B.

Il miglioramento dell'efficacia terapeutica, grazie all'aggiunta del rituximab, sia della chemioterapia convenzionale che dell'approccio ad alte dosi con auto-SCT, non consentiva di chiarire quale fosse l'opzione ideale per il trattamento di prima linea dei LF, a presentazione clinica sfavorevole.

A tale quesito ha potuto dare una risposta il GITMO, in uno studio randomizzato condotto in congiunzione con l'Intergruppo Italiano Linfomi (IIL) [32]. Lo studio ha confrontato risposta clinica e molecolare e andamento a lungo termine in 136 pazienti con LF a presentazione clinica sfavorevole trattati in prima linea con R-CHOP o con R-HDS e auto-SCT. Ad un follow up mediano di 51 mesi, l'EFS a 4 anni è risultato del 61% rispetto al 28% ($p < 0{,}001$) a favore del gruppo auto-SCT rispetto a R-CHOP. Tuttavia non vennero rilevate differenze in termini di sopravvivenza globale (OS) rispetto ai due tipi di trattamento.

I risultati di questo studio sono stati decisamente rilevanti: si tratta del primo e sinora unico studio randomizzato, condotto in epoca rituximab e il gruppo dei centri italiani di GITMO e IIL ha potuto offrire alla comunità scientifica informazioni che hanno avuto un impatto nelle strategie di gestione dei LF. È ora chiaro che non vi sono vantaggi significativi con un programma di auto-SCT in prima linea rispetto ad un programma chemio-immunoterapico quale R-CHOP. Inoltre lo studio ha offerto altre informazioni.

In particolare, si è osservata una più alta incidenza di remissioni molecolari nel braccio del trapianto rispetto al braccio della terapia convenzionale (80% vs 44%). Tuttavia, i pazienti che hanno ottenuto la remissione molecolare, indipendentemente dal tipo di trattamento, ovvero R-CHOP o R-HDS, hanno avuto un significativo miglior andamento a lungo termine. Il dato conferma che l'ottenimento della massima riduzione di malattia, idealmente con il raggiungimento della remissione molecolare, è la premessa per una prolungata sopravvivenza. Infine, si è visto che pazienti trattati nel braccio della terapia convenzionale poi recidivati potevano essere avviati ad un

trattamento di salvataggio con auto-SCT, con buone possibilità di sopravvivenza senza malattia a 3 anni. Anche questa informazione è stata utile, dimostrando che dopo la chemio-immunoterapia restano possibilità di gestione anche con trattamenti intensificati in caso di LF recidivato. In conclusione, la storia dell'auto-SCT nei LF ha dimostrato come questo approccio sia evoluto negli anni, e abbia offerto importanti spunti per migliorare gli approcci diagnostici e terapeutici per i pazienti con LF, sia alla diagnosi che in fase di recidiva.
Gli studi condotti in Italia con i programmi HDS, dapprima senza e successivamente con rituximab, hanno sicuramente offerto informazioni importanti per la gestione dei pazienti con LF all'esordio di malattia, con presentazione clinica sfavorevole. A fronte di questo, sono stati ottenuti anche risultati clinici molto buoni. La Tabella 1 riassume i risultati più importanti, raccolti su un totale di 170 pazienti con LF, trattati nel corso di questi ultimi due decenni con programmi HDS in prima linea, in ambito di protocolli prospettici.
Come si può osservare, le risposte cliniche e la sopravvivenza sono stati decisamente favorevoli e rappresentano una importante base sulla quale cercare di migliorare ulteriormente le aspettative di vita per i pazienti con LF, potendo ora contare su nuove opportunità terapeutiche, più mirate e con effetti collaterali meglio tollerabili rispetto all'auto-SCT.

Parametro	n = (%)
No. pazienti valutabili[1]	170
Età (anni), mediana (range)	48 (25-71)
Programma HDS: - senza rituximab - con rituximab	105 (62) 65 (38)
Remissione Completa (RC)	148 (87)
Pazienti in remissione molecolare / pazienti molecolarmente valutabili	56/74 (76)
A un follow-up mediano di 10 anni: - pazienti vivi - pazienti vivi in 1° RC continua - proiezione OS a 15 anni[2] - proiezione DFS a 15 anni	 120 (70) 82 (48) 61 % 48 %

[1]L'analisi è stata effettuata su 170 pazienti valutabili per risposta e andamento nel tempo, tra i 185 arruolati in 3 protocolli consecutivi, condotti in Italia tra il 1991 e il 2005, che prevedevano trattamenti HDS con auto-SCT per pazienti con LF alla diagnosi;
[2]OS: sopravvivenza globale; DFS: sopravvivenza senza recidiva per i pazienti in RC.

***Tabella 1** – Principali risultati clinici in 170 pazienti con Linfoma Follicolare trattati in prima linea con programmi HDS nell'ambito di tre protocolli prospettici consecutivi.*

