

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

EMATOLOGIA CLINICA E SPERIMENTALE ED
EMATOPATOLOGIA

Ciclo XXI

Settore/i scientifico disciplinari di afferenza: MED 015

**“Ruolo della Radioimmunoterapia nei
Linfomi non Hodgkin”**

Presentata da

VITTORIO STEFONI

Prof. Stefano Pileri

Prof. Pierluigi Zinzani

Esame finale anno 2009

INDICE

INTRODUZIONE	3
ASPETTI ANATOMO-CLINICI DEI LINFOMI	6
Capitolo 1. LA RADIOIMMUNOTERAPIA	8
1. Radioisotopi usati in clinica	10
2. ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin®).....	10
<i>Meccanismi d'azione</i>	11
<i>Aspetti farmacocinetici</i>	14
<i>Indicazioni alla terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan</i>	14
<i>Piano di trattamento standard con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan</i>	15
3. Studi di efficacia	17
<i>Studi preliminari di fase I e I/II</i>	17
<i>Superiorità di Zevalin® rispetto al rituximab</i>	20
<i>Efficacia di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan nei linfomi refrattari al rituximab</i>	22
<i>Zevalin® a dose ridotta nei pazienti con lieve trombocitopenia</i>	23
<i>Lunga durata di risposta</i>	24
<i>Il trattamento precoce assicura migliori risultati</i>	26
<i>Il trattamento con Zevalin® non preclude successive terapie</i>	28
4. Sicurezza e tollerabilità	32
<i>Correlazioni tra tossicità ed infiltrazione midollare</i>	35
<i>Sicurezza e tollerabilità in funzione dell'età</i>	36
<i>Aspetti dosimetrici</i>	37
5. Lo stato dell'arte e le prospettive future	38
Capitolo 2. RADIOIMMUNOTERAPIA, LA NOSTRA ESPERIENZA	41
1. FM-Z in prima linea nei linfomi indolenti non follicolari	43
<i>Pazienti e metodi</i>	45
<i>Risultati</i>	47
<i>Tolleranza alla terapia</i>	49
2. F(per os)M-Z in prima linea nei linfomi follicolari	51

<i>Pazienti e metodi</i>	53
<i>Risultati</i>	54
<i>Tolleranza alla terapia</i>	56
3. CHOP-Z in prima linea nei linfomi B diffusi a grandi cellule dell'anziano.....	58
<i>Pazienti e metodi</i>	60
<i>Risultati</i>	62
<i>Tolleranza alla terapia</i>	64
CONCLUSIONI	66
FIGURE FUORI TESTO	70
BIBLIOGRAFIA	74

INTRODUZIONE

La strategia terapeutica dei linfomi non Hodgkin di derivazione B linfocitaria ha subito negli ultimi dieci anni importanti modificazioni. Questo grazie al progressivo accumularsi di nuove conoscenze biologiche, all'affinamento delle tecniche diagnostiche, all'identificazione di modelli prognostici accurati e alla messa a punto di nuove strategie terapeutiche e metodiche sempre più sofisticate per valutarne l'efficacia.

Nel campo della diagnostica, i tradizionali riferimenti anatomico-clinici si sono arricchiti di nuovi elementi, valutabili su base morfologica, immunofenotipica, molecolare, genica e talora eziopatogenetica, in un contesto classificativo condiviso e certo quale quello prospettato dalla classificazione WHO. Tali elementi rappresentano oggi l'indispensabile punto di partenza nell'approccio alla patologia linfomatosa, sia in termini di definizione prognostica, sia di pianificazione terapeutica.

Anche le strategie terapeutiche hanno visto, nel tempo, un progressivo affinamento, configurandosi come associazione di diverse modalità, che spaziano dalla chemioterapia convenzionale, all'immunoterapia, alla radioterapia loco-regionale. Tale approccio integrato e complesso, che scaturisce dalla notevole mole di informazioni che le metodiche di immunoistochimica e biologia molecolare ci consentono di ottenere per ogni singolo istotipo tumorale e per ogni singolo paziente, ha consentito di raggiungere risultati di guarigione in oltre il 50% dei soggetti affetti da linfomi non-Hodgkin aggressivi, ma non si è ancora tradotto in risultati di analogo spessore per quanto concerne i linfomi indolenti.

Ciò mette in luce come sia necessario porre in atto nuove opzioni terapeutiche per quei pazienti nei quali il linfoma non è eradicabile con la sola chemioterapia standard, e in cui la recidiva della patologia rappresenta un ulteriore fattore di aggravamento della chemioresistenza.

In tal senso, l'immunoterapia e – per estensione – la radioimmunoterapia, entrambe basate sull'utilizzo di anticorpi monoclonali, sembrano costituire valide opzioni terapeutiche. L'impiego degli anticorpi monoclonali ha infatti consentito, dal 1997 (anno in cui si è avuta l'approvazione del rituximab da parte della FDA americana) ad oggi, il trattamento mirato delle neoplasie linfoidi, sfruttando meccanismi diversi

dalla chemioterapia tradizionale, a fronte di un profilo di tossicità particolarmente contenuto.

Il concetto di impiegare degli anticorpi per colpire in maniera selettiva le cellule neoplastiche non è in realtà un'idea nuova: la celebre *Croonian lecture*, tenuta da Ehrlich alla Royal Society di Londra nel 1900¹, già suggerì il possibile loro impiego in campo oncologico, a fronte della loro capacità di attaccare certi tipi di tessuti (ovvero di organismi patogeni), lasciandone intatti certi altri. Circa mezzo secolo dopo, si è riusciti a legare in maniera stabile all'anticorpo un isotopo radioattivo, favorendo il potenziamento dell'attività citotossica anticorpale mediante l'emissione di radiazione elettromagnetica, alla quale le neoplasie – e segnatamente quelle linfoidi – risultano particolarmente sensibili. Lavori notevolmente interessanti sono stati quelli di Bale e Spar negli anni Sessanta dello scorso secolo^{2, 3}, in cui sono stati testati anticorpi coniugati a iodio 131 (¹³¹I) in grado di reagire con la fibrina, presente in concentrazione abbondante nel contesto di particolari istotipi tumorali sia nel ratto, sia nell'uomo. L'aggiunta dell'isotopo radioattivo, in grado di impartire una dose di radiazione in maniera elettiva sulle cellule bersaglio, ha pertanto consentito di ampliare l'originale concetto di immunoterapia proposto da Ehrlich.

Una spinta notevole nel campo dell'immunoterapia venne data da Köhler e Milstein nel 1975, entrambi premi Nobel per la Medicina, che su *Nature* pubblicarono il metodo da loro usato per produrre in grandi quantità anticorpi dotati di particolare specificità verso un determinato antigene⁴, operando *in vitro* la fusione tra cellule mielomatose di ratto, secernenti immunoglobuline, e splenociti di ratto donatore, in precedenza sensibilizzato verso l'antigene bersaglio. La scoperta degli anticorpi monoclonali ha di fatto aperto la strada al loro utilizzo in ambito terapeutico, primo fra tutti nel campo della patologia neoplastica.

I primi anticorpi monoclonali radioimmunoconiugati sono stati testati negli anni Ottanta, dapprima valutandone la concentrazione e la biodisponibilità a livello dei tessuti normali e patologici⁵, quindi passando al trattamento di neoplasie su modelli murini e su pazienti selezionati. Solo alla fine degli anni Ottanta si arriverà alla messa a punto del primo radioimmunoconiugato (¹³¹I-tositumomab), mentre bisognerà aspettare il 2002 perché la FDA giunga all'approvazione del ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, primo anticorpo monoclonale coniugato con isotopo radioattivo impiegato sistematicamente nella terapia delle neoplasie linfoidi.

Lo scopo di questo elaborato è quello di mettere in luce le potenzialità terapeutiche della radioimmunoterapia nell'ambito dei linfomi non-Hodgkin sia indolenti sia aggressivi. La trattazione verterà significativamente su ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, tracciandone dapprima le tappe dello sviluppo clinico e presentando i risultati, in termini di risposte e di sopravvivenza, degli studi che ne hanno determinato la registrazione. Si parlerà, quindi, del profilo di tossicità del farmaco, peraltro particolarmente ridotto, e dei suoi impieghi attuali e futuri in combinazione o meno con diversi regimi di chemioterapia convenzionale. Da ultimo, si approderà ai recenti studi clinici portati avanti dall'Istituto di Ematologia e Oncologia Medica "Lorenzo e Ariosto Seràgnoli" di Bologna, ai quali chi scrive ha personalmente partecipato raccogliendo i dati ed organizzandone l'analisi statistica. Tali studi sono volti ad indagare l'impiego della chemioterapia convenzionale, implementata con la radioimmunoterapia con ^{90}Y - ibritumomab tiuxetan, in prima linea, nell'ambito dei linfomi non-Hodgkin aggressivi dell'anziano, follicolari e indolenti non follicolari. Ciò al fine di valutare l'azione dei radioimmunoconiugati in termini di miglioramento o consolidamento delle risposte cliniche ottenute con il trattamento d'induzione, paragonandone i risultati con quelli già presenti in letteratura, riguardanti il ruolo della chemio-immunoterapia standard.

ASPETTI ANATOMO-CLINICI DEI LINFOMI NON-HODGKIN

I linfomi non Hodgkin rappresentano un gruppo particolarmente eterogeneo di neoplasie, interessanti sia le cellule di origine B sia di origine T-linfocitaria⁶. Per diversi anni, essi sono stati classificati sulla base della *International Working formulation*, che principalmente teneva in conto le caratteristiche istologiche e morfologiche di tali neoplasie, e solo in minima parte dava informazioni sul loro comportamento clinico. Nel 1994, è stata elaborata la *Revised European-American Lymphoma (REAL) Classification*, il cui pregio è stato quello di classificare i diversi linfomi non-Hodgkin non soltanto in termini istologici, ma anche a livello immunofenotipico e genotipico, senza tralasciare i dettagli di tipo clinico-prognostico⁷. Tale sistema classificativo è stato modificato ed approvato qualche anno più tardi dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, che ha stilato la *REAL/WHO Classification*⁸.

In generale, i linfomi non-Hodgkin possono essere suddivisi in entità indolenti ed aggressive.

I linfomi non Hodgkin indolenti rappresentano un gruppo di malattie neoplastiche linfoproliferative estremamente composito, caratterizzate da un decorso clinico insidioso e spesso già disseminate al momento della diagnosi, con frequente interessamento del midollo osseo. Secondo la classificazione di Kiel⁹, fanno parte di questa categoria (denominata "linfomi a basso grado di malignità"): il linfoma linfocitico, l'immunocitoma linfoplasmocitico/linfoplasmocitoide, il linfoma centrocitico e il linfoma centroblastico/centrocitico. Le più recenti classificazioni REAL e WHO comprendono i seguenti tipi istologici nell'ambito dei linfomi indolenti: linfoma linfocitico/leucemia linfatica cronica, linfoma linfoplasmocitico (immunocitoma), linfoma follicolare, linfomi della zona marginale.

I linfomi non Hodgkin aggressivi sono caratterizzati da un decorso acuto e possono presentare, fin dall'esordio, sintomi sistemici linfoma-dipendenti. Dal punto di vista anatomico-patologico, essi sono attualmente definiti, descritti e classificati utilizzando una serie di parametri che comprendono la morfologia delle cellule neoplastiche in rapporto all'organizzazione tissutale (quadro istologico), il profilo immunofenotipico (definito dall'espressione di un'ampia serie di antigeni di superficie, citoplasmatici e nucleari individuati con metodi immunoistochimici e di citometria a flusso), la presenza di anomalie citogenetiche e molecolari (traslocazioni, mutazioni,

amplificazioni geniche). Tra i linfomi aggressivi devono essere compresi tutti quelli a cellule mature, sia di fenotipo B, sia di fenotipo T, oltre alle forme di derivazione dai precursori (linfomi linfoblastici B e T). La maggior parte dei linfomi aggressivi è ascrivibile ad un'ampia categoria, quella del linfoma diffuso a grandi cellule B; ad essa si affiancano una serie di forme più rare, quali il linfoma di Burkitt, il linfoma a grandi cellule primitivo del mediastino e il linfoma a cellule mantellari, quest'ultimo precedentemente inserito tra le forme "a basso grado".

Il sottotipo istologico non costituisce, tuttavia, l'unico fattore in grado di influenzare la prognosi, dal momento che i dati di sopravvivenza possono essere estremamente diversi pur in pazienti affetti dalla stessa patologia. Ulteriori fattori di variabilità prognostica intra-paziente sono cioè rappresentati da: età all'esordio, *performance status* (determinato sulla scala ECOG), livelli sierici di lattico-deidrogenasi (LDH) all'esordio, numero di sedi extranodali coinvolte, stadio secondo Ann Arbor¹⁰. Sulla base di questi parametri, i pazienti possono pertanto essere ulteriormente suddivisi in gruppi dotati di significatività clinico-prognostica.

1. LA RADIOIMMUNOTERAPIA

L'incidenza dei linfomi non-Hodgkin è in continuo aumento, stante l'incremento dell'età media delle popolazioni occidentali. In Europa e negli Stati Uniti, almeno la metà dei pazienti giungono alla diagnosi ad un'età superiore ai 60 anni.

Fino ad alcuni anni fa, le opzioni di trattamento per i linfomi non-Hodgkin in stadio avanzato sono consistite esclusivamente nella chemioterapia, eventualmente in associazione alla radioterapia esterna. Tuttavia, tali trattamenti non hanno scongiurato la possibilità di recidiva della malattia: il *relapse* clinico, infatti, tende ad essere relativamente frequente, e nella maggior parte dei casi un linfoma in ricaduta diviene una patologia incurabile, con aumento progressivo della difficoltà nel raggiungere una remissione parallelamente all'aumento delle linee di chemioterapia eseguite¹¹.

Lo sviluppo, negli ultimi anni, della radioimmunoterapia è stato senza dubbio il maggiore passo avanti per quanto riguarda il trattamento dei pazienti con linfoma non-Hodgkin. Tale approccio terapeutico combina, in un solo agente, i vantaggi della radioterapia con quelli dell'immunoterapia, consentendo di trasportare un carico radioattivo direttamente alla superficie delle cellule tumorali mediante l'impiego di un anticorpo monoclonale, che funge da veicolo: in questo modo, viene favorita l'eliminazione selettiva delle cellule malate rispetto ai tessuti sani circostanti.

Approcci terapeutici con anticorpi monoclonali radioimmunoconiugati vengono utilizzati da qualche anno in diversi tipi di neoplasie solide, con risultati eterogenei: i linfomi presentano il grosso vantaggio, rispetto alla maggior parte delle altre neoplasie, di essere particolarmente radiosensibili. Non sorprende, pertanto, che proprio per questo tipo di tumori siano stati raggiunti i risultati maggiormente promettenti¹².

Il radioimmunoconiugato consente di raggiungere e trattare contemporaneamente, e con grande efficacia, multiple localizzazioni di malattia; inoltre, è in grado di rintracciare cellule neoplastiche anche in uno stadio in cui queste non siano detettabili con le metodiche standard di diagnostica strumentale. La specificità dell'anticorpo per le cellule tumorali è, tuttavia, soltanto teorica: infatti, non esistono anticorpi strettamente specifici per le cellule tumorali, ma solo anticorpi che riconoscono antigeni espressi con densità più elevata da cellule tumorali rispetto alle cellule normali (antigeni tumore-associati), ovvero antigeni espressi in maniera selettiva – oltre che dal tumore – da una particolare linea cellulare (antigeni tessuto-specifici). È

tale il caso dell'antigene CD20 impiegato nella radioimmunoterapia dei linfomi: esso è espresso sia a livello dei linfociti B normali, sia sulla superficie dei linfociti neoplastici; l'anticorpo non è dunque in grado di distinguere, a livello molecolare, le cellule linfomatose dai linfociti B sani. L'eliminazione selettiva di cellule B, tumorali e non tumorali, tuttavia, rappresenta già un enorme passo avanti nella selettività della radioimmunoterapia rispetto alla chemioterapia convenzionale e alla radioterapia esterna.

La densità e l'espressione più o meno selettiva dell'antigene bersaglio, pertanto, rappresentano due fattori cardine su cui si basa il potenziale terapeutico della radioimmunoterapia. Altri fattori chiave da prendere in considerazione sono: le dimensioni del tumore, la capacità del farmaco di penetrare la massa tumorale, e le proprietà radioattive dell'isotopo stesso, in particolare il raggio di emissione. Quest'ultimo aspetto è di fondamentale importanza in radioimmunoterapia, e su di esso si basa il rationale del trattamento. Il raggio d'azione degli isotopi radioattivi è 10-100 volte superiore al diametro di una singola cellula, pertanto l'anticorpo che riconosce l'antigene specifico sulla superficie di una determinata cellula avrà la capacità di irradiare anche le cellule che si trovano in prossimità della cellula cui si è legato. Questo effetto, cosiddetto di "fuoco incrociato" (figura 2 fuori testo), conduce sia ad un potenziamento della radiazione nel tessuto linfomatoso, sia all'eliminazione delle cellule che esprimono l'antigene in maniera debole, o che ne hanno modulato l'espressione. Inoltre, in questo modo possono essere colpite anche quelle cellule che, pur esprimendo l'antigene di superficie, si trovano indovate all'interno di aree necrotiche e poco vascolarizzate, difficilmente raggiungibili dall'anticorpo monoclonale^{11,12}.

1. Radioisotopi usati in clinica

Gli isotopi che nella pratica clinica si sono rivelati più utili sono lo iodio 131 (¹³¹I) e l'ittrio 90 (⁹⁰Y). L'ittrio 90 decade emettendo radiazioni β , mentre lo iodio 131 ha un decadimento sia β sia γ . L'emissione di raggi β da parte dello iodio 131 consente di evidenziare la presenza di masse tumorali, mediante scintigrafia planare con gammacamera, e di eseguire misurazioni della dose cui ciascun organo viene esposto (dosimetria). L'ittrio 90, rispetto allo iodio 131, non consente l'esecuzione di scintigrafie o la valutazione dosimetrica (in ragione del fatto che le emissioni di elettroni non possono essere rilevate da una gammacamera); tuttavia, esso presenta

un raggio d'azione di circa 10 mm, 5 volte superiore a quello dello iodio 131. L'ittrio 90 ha pertanto un migliore effetto di “fuoco incrociato”, ed appare più adatto al trattamento di lesioni voluminose.

Un radiofarmaco a base di iodio 131 è stato recentemente approvato negli Stati Uniti per pazienti con linfoma non-Hodgkin (¹³¹I-tositumomab, Bexxar®); in Europa, tale autorizzazione non è ancora stata ottenuta. Per quanto riguarda l'ittrio 90, il solo farmaco radioimmunoconiugato disponibile è il ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), autorizzato dalla FDA americana nel 2002 e dall'EMA nel 2004¹².

La trattazione che segue è rivolta in maniera specifica a quest'ultimo farmaco.

2. ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin®)

⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è costituito da un anticorpo monoclonale di origine murina, IgG₁ montante catene κ , anti-CD20 (ibritumomab), legato tramite un chelante (tiuxetan) al radioisotopo ⁹⁰Y. Il chelante tiuxetan è unito tramite legame covalente al frammento cristallizzabile (Fc) dell'anticorpo, e consente di legare con elevata affinità sia l'isotopo ⁹⁰Y, sia l'isotopo ¹¹¹In, da impiegare a scopo di diagnostica per immagini¹³.

L'ittrio 90 è un β^- -emittente puro, e decade in un nucleo stabile di zirconio 90 (⁹⁰Zr) emettendo un elettrone. L'elevata energia della particella β^- emessa nel decadimento, pari a 2,3 MeV, ha come risultante un raggio d'azione di 5-10 mm, entro i quali il 90% dell'energia stessa viene assorbita. Tale ampio raggio d'azione dà luogo, come si è detto in precedenza, all'effetto di “fuoco incrociato”. È da notare inoltre che, diversamente da quanto accade per i β^- -emittenti, i tessuti molli sono in grado di schermare completamente la radiazione emessa, risultando in questo modo del tutto trascurabile il rischio di irradiazione degli individui con i quali il paziente trattato può entrare in contatto.