Epoca rituximab e farmaci a bersaglio molecolare

Come abbiamo visto, i risultati dello studio randomizzato GITMO/IIL sembrano escludere definitivamente l'indicazione a un approccio di terapia intensiva ed auto-SCT in prima linea. Pur evidenziando la superiore attività antitumorale dell'approccio auto-SCT, sia la possibilità di recupero dei pazienti che sfuggono alla chemioterapia che i problemi di possibili tossicità a lungo termine, soprattutto la mielodisplasia e la leucemia acuta secondaria (sMDS/AL), rendono le aspettative di vita con chemio-immunoterapia e con terapia intensiva ed auto-SCT sostanzialmente uguali e pertanto questo non giustifica un inizio di trattamento con un programma chemioterapico intensivo [(32)]. I problemi di sMDS/AL sono risultati estremamente rilevanti in uno studio del gruppo francese GOELAMS, ove i significativi vantaggi dell'auto-SCT in termini di risposte al trattamento venivano completamente annullati, in termini di OS, dall'elevata incidenza di sMDS/AL [(33)]. Non sempre il rischio di problemi legati a sMDS/AL è così elevato, come nello studio del gruppo francese, in altri studi l'incidenza è risultata nettamente più bassa [(34)]. Tuttavia, il rischio di neoplasie secondarie è reale, come riportato in una recente analisi italiana, ove è stata analizzata su una ampia casistica di soggetti trattati con HDS e auto-SCT l'incidenza a lungo termine sia di sMDS/AL che di tumori solidi [(35)]. Il rischio complessivamente non è particolarmente elevato ma è sufficiente a rendere poco percorribile la strada della terapia intensiva in prima linea, a fronte dei buoni risultati della chemio-immunoterapia. Una recente meta-analisi sul ruolo dell'auto-SCT, seppur includa principalmente studi condotti in epoca pre-rituximab, è in linea con queste nostre conclusioni [(36)].
A differenza dei pazienti in prima remissione, l'auto-SCT sembra avere un ruolo più definito nei pazienti in recidiva. Diversi studi condotti in epoca pre-rituximab, sia prospettici che retrospettivi, hanno riportano elevati tassi di risposta, con PFS a 5 anni compresa tra il 40% e 50% e andamenti favorevoli anche in analisi condotte con un prolungato follow up [(10, 37-40)]. In merito ai fattori prognostici, va sottolineato come i pazienti che sono stati pesantemente pretrattati, in particolare quelli che hanno ricevuto oltre 3 regimi di trattamento, mantengono una prognosi sfavorevole, suggerendo che pur se impiegato come salvataggio, l'auto-SCT non può essere considerato come trattamento da utilizzare dopo l'insuccesso di vari altri trattamenti, ma deve essere utilizzato precocemente nel corso del trattamento del LF. Va poi considerato l'impatto del grado istologico sull'andamento dopo auto-SCT: tale aspetto è stato esaminato, ma studi retrospettivi hanno fornito risultati contrastanti [(37, 41)]. In particolare, la trasformazione istologica in un linfoma aggressivo è un evento ben noto e atteso nella storia naturale del LF, con una prevalenza fino al 60%. Ne consegue in genere una prognosi infausta, motivo per il quale la terapia ad alte dosi è stata applicata anche in questo *setting* di pazienti, con risultati variabili [(37, 41-49)]. Non sono

disponibili dati di studi randomizzati, ma nel complesso l'autotrapianto sembra ancora avere un impatto positivo in questi pazienti. Cionostante, l'insieme dei dati riportati con l'uso di auto-SCT come terapia di salvataggio suggeriscono che tale arma va utilizzata in pazienti con condizioni cliniche ed ematologiche adatte per un trattamento intensificato, con un buon performance status e preferibilmente prima che la malattia abbia subito una trasformazione istologica verso una forma più aggressiva.

Risultati di rilievo, ottenuti in epoca rituximab, sono stati ottenuti dal gruppo francese congiunto GELA / GOELAMS (*Groupe d' Etude des Lymphomes de l' Adulte/Groupe d'Etude Ouest et des Leucemies et Autres Maladies du Sang*) [50]. Lo studio ha indagato retrospettivamente l'impatto dell'autotrapianto rispetto a terapie convenzionali, nel salvataggio di 175 pazienti con LF alla prima recidiva, 40% dei quali aveva ricevuto in precedenza rituximab. Con un follow up mediano di 31 mesi, l'OS a 3 anni è significativamente superiore nei pazienti che hanno ricevuto l'auto-SCT come salvataggio rispetto ai pazienti che hanno effettuato un trattamento non di tipo trapiantologico (92 % vs 63% , rispettivamente; $p < 0,0003$). Trattandosi di uno studio retrospettivo, occorre considerare che l'impatto favorevole del trapianto autologo può essere influenzato da una possibile selezione di pazienti. Infatti, solo i pazienti in risposta alla iniziale terapia di salvataggio accedevano successivamente al trapianto autologo. Ciononostante lo studio è importante in quanto dimostra che, indipendentemente dalla pregressa esposizione al rituximab, l'uso del trapianto autologo, insieme al tempo della recidiva sono i soli fattori che sembrano influenzare la sopravvivenza libera da malattia e la sopravvivenza globale. Pertanto, i risultati riportati in questo studio retrospettivo supportano all'uso del trapianto autologo in prima recidiva, anche in pazienti con LF ricaduto dopo un trattamento iniziale con rituximab. Va ribadito che una dimostrazione chiara sul ruolo dell'auto-SCT in recidiva di LF richiederebbe uno studio prospettico, randomizzato, come è stato fatto per chiarire l'indicazione all'esordio di malattia. Va anche considerato che lo sviluppo di terapie di nuova generazione quali i nuovi farmaci a bersaglio molecolare potrebbe ulteriormente modificare lo scenario terapeutico in questa patologia.

Sono inoltre disponibili nuovi farmaci, quali gli inibitori della BTK e della PI3K, i BCL2-inibitori, gli inibitori del trasporto nucleare, nuovi anticorpi monoclonali, come dettagliato in altro capitolo. È quindi difficile prevedere quale possa essere il posizionamento dell'auto-SCT in questo nuovo scenario. Per cercare di capire quale possa essere la possibile indicazione a terapie intensificate con auto-SCT nell'epoca del rituximab e dei farmaci intelligenti a bersaglio molecolare, va considerato che le caratteristiche cliniche della recidiva nel LF sono molto variabili da un caso all'altro. Vi sono pazienti che presentano una recidiva tardiva, spesso clinicamente non estesa e per questi pazienti un approccio immediato con aut-SCT può apparire eccessivo. Viceversa, vi sono pazienti con un quadro di recidiva/refrattarietà assai sfavorevole, generalmente insorta precocemente dopo la chemio-immunoterapia di induzione: è ragionevole che un approccio intensificato con auto-SCT, eventualmente supportato con l'aggiunta di qualcuno dei nuovi farmaci in sviluppo, possa essere riservato a questo sottogruppo di pazienti a prognosi particolarmente sfavorevole.

Nell'ottica di caratterizzare i pazienti con LF e malattia refrattaria/recidivata a cattiva prognosi è utile ricordare i risultati di un recente studio collaborativo dei gruppi di Torino e Bergamo [51]. Si tratta di un'analisi retrospettiva condotta su 3106 pazienti con diagnosi di linfoma sottoposti a trattamento di prima linea dal 1982 al 2012. L'analisi dimostra come in tutti i sottotipi di linfoma analizzati, inclusi i LF, la chemiosensibilità alla prima linea di trattamento è cruciale nella sopravvivenza della malattia [51]. I dati sui 597 pazienti con LF, riportati nella Tabella 2, sono di interesse.