Tabella 2.1 – Caratteristiche fisiche di ⁹⁰Y.

Emissione	Radiazione β^- pura, con minore penetrazione rispetto alla radiazione α . Una volta somministrata la dose, i rischi di esposizione per le persone vicine al paziente sono minimi.
------------------	--

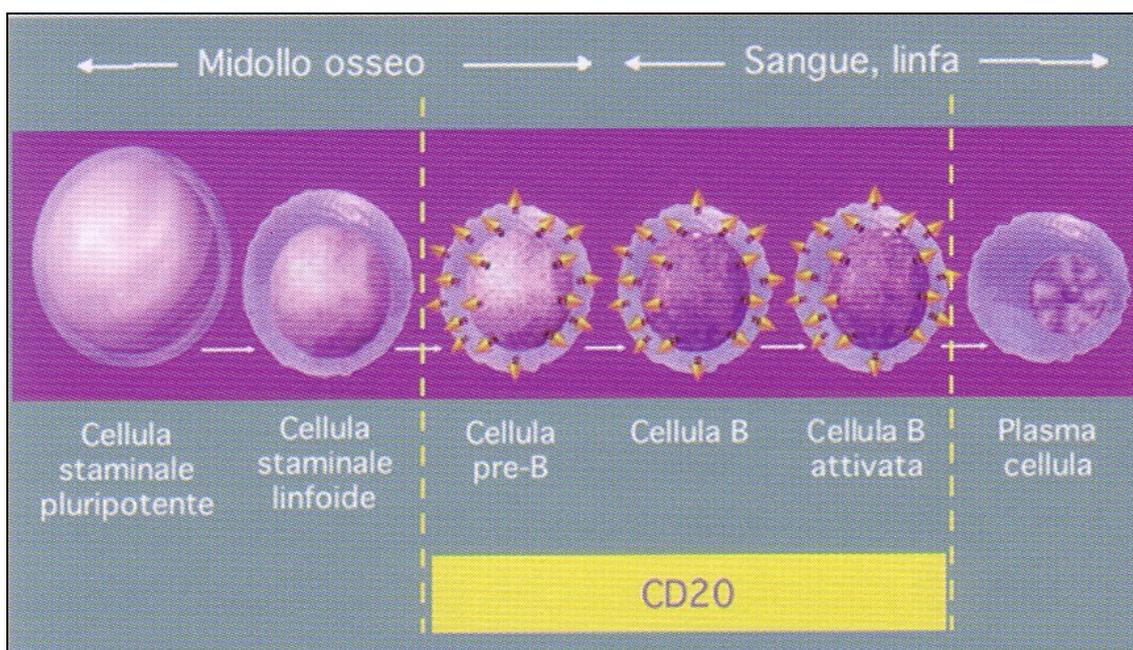
Raggio d'azione	5-10 mm.
Emivita	64 ore (2,67 giorni).
Energia emessa	2,3 MeV.
Sedi di accumulo	L'isotopo non legato tende a localizzarsi nella corticale ossea, in parte irradiando il midollo.

2.1 Meccanismi d'azione

La molecola CD20 non è un antigene tumore-specifico, bensì tessuto-specifico, in quanto si trova espresso in elevata densità sui linfociti B, incluso il 90% dei linfociti neoplastici.

Durante la maturazione delle cellule B, l'antigene CD20 si esprime per la prima volta allo stadio intermedio di sviluppo del linfoblasto B (cellula pre-B), permanendo nei linfociti B maturi, sia allo stadio naïve, sia allo stadio attivato. Viene perso nella successiva maturazione di un linfocito B attivato in plasmacellula (figura 2.1). Per questo motivo, l'anticorpo anti-CD20 non colpisce né le cellule staminali (totipotenti e di linea linfoide, che ancora non esprimono la molecola), né le plasmacellule, consentendo in tal senso il mantenimento della linea cellulare¹⁴.

Figura 2.1 – Espressione differenziale dell'antigene CD20 in relazione alle diverse tappe dell'ontogenesi B-linfocitaria.



Il CD20 non viene internalizzato né la sua espressione viene modulata all'atto del legame con l'anticorpo. Inoltre, non viene né dismissed né secreto in circolo, e solo raramente è colpito da mutazioni, per cui non rappresenta un mezzo attraverso il quale la cellula neoplastica acquisisce chemioresistenza. Per questi motivi, l'anticorpo può rimanere a lungo legato alla superficie della cellula che esprime il CD20 (con una costante di affinità corrispondente a 17 nM), sottoponendola in maniera continua all'azione della radiazione¹⁵. Diversamente dalla radioterapia esterna, che viene erogata in maniera frazionata, sebbene ad alte dosi per ogni singola frazione di trattamento, nella radioimmunoterapia la dose impartita è relativamente bassa, ma viene erogata in maniera continua (in ragione del legame dell'anticorpo con la cellula bersaglio). La curva dose/tempo assume un andamento esponenziale, decrescendo man mano che il radioisotopo decade (figura 3 fuori testo).

La radiazione determina la morte cellulare inducendo danni al DNA, che causano la messa in moto del meccanismo apoptotico. Vi sono inoltre evidenze che la piccola dose impartita in maniera continua dal radioimmunoconjugato possa determinare un arresto del ciclo cellulare in fase G₂, prevenendo l'entrata della cellula in mitosi. La sincronizzazione di una grossa popolazione cellulare in fase G₂ (il punto di transizione G₂/M è notoriamente la fase del ciclo cellulare maggiormente radiosensibile) costituisce il meccanismo principale attraverso cui si esplica la citotossicità di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan. La citotossicità sembra infine essere potenziata dal blocco dei meccanismi di riparazione del DNA, che avverrebbe ancora una volta in relazione alla dose di radiazione impartita alle cellule bersaglio in maniera continua. Tale potenziamento non avviene quando si esegue una radioterapia esterna: nell'intervallo tra una frazione e l'altra, infatti, i meccanismi di riparazione del DNA sono estremamente attivi, contribuendo a limitare il danno genotossico radio-indotto¹⁶.

Sebbene la capacità dell'anticorpo monoclonale di concentrare la radiazione sulle cellule bersaglio, con il potenziamento determinato dall'effetto di "fuoco incrociato", sia il principale meccanismo su cui si basa l'efficacia del farmaco, sono presenti (ma in misura minore) anche altri meccanismi di citotossicità, che contribuiscono all'effetto antitumorale di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan¹⁷. Tali meccanismi sono gli stessi che si riscontrano impiegando anticorpi monoclonali "freddi", quali il rituximab (anch'esso anti-CD20), e sono innescati dal legame dell'anticorpo stesso con il proprio antigene. Essi possono essere così riassunti²⁵:

- citotossicità mediata dal complemento (*complement-dependent cytotoxicity*, CDC): trattasi dell'attivazione della cascata del complemento tramite la via classica, attraverso l'esposizione del frammento cristallizzabile dell'anticorpo monoclonale; a seguito dell'assemblaggio del complesso di attacco alla membrana (MAC), si determina la lisi osmotica della cellula bersaglio;
- citotossicità mediata da anticorpi (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*, ADCC): è un meccanismo che coinvolge le cellule del sistema monocito-macrofagico e le cellule *natural killer*, attivate mediante interazione degli anticorpi opsonizzanti con i propri recettori di superficie (Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII);
- effetti citotossici diretti, determinati dal legame dell'anticorpo, che risulta in grado di modulare le risposte proliferative e pro-apoptotiche.

2.2 Aspetti farmacocinetici

L'ittrio 90 forma un complesso stabile, di natura covalente, con l'anticorpo cui è legato: pertanto, la biodistribuzione del radioisotopo è sovrapponibile a quella di ibritumomab tiuxetan.

L'emivita dell'isotopo è di 64 ore, ma è l'effettiva emivita *in vivo* dell'anticorpo monoclonale (stimata in 27 ore, range: 14-44) ad essere il fattore limitante per l'emivita dell'intero complesso: in tal modo, quindi, vengono limitati i potenziali danni arrecati a tessuti sani dall'isotopo non legato¹⁶.

L'impiego di un anticorpo murino, in luogo di un anticorpo chimerico o umanizzato (che generalmente viene utilizzato nell'immunoterapia dei linfomi non-Hodgkin), è giustificato dalla sua maggiore velocità di rimozione dal circolo, evitando al paziente l'esposizione eccessiva di tessuti non tumorali alla radiazione¹⁸.

La *clearance* del farmaco si ha prevalentemente per via urinaria, pur venendo eliminato, nell'arco di 7 giorni, soltanto il $7,3 \pm 3,2\%$ dell'attività somministrata. Infatti, la maggior parte della radioattività corrispondente ad una dose terapeutica di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan rimane trattenuta all'interno dell'organismo¹⁹.

2.3 Indicazioni alla terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan

Zevalin[®] è stato approvato nel 2002 dalla FDA per il trattamento di: pazienti con linfoma non-Hodgkin B a basso grado, follicolare o trasformato, in ricaduta o

refrattario alla chemioterapia; pazienti con linfoma non-Hodgkin follicolare refrattario a terapia con rituximab¹⁹.

In Europa, l'approvazione si è avuta nel 2004 da parte dell'EMA per il trattamento di pazienti adulti affetti da linfoma non-Hodgkin B follicolare, CD20⁺, ricaduti o refrattari a terapia con rituximab.

I parametri presi in considerazione per l'inclusione dei pazienti negli studi clinici che hanno riguardato ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan sono quelli di seguito elencati: diagnosi istologicamente documentata di linfoma non-Hodgkin con positività per l'espressione dell'antigene CD20; età superiore ai 18 anni; paziente *off therapy* da almeno tre settimane al momento dell'arruolamento; buon *performance status*; parametri ematologici periferici consistenti in una conta granulocitaria (ANC) superiore a 1.500/ μ L ($1,5 \times 10^9$ /L) e in una conta piastrinica superiore a 10^5 / μ L (100×10^9 /L), aspetti indicativi di buona funzionalità midollare; infiltrazione del midollo da parte della malattia inferiore al 25% della cellularità.

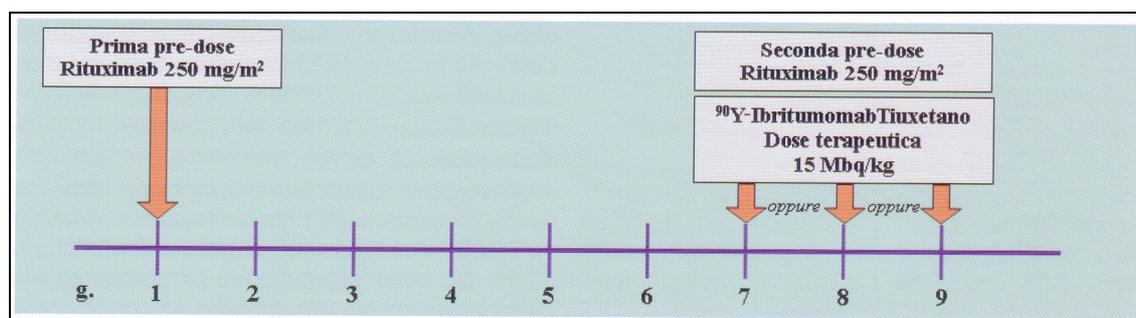
Sempre raccomandata l'instaurazione di adeguate misure contraccettive per la durata di un anno, sia in pazienti maschi, sia in pazienti femmine²⁰⁻²².

2.4 Piano di trattamento standard con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan

Il piano di trattamento con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan consta di tre momenti (figura 2.2): al giorno 1, viene eseguita un'infusione endovenosa di rituximab alle dosi di 250 mg/m², che viene ripetuta ad una settimana di distanza, alternativamente ai giorni 7, 8 o 9, con i medesimi dosaggi. A questa seconda somministrazione fa seguito l'infusione di Zevalin[®]. Se è richiesta una valutazione scintigrafica della biodistribuzione del farmaco (generalmente ciò avviene negli Stati Uniti e in Svizzera, mentre in Europa tale procedura non è richiesta), alla prima infusione di rituximab fa seguito, dopo 4 ore, la somministrazione endovenosa, in 10 minuti, di 5 mCi (1,6 mg) di ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan, essendo l'indio 111 un γ emittente, adatto per l'acquisizione di immagini tramite gammacamera. La valutazione della biodistribuzione del farmaco è pertanto eseguita su immagini scintigrafiche totali corporee, in antero-posteriore e in postero-anteriore, raccolte ad una distanza dall'infusione di 2-24 ore la prima, 48-72 ore la seconda, 90-120 ore la terza. Se le immagini raccolte mostrano un *pattern* di biodistribuzione compatibile con quello atteso, il paziente può essere inviato al trattamento con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan. In Europa, dove questo tipo di valutazione non viene di norma eseguita, si passa

direttamente alla somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan entro 4 ore dalla seconda somministrazione di rituximab¹⁹.

Figura 2.2 – Piano di trattamento standard con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, adottato in Europa, comprendente le due somministrazioni di anticorpo “freddo” (rituximab) preliminari.



Il razionale alla base delle due somministrazioni di anticorpo “freddo” (rituximab) prima dell’infusione di Zevalin[®] è quello di migliorarne la biodistribuzione (figura 5 fuori testo): ciò si determina sia eliminando le cellule CD20⁺ circolanti (prima somministrazione di rituximab), sia favorendo la penetrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan nel contesto della massa tumorale, operazione che può riuscire soltanto se si realizza il legame tra il rituximab e le cellule che si trovano alla periferia del tumore (seconda somministrazione di rituximab). Il rituximab, inoltre, è responsabile di una propria attività citotossica nei confronti delle cellule bersaglio, ottenuta mediante quei meccanismi di attivazione del complemento e dell’immunità cellulare di cui si è detto più sopra^{15, 17, 21}.

La dose (attività) di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan da somministrare è funzione sia del peso corporeo del paziente, sia della conta piastrinica registrata il giorno dell’infusione:

- pazienti con valori piastrinici superiori a 150.000/□L sono candidati a ricevere un’attività di 14,8 MBq/kg (0,4 mCi/kg);
- pazienti con valori piastrinici compresi tra 100.000 e 149.000/□L sono candidati a ricevere un’attività di 11,1 MBq/kg (0,3 mCi/kg);
- in ogni caso, l’attività globale massima consentita non deve superare i 1.184 MBq (32 mCi).

Dopo un periodo di osservazione di 3-4 ore, durante le quali vengono raccolte le urine delle prime due minzioni, ci si accerta che l’emissione esterna del paziente sia

inferiore a 10 μ Sv/h ad un metro di distanza²³. A questo punto, può avvenire la dimissione.

3. Studi di efficacia

3.1 Studi preliminari di fase I e I/II

Lo scopo degli studi di fase I e di fase I/II è stato quello di determinare la sicurezza, la biodistribuzione e l'efficacia di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, in combinazione con la somministrazione preliminare di rituximab, in pazienti con linfomi non-Hodgkin in stadio avanzato e in recidiva^{11, 19, 24}.

Il primo studio di fase I, iniziato nei primi anni Novanta, è stato pubblicato nel 1996 da Knox e coll.²⁵. In questo studio, 14 pazienti affetti da linfoma non-Hodgkin di grado basso o intermedio, pluritrattati, refrattari a precedenti linee terapeutiche o in ricaduta, sono stati trattati con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (alle dosi di 13,5, 20, 30, 40, 50 mCi totali), preceduto dalla somministrazione di anticorpo “freddo” (ibritumomab). Scopo dello studio era principalmente quello di determinare gli effetti di un pre-trattamento con anticorpo “freddo” sulla biodistribuzione del farmaco radioimmunoconiugato. I pazienti sono stati sottoposti, pertanto, a valutazione dosimetrica con ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan sia prima dell'infusione dell'anticorpo “freddo”, sia dopo la somministrazione di 1 mg/kg dello stesso. Confrontando i risultati delle indagini dosimetriche pre- e post-infusione di ibritumomab “freddo”, si è dimostrato che il pre-trattamento risulta essenziale nel migliorare la biodistribuzione del radiofarmaco, riducendone l'*uptake* a livello splenico, l'escrezione urinaria ed incrementandone la fissazione a livello delle sedi di malattia. La successiva somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan alle dosi stabilite è avvenuta, in tutti i pazienti, a distanza di 1-2 settimane dal completamento dello studio dosimetrico. I pazienti sono stati trattati in coorti di 3-4 unità, previa raccolta di cellule staminali emopoietiche da sangue periferico o midollo. La reinfusione delle cellule raccolte si è resa necessaria soltanto in due pazienti, entrambi trattati alla dose di 50 mCi. I risultati osservati, in termini di risposta al trattamento, hanno dimostrato un 79% di risposta globale, con il 36% di risposte complete e il 43% di risposte parziali.

Il secondo studio, di fase I/II, portato avanti da Witzig e coll. e pubblicato nel 1999²⁶ ha avuto come scopi principali: la determinazione della dose ottimale di rituximab da

somministrare prima della terapia con radioimmunocongiugato; la valutazione della dose massima tollerata (MTD) di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, tale da essere somministrata senza ricorrere alla reinfusione di cellule staminali emopoietiche; la registrazione dei risultati di efficacia e dei principali effetti tossici del farmaco. I pazienti arruolati presentavano una malattia in ricaduta o refrattaria a seguito di precedenti linee di chemioterapia; istologicamente, si trattava di linfomi non-Hodgkin B, CD20-positivi, a basso grado, di grado intermedio, o a cellule mantellari. I pazienti arruolati sono stati suddivisi in tre gruppi, corrispondenti ai tre principali obiettivi dello studio clinico: a livello del primo gruppo (fase I, 6 pazienti arruolati) è stata valutata la dose di rituximab da somministrare prima dell'infusione di anticorpo "caldo" (sia ^{111}In -ibritumomab tiuxetan, a scopo di *imaging*, sia ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan); a livello del secondo gruppo (fase I, 15 pazienti arruolati) si è determinata la dose massima tollerata di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, trattando i pazienti con attività di radiofarmaco pari a 0,2, 0,3 o 0,4 mCi/kg; a livello del terzo gruppo (fase II, 36 pazienti arruolati) sono stati valutati i dati di efficacia e tollerabilità del farmaco (a questo scopo, i pazienti del gruppo 2 e del gruppo 3 sono stati riuniti, ottenendo un gruppo unico di 51 pazienti).

Per quanto attiene al gruppo 1, la somministrazione di rituximab è avvenuta al giorno 0 e al giorno 7, alla dose di 100 mg/m² in tre pazienti, e di 250 mg/m² negli altri tre. La dose di 250 mg/m² è risultata essere ottimale, sia perché le successive valutazioni per immagini ottenute con ^{111}In -ibritumomab tiuxetan non hanno mostrato significative differenze in termini di biodistribuzione tra le due diverse dosi somministrate, sia perché tale dose di rituximab avrebbe incrementato la risposta clinica globale al trattamento. La dose di rituximab così determinata è stata quindi impiegata negli altri due gruppi in studio.

I 15 pazienti del secondo gruppo sono stati trattati con attività di radiofarmaco pari a 0,2 (5 pazienti), 0,3 (5 pazienti) e 0,4 (5 pazienti) mCi/kg. È stato notato che la conta piastrinica registrata prima della somministrazione di radioimmunocongiugato (indicativa della funzionalità midollare residua dopo i precedenti regimi di chemioterapia) si rivelava un parametro predittivo della tossicità ematologica del trattamento: due pazienti con una conta piastrinica compresa tra 120.000 e 100.000/□L hanno infatti sviluppato una trombocitopenia severa (< 25.000/□L) alle dosi di 0,2 e 0,3 mCi/kg, mentre nessuno dei pazienti con una conta piastrinica pre-trattamento superiore a 150.000/□L ha sviluppato trombocitopenia, alle stesse dosi.

Per tale motivo, si è ritenuto opportuno somministrare una dose di 0,4 mCi/kg ai pazienti con una conta piastrinica superiore a 150.000/ μ L, riservando una dose di 0,3 mCi/kg ai pazienti con valori piastrinici compresi tra 100.000 e 149.000/ μ L.

I 36 pazienti arruolati nel terzo gruppo sono stati riuniti ai 15 pazienti del secondo gruppo, ottenendo un gruppo unico di 51 pazienti, 49 dei quali avviati a terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (due pazienti non hanno ricevuto il radiofarmaco per la persistenza di malattia e per tossicità). I risultati ottenuti, calcolati su tutti i 51 pazienti di partenza (*intention-to-treat*), hanno dimostrato un tasso globale di risposta del 67%, differenziato sulla base dell'istologia (tabella 2.2), un intervallo libero da progressione di 12,9 mesi e una mediana di durata di risposta di 11,7 mesi.

Tabella 2.2 – Risposte ottenute in funzione dell'istologia (analisi *ITT*)³⁶.

	Basso grado (n=34)	Gr. interm. (n=14)	Mantellare (n=3)	Totale (n=51)
RC	9/34 (26%)	4/14 (29%)	0	13/51 (26%)
RP	19/34 (56%)	2/14 (14%)	0	21/51 (41%)
RC + RP	28/34 (82%)	6/14 (43%)	0	34/51 (67%)

Sulla base dei risultati ottenuti negli studi di fase I, si è deciso di adottare il seguente piano terapeutico per gli studi di fase II e III: somministrazione di rituximab, 250 mg/m², seguito da 5,5 mCi di ^{111}In -ibritumomab tiuxetan, al giorno 1; seconda somministrazione di rituximab, alle stesse dosi della precedente, seguita da ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (dosato sulla base del peso corporeo del paziente e della conta piastrinica), al giorno 8.

3.2 Superiorità di Zevalin[®] rispetto al rituximab

Una volta stabilita la validità del farmaco per mezzo degli studi di fase I e II, successivi studi di fase III hanno valutato la superiorità di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan rispetto al rituximab, in pazienti con linfoma non-Hodgkin recidivati e refrattari. Fondamentale è stato lo studio multicentrico, randomizzato, condotto da Witzig e coll. e pubblicato nel 2002²⁷. Si è trattato del primo studio in cui un anticorpo monoclonale è stato messo a confronto con un radioimmunoconiugato avente la stessa specificità antigenica. I 143 pazienti arruolati, provenienti da 27 istituzioni, sono stati assegnati in maniera casuale al braccio di controllo (70 pazienti),

consistente in 4 somministrazioni di rituximab alle dosi di 350 mg/m², a cadenza settimanale, o al braccio di trattamento (73 pazienti), ricevendo due infusioni di rituximab a 250 mg/m², al giorno 1 e al giorno 8, e l'infusione di ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan (5 mCi, a scopo di imaging) e ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (0,4 mCi/kg), rispettivamente al giorno 1 e al giorno 8, a seguito della corrispondente dose di rituximab. I pazienti arruolati erano affetti da linfoma non-Hodgkin a basso grado, follicolare o trasformato, CD20-positivo, in ricaduta o refrattario a precedenti linee di chemioterapia (da 2 a 6). Gli *endpoints* valutati sono stati: il tasso globale di risposta (*overall response rate*, ORR), la durata della remissione e l'intervallo libero da progressione. Il follow-up massimo, nei pazienti che hanno raggiunto una risposta clinica, è stato fissato in 4 anni.

Il tasso globale di risposta osservato è stato del 79% per i pazienti trattati con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, contro il 56% raggiunto dai pazienti trattati con solo rituximab ($p=0,002$); le risposte complete sono state, rispettivamente, il 30% e il 16% ($p=0,04$). Stratificando i pazienti in funzione dei parametri prognostici, si è ottenuto un ORR del 63% nei pazienti refrattari alla precedente chemioterapia trattati con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, contro il 43% dei pazienti trattati con solo rituximab ($p=0,078$); tali percentuali sono state rispettivamente del 64% e del 36% ($p=0,045$) quando si è presa in considerazione la resistenza all'ultima linea di chemioterapia. Inoltre, l'ORR calcolato nei pazienti con malattia bulky (≥ 5 cm) è stato del 67% per i pazienti in trattamento con Zevalin[®] e del 45% per i pazienti trattati con solo rituximab ($p=0,130$); infine, per i pazienti con linfoma follicolare, l'ORR è stato, per i due gruppi, del 76% e del 47% ($p < 0,001$).

In termini di sopravvivenza, la mediana d'intervallo libero da progressione nei pazienti trattati con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è stata di 11,2 mesi (range: 0,8-31,5), contro i 10,1 mesi (range: 0,7-26,1) nei pazienti trattati con solo rituximab ($p=0,173$); in particolare, per i pazienti con linfoma follicolare, tale valore è stato di 12,6 mesi per il gruppo di trattamento e di 10,2 mesi per il gruppo di controllo ($p=0,062$). La durata della risposta è stata, rispettivamente per il gruppo di trattamento e per il gruppo di controllo, di 14,2 mesi (range: 0,9-28,9) e di 12,1 mesi (range: 2,1-24,5), con un valore di p pari a 0,644; per i pazienti con linfoma follicolare, tali valori sono stati rispettivamente di 18,5 e 12,1 mesi ($p=0,371$).

Figura 2.3 – Risposte nei pazienti trattati con Zevalin[®] e con rituximab.

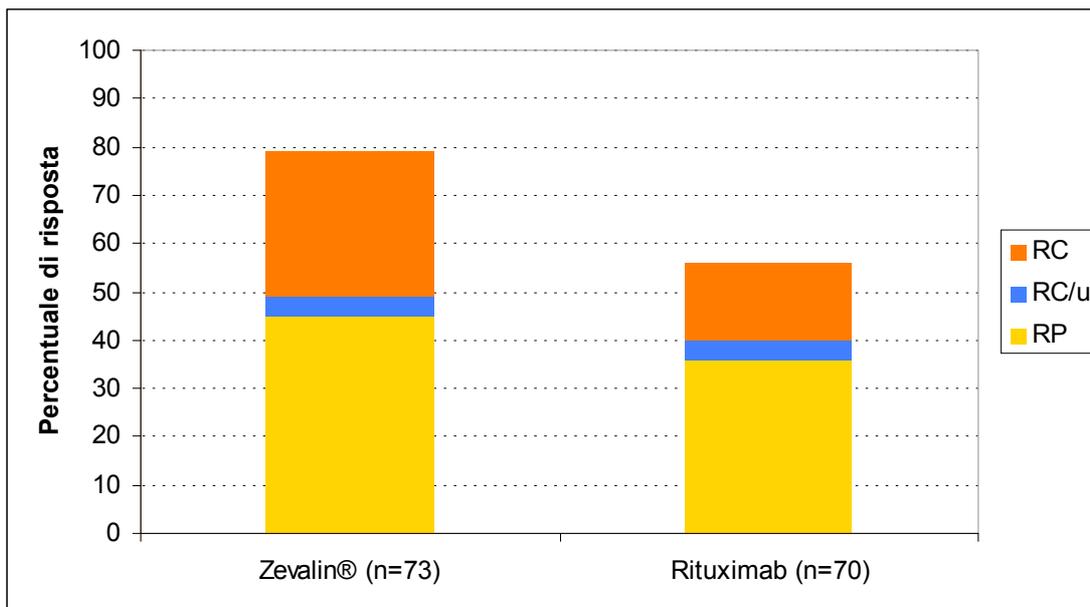
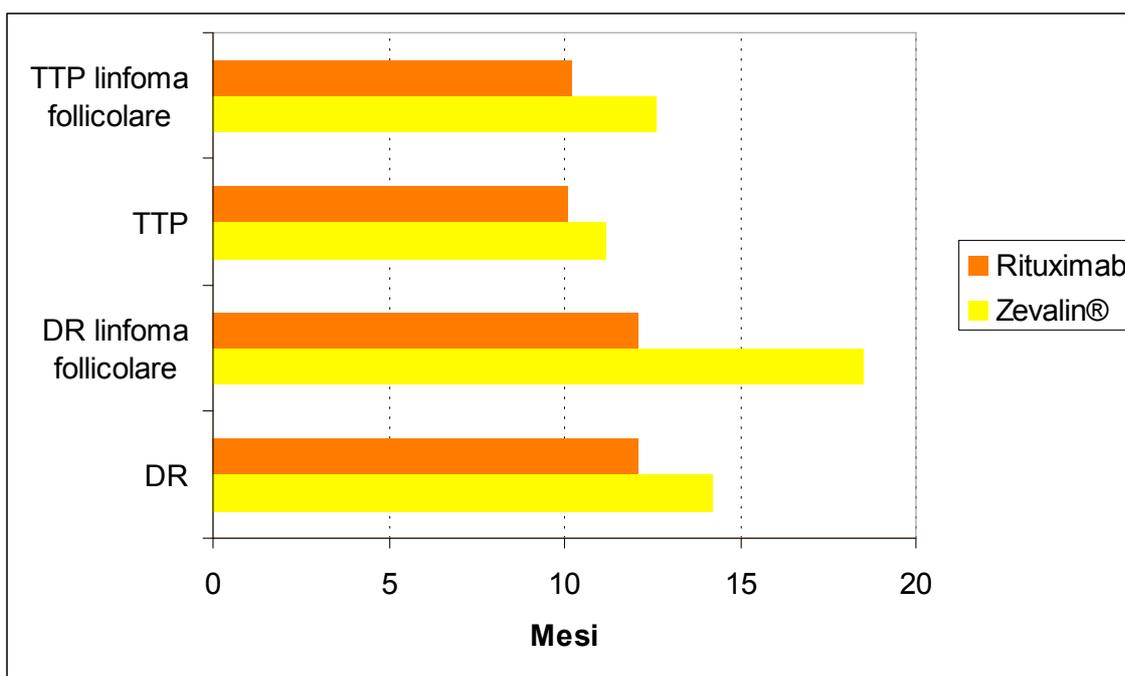


Figura 2.4 – Intervallo libero da progressione (TTP) e durata della risposta (DR) in pazienti trattati con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan e con rituximab.



Da tali risultati emerge che il trattamento con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è capace di incrementare del 23% il tasso globale di risposta rispetto al solo trattamento con anticorpo “freddo”, producendo un più favorevole tasso di risposte complete e migliorando (sebbene in maniera non statisticamente significativa) l’intervallo libero da malattia nei pazienti in risposta completa e con linfoma follicolare.

3.3 Efficacia di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan nei linfomi refrattari al rituximab

L'immunoterapia con rituximab è una delle strategie terapeutiche maggiormente impiegate nel trattamento dei linfomi non-Hodgkin, pertanto risulta di grande importanza stabilire se pazienti precedentemente trattati con rituximab, e dimostratisi refrattari, possano essere eleggibili ad un successivo trattamento che impieghi sempre un anticorpo monoclonale anti-CD20, ma radiomarcato, quale è appunto ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan. Un importante studio in questo senso è stato portato avanti ancora una volta da Witzig e coll.³⁸, nel 2002, i quali hanno valutato l'efficacia di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan in una coorte di 57 pazienti (54 dei quali con linfoma follicolare, 2 con linfoma a piccoli linfociti e 1 con linfoma a grandi cellule trasformato) risultati refrattari ad un precedente trattamento settimanale con rituximab (alle dosi di 375 mg/m^2 , per 4 somministrazioni) o tali da presentare un intervallo libero da malattia inferiore ai 6 mesi.

Come negli studi precedenti, ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan è stato somministrato alla dose di $0,4\text{ mCi/kg}$ al giorno 8, dopo l'infusione endovenosa di rituximab (250 mg/m^2) ai giorni 1 e 8 e l'esecuzione di opportune misurazioni dosimetriche.

Il tasso globale di risposta ottenuto è stato del 74% (hanno risposto 40 pazienti su 54 valutabili per l'analisi di efficacia), con un 15% di risposte complete e un 59% di risposte parziali. Non sono state registrate differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'*overall response rate* in pazienti con interessamento midollare, splenomegalia, peso corporeo superiore agli 80 kg (che hanno ricevuto ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan alla dose massima somministrabile di 32 mCi).

Per quanto riguarda le misure di sopravvivenza, si è ottenuto un intervallo libero da progressione di 6,8 mesi (range: 1,1-25,9), che calcolato per i soli pazienti responsivi ($n=40$) risulta di 8,7 mesi (range: 1,7-25,9), con una durata mediana di risposta di 6,4 mesi (range: 0,5-24,9).

Sulla base di questi dati, Zevalin[®] si rivela un farmaco efficace anche in quei pazienti in cui una precedente terapia mirata anti-CD20 è risultata inefficace: questo per via dell'effetto potenziante legato all'azione dell'isotopo radioattivo.

3.4 Zevalin[®] a dose ridotta nei pazienti con lieve trombocitopenia

La mielosoppressione è il principale effetto secondario associato alla chemioterapia sistemica dei linfomi non-Hodgkin; essa tende a persistere nel tempo nei pazienti risultati refrattari a precedenti linee di terapia, divenendo un ostacolo per la messa in atto di successive strategie terapeutiche. Wiseman e Schilder e coll.^{29,30} hanno

dimostrato che la radioimmunoterapia a dosaggio ridotto (0,3 mCi/kg) in pazienti con linfoma non-Hodgkin a basso grado, follicolare o trasformato, recidivati o refrattari, e concomitante piastrinopenia lieve (conta piastrinica compresa tra 100.000 e 149.000/ μ L) non soltanto è sicura, ma è anche efficace, rappresentando pertanto una valida opzione terapeutica in questo particolare *subset* di pazienti.

In relazione ai 30 pazienti arruolati, di cui il 63% refrattari alla precedente chemioterapia, si è osservato un tasso globale di risposta dell'83%, con il 47% di risposte complete. Per i dati di sopravvivenza, si veda la tabella 2.3.

Tabella 2.3 – Dati di sopravvivenza.

Durata mediana della risposta, in mesi ($n=30$)	11,5 (1,0-53,9)
Intervallo libero da progressione, in mesi	
□ in tutti i pazienti ($n=30$)	9,4 (1,7-54,8)
□ nei long-term responders (≥ 12 mesi)($n=14$)	24,6 (12,1-54,8)
□ nei pazienti con risposta completa ($n=14$)	24,5 (4,9-54,8)
Tempo mediano alla terapia successiva, in mesi ($n=30$)	14,6 (2,3-54,8)

Per quanto concerne gli effetti secondari, si è evidenziata soltanto una tossicità ematologica reversibile, in assenza di severi eventi avversi, tali da pregiudicare la sopravvivenza dei pazienti o l'instaurazione di un successivo schema terapeutico.

3.5 Lunga durata di risposta

Risultati in questo senso sono stati recentemente pubblicati da Witzig e coll.³¹, come aggiornamento di un precedente lavoro del 2005³². Oltre a valutare la durata delle risposte, considerando come *long-term responder* (LTR) un paziente con intervallo libero da progressione pari o superiore a 12 mesi, il lavoro ha avuto come obiettivo la determinazione dei fattori in grado di favorire una risposta a lungo termine.

Per raggiungere tali scopi, sono stati raccolti dati relativi a 211 pazienti arruolati tra il 1996 e il 1999 nell'ambito di quattro studi registrativi di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, a livello di 30 centri negli Stati Uniti. Gli studi presi in considerazione (e descritti in precedenza nei relativi paragrafi) sono indicati in tabella 2.4; a fianco di ciascuno studio è riportato il numero di pazienti arruolati.

Tabella 2.4 – Studi registrativi citati da Witzig e coll.⁴¹.

Studio di fase I/II di determinazione della dose preliminare di rituximab ^{36, 43}	51
Studio di fase III, ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan vs rituximab ^{37, 44}	73
Studio di fase III in pazienti refrattari al rituximab ³⁸	57
Studio di fase II in pazienti con lieve trombocitopenia ⁴⁰	30

Le caratteristiche dei 211 pazienti arruolati sono riassunte in tabella 2.5.

Tabella 2.5 – Caratteristiche generali dei pazienti.

	Tutti i pz. (n=211)	LTRs (n=78)		Non-LTRs (n=133)
		Tutte le istologie	le LNH follicolari	
Età mediana	58 (24-85)	58 (24-80)	59 (34-79)	58 (29-85)
Età > 60 anni	44%	44%	48%	44%
Maschi	55%	55%	51%	56%
LNH follicolare	73%	76%	—	71%
Interess. midoll.	45%	41%	41%	47%
Terapie preced.	2 (1-9)	2 (1-7)	2 (1-7)	2 (1-9)
□ ≥ 2	70%	59%	58%	77%
□ ≥ 3	44%	33%	34%	50%
Bulky (≥ 5cm)	56%	30%	31%	72%
Stadio III-IV	89%	83%	86%	92%
LDH elevate	6,6%	5,1%	5,1%	7,5%

Risposte a lungo termine, pari o superiori a 12 mesi, sono state evidenziate in 78 dei 211 pazienti (37%). È interessante notare come la percentuale di pazienti in stadio III-IV sia minore per i LTR (83%) che per i non-LTR (92%), con un *p-value* di 0,13. Inoltre, le percentuali di pazienti con malattia bulky, sottoposti ad oltre 2 precedenti linee di terapia e con malattia refrattaria all'ultima terapia (dati non mostrati) sono minori per quanto riguarda i pazienti LTR, piuttosto che i non-LTR ($p < 0,1$). Tali osservazioni suggeriscono un possibile ruolo predittivo di questi fattori nel determinare una risposta clinica a lungo termine. In particolare, da un'analisi multivariata, è risultato che il raggiungimento di una risposta completa (RC, RC/u), l'assenza di malattia bulky e lo stadio I-II sono tutti fattori predittivi significativi ($p <$

0,001 per i primi due fattori; $p=0,02$ per lo stadio). La presenza di una risposta completa è il fattore predittivo positivo più importante, con un *odds ratio* di 7,0 (IC al 95%: 3,4-14,5); l'età superiore ai 60 anni o i livelli elevati di LDH alla diagnosi non sono invece fattori predittivi dotati di significatività statistica.

Ad un follow-up mediano di 53,5 mesi (range: 12,7-88,9), nei 78 pazienti con LTR la durata mediana di risposta è stata di 28,1 mesi (range: 10,5-86,6), con un intervallo libero da progressione di 29,3 mesi (range: 12,1-87,8). Nel 29% di questi pazienti, la durata di risposta e l'intervallo libero da progressione hanno superato rispettivamente i 72 e i 73 mesi.

La sopravvivenza globale nei 211 pazienti è risultata di 49,3 mesi, superiore a 52 mesi nell'82% dei pazienti LTR (80,6% di sopravvivenza stimata a 5 anni); nei pazienti non-LTR, invece, la sopravvivenza mediana è stata di 34,6 mesi.

In base a questi risultati, è possibile concludere che ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan è in grado di produrre risposte a lungo termine in una considerevole percentuale di pazienti sia con linfomi indolenti sia con linfomi aggressivi, ad alto rischio e con scarsa risposta alle precedenti terapie.

3.6 Il trattamento precoce assicura migliori risultati

Un'ulteriore analisi, condotta da Emmanouilides e coll.³⁵ sul campione di 211 pazienti precedentemente descritto, ha dimostrato una maggiore efficacia di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, in termini di maggiore durata di risposta, in pazienti che avevano ricevuto un solo trattamento precedente, se confrontati con pazienti che avevano ricevuto due o più precedenti terapie. Il 30% dei pazienti è stato trattato con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan al momento della prima ricaduta (pazienti che avevano ricevuto un solo precedente trattamento), mentre il rimanente 70% ha ricevuto l'anticorpo radioimmunoconiugato dopo almeno due precedenti linee di terapia (3 in media, range: 2-9).