Come si osserva dai dati in Tabella, i pazienti che presentano malattia refrattaria o precoce ricaduta presentano una sopravvivenza marcatamente inferiore rispetto a quanto osservato nei pazienti responsivi. L'andamento sfavorevole dei refrattari e/o precoci recidivati è indipendente dal trattamento iniziale con o senza rituximab, sebbene l'introduzione di tale farmaco nella terapia di I linea abbia notevol-

Parametro	n = (%)
No. pazienti valutabili[1]	593
Età (anni), mediana (range)	56 (16-88)
Stadio IIB-IV	476 (80)
Midollo coinvolto da linfoma	286 (53)
Terapia di Linea[2]: - senza rituximab - con rituximab	 259 (44) 330 (56)
Risposta alla terapia di Linea[3]: - Remissione completa (RC) - Refrattarietà/Recidiva precoce[4]	 519 (87) 78 (13)
A un follow-up mediano di 7 anni: - OS complessiva[5] - OS dei pazienti in RC - OS dei pazienti refrattari/in recidiva precoce - Pazienti in persistente 1° RC a lungo termine (2-32 anni)	 19,5 anni *non raggiunta* 3,7 anni 287 (55)

[1]I dati sui 597 pazienti con LF sono stati ottenuti dalla analisi effettuata su 3.106 pazienti con linfoma trattati e valutabili per risposta e andamento nel tempo, tra il 1982 e il 2012 presso i Centri Ematologici di Bergamo e Torino (vedere ref. 51); [2]pazienti trattati in I linea con programmi senza e successivamente con rituximab, a seconda dell'epoca del trattamento; [3]i pazienti sono stati identificati in 2 gruppi: quelli in RC dopo la prima linea e quelli con refrattarietà primaria o con recidiva entro i primi 6 mesi dal termine del trattamento di la linea; [4] la quota di refrattarietà/recidiva precoce è stata del 20% tra i pazienti trattati senza rituximab e dell'8% tra quelli che hanno ricevuto una terapia di la linea con rituximab; [5]OS: sopravvivenza globale dall'inizio del trattamento.

***Tabella 2** – Analisi dell'andamento a lungo termine di 597 pazienti con LF: correlazione tra sopravvivenza e risposta al trattamento di prima linea.*

mente ridotto l'incidenza della malattia refrattaria. I dati riportati nel lavoro e qui illustrati in dettaglio sembrano identificare, nell'ambito dei LF, una categoria di pazienti, con malattia refrattaria o precocemente recidivata, che presentano una prognosi particolarmente sfavorevole. Sembra quindi logico pensare che un eventuale impiego dell'auto-SCT come salvataggio vada primariamente considerato per questa categoria di pazienti ad alto rischio.

A supporto di quanto qui proposto, va infine segnalato lo studio recentemente riportato dal gruppo cooperativo Statunitense del *Lymphocare* [52]. In questa analisi, condotta ancora su un vasto numero di pazienti con LF, seguiti a lungo nel tempo, si è osservato come un gruppo di pazienti, pari a circa il 20% di tutti i casi, presenti una malattia in recidiva precoce, entro 2 anni dopo R-CHOP. La recidiva entro i 2 anni identifica un gruppo di pazienti con una sopravvivenza distintamente inferiore rispetto al restante gruppo di pazienti. A 5 anni, i pazienti con precoce progressione di malattia hanno una OS del 50% rispetto a una OS del 95% del gruppo di pazienti di confronto.

I dati del gruppo americano sembrano quindi confermare che attualmente un trattamento di salvataggio con auto-SCT vada considerato per i pazienti che presentano una malattia in progressione con caratteristiche sfavorevoli. I pazienti con malattia primariamente refrattaria o con recidiva che si manifesta entro i primi 2 anni dopo la chemio-immunoterapia sembrano i candidati ideali ad un trattamento di salvataggio intensificato con auto-SCT.

La popolazione ad alto rischio qui definita viene per ora identificata sulla base di criteri di risposta. Adeguate indagini biologiche, istopatologiche e molecolari potranno meglio caratterizzare questo sottogruppo di pazienti.

Sarà sicuramente importante avere dei marcatori per poter identificare con maggior accuratezza i pazienti che verosimilmente presentano una ridotta risposta alla chemio-immunoterapia di I linea.

È probabile che anche in epoca di farmaci intelligenti vi siano ancora spazo per il trapianto autologo e i pazienti con scarsa risposta alla chemio-immunoterapia di I linea rappresentano un gruppo ove potrebbe esserci l'indicazione a una intensificazione di dose. L'identificazione precoce di questo sottogruppo di pazienti con LF potrebbe essere utile per la miglior selezione dei pazienti candidabili a terapia intensificata con auto-SCT.

Trapianto allogenico

Il trapianto allogenico (allo-SCT) di cellule staminali emopoietiche (CSE) rimane una delle opzioni potenzialmente curative per i pazienti affetti da LF. L'osservazione di tassi di recidiva inferiori nei pazienti allotrapiantati rispetto ai pazienti trattati con auto-SCF conferma la possibilità che l'allo-SCT comporti un effetto diretto anti-tumorale, la cosiddetta attività *Graft versus Lymphoma* (GVL), mediata dai linfociti T del donatore. L'intensità dell'effetto GVL varia a seconda del sottotipo istologico all'interno delle malattie linfoproliferative: in effetti i linfomi indolenti sembrano essere i più sensibili alla GVL, rispetto ai meno sensibili linfomi ad alto grado di malignità, come dimostrato originariamente da alcuni studi, incluso una sperimentazione condotta in Italia in ambito GITMO [53-54]. A conferma del possibile effetto GVL, va segnalato come in pazienti affetti da linfomi indolenti in progressione di malattia dopo trapianto allogenico si è potuta ottenere una regressione della malattia dopo sospensione della terapia immunosoppressiva e con l'infusione dei linfociti del donatore (DLI) [55-57]. Tali osservazioni rendono evidente come l'allo-SCT possa espletare una attività anti-tumorale T-mediata e tale attività sembra particolarmente efficace nei linfomi LF.