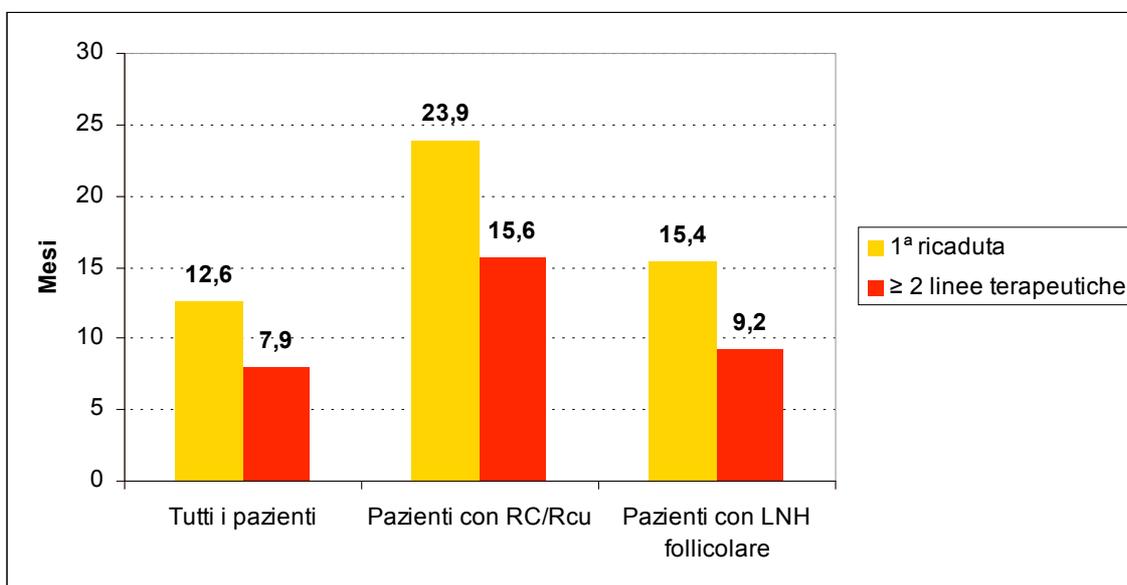
Il tasso di risposte complete (RC/RCu) è stato nettamente superiore per quanto concerne il gruppo di pazienti in prima ricaduta rispetto al gruppo di pazienti pluritrattati (49% e 28% rispettivamente, $p=0,004$), con un intervallo libero da progressione mediano di 12,6 e 7,9 mesi rispettivamente ($p=0,025$), ed una mediana di durata di risposta di 13,7 mesi contro 8,2 mesi ($p=0,131$).

I benefici della radioimmunoterapia si sono rivelati particolarmente significativi nei pazienti con linfoma follicolare, tipo istologico assai rappresentato sia nel gruppo di

pazienti in prima ricaduta (71%), sia nel gruppo di pluritrattati (73%). Per questi pazienti, i tassi di risposta completa sono stati del 51% e del 28% per i due gruppi ($p=0,009$), con un intervallo libero da progressione di 15,4 e 9,2 mesi rispettivamente ($p=0,026$).

La figura 2.5 rappresenta i risultati ottenuti, con particolare riguardo ai pazienti che hanno raggiunto una risposta completa e ai pazienti con linfoma follicolare.

Figura 2.5 – Intervallo libero da progressione (in mesi) in tutti i pazienti, nei pazienti con risposte complete e nei pazienti con linfoma follicolare (valori di p per i tre gruppi rispettivamente di: 0,025, 0,442, 0,026).



3.7 Il trattamento con Zevalin® non preclude successive terapie

Diversi studi clinici sono stati condotti in pazienti ricaduti a seguito di trattamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan. Una revisione della letteratura, effettuata da Ansell e coll. nel 2004³⁶ ha evidenziato che tutti i regimi chemioterapici utilizzati dopo la ricaduta sono stati in grado di produrre delle risposte cliniche, senza particolari differenze in termini di tossicità, mettendo a confronto i gruppi di pazienti precedentemente trattati con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan e i gruppi di pazienti che non hanno ricevuto radioimmunoterapia. Importanti dati al riguardo sono stati pubblicati, sempre da Ansell e coll., in un precedente articolo del 2002³⁷. Sono stati presi in considerazione 58 pazienti in ricaduta dopo trattamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, alla dose di 0,4 mCi/kg, a loro volta sottoposti ad ulteriori linee di terapia antitumorale o di immunoterapia. La tossicità rilevata in tale coorte di pazienti è stata quindi confrontata con quella registrata a livello di gruppi di controllo, costituiti da

pazienti che non avevano ricevuto ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan come terapia precedente, ma che sono stati comunque trattati con regimi chemioterapici identici ai pazienti cui è stata somministrata la radioimmunoterapia. Anche i pazienti arruolati nei gruppi di controllo dovevano presentare un linfoma B indolente o trasformato, pluritrattato e in ricaduta.

I 58 pazienti pre-trattati con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan sono stati sottoposti ad un numero medio di due ulteriori linee terapeutiche (range: 1-7); 8 di essi hanno ricevuto un trapianto autologo e uno di essi un trapianto allogenico; la raccolta di cellule staminali da sangue periferico negli 8 pazienti sottoposti a trapianto autologo è stata soddisfacente in 7 casi, previa somministrazione di G-CSF; soltanto in un caso si è ricorsi all'espianto chirurgico. Soltanto due pazienti hanno iniziato la successiva linea di chemioterapia al 75% della dose, per via della mielosoppressione legata a ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan.

I risultati del confronto operato tra i pazienti precedentemente trattati con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan e i pazienti trattati con soli regimi chemioterapici sono riportati in tabella 2.6. Tale tabella prende soltanto in considerazione alcune linee di terapia (CHOP, ProMACE-CytaBOM, DHAP, ICE e rituximab), quelle cioè per cui è risultato disponibile un gruppo di controllo, e non contempla altri schemi di trattamento (quali: *fludarabine-containing regimens*, clorambucile, corticosteroidi, 2CdA, radioterapia, trapianto autologo o allogenico) cui sono stati sottoposti i pazienti in studio.

Tabella 2.6 – Caratteristiche di tossicità (*).

Tossicità	CHOP/ProMACE -CytaBOM		DHAP/ICE		Rituximab	
	^{90}Y (n=23)	No ^{90}Y (n=20)	^{90}Y (n=18)	No ^{90}Y (n=20)	^{90}Y (n=18)	No ^{90}Y (n=20)
Uso di G-CSF	22%	15%	44%	45%	—	—
Neutropenia gr. 4	17%	20%	44%	35%	6%	—
Piastrinop. gr. 4	4%	5%	28%	30%	—	—
FUO	9%	15%	33%	25%	—	—
Ospedalizzazione	13%	10%	28%	25%	—	—
Trasfusione GRC	4%	—	6%	5%	—	5%
Trasfusione Plts	—	5%	17%	20%	—	—

Sintomi infusione	—	—	—	—	39%	40%
-------------------	---	---	---	---	-----	-----

(*) CHOP/ProMACE-CytaBOM: regimi contenenti antracicline; DHAP/ICE: regimi contenenti platino (cisplatino, carboplatino).

Da tale tabella non emergono significative differenze riguardo l'impiego di G-CSF, l'incidenza di una citopenia di grado 4 o di una neutropenia febbrile tra pazienti trattati con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan e pazienti dei tre gruppi di controllo. Allo stesso modo, non si rilevano differenze per quanto attiene alla terapia trasfusionale e al ricovero ospedaliero.

Un ulteriore studio, proposto da Schilder e coll.³⁸ nel 2002 ha presentato i dati di sopravvivenza relativi a 99 pazienti trattati con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan e successivamente sottoposti ad ulteriori linee di terapia (tabella 2.7). Tali dati mettono in luce come i tassi di risposta globale ottenuti nei pazienti ritrattati siano sovrapponibili a quelli riportati in letteratura per quanto riguarda le terapie di salvataggio per i linfomi non-Hodgkin in stadio avanzato.

Tabella 2.7 – *Overall response rate* per pazienti in prima linea di terapia dopo ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan.

Tutte le terapie	61/99 (62%)
Chemioterapia	26/49 (53%)
Rituximab, interferone	14/24 (58%)
Radioterapia	20/25 (80%)
Trapianto autologo	1/1 (100%)

Al termine di questo paragrafo riportiamo i dati aggiornati al 2003³⁹, in termini di risposte complete e di *ongoing responses*, relativi agli studi di cui si è detto più sopra (figura 2.6) e una tabella riassuntiva degli studi clinici che hanno portato alla registrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (tabella 2.8, alla pagina seguente).

Figura 2.6 – Dati aggiornati al 2003 (Witzig, ASCO 2003) relativi a tre studi registrativi di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (cfr. ^{26,27,30}). Il numero di pazienti considerati è, rispettivamente: 51 (studio di fase I/II), 30 (studio di fase II), 73 (studio di fase III).

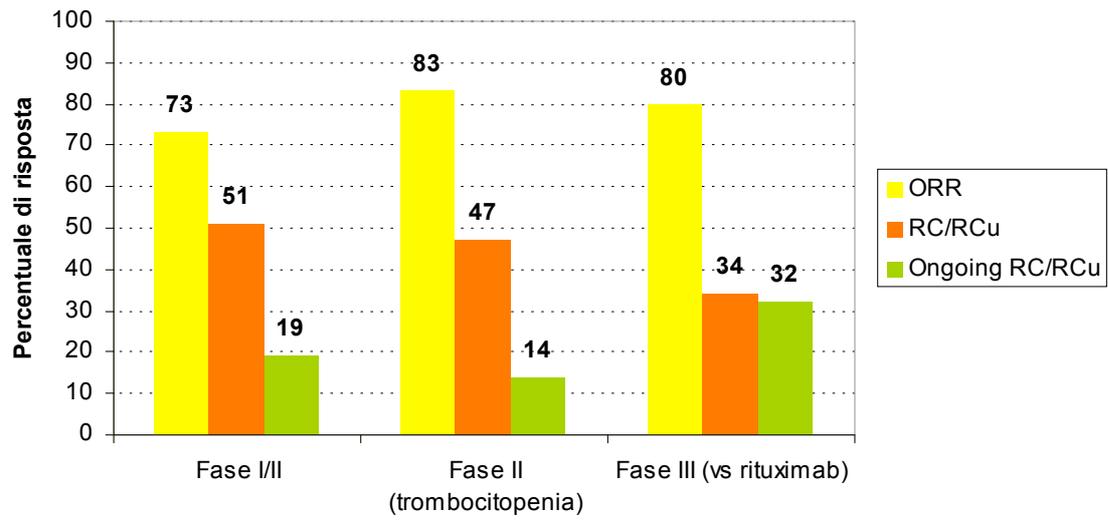


Tabella 2.8 - Sintesi degli studi clinici di efficacia che hanno portato alla registrazione di ⁹⁰Y ibritumomab tiuxetan.

Autore	Fase	ORR	RC	RP	Scopo dello studio
Knox ³⁵	I	79%	36%	43%	Determinare gli effetti del pre-trattamento con anticorpo “freddo” sulla biodistribuzione del radiofarmaco.
Witzig ³⁶	I/II	67%	26%	41%	Determinare la dose ottimale di rituximab da somministrare prima della terapia con radiofarmaco; valutare la dose massima tollerata (MTD) di ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan.
Witzig ³⁷	III	79%	34%*	45%	Confrontare i risultati di efficacia ottenuti con ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan e con rituximab.
Witzig ³⁸	II	74%	15%	59%	Determinare l'efficacia di ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan nei linfomi refrattari al rituximab.
Schilder ⁴⁰	II	83%	47%	36%	Determinare l'efficacia di ⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan a dose ridotta nei pazienti con lieve trombocitopenia.

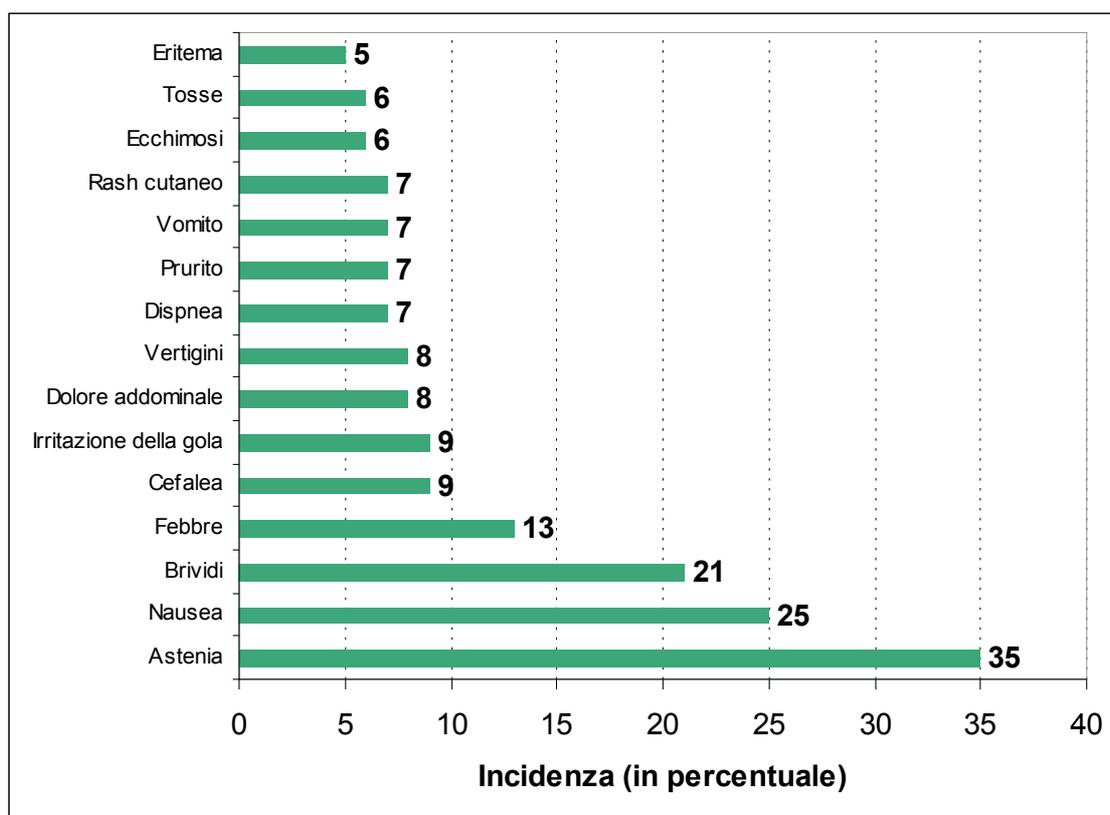
ORR: *overall response rate*; RC: *risposta completa*; RP: *risposta parziale*. * comprende un 4% di RC/u.

4. Sicurezza e tollerabilità

I principali dati di sicurezza e tollerabilità di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan sono stati pubblicati da Witzig e coll. nel 2003⁴⁰, in un lavoro che ha raccolto una casistica di 349 pazienti arruolati in 5 diversi studi clinici condotti tra il 1996 e il 2001 negli Stati Uniti. La terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan è stata eseguita nel 99% dei pazienti (345/349): quattro di essi non hanno ricevuto il radiofarmaco per via di tossicità manifestata nei confronti del rituximab o nel corso delle operazioni di dosimetria, o per la presenza di patologia linfomatosa in progressione. Gli eventi avversi sono stati registrati contestualmente alle visite dei pazienti e descritti sulla base dei criteri del National Cancer Institute.

Eventi avversi di tipo non-ematologico, verosimilmente o probabilmente legati alla terapia, sono stati registrati nell'80% dei pazienti nel corso delle 13 settimane di trattamento. La figura 2.7 riassume quanto osservato.

Figura 2.7 – Tossicità non ematologica di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan.



Si è trattato, per la maggior parte, di tossicità di grado 1 e 2, manifestata attraverso episodi di astenia (35%), nausea (25%), brividi (21%), tra i più frequenti. Tossicità più severe sono state registrate nel 39% dei pazienti. Nel 18% dei casi si sono verificati eventi emorragici; 56 pazienti hanno sperimentato un'emorragia di grado 1

e 2 (di entità ridotta, talvolta microscopicamente evidente, tale da non richiedere trattamento), 5 pazienti hanno presentato emorragie di grado 3 (tra cui emorragie digestive, emorragie vaginali, ecchimosi, ematomi) e in 2 casi si sono verificate emorragie cerebrali (un ematoma subdurale ed un'emorragia intracranica), entrambe trauma-correlate e in particolare, in un paziente, in corso di terapia con anticoagulanti orali.

Tabella 2.9 – Tossicità ematologica severa di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

Tossicità	Grado 3*	Grado 4**	Durata mediana (giorni)	
			Metodo A †	Metodo B ‡
Su tutti i pazienti (n=349)				
Neutropenia	103 (30%)	105 (30%)	23	8
Piastrinopenia	185 (53%)	35 (10%)	28	13
Anemia	46 (13%)	14 (4%)	14	1
⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan alla dose di 0,4 mCi/kg (n=270)				
Neutropenia	75 (28%)	80 (30%)	22	8
Piastrinopenia	139 (52%)	26 (10%)	24	10
Anemia	38 (14%)	9 (3%)	14	1
⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan alla dose di 0,3 mCi/kg (n=65)				
Neutropenia	26 (40%)	23 (35%)	29	14
Piastrinopenia	43 (66%)	9 (14%)	35	16
Anemia	8 (12%)	5 (8%)	14	4

* ANC \geq 500 e $<$ 1.000/ \square L; Plts \geq 10.000 e $<$ 50.000/ \square L; Hb 6,5-8,0 g/dL

** ANC $<$ 500/ \square L; Plts $<$ 10.000/ \square L; Hb $<$ 6,5 g/dL

† Durata del nadir calcolata dalla data dell'ultimo valore prima dello sviluppo di una tossicità di grado 3-4 alla data del primo valore di grado 2

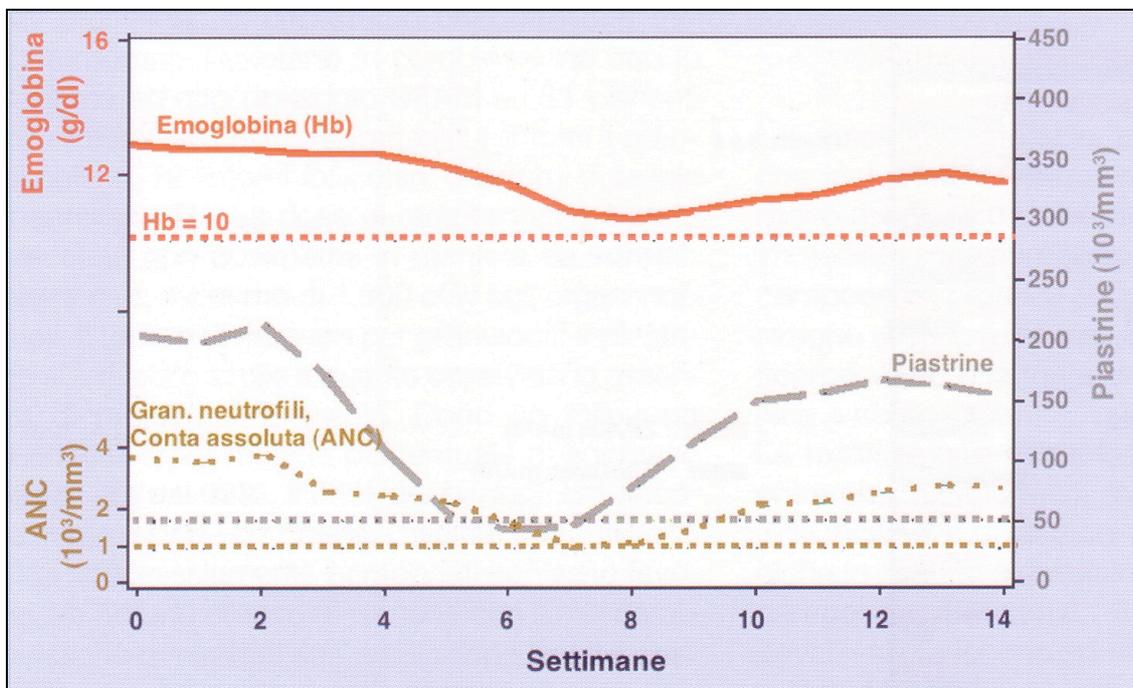
‡ Durata del nadir calcolata dalla data del primo valore di tossicità 3-4 alla data dell'ultimo valore di grado 3-4

La tabella 2.9 riassume i dati relativi alla tossicità ematologica di grado 3 e grado 4. Per quanto riguarda la tossicità di grado 1-2, 141 pazienti (40%) hanno presentato neutropenia e 129 (37%) piastrinopenia. Nei pazienti con tossicità severa, la conta dei neutrofili (ANC) è rientrata al disopra delle 1.000 cellule/ \square L entro 12 settimane dalla somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan nel 90% dei pazienti, mentre la conta piastrinica si è normalizzata, in un intervallo della medesima durata, nell'89% dei

pazienti. Le emotrasfusioni sono state richieste in 90 pazienti: il 20% ha ricevuto una trasfusione di globuli rossi concentrati, e il 22% ha ricevuto una trasfusione piastrinica.

Sulla base di questi dati, è possibile concludere che il principale aspetto di tossicità correlato alla somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan è rappresentato dalla mielosoppressione, che tipicamente si verifica tra la quarta e la sesta settimana dal trattamento, raggiungendo il nadir attorno alla settima-nona settimana, con successiva risoluzione entro 1-4 settimane (figura 2.8). Tale mielosoppressione risulta diversa da quella legata a terapie mieloablativa, che caratteristicamente compare tra 10 e 14 giorni, per risolversi entro la terza settimana.

Figura 2.8 – Valori emocromocitometrici mediani relativi ai 349 pazienti.



È interessante notare come la neutropenia, la piastrinopenia e l'anemia siano state più frequenti nei pazienti precedentemente trattati con un *fludarabine-containing regimen* (*p-values* rispettivamente di 0,050, 0,025 e $< 0,001$); negli stessi pazienti, inoltre, la piastrinopenia di grado 3-4 si è rivelata di maggiore durata rispetto ai pazienti mai trattati con fludarabina (28 giorni rispetto a 22 giorni, $p=0,029$).

Per quanto riguarda la conta linfocitaria, la popolazione CD19^+ ha mostrato un declino nel periodo post-trattamento, con ritorno ai valori di normalità entro 6-9 mesi,

mentre per la popolazione T-linfocitaria non si sono osservate deviazioni significative dagli intervalli di normalità.

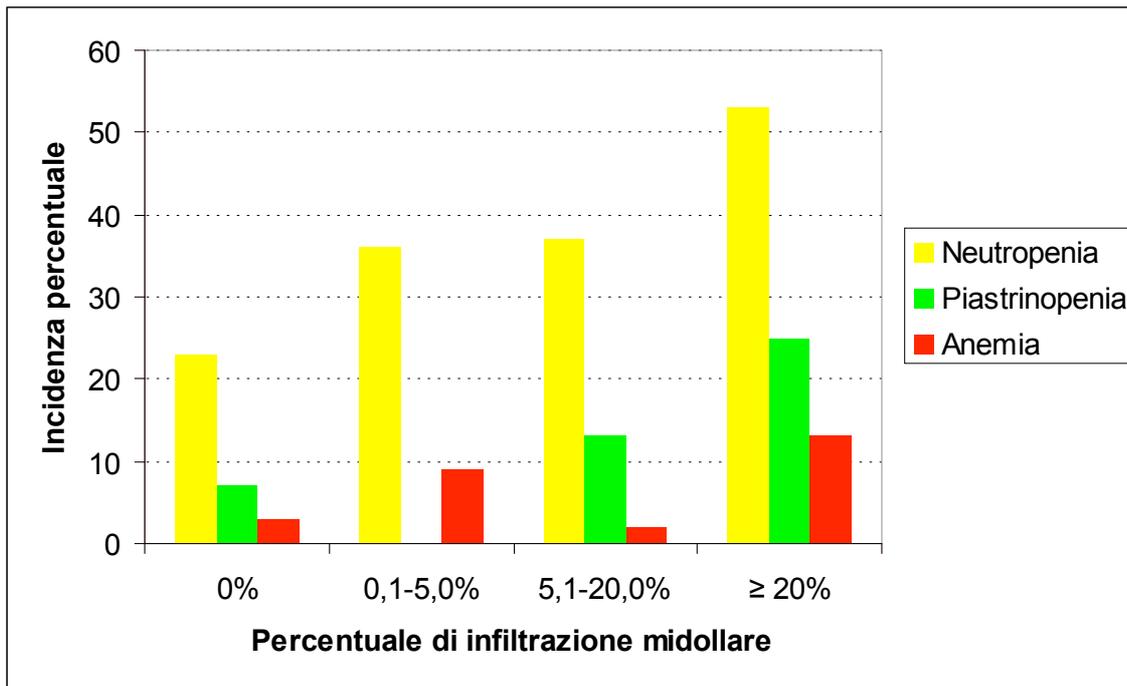
Nelle 12 settimane successive al termine del trattamento, il 29% dei pazienti ha presentato episodi infettivi (segnatamente a carico delle vie aeree superiori e delle vie urinarie), il 5% dei quali di grado 3-4, o ha sviluppato una neutropenia febbrile. Durante il periodo di trattamento, il 7% dei pazienti ha richiesto un ricovero ospedaliero per via dello sviluppo di FUO neutropenica (2%), infezioni delle vie urinarie (1%), sepsi (1%), polmonite (1%), infezioni dei tessuti molli (1%), gastroenterite acuta (1%). Nel periodo di follow-up (a partire da 12 settimane dopo la somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan), l'incidenza delle infezioni è stata assai ridotta: il 6% dei pazienti ha presentato episodi infettivi, prevalentemente a carico delle vie respiratorie superiori.

Nell'1% dei casi si sono sviluppati anticorpi anti-anticorpi murini (HAMA) e anti-anticorpi chimerici (HACA), senza che si siano presentati eventi avversi di rilievo.

4.1 Correlazioni tra tossicità ed infiltrazione midollare

Al momento dell'arruolamento, il 42% dei pazienti presentava un'infiltrazione midollare da parte della malattia. La presenza di un'infiltrazione midollare progressivamente crescente si è rivelata un fattore predittivo di una maggiore tossicità ematologica di grado severo, in termini di neutropenia ($p=0,001$), piastrinopenia ($p=0,013$) e anemia ($p=0,040$). Il grafico di figura 2.9 mostra l'incidenza della tossicità ematologica di grado 4 in funzione dell'interessamento midollare al momento dell'arruolamento nello studio.

Figura 2.9 – Correlazione tra tossicità ematologica di grado 4 ed infiltrazione midollare.



4.2 Sicurezza e tollerabilità in funzione dell'età

Uno studio a questo proposito è stato presentato da Schilder e coll. al meeting ASCO del 2005⁴¹. I 211 pazienti, provenienti da 4 diversi studi clinici, sono stati stratificati sulla base dell'età in tre gruppi: pazienti con meno di 60 anni (età mediana: 49 anni), con età tra 60 e 69 anni (mediana: 65 anni), con oltre 70 anni (mediana: 75 anni). I risultati ottenuti, per quanto riguarda la tossicità ematologica, sono mostrati in tabella 2.10, alla pagina seguente. In forza di tali dati, è possibile concludere che la terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan può essere considerata di scelta in pazienti anziani, vista l'efficacia clinica e la tollerabilità, sovrapponibili a quelle riscontrate in pazienti più giovani. Tale trattamento può essere di buon grado considerato un'opzione ideale per quei pazienti impossibilitati a tollerare la chemioterapia convenzionale, in ragione dell'età o delle precedenti linee di trattamento.

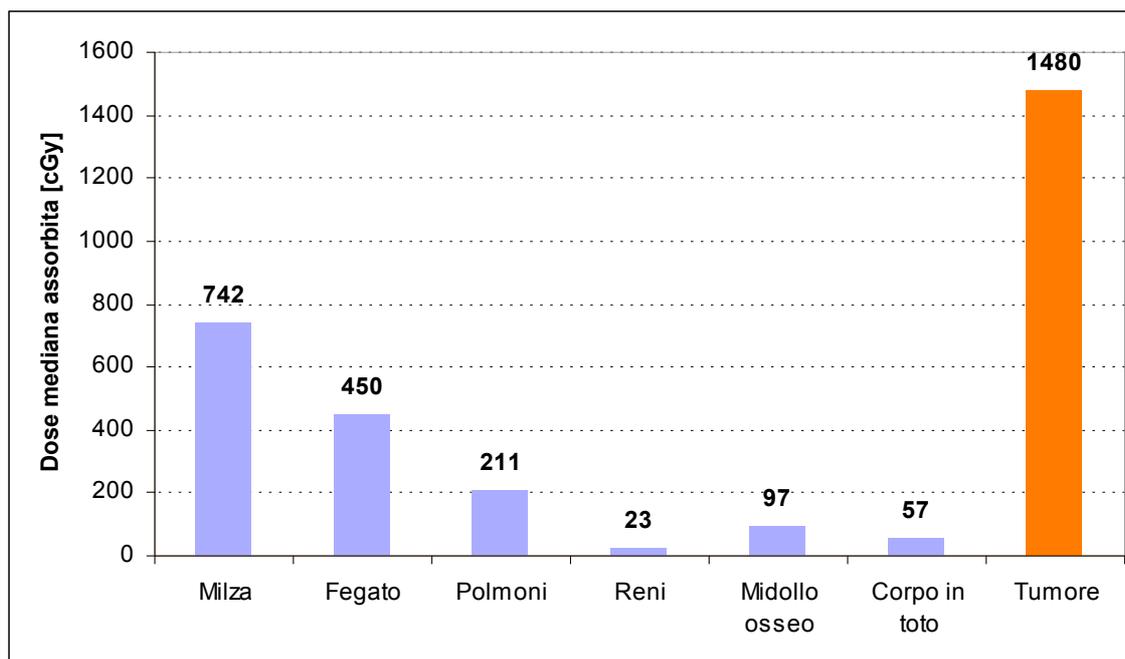
Tabella 2.10 – Tossicità ematologica severa in funzione dell'età.

	< 60 anni (n=113)	60-69 anni (n=58)	≥ 70 anni (n=40)	<i>p</i>
Neutropenia gr. 3-4	66%	47%	68%	0,03
Piastrinopenia gr. 3-4	70%	59%	68%	0,33
Anemia gr. 3-4	22%	19%	8%	0,12

4.3 Aspetti dosimetrici

Gli studi di dosimetria condotti da Wiseman e coll.⁴² con ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan su 179 pazienti hanno dimostrato che le dosi assorbite dagli organi sani e dal midollo osseo (v. figura 2.10) sono state ben al disotto dei valori soglia stabiliti dai protocolli di trattamento, rispettivamente di 2000 e 300 cGy. Inoltre, non è stata osservata alcuna correlazione tra radiazione assorbita a livello midollare e tossicità ematologica.

Figura 2.10 – Dosi assorbite a livello dei principali organi.



I risultati dimostrano che il dosaggio di Zevalin[®] basato sul peso corporeo e sulla conta piastrinica può essere impiegato con sicurezza, e che la valutazione dosimetrica non risulta necessaria, come specificamente indicato nel riassunto delle caratteristiche del prodotto.

5. Lo stato dell'arte e le prospettive future

In Europa, Zevalin[®] è approvato per il trattamento dei linfomi non-Hodgkin B follicolari, CD20⁺, in ricaduta o refrattari a terapia con rituximab. In altri tipi di linfoma non-Hodgkin, pertanto, l'uso della radioimmunoterapia non è autorizzato, a meno che si tratti di particolari studi clinici appositamente disegnati ed approvati.

Attualmente, non è ancora risultato chiaro quale debba essere l'esatta sequenza di somministrazione di chemioterapia e radioimmunoterapia, e non si hanno a tutt'oggi evidenze certe sulla possibilità di usare la radioimmunoterapia come trattamento di

prima linea. Una delle principali prospettive future, pertanto, è quella di stabilire il migliore approccio chemio-immuno-radioterapico per le neoplasie linfoidi ad alto e basso grado, precisando quale possa essere l'ottimale combinazione di radioimmunoterapia, chemioterapia convenzionale, immunoterapia con anticorpi monoclonali, citochine o vaccini⁴³. Studi clinici in questo senso, in cui ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è stato impiegato in prima linea o come terapia di consolidamento di una precedente chemioterapia di induzione, sono presentati nell'ultima parte – quella sperimentale – di questo elaborato assieme ai *trials* appena conclusi presso l'Istituto “Seràgnoli” di Bologna, dal momento che ne costituiscono un fondamentale presupposto scientifico e culturale.

Altro punto importante su cui concentrare l'attenzione è rappresentato dalle modalità di valutazione e controllo della tossicità ematologica e dell'efficacia della terapia. L'infiltrazione midollare, che come si è visto in precedenza rappresenta uno dei principali fattori predittivi di tossicità ematologica, dovrebbe essere determinata, oltre che attraverso l'esame istologico del campione bioptico al microscopio ottico, mediante opportune metodiche di diagnostica per immagini (come ad esempio la PET, sebbene questa non rappresenti una soluzione ottimale) o mediante metodiche molecolari. La misurazione dei livelli di alcune citochine stimolatrici dell'emopoiesi (come ad esempio FLT3-L) consente di stabilire il tasso proliferativo delle cellule staminali del midollo: pertanto, elevati livelli di questi *markers* molecolari correlano con una maggiore radiosensibilità, e dunque con una maggiore suscettibilità allo sviluppo di una tossicità ematologica di grado severo. Parallelamente, risulta necessaria l'adozione di migliori strategie per decretare il livello di risposta alla terapia, posto che il raggiungimento di una risposta molecolare (valutabile mediante PCR in funzione dei livelli di malattia minima residua) possa positivamente tradursi in un maggiore beneficio, in termini di sopravvivenza.

Tentativi volti ad incrementare la dose impartita alle cellule tumorali, riducendo quella rivolta alle cellule sane, sono suggeriti da un lavoro del 2000 di Weiden e coll.⁴⁴. In questo studio viene descritta la possibilità di marcare le cellule che esprimono un determinato antigene di superficie mediante un anticorpo monoclonale coniugato, in maniera covalente, ad una molecola in grado di legarsi con elevata affinità ad un composto di piccole dimensioni e rapidamente escreto, facilmente radiomarcabile. Legando al rituximab una molecola di streptavidina e somministrando immediatamente un derivato sintetico della vitamina B₁ (biotina), cui

la streptavidina risulta altamente affine, viene favorita l'eliminazione di tutte le molecole anticorpali circolanti, non legate al proprio antigene bersaglio. Una successiva infusione di biotina radiomarcata (^{90}Y -DOTA-biotina) farà in modo che il radioisotopo vada a legarsi soltanto alle molecole di anticorpo, recanti streptavidina, che si sono a loro volta legate alle cellule esprimenti l'antigene. Questa metodica terapeutica, definita "*pretargeting*", consente – per lo meno in linea teorica – di impartire alle cellule tumorali dosi di radiazione sensibilmente maggiori rispetto alle convenzionali metodiche di radioimmunoterapia, risparmiando una notevole quota di tessuto sano.

Un ultimo campo in cui le possibilità della radioimmunoterapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan rimangono ancora in gran parte da studiare è l'ambito trapiantologico. Dai primi studi effettuati, in cui ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan è stato associato alla terapia di condizionamento (Z-BEAM) prima dell'infusione di cellule staminali emopoietiche, sono emersi valori di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da malattia rispettivamente del 94% e del 74%, a fronte di una tossicità ematologica ed extra-ematologica non dissimile da quella osservata in pazienti trattati con condizionamento standard. Questi dati possono eventualmente suggerire un prossimo impiego di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan in regimi terapeutici mieloablativi appositamente disegnati per pazienti anziani o precedentemente trattati con diverse linee di trattamento³².

3. LA RADIOIMMUNOTERAPIA ALL'ISTITUTO "SERÀGNOLI"

Allo scopo di indagare l'utilizzo di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan in prima linea in combinazione sequenziale con la chemioterapia citotossica, in relazione a diverse tipologie di pazienti e a diversi tipi istologici di linfoma non-Hodgkin, sono partiti nel 2004, presso l'Istituto di Ematologia e Oncologia Medica "Lorenzo e Ariosto Seràgnoli" di Bologna tre protocolli sperimentali:

- il primo studio riguarda pazienti di età superiore ai 18 anni, affetti da linfoma non-Hodgkin indolente non follicolare, non precedentemente trattato, che abbiano raggiunto una risposta parziale o completa dopo 6 cicli di chemioterapia di induzione secondo schema FM (fludarabina, mitoxantrone);
- il secondo studio riguarda pazienti di età superiore ai 18 anni, affetti da linfoma non-Hodgkin follicolare, esordito in stadio II-IV e non precedentemente trattato, che abbiano raggiunto una risposta parziale o completa dopo 6 cicli di chemioterapia di induzione con fludarabina *per os* e mitoxantrone (FLUMIZ);
- il terzo studio riguarda pazienti di età superiore ai 60 anni, affetti da linfoma non-Hodgkin B a grandi cellule, di tipo diffuso, non precedentemente trattato, che abbiano raggiunto una risposta parziale o completa dopo 6 cicli di chemioterapia di induzione secondo schema CHOP (ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina e prednisone).

Per tutti i tre protocolli sono state adottate le stesse modalità gestionali del paziente, in termini di valutazione clinica pre-trattamento e di misurazione della risposta alla chemioterapia e alla radioimmunoterapia.

Al momento dell'arruolamento, tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione clinica di base, consistente nella raccolta dell'anamnesi remota e recente, nell'esame fisico completo, nella determinazione della formula leucocitaria e del numero di piastrine, nella valutazione dei parametri biochimici di funzionalità epatica e renale. In aggiunta, è sempre stato valutato l'assetto sierologico del paziente nei confronti dei virus epatitici B e C, di HIV e di *Treponema pallidum*.

La determinazione della taglia di malattia e la stadiazione sono state eseguite mediante tomografia computerizzata di collo, torace, addome e pelvi (integrata in alcuni pazienti con PET totale corporea) e biopsia osteomidollare con aspirato. I

pazienti con precedenti anamnestici di patologia cardiaca sono stati inviati ad una valutazione ecocardiografica, e successivamente arruolati solo a fronte di una frazione di eiezione nei limiti della normalità.

L'erogazione della chemioterapia e delle due dosi di rituximab è avvenuta materialmente all'interno dei locali del Day Hospital ematologico dell'Istituto Seràgnoli, mentre la somministrazione del radioimmunocongiugato è avvenuta con la collaborazione dei medici dell'UO di Medicina Nucleare del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, all'interno di stanze adeguatamente attrezzate allo scopo.

Al fine di essere eleggibili per il consolidamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, gli unici parametri considerati, non essendo necessaria una valutazione dosimetrica, sono stati: la risposta alla chemioterapia di induzione (in termini di risposta completa o parziale), una conta di neutrofilii superiore a $1.500/\mu\text{L}$ e un valore di piastrine superiore a $10^5/\mu\text{L}$, un'infiltrazione midollare da parte della malattia inferiore al 25% della cellularità.

La dose somministrata di radioimmunocongiugato è stata valutata sulla base del peso del paziente e della conta piastrinica: pazienti con valori piastrinici compresi tra 100.000 e 149.000/ μL hanno ricevuto un'attività di 11,1 MBq/kg (0,3 mCi/kg); pazienti con valori piastrinici superiori a 150.000/ μL hanno invece ricevuto un'attività di 14,8 MBq/kg (0,4 mCi/kg): in ogni caso, l'attività globale massima consentita è stata fissata in 1.184 MBq (32 mCi).