Anche per l'allo-SCT, la procedura ha avuto una evoluzione nel corso degli anni, sebbene l'interesse per questo approccio sia stato più limitato rispetto all'auto-SCT, principalmente per la maggior complessità e per i rischi ancora elevati di *Transplant Related Mortality* (TRM), legati all'allo-SCT. Nei primi studi che hanno valutato il ruolo dell'allo-SCT nei LF furono impiegati regimi di condizionamento mieloablativi. I tassi di recidiva risultarono subito inferiori rispetto a quanto si era soliti osservare nei pazienti che ricevevano un auto-SCT [58-60]. Con l'allo-SCT, difatti, si raggiungeva un *plateu*, ovvero una sorta di arresto nell'incidenza delle recidive, mentre nell'auto-SCT il rischio di recidive si manteneva nel tempo, senza segni di un esaurimento del rischio di recidive a distanza dalla terapia.

A fronte di questa maggiore attività anti-linfoma, la cosiddetta *Non-Relapse Mortality* (NRM), ovvero i rischi di tossicità mortale da trattamento, associata all'allo-SCT e ai regimi di condizionamento mieloablativi, annullava il possibile beneficio legato al ridotto rischio di recidive. Questo effetto sfavorevole della NRM, che annullava i possibili benefici della GVL, fu confermato in due studi, condotti dal *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) e dalla *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) [60-61]. Un maggior interesse per l'allo-SCT ed un più ampio uso di questa modalità terapeutica si sono avuti con l'introduzione e lo sviluppo di regimi di condizionamento ad intensità ridotta (RIC) [62-66]. Tale approccio è stato sviluppato nell'ottica di migliorare la tollerabilità complessiva della procedura di allo-SCT, cercando poi di estendere la procedura anche a pazienti in condizioni cliniche più compromesse o con età superiore a 70 anni, che avessero fallito un precedente autotrapianto. Nello stesso tempo, la procedura con RIC è caratterizzata da un'adeguata immunosoppressione nel ricevente, per favorire l'attecchimento delle cellule staminali con una dose moderata di citoriduzione. In effetti, il razionale dell'allo-SCT con RIC è proprio quello di sfruttare al massimo l'effetto GVL mediato dai linfociti del donatore, con un ruolo molto limitato della citoriduzione chemioterapica, che non venendo utilizzata ad alte dosi dovrebbe comportare una tossicità ridotta.

Nel corso degli ultimi 10 anni sono stati prodotti vari studi con l'al-

lo-SCT con condizionamento RIC nei LF. La Tabella 3 riassume i risultati di 5 studi prospettici selezionati [67-71]. Quattro di questi lavori includono pazienti che hanno fallito in precedenza un trapianto autologo mentre tutti i lavori includono pazienti con età superiore ai 60 anni e l'utilizzo di un regime di condizionamento contenente fludarabina. Con una mediana di follow up con range 3-10 anni, la DFS e l'OS variano rispettivamente dal 43 al 75% e dal 52 al 81%. La chemiosensibilità della malattia al momento della procedura trapiantologica resta un importante fattore predittivo dell'outcome dei pazienti. Tuttavia, la riduzione della NRM resta l'aspetto più rilevante dell'allo-SCT con RIC, rendendo di fatto questa procedura comparabile all'auto-SCT, sebbene globalmente i rischi di tossicità mortale restino maggiori con l'allo-SCT-RIC rispetto all'auto-SCT. Lo studio condotto da Khouri et al presso il MD Anderson di Houston rappresenta probabilmente l'esempio più promettente dei potenziali benefici dell'allo-SCT-RIC nei LF [67]. Il follow up dei pazienti trapiantati è lungo, di 107 mesi, il regime di condizionamento utilizzato include alte dosi di rituximab che da un lato consente una adeguata citoriduzione del linfoma e nello stesso tempo può stimolare l'effetto GVL attraverso la tossicità cellulare AB-mediata [72]. Infine, il rituximab può costituire un fattore protettivo nei confronti della *Graft versus Host Disease* (GvHD) acuta attraverso la profonda deplezione dei B-linfociti, che a loro volta possono in qualche modo essere coinvolti nell'attivazione T-linfocitaria [73]. La combinazione RIC e rituximab, proposta dal gruppo del MD Anderson di Houston, resta una strategia efficace ed ampiamente utilizzata nei programmi di allo-SCT per i pazienti con LF, che abbiano fallito terapie convenzionali e l'eventuale salvataggio con auto-SCT.

I risultati del gruppo coordinato da Khouri [67] restano fondamentali nello sviluppo dell'allo-SCT per i LF. Nello stesso tempo sembra chiaro che sia la presenza di una malattia chemiosensibile che le buone condizioni generali del paziente al momento del trapianto rappresentano i fattori determinanti sull'outcome dei pazienti, mentre l'intensità del regime di condizionamento sembra avere un ruolo limitato o per lo meno non così chiaro nell'andamento complessivo dopo allo-SCT [74-76]. Queste informazioni, con diversi aspetti ancora da chiarire, sono state ottenute, nel corso degli ultimi 15 anni, con lo sviluppo della procedura di allo-SCT con donatori familiari o non-consanguinei HLA-identici. Ora il quadro diventa ancora più complesso, grazie alle nuove possibilità di impiego per l'allo-SCT di donatori non-HLA identici. Infatti, in caso di non disponibilità di un donatore HLA identico familiare o volontario, è ora possibile prendere in considerazione l'utilizzo di donatori aploidentici, considerando gli ottimi risultati ottenuti con i nuovi regimi di condizionamento che non prevedono manipolazioni ex vivo del graft [77-78]. L'offerta dell'opzione dell'allo-SCT sta diventando sempre più ampia ed articolata e va quindi sempre considerata per i pazienti con LF in progressione dopo trattamenti convenzionali. Sarebbe auspicabile un adeguato studio prospettico, per un confronto preciso tra trapianto autologo e trapianto allogenico. In realtà, era stato disegnato uno studio di questo tipo da parte del BMT CTN per tentare di dare una risposta a tale quesito, ma purtroppo il programma è stato chiuso per insufficiente arruolamento di pazienti [79]. Al momento, la scelta dell'allo-SCT comporta una procedura complessa, sia per il paziente sia in qualche misura per il donatore, con problemi di tossicità a breve e lungo termine, non ancora risolti, nonostante i miglioramenti ottenuti con i condizionamenti non-mieloablativi. Pertanto, al momento, l'opzione dell'allo-SCT va sicuramente offerta in caso di insuccesso dell'auto-SCT, ma resta generalmente una opzione da prendere in considerazione solo in caso di impossibilità a percorrere altre strategie di salvataggio, inclusa la procedura del trapianto autologo [22]. In altre parole, qualora si ponesse l'opzione trapiantologica come strategia di salvataggio per un paziente con LF in progressione, al momento si ritiene che vada prima verificata la fattibilità dell'auto-SCT; in caso di impossibilità a intraprendere tale percorso o in caso di insuccesso dell'auto-SCT, andrebbe sicuramente esplorata la fattibilità di una procedura di allo-SCT, in tutte le sue possibili vie attuative.