Per ciascuno studio, gli *endpoints* primari sono stati la determinazione della sopravvivenza globale (*overall survival*) e della sopravvivenza libera da progressione (*progression free survival*), oltre alla valutazione della tollerabilità e della sicurezza della terapia combinata.

Gli eventi avversi sono stati descritti sulla base della classificazione riportata nella *Common Terminology Criteria for Adverse Events*⁵⁵; per comodità di consultazione, si riportano in tabella 3.1 i principali parametri di determinazione della tossicità ematologica.

Tabella 3.1 – *CTCAE* per la tossicità ematologica.

Evento avverso	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Anemia Hb in g/dL	> 10 (6,2)	10-8 (6,2-4,9)	8-6,5 (4,9-4)	< 6,5 (4)

(mmol/L)				
Neutropenia ANC/□L	> 1.500	1.500-1.000	1.000-500	< 500
Piastrinopenia Plts/□L	> 75.000	75.000-50.000	50.000-25.000	< 25.000

TRIALS CLINICI

1. FM-Z in prima linea nei linfomi indolenti non follicolari

I linfomi indolenti non follicolari sono generalmente considerati delle entità cliniche non curabili, se si eccettuano i linfomi del tessuto linfatico extranodale associato alle mucose (MALT), che possono giovare di terapia chirurgica, radioterapia locoregionale o antibiotica.

Per i pazienti con linfoma indolente non follicolare, l'inizio del trattamento non deve essere necessariamente tempestivo, non appena fatta diagnosi; spesso è preferibile un atteggiamento di tipo *wait and see*, segnatamente in gruppi di pazienti più anziani, meno tolleranti alla tossicità dei chemioterapici, dato che questo non comporta una riduzione degli *outcomes* di sopravvivenza osservati rispetto ai pazienti trattati con la chemioterapia.

Storicamente, questo tipo di linfomi è stato trattato usando diversi tipi di approccio (chemioterapia con singolo agente alchilante, radioterapia loco-regionale, terapia con ciclofosfamide, vincristina e prednisone, eventualmente associata a radioterapia), senza che tuttavia venissero messe in evidenza particolari differenze in termini di sopravvivenza o di intervallo libero da progressione tra le diverse modalità terapeutiche⁴⁶. Solo negli ultimi dieci anni si è iniziato ad usare la fludarabina, sia come agente singolo sia in combinazione con altri chemioterapici, quali mitoxantrone, idarubicina, ciclofosfamide⁴⁷⁻⁵⁸. I *fludarabine-containing regimens* hanno globalmente portato a tassi di risposta del 50-60%, valori considerevolmente superiori a quelli registrati con la sola fludarabina.

Per quanto concerne l'uso dell'anticorpo anti-CD20 rituximab nei linfomi indolenti non follicolari, vi sono attualmente risultati contrastanti: viene **tuttavia messa in luce una sua maggiore efficacia nei pazienti non precedentemente trattati**^{59,60}.

La radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan si è recentemente posta come un'importante alternativa alla sola chemioterapia nel trattamento dei linfomi indolenti non follicolari. Risultati in questo senso sono scaturiti dagli studi iniziali di fase I/II relativi a ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, portati avanti da Witzig e coll.¹⁶, i quali hanno osservato un tasso globale di risposta (*overall response rate*) dell'82%, con un 26% di risposte complete, in 34 pazienti con linfomi non-Hodgkin indolenti, in ricaduta, precedentemente trattati con almeno due linee di terapia o con antracicline. Ulteriori studi, sempre condotti dal gruppo di Witzig²⁷, hanno confrontato l'azione del rituximab, somministrato settimanalmente per via endovenosa per 4 cicli, con quella di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan in singola dose e preceduto da due somministrazioni di rituximab, in pazienti con linfoma non-Hodgkin a basso grado, follicolare o trasformato, in ricaduta o con malattia refrattaria a precedenti linee terapeutiche. In 17 pazienti con linfoma indolente non follicolare, 9 arruolati nel braccio “⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan”, e 8 nel braccio “solo rituximab”, sono stati ottenuti dei tassi di risposta globale rispettivamente del 67% (con 2 risposte complete su 6 pazienti responsivi) e del 50% (con 2 risposte complete su 4 pazienti responsivi): tali risultati evidenziano come ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan sia in grado di determinare dei tassi di risposta significativamente superiori rispetto al rituximab usato in monoterapia.

Sulla scorta di questi risultati, l'Istituto Seràgnoli ha condotto uno studio clinico di fase II in pazienti con linfoma indolente non follicolare, non precedentemente trattati, volto a determinare l'efficacia e la tossicità di uno schema terapeutico basato su una chemioterapia di induzione secondo lo schema FM (fludarabina e mitoxantrone), seguita da ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

1.1 Pazienti e metodi

I criteri di eleggibilità per questo studio clinico sono consistiti in: età superiore a 18 anni, diagnosi biptica di linfoma non-Hodgkin indolente non follicolare (linfoma a piccoli linfociti, linfoma linfoplasmocitico, linfoma della zona marginale), positività per l'antigene linfocitario di superficie CD20, stadio II-IV secondo Ann Arbor, assenza di precedenti trattamenti, *performance status* secondo WHO compreso tra 0 e 2.

La prima fase del protocollo di trattamento ha previsto la somministrazione endovenosa di fludarabina (Fludara[®], Bayer Schering Pharma, 25 mg/m² nei giorni 1, 2 e 3 del ciclo) e mitoxantrone (Novantrone[®], Wyeth, 10 mg/m² al giorno 1 del ciclo) per 6 cicli da 28 giorni. Tra un ciclo e l'altro, sono stati ogni volta monitorati la formula leucocitaria e il numero delle piastrine, riservandosi di procrastinare di una settimana la somministrazione della chemioterapia qualora la conta dei neutrofili fosse risultata inferiore a 1.500/□L e quella delle piastrine inferiore a 10⁵/□L. L'impiego di G-CSF è stato riservato ai soli casi di neutropenia febbrile o di neutropenia severa (grado 3-4 CTCAE).

A 4-6 settimane dal completamento dei 6 cicli di chemioterapia d'induzione, i pazienti sono stati sottoposti ad una rivalutazione dello stato di malattia mediante esame clinico, controllo emocromocitometrico ed ematochimico, tomografia computerizzata di collo, torace, addome e pelvi, biopsia osteomidollare con aspirato. Come già precedentemente descritto, l'eleggibilità al trattamento consolidativo con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è stata determinata sulla base del tipo di risposta alla chemioterapia di induzione (risposta completa o risposta parziale), della conta di neutrofili e di piastrine (superiori, rispettivamente, a 1.500/□L e 10⁵/□L), dell'infiltrazione midollare da parte della malattia.

I pazienti risultati eleggibili sono stati quindi avviati alla seconda fase di trattamento. A 6-10 settimane dal completamento della chemioterapia si è eseguita la somministrazione di rituximab (MabThera[®], Roche) alla dose di 250 mg/m² (giorno 1); una seconda somministrazione di rituximab è stata ripetuta (con lo stesso dosaggio) al giorno 8, ed immediatamente seguita dall'infusione endovenosa di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®], Bayer Schering Pharma).

Tre mesi dopo la somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è stata ripetuta, per ogni paziente, la rivalutazione dello stato di malattia, ed è stata confrontata la risposta clinica ottenuta con quella registrata al termine della chemioterapia di induzione.

La tossicità e la tolleranza alla terapia sono state valutate durante le visite effettuate regolarmente in corrispondenza di ogni ciclo di terapia, registrando l'incidenza, la severità e la tipologia di ogni singolo evento avverso.

Gli *outcomes* valutati sono stati la sopravvivenza globale (*overall survival*, OS), determinata come l'intervallo tra la comparsa di una risposta alla terapia e il decesso del paziente (per qualsiasi causa), e l'intervallo libero da progressione (*progression-free survival*), determinato come l'intervallo tra la risposta alla terapia e la

progressione/recidiva di malattia. Le risposte ottenute sono state classificate sulla base di criteri standardizzati di risposta⁷¹. Le curve di sopravvivenza sono state tracciate facendo riferimento al metodo di Kaplan-Meier⁶².

1.2 Risultati

Da febbraio 2006 a giugno 2006, epoca in cui lo studio è rimasto aperto, sono stati arruolati 26 pazienti. Le principali caratteristiche dei pazienti sono riassunte schematicamente in tabella 3.2.

Tabella 3.2 – Caratteristiche dei pazienti.

Numero pazienti arruolati	26
Età mediana (range)	61 (45-82)
Sesso (M/F)	13/13
Stadio III	4 (15%)
Stadio IV	22 (85%)
Interessamento midollare	20 (77%)
Interessamento extranodale	6 (23%)
Malattia bulky	2 (8%)
Istologia	
Linfoma della zona marginale	10 (38%)
Linfoma linfoplasmocitico	8 (31%)
Linfoma a piccoli linfociti	8 (31%)

L'età mediana dei pazienti arruolati è stata di 61 anni (range: 45-82 anni); 13 pazienti arruolati (50%) erano maschi, e 13 (50%) femmine. Di tali pazienti, all'arruolamento 4 (15%) erano in stadio III e i rimanenti 22 (85%) in stadio IV; di questi ultimi, 20 avevano un interessamento midollare da parte della malattia. Due pazienti (8%) si presentavano con una malattia bulky, mentre 6 (23%) avevano un interessamento extranodale da parte del linfoma.

Alla prima rivalutazione, eseguita dopo 6 cicli di chemioterapia secondo schema FM, si è registrata una risposta globale (*overall response rate*) dell'81%, con 13 (50%) pazienti in risposta completa alla terapia e 8 (31%) pazienti in risposta parziale. I rimanenti 5 pazienti (2 con linfoma a piccoli linfociti, 2 con linfoma linfoplasmocitico e 1 con linfoma della zona marginale) sono stati considerati non

responsivi alla terapia, e come tali non hanno potuto proseguire l'iter terapeutico con la somministrazione del radioimmunoconiugato.

Venti pazienti su 26 sono risultati eleggibili alla terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, vale a dire tutti i 13 pazienti in risposta completa e 7 degli 8 pazienti in risposta parziale: uno di questi ultimi, infatti, con linfoma a piccoli linfociti, non ha potuto proseguire l'iter terapeutico a causa di una infiltrazione midollare da parte della malattia superiore al 25% della cellularità.

La risposta globale ottenuta dai 20 pazienti che hanno completato il protocollo terapeutico è stata del 100% in termini di risposte complete: in tal senso, tutti i pazienti in risposta completa al termine della chemioterapia con schema FM hanno mantenuto la risposta completa anche dopo la somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan; inoltre, le 7 risposte parziali avviate al trattamento radioimmunoterapico si sono convertite in risposte complete dopo la somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan. La tabella 3.3 mette in luce come il trattamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan abbia migliorato il tasso di risposta completa.

Tabella 3.3 – Tipologie di risposta alla terapia.

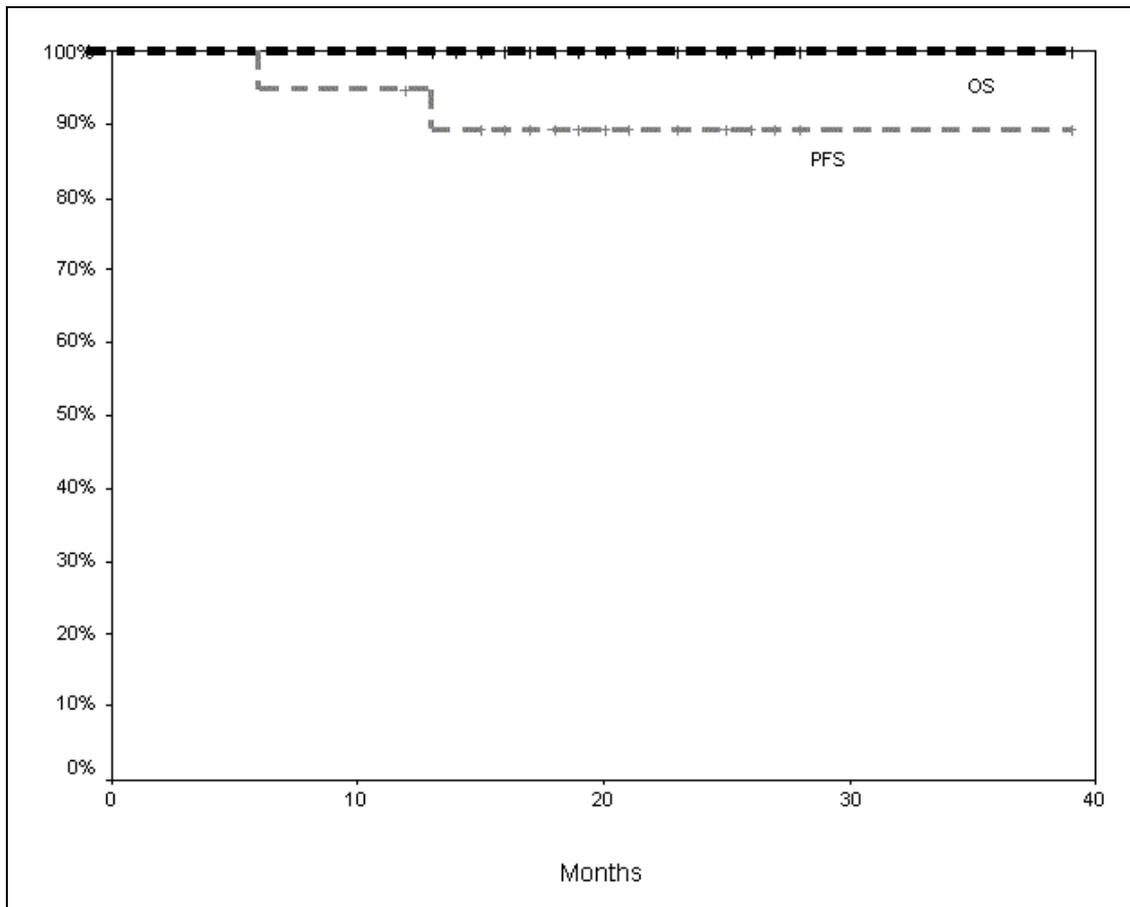
	Dopo FM	Dopo Zevalin[®]
Pazienti valutabili	26	20
Risposta completa	13 (50%)	20 (100%)
Risposta parziale	8 (31%)	0
Progressione	5 (19%)	0

Concluso il percorso terapeutico ed ottenuta la risposta completa, i pazienti trattati sono stati seguiti presso gli ambulatori divisionali dell'Istituto. Ad un follow-up mediano di 20 mesi (range: 12-39 mesi), 2 pazienti su 20 hanno presentato una progressione di malattia.

La figura 3.1, riportata alla pagina seguente, rappresenta la sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da malattia nei pazienti trattati, ad un follow-up di oltre 3 anni.

La sopravvivenza globale (*overall survival rate*) è del 100%, non essendoci stati deceduti tra i pazienti che hanno portato a termine l'intero schema terapeutico (si è avuto un solo decesso, per progressione di malattia, in un paziente non avviato a terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan).

Figura 3.1 – Sopravvivenza globale (OS) e sopravvivenza libera da progressione (PFS) nei 20 pazienti avviati a ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan.



1.3 Tolleranza alla terapia

La tabella 3.4, alla pagina seguente, presenta in dettaglio l'incidenza degli eventi avversi, sia dopo la chemioterapia di induzione secondo schema FM (dati riferiti a 26 pazienti), sia dopo la somministrazione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (dati riferiti ai soli 20 pazienti eleggibili). I risultati sono espressi sia in valore assoluto, sia in percentuale sul numero di pazienti valutabili caso per caso.

La chemioterapia secondo schema FM è stata ben tollerata dalla maggior parte dei pazienti; i principali eventi avversi segnalati sono stati episodi di anemia e neutropenia di grado 3 o 4, comunque reversibili; solo in un caso è stato registrato un episodio di neutropenia febbrile (FUO neutropenica).

Per quanto concerne la terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, gli eventi avversi sono stati principalmente ematologici, comprendendo trombocitopenia, neutropenia e anemia di grado 3-4 rispettivamente in 16 (80%), 11 (55%) e 7 (35%) pazienti. La tossicità ematologica si è sempre dimostrata reversibile.

Tabella 3.4 – Incidenza di eventi avversi durante la terapia.

	Dopo FM	Dopo Zevalin[®]
Pazienti valutabili	26	20
Anemia grado 3-4	4 (15%)	7 (35%)
Neutropenia grado 3-4	13 (50%)	11 (55%)
Piastrinopenia grado 3-4	2 (8%)	16 (80%)
Neutropenia febbrile	1 (4%)	1 (5%)
Ricovero per FUO	0	1 (5%)
Trasfusioni	0	6 (30%)
Antibioticoterapia	0	5 (25%)

I valori minimi raggiunti (nadir) in termini di granulociti neutrofili, piastrine ed emoglobina, e il tempo necessario al completo ristabilirsi degli stessi sono riassunti in tabella 3.5.

Tabella 3.5 – Tossicità ematologica dopo ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

	Baseline	Nadir	Giorni al nadir	Durata nadir
ANC ($\square L^{-1}$)	2700 (1500-6500)	700 (210-2000)	41 (30-51)	30 (17-56)
Piastrine ($\times 1.000/\square L$)	186 (150-500)	23 (11-120)	35 (29-50)	36 (20-104)
Emoglobina (g/dL)	13,4 (12-15,9)	9,0 (7,2-14,0)	45 (30-51)	38 (25-104)

Tali valori sono stati calcolati sulla base di esami emocromocitometrici seriati eseguiti da ciascun paziente con cadenza settimanale (o con maggiore frequenza nel caso di comparsa di pancitopenia di grado severo) a partire dal completamento dell'intero ciclo terapeutico, fino al completo ritorno alla normalità dei parametri ematologici.

2. F(per os)M-Z in prima linea nei linfomi follicolari

Negli ultimi dieci anni, il linfoma follicolare, precedentemente considerato una patologia inevitabilmente mortale, ha assunto le caratteristiche di patologia cronica, per la quale ci si possono attendere periodi di sopravvivenza libera da malattia considerevolmente lunghi, oltre a prospettarsi consistenti possibilità di guarigione. Questo progresso, in termini clinici, è il risultato di una più profonda comprensione dei meccanismi regolatori della patogenesi e della ricaduta della patologia, oltre che del miglioramento delle strategie terapeutiche, principalmente basate su un approccio polifarmacologico. Non tutti i pazienti, tuttavia, possono beneficiare dello stesso tipo di trattamento, in quanto questo è strettamente legato all'indice prognostico (*Follicular Lymphoma International Prognostic Index*, FLIPI) calcolato sulla base di: età del paziente, stadio secondo Ann Arbor, numero di sedi nodali coinvolte, valori di emoglobina e di lattico-deidrogenasi all'esordio⁶³. Nei soggetti con malattia disseminata a rischio medio-basso, la scelta terapeutica è tra un atteggiamento di *wait and see* e la somministrazione di un ciclo di terapia di induzione, seguita da un trattamento di mantenimento; nei pazienti ad alto rischio, invece, la chemioterapia (secondo schema CVP, CHOP o con un *fludarabine-containing regimen*) associata all'immunoterapia con rituximab si rivela l'opzione di scelta, garantendo intervalli liberi da progressione maggiori rispetto all'impiego della sola chemioterapia^{62, 74, 75}. Estremamente promettenti si sono rivelati, negli anni passati, i risultati legati all'impiego della radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan come agente singolo nel trattamento dei linfomi non-Hodgkin follicolari^{36-38, 41, 45}: per tutti i dettagli si rimanda al capitolo precedente. In anni più recenti, Sweetenham e coll.⁶⁶ hanno valutato l'efficacia di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan in prima linea in pazienti con linfoma follicolare a basso grado (in stadio III-IV), seguito da terapia di consolidamento con rituximab alle dosi di 375 mg/m² ogni 6 mesi, per 2 anni. I primi risultati pubblicati, relativi a 10 pazienti, hanno messo in evidenza un tasso globale di risposta del 100%, con il 62% di risposte complete, a fronte di una tossicità prevalentemente ematologica (nel 38% dei casi di grado 3, ma in ogni caso reversibile). Ulteriori studi clinici hanno valutato l'azione combinata di chemioterapia e radioimmunoterapia sequenziali in prima linea nei pazienti con linfoma follicolare. Shipley e coll.⁷⁷ hanno dimostrato che l'implementazione della chemio-immunoterapia con radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è in

grado di incrementare i valori di risposte complete e di durata della remissione rispetto all'impiego della sola chemioterapia e del rituximab, in pazienti con linfoma follicolare. Lo studio ha previsto l'arruolamento di 42 pazienti con linfoma follicolare (grado I-III) in stadio II-IV, non precedentemente trattati, i quali hanno ricevuto dapprima quattro somministrazioni di rituximab, alle dosi standard di 375 mg/m² e a cadenza settimanale, quindi sono stati sottoposti a tre cicli di chemioterapia secondo schema R-CHOP (o R-CVP, se presentavano una frazione di eiezione inferiore al 45%), ogni 21 giorni. A cinque settimane dal termine della chemioterapia, i pazienti con interessamento midollare inferiore al 25% della cellularità hanno ricevuto una somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (preceduta da due somministrazioni di rituximab a 250 mg/m²). Tutti i pazienti hanno mostrato una risposta alla chemioterapia di induzione, con il 28% di risposte complete; la radioimmunoterapia ha consolidato le risposte complete già ottenute, incrementandone il tasso fino al 67%. Il tasso di sopravvivenza libera da progressione, calcolato a 2 anni, è risultato del 77%. De Monaco e coll.⁶⁸, dell'Università di Pittsburgh, hanno testato l'efficacia di un regime terapeutico comprendente tre cicli di chemioterapia secondo schema R-CHOP (a dosaggi standard) ogni 21 giorni, seguiti dopo tre settimane dalla somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, ed infine da quattro somministrazioni di rituximab, alla dose di 375 mg/m², a cadenza settimanale, come terapia di consolidamento. Anche in questo caso si è trattato di pazienti con diagnosi di linfoma follicolare, CD20⁺, in stadio II-IV, non precedentemente trattati, a basso (25%), medio (50%) ed alto rischio (25%) secondo il FLIPI. Il tasso di risposte complete dopo i tre cicli R-CHOP è stato del 26,7%, salendo all'80% dopo il trattamento con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan e rituximab, con conferma PET come risposta metabolica completa.

In forza dei promettenti risultati pubblicati in letteratura, l'Istituto Seràgnoli ha condotto uno studio clinico di fase II in pazienti con linfoma follicolare, non precedentemente trattati, volto a determinare l'efficacia e il profilo di tossicità di un nuovo schema terapeutico basato sulla combinazione della chemioterapia secondo lo schema FM (fludarabina somministrata per via orale e mitoxantrone), e della radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

2.1 Pazienti e metodi

Sono stati arruolati pazienti di età superiore a 18 anni con diagnosi istologicamente documentata di linfoma follicolare, CD20⁺, in stadio III-IV secondo Ann Arbor e con *performance status* (secondo WHO) 0-2. L'arruolamento dei pazienti è avvenuto a livello di 13 centri italiani, tra cui Bologna, Roma (Università "La Sapienza" e Università Cattolica), Genova, Udine, Siena, Ravenna, Rimini, Cesena, Forlì, Cagliari, Napoli, Firenze.

La prima fase del protocollo di trattamento ha previsto la somministrazione per via orale di fludarabina (Fludara[®] compresse, Bayer Schering Pharma 40 mg/m² nei giorni 1, 2 e 3 del ciclo) e di mitoxantrone per via endovenosa (Novantrone[®], Wyeth, 10 mg/m² al giorno 1 del ciclo) per 6 cicli da 28 giorni. Tra un ciclo e l'altro, sono stati ogni volta monitorati la formula leucocitaria e il numero delle piastrine, procrastinando di una settimana la somministrazione della chemioterapia in presenza di neutropenia (neutrofili <1.500/□L) o piastrinopenia (piastrine <10⁵/□L). L'impiego di G-CSF è stato riservato ai soli casi di neutropenia febbrile o di neutropenia severa (grado 3-4 CTCAE).

La rivalutazione dello stato di malattia è stata eseguita a 4-6 settimane dal completamento dei 6 cicli di chemioterapia d'induzione; allo scopo, sono stati condotti: l'esame clinico, il controllo emocromocitometrico ed ematochimico della funzionalità epatica e renale, una tomografia computerizzata di collo, torace, addome e pelvi (eventualmente integrata con una PET totale corporea) ed una biopsia osteomidollare con agoaspirato.

I pazienti che hanno ottenuto una risposta parziale o completa alla chemioterapia di induzione e che sono risultati eleggibili al trattamento con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (conta di neutrofili e di piastrine superiore, rispettivamente, a 1.500/□L e 10⁵/□L, infiltrazione midollare da parte della malattia inferiore al 25%) sono stati avviati alla seconda fase dello schema terapeutico. A 6-10 settimane dal completamento della chemioterapia si è eseguita la somministrazione di rituximab (MabThera[®], Roche) alla dose di 250 mg/m² (giorno 1); una seconda somministrazione di rituximab è stata ripetuta, alle stesse dosi, al giorno 8, immediatamente seguita dall'infusione endovenosa di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®], Bayer Schering Pharma), in bolo, su un arco di tempo di 10 minuti.

A tre mesi dalla somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan è stata rivalutata la taglia di malattia, confrontando la risposta clinica ottenuta al termine dell'intero ciclo

di trattamento con quella valutata al termine della sola chemioterapia con schema FM.

Gli eventi avversi eventualmente occorsi sono stati registrati durante le visite eseguite in corrispondenza delle singole somministrazioni.

2.2 Risultati

Tra giugno 2004 ed aprile 2006, epoca in cui lo studio è rimasto aperto, sono stati arruolati complessivamente 61 pazienti. Le caratteristiche principali dei pazienti sono riportate in tabella 3.6.

Tabella 3.6 – Caratteristiche dei pazienti.

Numero pazienti arruolati	61
Età mediana (range)	54 (30-72)
Sesso (M/F)	25/36
Stadio III	23 (38%)
Stadio IV	38 (62%)
Interessamento midollare	31 (51%)
Interessamento extranodale	5 (8%)
Malattia bulky	15 (25%)

L'età mediana dei pazienti arruolati è stata di 54 anni con un range di 30-72 anni; il 41% erano maschi e il 59% femmine. All'arruolamento, 23 (38%) pazienti erano in stadio III e i rimanenti 38 (62%) erano in stadio IV. L'interessamento midollare da parte della malattia è stato osservato nel 51% dei pazienti, mentre un impegno extranodale è stato rilevato nell'8% dei casi. Nel 25% dei casi, i pazienti si sono presentati all'esordio con malattia bulky.

Dopo 6 cicli di chemioterapia secondo schema FM è stata eseguita la prima rivalutazione dello stato di malattia: si è registrata una risposta globale (*overall response rate*) del 98%, con 43 (70%) pazienti in risposta completa e 17 (28%) in risposta parziale. Il paziente rimanente ha mostrato segni clinici e strumentali di progressione della malattia e come tale non ha proseguito l'iter terapeutico con la successiva somministrazione del radioimmunoconiugato.

Tutti i 43 pazienti in risposta completa e 14 dei 17 pazienti in risposta parziale sono risultati eleggibili alla terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan; tre pazienti – tutti in risposta parziale – non hanno proseguito l'iter terapeutico a causa di una infiltrazione

midollare superiore al 25% della cellularità. Nessun paziente ha ricevuto una dose di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan ridotta per via della presenza di piastrinopenia.

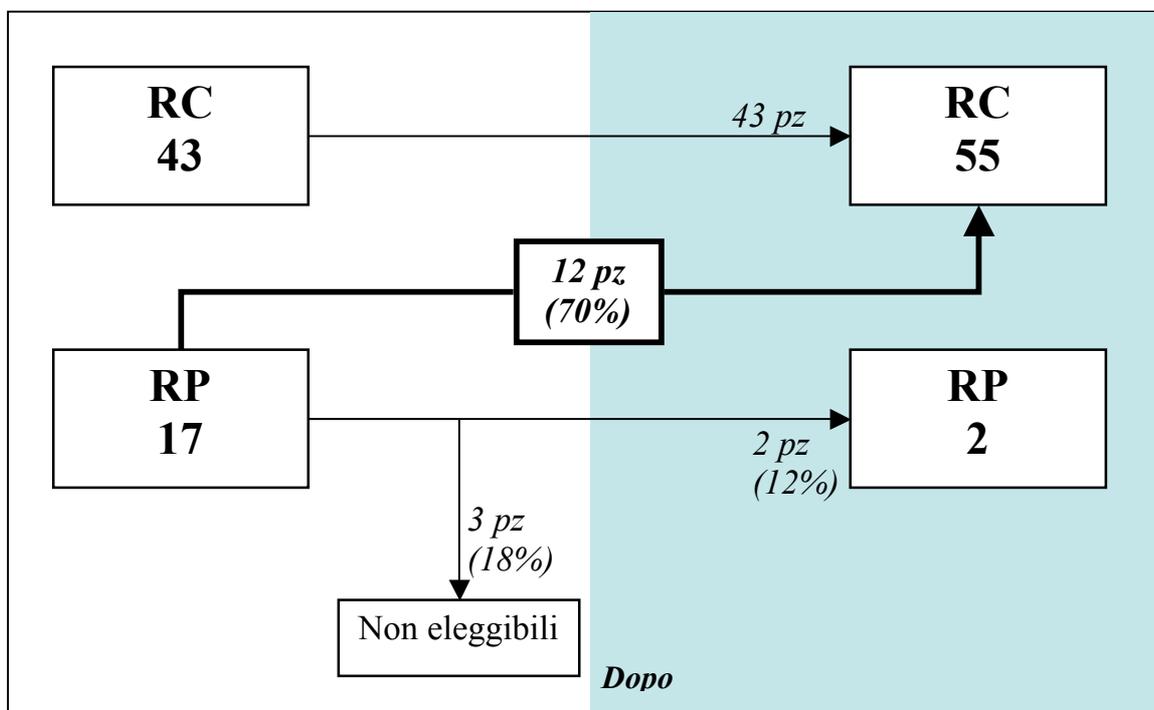
La risposta ottenuta dai 57 pazienti che hanno completato il protocollo terapeutico è stata del 96% (55/57 pazienti) in termini di risposte complete e del 4% (2/57 pazienti) per quanto riguarda le risposte parziali: la terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan ha pertanto convertito 12 risposte parziali in altrettante risposte complete.

Quanto ottenuto è riassunto in tabella 3.7 e visivamente schematizzato nella figura 3.2, riportata alla pagina seguente.

Tabella 3.7 – Tipologie di risposta alla terapia.

	Dopo FM	Dopo Zevalin [®]
Pazienti valutabili	61	57
Risposta completa	43 (71%)	55 (96%)
Risposta parziale	17 (27%)	2 (4%)
Progressione	1 (2%)	0

Figura 3.2 – Risposte prima e dopo la somministrazione di Zevalin[®].



2.3 Tolleranza alla terapia

L'incidenza di eventi avversi durante la somministrazione della chemioterapia e della radioimmunoterapia è presentata in dettaglio nella tabella 3.8. I dati sono espressi sia

in valore assoluto sia in percentuale, in riferimento ai pazienti valutabili caso per caso.

Tabella 3.8 – Incidenza di eventi avversi durante la terapia.

	Dopo FM	Dopo Zevalin®
Pazienti valutabili	61	57
Anemia grado 1-2	7 (11%)	0
Anemia grado 3-4	0	13 (23%)
Neutropenia grado 3-4	37 (61%)	30 (53%)
Piastrinopenia grado 1-2	1 (2%)	0
Piastrinopenia grado 3-4	1 (2%)	36 (63%)
Neutropenia febbrile	1 (2%)	5 (9%)
Ricovero per FUO	0	2 (4%)
Trasfusioni	0	21 (37%)
Antibioticoterapia	0	20 (35%)

La tolleranza alla chemioterapia secondo schema FM è stata buona per la maggioranza dei pazienti; da segnalare vi sono 37 episodi di neutropenia e 1 episodio di piastrinopenia di grado 3 o 4, tutti comunque reversibili nell'arco di alcune settimane. Solo in un caso è stato registrato un episodio di neutropenia febbrile (FUO neutropenica), mentre non sono stati registrati casi di severa anemizzazione.

Anche in riferimento alla radioimmunoterapia gli eventi avversi sono stati principalmente ematologici: si è trattato di trombocitopenia, neutropenia e anemia di grado 3-4 rispettivamente in 36 (63%), 30 (53%) e 13 (23%) pazienti. Tale tossicità ematologica si è sempre dimostrata reversibile, e in nessun caso ha determinato l'interruzione del trattamento. Il 23% dei pazienti ha necessitato della somministrazione sottocutanea di fattore di crescita granulocitario (G-CSF), mentre nel 37% dei casi si è fatto ricorso alla terapia trasfusionale (globuli rossi concentrati e/o piastrine). Il 9% dei pazienti ha presentato una neutropenia febbrile, con ospedalizzazione, tuttavia, solo nel 4% dei casi. Non sono mai state registrate reazioni avverse in corrispondenza dell'infusione del radioimmunoconiugato.

I valori minimi raggiunti (nadir) in termini di granulociti neutrofilici, piastrine ed emoglobina, e la durata assoluta (in giorni) del nadir sono riassunti in tabella 3.9.

Tabella 3.9 – Tossicità ematologica dopo ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

	Baseline	Nadir	Giorni al	Durata nadir
--	-----------------	--------------	------------------	---------------------

			nadir	
ANC ($\square L^{-1}$)	2700 (1230-6240)	644 (20-2418)	42 (31-158)	30 (3-105)
Piastrine ($\times 1.000/\square L$)	175 (120-341)	23 (2-133)	35 (23-61)	35 (8-116)
Emoglobina (g/dL)	13,7 (11,5-16,5)	9,7 (6,3-14,7)	53 (31-60)	42 (26-121)

Nessun paziente, allo stato attuale del follow-up, ha sviluppato mielodisplasie o altre neoplasie extraematologiche.

3. CHOP-Z in prima linea nei linfomi B diffusi a grandi cellule dell'anziano

I linfomi aggressivi dell'anziano, e in particolare il linfoma diffuso a grandi cellule, possono giovare di un trattamento con finalità curative nella maggior parte dei casi, sebbene la prognosi tenda ad essere peggiore con l'aumento dell'età. In pazienti per i quali un'attenta valutazione clinica e la presenza di comorbilità importanti facciano presupporre rischi eccessivi ed ingiustificati in relazione ad una terapia a dosaggio pieno, trovano unicamente spazio opzioni terapeutiche non in grado di indurre remissioni durature.

Il regime chemioterapico di scelta per il trattamento dei linfomi diffusi a grandi cellule è la CHOP, combinazione di ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina e prednisone. Utilizzando la CHOP a dosi standard nel paziente anziano, è possibile ottenere valori di sopravvivenza libera da malattia compatibili con quelli ottenuti nei pazienti di età inferiore ai 60 anni, pur tuttavia a fronte di un aumentato rischio di tossicità, fino alla morte. Per contro, l'impiego della CHOP a dosaggio ridotto nel paziente anziano determina una riduzione sia dei tassi di risposta alla terapia, sia dei valori di sopravvivenza globale.

Recentemente, la combinazione di rituximab e chemioterapia secondo schema CHOP è diventata il trattamento standard per i linfomi a grandi cellule dell'anziano⁶⁹⁻⁷¹: l'aggiunta di rituximab ha infatti determinato, rispetto alla sola CHOP, un aumento del tasso di risposta alla terapia, prolungando l'intervallo libero da malattia e la sopravvivenza globale, con contestuale riduzione dei tassi di ricaduta. Per quanto

riguarda la cadenza e il numero di cicli da somministrare, è stato dimostrato che 6 cicli di terapia combinata R-CHOP ogni 14 giorni sono da preferire a 8 cicli della stessa terapia, somministrata ogni 21 giorni⁷².

Il ruolo della radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan nei pazienti con linfoma a grandi cellule si è dimostrato di assoluta preminenza negli ultimi anni. Witzig e coll.³⁶, in uno studio di fase I/II condotto con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan nel 1999, hanno osservato un tasso di risposta globale nel 43% dei pazienti con linfoma a grandi cellule; tra queste, 4 risposte (pari al 29% dei casi) erano risposte complete. Gordon e coll.⁴³ hanno osservato una risposta globale nel 58% dei pazienti affetti da linfoma diffuso a grandi cellule, trattati con almeno due precedenti linee di chemioterapia, registrando il 33% di risposte complete e una durata mediana di risposta alla terapia di 49,8 (range: 1,3-67,6) mesi. Il merito di questo studio è di aver presentato un follow-up a lungo termine superiore a 6 anni e di aver aggiunto ulteriori informazioni in merito alla tollerabilità e alla sicurezza clinica della terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan. Morschhauser e coll.⁷³, in uno studio multicentrico europeo di fase II hanno considerato il ruolo della radioimmunoterapia in 104 pazienti anziani con linfoma a grandi cellule, refrattario a terapia o in ricaduta, non eleggibili a trattamenti ad alte dosi, in ragione dell'età avanzata. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi, il primo comprendente pazienti sottoposti a chemioterapia (gruppo A), il secondo comprendente pazienti sottoposti a chemio-immunoterapia (gruppo B). Il gruppo A è stato a sua volta suddiviso in due sottogruppi: pazienti che non hanno mai raggiunto una risposta completa (sottogruppo A1) e pazienti ricaduti dopo aver raggiunto una risposta completa, a seguito della chemioterapia di induzione (sottogruppo A2). La risposta globale è stata del 52% per il sottogruppo A1 e del 53% per il sottogruppo A2, mentre si è rivelata del 19% per il gruppo B. I tassi di risposte complete sono stati, rispettivamente, del 24%, 39,5% e 12%. Per quanto riguarda i dati di sopravvivenza, è emerso un intervallo libero da progressione di 5,9, 3,5 e 1,6 mesi rispettivamente per i sottogruppi A1 e A2 e per il gruppo B, con una sopravvivenza globale per i tre gruppi di 21,4, 22,4 e 4,6 mesi. Dai risultati di questo studio è possibile concludere che l'impiego di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan come agente singolo in pazienti anziani con linfoma diffuso a grandi cellule refrattario o in ricaduta è efficace in termini di sopravvivenza e di induzione della remissione; è stata tuttavia documentata un'efficacia minore nei pazienti precedentemente trattati con rituximab e chemioterapia (R-CHOP), verosimilmente in relazione al fatto che la

ricaduta dopo un precedente trattamento integrato costituisce un fattore predittivo di maggiore aggressività clinica della neoplasia.

L'Istituto Seràgnoli ha recentemente condotto uno studio clinico di fase II in pazienti di età superiore o uguale a 60 anni, con linfoma a grandi cellule, di tipo diffuso, non precedentemente trattati. Lo studio ha avuto come *endpoints* primari la determinazione dell'efficacia e della tossicità di uno schema terapeutico basato su una chemioterapia di induzione secondo lo schema CHOP, seguita da radioimmunoterapia di consolidamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan.

3.1 Pazienti e metodi

Sono stati arruolati pazienti rispondenti ai seguenti criteri di eleggibilità: età superiore a 60 anni; diagnosi biotica di linfoma non-Hodgkin diffuso a grandi cellule o di linfoma centrollicolare grado III (aggressivo), CD20-positivo; stadio II-IV secondo Ann Arbor; assenza di precedenti trattamenti; *performance status* secondo WHO compreso tra 0 e 2.