Studio	N	Età mediana, n (range)	Precedente autologo	Regime di condiziona-mento	Donatore	DFS/EFS	OS	TRM	Follow up mediano (mesi)
MD	47	53 (33-68)	19%	Flu/Cy/RTX	MRD URD	72%	78%	21%	107
Anderson	26	55 (26-66)	0%	Flu/Cy/Y90	MRD URD	87% - 80%	94% - 80%	8%	33
CALGB	44 (16 con LF)	53 (39-68)	0%	Flu/Cy	MRD	75%	81%	9%	4,6 anni
United Kingdom	82	45 (26-65)	26%	Flu/Mel/Alem	MRD URD	76%	76%	15%	43
GELTAMO	37	50 (34-62)	46%	Flu/Mel	MRD	57%	54%	37%	52
FHCRC	62 (54 con LF)	54 (33-66)	32%	TBI _ Flu	MRD URD	43%	52%	42%	36

CALGB: Cancer and Leukemia Group B; GELTAMO: GrupoEspañol de Linfomas/TrasplanteAutólogo de MédulaÓsea; FHCRC: Fred HutchinsonCancerResearch Center; flu: fludarabina; Cy: ciclofosfamide; alem: alemtuzumab; mel: melphalan; MRD: matched related donor; URD, unrelateddonor; DFS: disease-free survival; Y90: Y90-ibritumomab tiuxetano.

***Tabella 3** – studi prospettici sul trapianto allogenico con regimi di condizionamento ad intensità ridotta nei pazienti affetti da LF recidivati.*

Conclusioni

L'introduzione dell'anticorpo monoclonale anti-CD20 rituximab ha sicuramente migliorato l'outcome e la sopravvivenza del LF [80]. Tale forma di linfoma rimane una patologia con rischi di recidiva con i trattamenti convenzionali ed il decorso clinico può essere piuttosto variabile: alcuni pazienti sviluppano precocemente una rapida progressione o possono sviluppare una trasformazione istologica, con aspettative di vita molto ridotte, a fronte della maggioranza degli altri pazienti, che possono avere lunghe sopravvivenze, spesso non molto dissimili da quelle della popolazione sana di controllo. L'approccio del trapianto autologo ha mostrato di poter offrire prolungate sopravvivenze, in assenza di segni di malattia [81]. Questa procedura, così come l'altra opzione trapiantologica rappresentata dall'allo-SCT, possono essere utilizzate in casi selezionati, al fine di garantire a tutti i pazienti con LF una prolungata sopravvivenza, idealmente senza più segni di malattia. L'attuale impegno è quello di identificare il miglior posizionamento per sfruttare al meglio le opportunità terapeutiche degli approcci di trapianto con cellule staminali emopoietiche, cercando di limitare il più possibile gli effetti tossici, che purtroppo limitano un più ampio impiego di queste importanti armi terapeutiche.

Bibliografia

1. Rosenberg SA. Karnofsky memorial lecture. The low-grade non-Hodgkin's lymphomas: challenges and opportunities. J Clin Oncol. 1985;3(3):299-310.
2. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van der Lelie H, Bron D, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy sensitive non Hodgkin's lymphoma. New Engl J Med. 1995;333(23):1540-5.
3. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, Soiffer RJ, Anderson KC, Fisher DC, et al. Long-term follow up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. Blood. 1999;94(10):3325-33.
4. Gianni AM, Siena S, Bregni M, Tarella C, Stern AC, Pileri A, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation. Lancet. 1989;2(8663):580-5.
5. Tarella C, Gavarotti P, Caracciolo D, Corradini P, Cherasco C, Castellino C, et al. Haematological support of high-dose sequential chemotherapy: clinical evidence for reduction of toxicity and high response rates in poor risk lymphomas. Ann Oncol. 1995;6(S4):3-8.
6. Voso MT, Martin S, Hohaus S, Abdallah A, Schlenk RF, Ho AD, et al. Prognostic factors for the clinical outcome of patients with follicular lymphoma following high-dose therapy and peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT). Bone Marrow Transplant. 2000;25(9):957-64.
7. Freedman AS, Gribben JG, Neuberg D, Mauch P, Soiffer RJ, Anderson KC, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in patients with follicular lymphoma during first remission. Blood. 1996;88(7):2780-6.
8. Tarella C, Caracciolo D, Corradini P, Zallio F, Ladetto M, Cuttica A, et al. Long-term follow up of advanced-stage low-grade lymphoma patients treated upfront with high-dose sequential chemotherapy and autograft. Leukemia. 2000;14:740-747.
9. Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E, Forstpointner R, Wandt H, Freund M, et al. Myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission prolongs progression-free survival in follicular lymphoma: results of a prospective, randomized trial of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood. 2004;104(9):2667-74.
10. Schouten HC, Qian W, Kvaloy S, Porcellini A, Hagberg H, Johnsen HE, et al. High dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial. J Clin Oncol. 2003;21(21):3918-27.
11. Vignot S, Mounier N, Larghero J, Brice P, Quero L, de Bazelaire C, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation can improve event-free survival for indolent lymphoma: a study using patients as their own controls. Cancer. 2007;109(1):60-7.
12. Sabloff M, Atkins HL, Bence-Bruckler I, Bredeson C, Fergusson D, Genest P, et al. A 15-year analysis of early and late autologous hematopoietic stem cell transplant in relapsed, aggressive, transformed, and non transformed follicular lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2007;13(8):956-64.
13. Corradini P, Ladetto M, Zallio F, Astolfi M, Rizzo E, Cuttica A, et al. Long-Term Follow up Of Indolent Lymphoma Patients Treated With High-Dose Sequential Chemotherapy And Autografting: Evidence That Durable Molecular And Clinical Remission Can Be Frequently Attained Only In Follicular Subtypes. J Clin Oncol. 2004;22(8):1460-8.
14. Ladetto M, Corradini P, Vallet S, Benedetti F, Vitolo U, Martelli M, et al. High Rates Of Clinical And Molecular Remissions In Follicular Lymphoma Patients Receiving High-Dose Sequential Chemotherapy And Autografting At Diagnosis: A Multicenter, Prospective Study By The Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (Gitmo). Blood. 2002;100(5):1559-65.
15. Ladetto M, Vallet S, Benedetti F, Vitolo U, Martelli M, Callea V, et al. Prolonged survival and low incidence of late toxic sequelae in advanced follicular lymphoma treated with a TBI-free autografting program: updated results of the multicenter consecutive GITMO trial Leukemia 2006;20(10):1840-7.
16. Corradini P, Ladetto M, Pileri A, Tarella C. Clinical relevance of minimal residual disease monitoring in non-Hodgkin's lymphomas: a critical reappraisal of molecular strategies. Leukemia. 1999;13(11):1691-1695.
17. Gribben JG1, Freedman AS, Neuberg D, Roy DC, Blake KW, Woo SD, et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. N Engl J Med. 1991;325(22):1525-33.
18. Gribben JG, Neuberg D, Freedman AS, Gimmi CD, Pesek KW, Barber M, et al. Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl-2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. Blood. 1993;81(12):3449-57.
19. Zwicky CS, Maddocks AB, Andersen N, Gribben JG. Eradication of polymerase chain reaction detectable immunoglobulin gene rearrangement in non-Hodgkin's lymphoma is associated with decreased relapse after autologous bone marrow transplantation. Blood. 1996;8(9):3314-22.
20. Corradini P, Astolfi M, Cherasco C, Ladetto M, Voena C, Caracciolo D, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in follicular and mantle cell non-Hodgkin's lymphomas treated with high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell autografting. Blood. 1997;89(2):724-731.
21. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. J Clin Oncol. 1998;16(8):2825-33.
22. Zinzani PL, Marchetti M, Billio A, Barosi G, Carella AM, Lazzarino M, et al. SIE, SIES, GITMO revised guidelines for the management of follicular lymphoma. Am J Hematol. 2013;88(3):185-92.
23. Hiddemann W, Cheson BD. How we manage follicular lymphoma. Leukemia. 2014;28(7):1388-1395.
24. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C, Carlotti E, Arcaini L, Baccarani M, et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. Blood. 2002;99(3):856-62.
25. Rambaldi A, Carlotti E, Oldani E, Della Starza I, Baccarani M, Cortelazzo S, et al. Quantitative PCR of bone marrow BCL2/IgH+ cells at diagnosis predicts tre-

atment response and long-term outcome in follicular non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2005;105(9):3428-33.
26. Magni M, Di Nicola M, Devizzi L, Matteucci P, Lombardi F, Gandola L, et al. Successful in vivo purging of CD34-containing peripheral blood harvests in mantle cell and indolent lymphoma: evidence for a role of both chemotherapy and rituximab infusion. Blood. 2000;96(3):864-9.
27. Voso MT, Pantel G, Weis M, Schmidt P, Martin S, Moos M, et al. In vivo depletion of B cells using a combination of high-dose cytosine arabinoside/mitoxantrone and rituximab for autografting in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Br J Haematol. 2000;109(4):729-35.
28. Flinn IW, O'Donnell PV, Goodrich A, Vogelsang G, Abrams R, Noga S, et al. Immunotherapy with rituximab during peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2000;6(6):628-32.
29. Ladetto M, Zallio F, Vallet S, Ricca I, Cuttica A, Caracciolo D, et al. Concurrent administration of high-dose chemotherapy and rituximab is a feasible and effective chemo/immunotherapy for patients with high-risk non-Hodgkin's lymphoma. Leukemia. 2001;15(12):1941-9.
30. Belhadj K, Delfau-Larue MH, Elgnaoui T, Beaujean F, Beaumont JL, Pautas C, et al. Efficiency of in vivo purging with rituximab prior to autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in B-cell non-Hodgkin's lymphoma: a single institution study. Ann Oncol. 2004;15(3):504-10.
31. Tarella C, Zanni M, Magni M, Benedetti F, Patti C, Barbui T, Pantas C, et al. Rituximab improves the efficacy of high-dose chemotherapy with autograft for high-risk follicular and diffuse large B-cell lymphoma: a multicenter Gruppo Italiano Terapie Innnovative nei linfomi survey. J Clin Oncol. 2008;26(19):3166-75.
32. Ladetto M, De Marco F, Benedetti F, Vitolo U, Patti C, Rambaldi A, et al. Prospective, multicenter randomized GITMO/IIL trial comparing intensive (R-HDS) versus conventional (CHOP-R) chemoimmunotherapy in high-risk follicular lymphoma at diagnosis: the superior disease control of R-HDS does not translate into an overall survival advantage. Blood. 2008;111(8):4004-13.
33. Deconinck E, Foussard C, Milpied N, Bertrand P, Michenet P, Cornillet-LeFebvre P, et al. High-dose therapy followed by autologous purged stem-cell transplantation and doxorubicin-based chemotherapy in patients with advanced follicular lymphoma: a randomized multicenter study by GOELAMS. Blood. 2005;105(10):3817-3823.
34. Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E, Haferlach T, Hasford J, Unterhalt M, et al. Moderate increase of secondary hematologic malignancies after myeloablative radiochemotherapy and autologous stem-cell transplantation in patients with indolent lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group. J Clin Oncol. 2004;22(24):4926-33.
35. Tarella C, Passera R, Magni M, Benedetti F, Rossi A, Gueli A, et al. Risk Factors for the Development of Secondary Malignancy After High-Dose Chemotherapy and Autograft, With or Without Rituximab: A 20-Year Retrospective Follow up Study in 1,347 Patients With Lymphoma. J Clin Oncol. 2011;29(7):814-24.
36. Al Khabori M, de Almeida JR, Guyatt GH, Kuruvilla J, Crump M. Autologous Stem Cell Transplantation in Follicular Lymphoma: a Systematic Review and Meta-analysis. J Natl Cancer Inst. 2012;104(1):18-28.
37. Vose JM, Bierman PJ, Loberiza FR, Lynch JC, Bociek GR, Weisenburger DD, et al. Long-term outcomes of autologous stem cell transplantation for follicular non- Hodgkin lymphoma: effect of histological grade and Follicular International Prognostic Index. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(1):36-42.
38. Rohatiner AZ, Nadler L, Davies AJ, Apostolidis J, Neuberg D, Matthews J, et al. Myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma at the time of second or subsequent remission: long-term follow up. J Clin Oncol. 2007;25(18):2554-9.
39. Montoto S, Canals C, Rohatiner AZ, Taghipour G, Sureda A, Schmitz N, et al. Long-term follow up of high-dose treatment with autologous haematopoietic-progenitor cell support in 693 patients with follicular lymphoma: an EBMT registry study. Leukemia. 2007;21(11):2324-31.
40. Kornacker M, Stumm J, Pott C, Dietrich S, Süssmilch S, Hensel M, et al. Characteristics of relapse after autologous stem-cell transplantation for follicular lymphoma: a long-term follow up. Ann Oncol. 2009;20(4):722-8.
41. Pham RN, Gooley TA, Keeney GE, Press OW, Pagel JM, Greisman HA, et al. The impact of histologic grade on the outcome of high-dose therapy and autologous stem cell transplantation for follicular lymphoma. Bone Marrow Transplant. 2007;40(11):1039-44.
42. Bastion Y, Brice P, Haioun C, Sonet A, Salles G, Marolleau JP, et al. Intensive therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in 60 patients with poor-prognosis follicular lymphoma. Blood. 1995;86(8):3257-62.
43. Bastion Y, Sebban C, Berger F, Felman P, Salles G, Dumontet C, et al. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. J ClinOncol. 1997;15(4):1587-94.
44. Berglund A, Enblad G, Carlson K, Glimelius B, Hagberg H. Long-term follow up of autologous stem-cell transplantation for follicular and transformed follicular lymphoma. Eur J Haematol. 2000;65(1):17-22.
45. Chen CI, Crump M, Tsang R, Stewart AK, Keating A. Autotransplants for histologically transformed follicular non-Hodgkin's lymphoma. Br J Haematol. 2001;113(1):202-8.
46. Foran JM, Apostolidis J, Papamichael D, Norton AJ, Matthews J, Amess JA, et al. High-dose therapy with autologous haematopoietic support in patients with transformed follicular lymphoma: A study of 27 patients from a single centre. Ann Oncol. 1998;9(8):865-9.
47. Friedberg JW, Neuberg D, Gribben JG, Mauch P, Anderson KC, Soiffer RJ, et al. Autologous bone marrow transplantation after histologic transformation of indolent B cell malignancies. Biol Blood Marrow Transplant. 1999;5(4):262-8.
48. Williams CD, Harrison CN, Lister TA, Norton AJ, Blystad AK, Coiffier B, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell support for chemosensitive transformed low-grade follicular non-Hodgkin's lymphoma: A case-matched study from the European Bone Marrow Transplant Registry. J Clin Oncol. 2001;19(3):727-35.
49. Brice P, Simon D, Bouabdallah R, Bélanger C, Haïoun C, Thieblemont C, et al. High-dose therapy with autologous stem-cell transplantation (ASCT) after first progression prolonged survival of follicular lymphoma patients included in the prospective GELF 86 protocol. Ann Oncol. 2000;11(12):1585-90.
50. Le Gouill S, De Guibert S, Planche L, Brice P, Dupuis J, Cartron G, et al. Impact of the use of autologous stem cell transplantation at first relapse both in naive and previously rituximab exposed follicular lymphoma patients treated in the GELA/GOELAMS FL 2000 study. Haematologica. 2011;96(8):1128-35.
51. Tarella C, Gueli A, Delaini F, Rossi A, Barbui AM, Gritti G, et al. Rate of primary refractory disease in B and T-cell non-Hodgkin's lymphoma: correlation with long-term survival. PLoS One. 2014;9(9):e106745.
52. Casulo C, Byrtek M, Dawson KL, Zhou X, Farber C, Flowers CF, et al. Early Relapse Of Follicular Lymphoma After R-CHOP Uniquely Defines Patients At High Risk For Death: An Analysis From The National Lymphocare Study. J Clin Oncol 2015;33(23):2516-22.
53. Armand P, Kim HT, Ho VT, Cutter CS, Koreth J, Antin JH, et al. Allogeneic transplantation with reduced-intensity conditioning for Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: importance of histology for outcome. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(4):418-425.
54. Corradini P, Dodero A, Farina L, Fanin R, Patriarca F, Miceli R, et al. Allogeneic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning can induce durable clinical and molecular remissions in relapsed lymphomas: pre-transplant disease status and histotype heavily influence outcome. Leukemia. 2007;21(11):2316-23.
55. Mandigers CM, Verdonck LF, Meijerink JP, Dekker AW, Schattenberg AV, Raemaekers JM. Graft-versus-lymphoma effect of donor lymphocyte infusion in indolent lymphomas relapsed after allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2003;32(12):1159-1163.
56. van Besien KW, de Lima M, Giralt SA, Moore DF Jr, Khouri IF, Rondón G, et al. Management of lymphoma recurrence after allogeneic transplantation: the relevance of graft-versus-lymphoma effect. Bone Marrow Transplant. 1997;19(10):977-82.
57. Bloor AJ, Thomson K, Chowdhry N, Verfuerth S, Ings SJ, Chakraverty R, et al. High response rate to donor lymphocyte nfusion after allogeneic stem cell transplantation for indolent non-Hodgkin lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(1):50-8.
58. van Besien K, Sobocinski KA, Rowlings PA, Murphy SC, Armitage JO, Bishop

MR, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for low-grade lymphoma. Blood. 1998;92(5):1832-6.

59. Toze CL, Shepherd JD, Connors JM, Voss NJ, Gascoyne RD, Hogge DE, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for low-grade lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. Bone Marrow Transplant. 2000;25(6):605-12.

60. van Besien K, Loberiza FR Jr, Bajorunaite R, Armitage JO, Bashey A, Burns LJ, et al. Comparison of autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for follicular lymphoma. Blood 2003;102(10):3521-9.

61. Peniket AJ, Ruiz de Elvira MC, Taghipour G, Cordonnier C, Gluckman E, de Witte T, et al. An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma: allogeneic transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality rate than autologous transplantation. Bone Marrow Transplant. 2003;31(8):667-78.

62. Giralt S, Estey E, Albitar M, van Besien K, Rondón G, Anderlini P, et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. Blood. 1997;89(12):4531-6.

63. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. Blood 1998;91(3):756-63.

64. Khouri IF, Keating M, Körbling M, Przepiorka D, Anderlini P, O'Brien S, et al. Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based non-ablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment of lymphoid malignancies. J Clin Oncol. 1998;16(8):2817-24.

65. Raiola AM, Van Lint MT, Lamparelli T, Gualandi F, Mordini N, Berisso G et al. Reduced intensity thiotepa-cyclophosphamide conditioning for allogeneic hemopoietic stem cell transplant (HSCT) in patients up to 60 years of age. Brit J Haematol. 2000;109(4):716-21.

66. Corradini P, Tarella C, Olivieri A, Gianni AM, Voena C, Zallio F, et al. Reduced intensity conditioning followed by allografting of hematopoietic cells can produce clinical and molecular remissions in patients with poor-risk hematologic malignancies. Blood. 2002;99(1):75-82.

67. Khouri IF, Saliba RM, Erwin WD, Samuels BI, Korbling M, Medeiros LJ, et al. Non-myeloablative allogeneic transplantation with or without 90yttrium ibritumomabtiuxetan is potentially curative for relapsed follicular lymphoma: 12-year results. Blood. 2012;119(26):6373-6378.

68. Shea T, Johnson J, Westervelt P, Farag S, McCarty J, Bashey A, et al. Reduced-intensity allogeneic transplantation provides high event-free and overall survival in patients with advanced indolent B cell malignancies: CALGB 109901. Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17(9):1395-403.

69. Thomson KJ, Morris EC, Milligan D, Parker AN, Hunter AE, Cook G, et al. T-cell-depleted reduced-intensity transplantation followed by donor leukocyte infusions to promote graft-versus-lymphoma activity results in excellent long-term survival in patients with multiply relapsed follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2010;28(23):3695-700.

70. Piñana JL1, Martino R, Gayoso J, Sureda A, de la Serna J, Díez-Martín JL, et al. Reduced intensity conditioning HLA identical sibling donor allogeneic stem cell transplantation for patients with follicular lymphoma: long-term follow-up from two prospective multicenter trials. Haematologica. 2010;95(7):1176-82.

71. Rezvani AR1, Storer B, Maris M, Sorror ML, Agura E, Maziarz RT, et al. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in relapsed, refractory, and transformed indolent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2008;26(2):211-7.

72. Berinstein NL, Grillo-López AJ, White CA, Bence-Bruckler I, Maloney D, Czuczman M, et al. Association of serum Rituximab (IDEC-C2B8) concentration and antitumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 1998;9(9):995-1001.

73. Kharfan-Dabaja MA, Cutler CS. Rituximab for prevention and treatment of graft-versus-host disease. Int J Hematol. 2011;93(5):578-85.

74. Pasquini M, Wang Z. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides, 2011. Available from: http://www.cibmtr.org. Accessed May 1, 2012

75. Hari P, Carreras J, Zhang MJ, Gale RP, Bolwell BJ, Bredeson CN, et al. Allogeneic transplants in follicular lymphoma: higher risk of disease progression after reduced-intensity compared to myeloablative conditioning. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(2):236-45.

76. Avivi I, Montoto S, Canals C, Maertens J, Al-Ali H, Mufti GJ, et al. Matched unrelated donor stem cell transplant in 131 patients with follicular lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Br J Haematol. 2009;147(5):719-28.

77. Reisner Y, Aversa F, Martelli M. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: state of art. Bone Marrow Transplantation. 2015;50(2):S1–S5.

78. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, Chen AR, Leffell MS, Zahurak M, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(6):641-50.

79. Tomblyn MR, Ewell M, Bredeson C, Kahl BS, Goodman SA, Horowitz MM, et al. Autologous versus reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with chemosensitive follicular non-Hodgkin lymphoma beyond first complete response or first partial response. Biol Blood Marrow Transplant. 2011;17(7):1051-7.

80. Cohen Y, Solal-Celigny P, Polliack A. Rituximab therapy for follicular lymphoma: a comprehensive review of its efficacy as primary treatment, treatment for relapsed disease, re-treatment and maintenance. Haematologica. 2003;88(7):811-23.

81. Freedman A. Follicular lymphoma: 2011 update on diagnosis and management. Am J Hematol. 2011;86(9):768-75.

Linfocita B
(G. Lambertenghi Deliliers: Archivio di Microscopia Elettronica)

Parole Chiave

Linfoma, follicolare, malattia minima residua, trapianto autologo, trapianto allogenico, rituximab

Indirizzi per la corrispondenza

Corrado Tarella
Direttore Divisione Onco-Ematologia
Istituto Europeo di Oncologia, Milano
Professore di Ematologia
Università di Torino
Tel (+39) 0257489403.538
Fax (+39) 0294379219

Ringraziamenti: Si desidera ringraziare i gruppi cooperatori del GITMO e dell'IIL (ora FIL), grazie ai quali sono stati condotti i protocolli clinici con i programmi HDS nei linfomi follicolari, riportati in questo lavoro. Corrado Tarella ringrazia anche colleghi, infermieri e esperti di statistica medica delle A.O. Città della Salute e O. Mauriziano di Torino, con i quali ha a lungo collaborato nella gestione e nello studio dei pazienti con linfoma, e la Divisone di Ematologia diretta dal Prof. A. Rambaldi dell'Ospedale di Bergamo per gli studi collaborativi sui pazienti follicolari riportati in questo lavoro.

ESSERCI.

Momenti. Persone. Passioni. Celgene lavora ogni giorno per dare a ogni paziente il tempo di viverli. Nonostante la malattia.

celgene.com

Improving the lives of patients worldwide.

Celgene

La rivista è consultabile anche sui siti web:

Società Italiana di Ematologia (SIE)
www.siematologia.it

Società Italiana di Ematologia Sperimentale (SIES)
www.siesonline.it

Fondazione Beat Leukemia Dr Alessandro Cevenini
www.beat-leukemia.com

Cod. CST-HEMA-0048/000

Nel prossimo numero: Anno 3 - Numero 1 - 2016

Farmaci bersaglio (II)

Leucemia mieloide acuta
Hairy cell leukemia
Leucemia linfatica acuta
Leucemia acuta promielocitica
Linfoma di Hodgkin

Con il supporto non condizionato di

Celgene