Una volta portata a termine la valutazione clinico-laboratoristica pre-arruolamento ed eseguita la stadiazione della neoplasia, si è proceduto con la prima fase del trattamento, consistente nella somministrazione di 6 cicli di chemioterapia CHOP ogni 21 giorni. Ciclofosfamide (Endoxan, Baxter, 750 mg/m^2), doxorubicina (Adriblastina[®], Pfizer, 50 mg/m^2) e vincristina ($1,4 \text{ mg/m}^2$, alla dose massima di 2 mg/m^2) sono stati somministrati per via endovenosa al giorno 1 di ogni ciclo; il prednisone (Deltacortene, Bruno farmaceutici, 100 mg) è stato somministrato *per os* per 5 giorni ad ogni ciclo.

Tra un ciclo e l'altro, sono stati ogni volta monitorati la formula leucocitaria e il numero delle piastrine, riservandosi di procrastinare di una settimana la somministrazione della chemioterapia qualora la conta dei neutrofili fosse risultata inferiore a $1.500/\mu\text{L}$ e quella delle piastrine inferiore a $10^5/\mu\text{L}$. In mancanza di un recupero ematologico dopo due settimane di sospensione della terapia, la successiva somministrazione sarebbe stata al 75% del precedente dosaggio di ciclofosfamide e doxorubicina.

L'impiego di G-CSF è stato riservato ai soli casi di neutropenia febbrile o di neutropenia severa (grado 3-4 CTCAE).

A 4-6 settimane dal completamento dei 6 cicli di chemioterapia d'induzione, i pazienti sono stati sottoposti ad una rivalutazione dello stato di malattia mediante

esame clinico, controllo emocromocitometrico ed ematochimico, tomografia computerizzata di collo, torace, addome e pelvi, (con eventuale aggiunta di una PET totale corporea) e biopsia osteomidollare con aspirato.

I pazienti risultati eleggibili al trattamento con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, sulla base dei parametri clinici e di stadiazione determinati nella fase di rivalutazione dello stato di malattia (cfr. in precedenza), sono stati quindi avviati alla seconda fase di trattamento. A 6-10 settimane dal completamento della chemioterapia si è eseguita la somministrazione di rituximab (MabThera[®], Roche) alla dose di 250 mg/m² (giorno 1); tale somministrazione è stata ripetuta (allo stesso dosaggio) al giorno 8, ed immediatamente seguita dall'infusione endovenosa di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®], Bayer Schering Pharma). La determinazione della dose di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan da somministrare è stata effettuata sulla base delle considerazioni in precedenza esposte.

Un'ulteriore valutazione clinica, laboratoristica e strumentale dello stato di malattia è stata eseguita a 3 mesi dal termine dell'intero ciclo di trattamento; le risposte ottenute sono state classificate sulla base di criteri standardizzati di risposta⁶¹.

L'incidenza di eventi avversi è stata monitorata in modo regolare nel corso delle visite ambulatoriali eseguite sia durante il periodo della chemioterapia di induzione, sia nell'immediato periodo post-trattamento.

Gli *outcomes* valutati sono stati la sopravvivenza globale (*overall survival*, OS) e l'intervallo libero da progressione (*progression-free survival*, PFS); entrambi questi parametri sono stati calcolati attraverso il metodo di Kaplan-Meier⁷² e riportati in grafico mediante curve di sopravvivenza in funzione del tempo.

3.2 Risultati

Tra febbraio 2005 e aprile 2006 sono stati arruolati 20 pazienti, le cui caratteristiche sono riassunte nella tabella 3.10.

L'età mediana dei pazienti arruolati è stata di 68 anni (range: 61-84); 12 (60%) pazienti erano maschi e 8 (40%) erano femmine. All'arruolamento, 6 (30%) pazienti erano in stadio II, mentre 14 (70%) pazienti erano complessivamente in stadio III-IV. Due pazienti (10%) si presentavano con una malattia bulky, mentre 7 (35%) avevano un interessamento extranodale da parte del linfoma. Per quanto riguarda il punteggio IPI⁷⁴, 16 pazienti sono stati classificati come a rischio intermedio o alto.

Tabella 3.10 – Caratteristiche dei pazienti.

Numero pazienti arruolati	20
Età mediana (range)	68 (61-84)
Sesso (M/F)	12/8
Stadio II	6 (30%)
Stadio III	5 (25%)
Stadio IV	9 (45%)
Interessamento midollare	5 (25%)
Interessamento extranodale	7 (35%)
Malattia bulky	2 (10%)
Sintomi B	2 (10%)
Istologia	
Linfoma a grandi cellule B, di tipo diffuso (DLBCL)	11 (55%)
Linfoma follicolare gr. III	9 (45%)

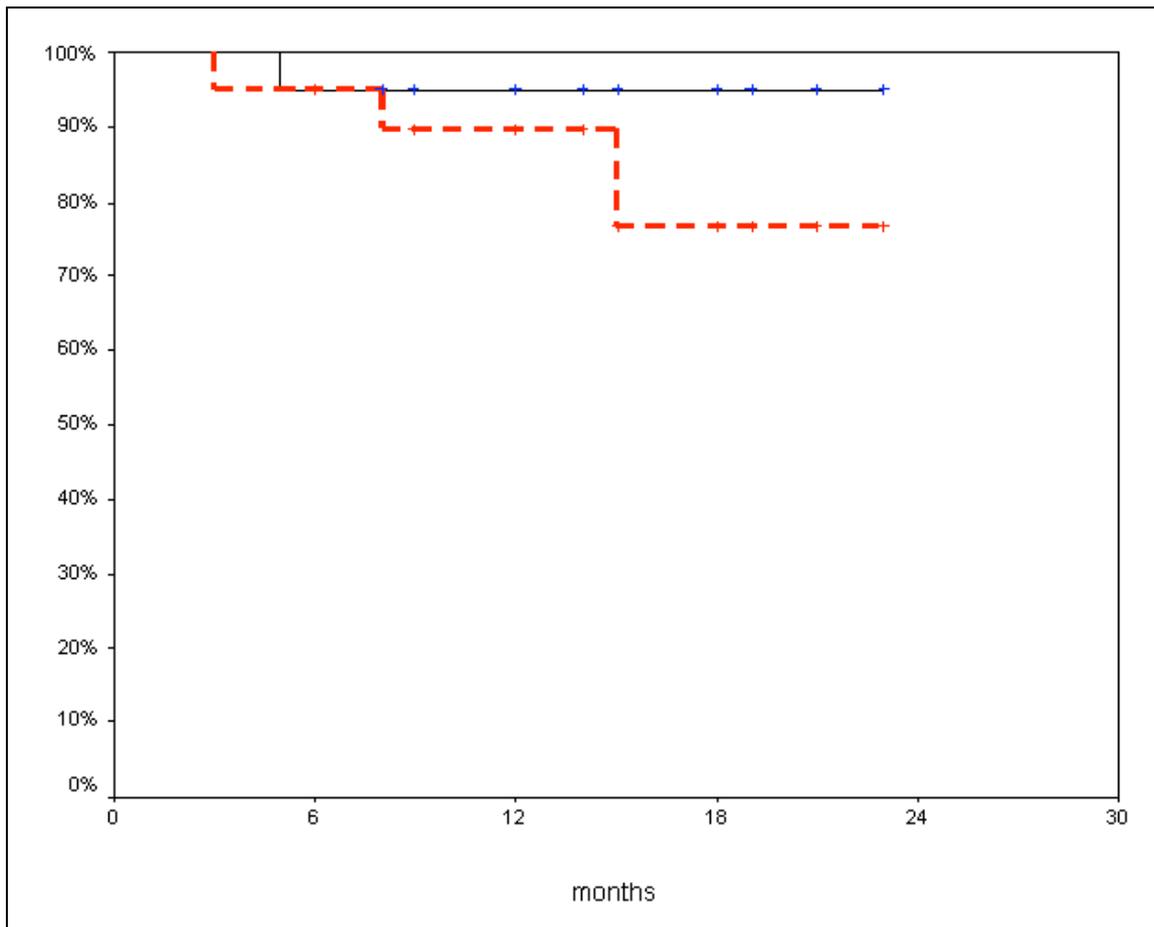
Tutti i pazienti hanno portato a termine l'intero iter terapeutico, compresa la somministrazione di radioimmunoconiugato. Il tasso globale di risposta al trattamento è stato del 100%, sia alla prima rivalutazione dopo chemioterapia di induzione, sia successivamente alla somministrazione di ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan. In particolare, al termine dell'intero trattamento, si è osservato un 95% di risposte complete e un 5% di risposte parziali (tabella 3.11). Dei 5 pazienti in risposta parziale dopo la CHOP, 4 (80%) sono stati in grado di raggiungere una risposta completa a seguito del trattamento con Zevalin[®].

Tabella 3.11 – Tipologie di risposta alla terapia.

	Dopo CHOP	Dopo Zevalin[®]
Pazienti valutabili	20	20
Risposta completa	15 (75%)	19 (95%)
Risposta parziale	5 (25%)	1 (5%)
Progressione	0	0

I dati di sopravvivenza sono presentati nella figura 3.3, elaborati con il metodo di Kaplan-Meier.

Figura 3.3 – Sopravvivenza globale (linea continua) e sopravvivenza libera da progressione (linea a tratteggio) nei 20 pazienti che hanno completato il trattamento.



Ad un follow-up mediano di 13 mesi (range: 3-23), 3 pazienti su 20 sono andati incontro a progressione di malattia o a morte (in particolare, un paziente è deceduto per progressione di malattia a 5 mesi dal completamento del trattamento). In questo modo, la *progression free survival* a due anni è del 75%, con una *overall survival* del 95%.

3.3 Tolleranza alla terapia

La chemioterapia secondo schema CHOP è stata ben tollerata dalla maggior parte dei pazienti; assenti i decessi correlati alla somministrazione della stessa. I principali eventi avversi segnalati sono stati episodi di neutropenia di grado 3 (10 pazienti, 50%) o 4 (3 pazienti, 15%), comunque reversibili; 3 pazienti hanno presentato un episodio di neutropenia febbrile, per il quale 2 di essi hanno necessitato di ospedalizzazione. Nausea e vomito di grado 1 si sono presentati in 2 (10%) pazienti, mentre 1 (5%) paziente ha avuto una neuropatia periferica di grado 3.

Per quanto concerne la terapia con ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, non si sono osservate reazioni legate all'infusione, e nessun paziente è stato costretto ad interrompere il

trattamento a causa di un evento avverso severo. La tossicità ematologica si è sempre dimostrata reversibile; piastrinopenia e neutropenia di grado 3-4 si sono verificate rispettivamente in 7 (35%) e 12 (60%) pazienti.

La tabella 3.12 presenta in maniera sintetica il profilo di tossicità legato all'intero trattamento.

Tabella 3.12 – Incidenza di eventi avversi durante la terapia.

	Dopo CHOP	Dopo Zevalin[®]
Pazienti valutabili	20	20
Anemia grado 3-4	0	1 (5%)
Neutropenia grado 3-4	13 (65%)	12 (60%)
Piastrinopenia grado 3-4	0	7 (35%)
Neutropenia febbrile	3 (15%)	3 (15%)
Ricovero per FUO	2 (10%)	1 (5%)
Trasfusioni	0	2 (10%)
Antibioticoterapia	0	5 (25%)

Per quanto riguarda i valori minimi raggiunti (nadir) in termini di granulociti neutrofili, piastrine ed emoglobina, e il tempo necessario al completo ristabilirsi degli stessi, si rimanda alla tabella 3.13.

Tabella 3.13 – Tossicità ematologica dopo ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan.

	Baseline	Nadir	Giorni al nadir	Durata nadir
ANC (□L ⁻¹)	3300 (1600-5460)	800 (255-3000)	39 (20-60)	32 (10-66)
Piastrine (×1.000/□L)	217 (150-500)	42 (9-187)	35 (20-43)	22 (10-49)
Emoglobina (g/dL)	13,5 (12-14,5)	11,8 (8,7-14,2)	43 (20-60)	—

CONCLUSIONI

Come hanno dimostrato i risultati emersi sia dagli studi preliminari su ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan sia dai successivi studi di fase III, la radioimmunoterapia ha dato prova di essere una delle strategie maggiormente efficaci nel campo della terapia dei linfomi non-Hodgkin, con profili di tossicità accettabili poiché estremamente limitati, consistenti principalmente in una transitoria mielosoppressione. Infrequenti, e comunque limitati ai gradi 1 e 2, gli episodi di tossicità extraematologica legati alla somministrazione del radioimmunoconiugato.

⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan in prima linea si è dimostrato superiore al rituximab per quanto riguarda l'induzione di risposte alla terapia, segnatamente di risposte complete, pur essendo caratterizzato dalla stessa specificità per il medesimo antigene linfocitario di membrana, il CD20: ciò in virtù dell'effetto di "fuoco incrociato", vale a dire della capacità del radioimmunoconiugato di irradiare anche le cellule limitrofe a quelle cui si è direttamente legato. Zevalin[®], inoltre, si è rivelato un'ottima alternativa terapeutica nell'ambito dei linfomi non-Hodgkin refrattari al rituximab stesso. Ancora, ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan erogato a dosi ridotte è risultato efficace anche in soggetti con lieve trombocitopenia, rappresentando in tal senso una valida opzione di trattamento per i pazienti con modesta insufficienza midollare legata all'infiltrazione del midollo da parte della malattia o alla tossicità dei trattamenti pregressi.

Una precedente radioimmunoterapia non preclude successive linee di trattamento, anche con farmaci antitumorali convenzionali: pazienti ritrattati con chemioterapia standard dopo una precedente terapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan hanno mostrato percentuali di risposta globale sovrapponibili a quelle ottenute in pazienti trattati con regimi chemioterapici affini.

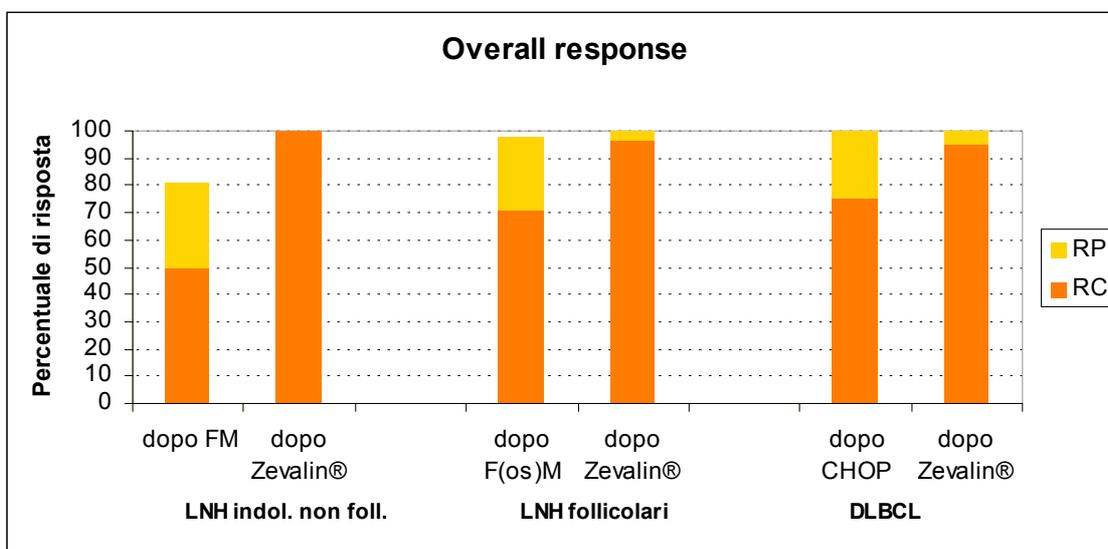
Gli studi clinici condotti presso l'Istituto "Seràgnoli" di Bologna hanno riguardato l'impiego della radioimmunoterapia con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan come consolidamento di un trattamento iniziale chemioterapico in diverse tipologie di pazienti. In particolare, è stata valutata l'efficacia della radioimmunoterapia in pazienti con linfomi indolenti – sia follicolari, sia non follicolari – e in pazienti anziani, ultrasessantenni, con linfoma non-Hodgkin diffuso a grandi cellule.

Tali studi hanno mostrato risultati di efficacia particolarmente consistenti, sia nel campo dei linfomi indolenti non follicolari (difficilmente aggredibili con la chemio-

immunoterapia), per mezzo altresì del potente effetto antiblastico esercitato dalla fludarabina presente nel regime terapeutico di induzione, sia per quanto concerne i linfomi aggressivi dell'anziano, contesto in cui risultano spesso precluse ulteriori linee di trattamento con chemioterapia standard. Risultati interessanti si sono registrati anche nel trattamento dei linfomi follicolari, per i quali sono attualmente in studio metodiche di monitoraggio della malattia minima residua, basate sulla determinazione in PCR del riarrangiamento del gene *Bcl-2*: ciò potrebbe suggerire ulteriori studi clinici in cui gli *endpoints* valutabili siano, oltre ai risultati di sopravvivenza, le risposte alla chemio-immuno-radioterapia sia a livello clinico, sia molecolare.

In tutti i pazienti risultati eleggibili alla radioimmunoterapia, questa si è rivelata capace di incrementare sia le percentuali di risposta globale, sia quelle di risposta completa, come chiaramente schematizzato in figura 1.

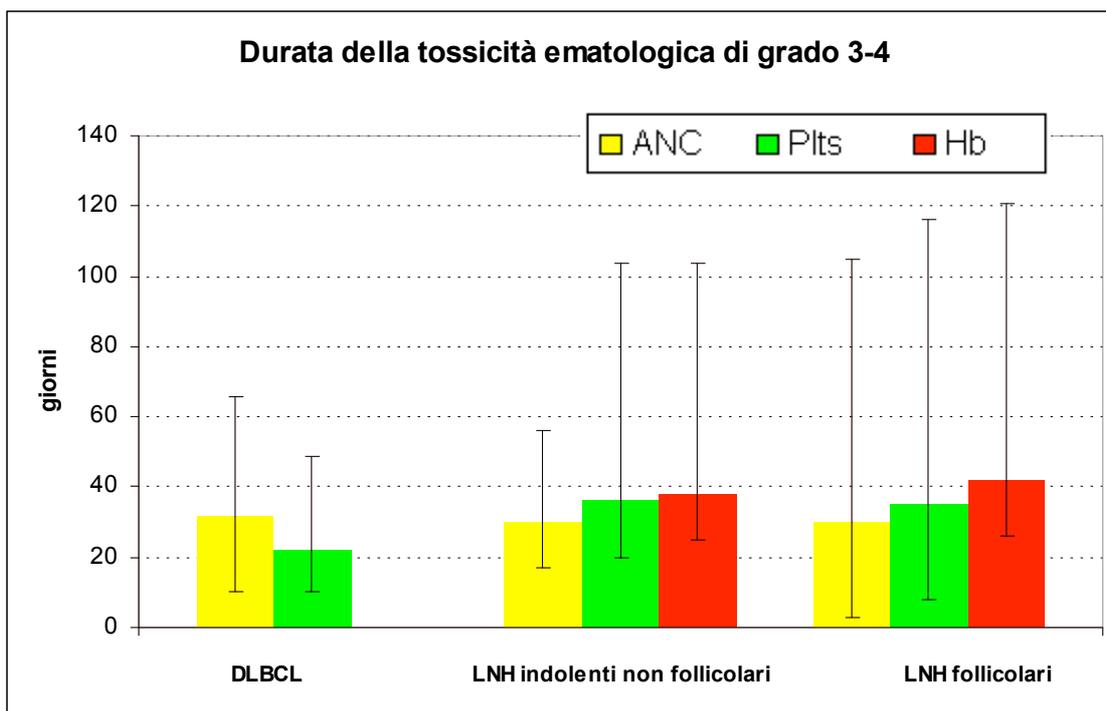
Figura 1 – Percentuali di risposta prima e dopo la radioimmunoterapia, nei diversi *subset* di pazienti in studio.



Anche i dati di sopravvivenza, calcolati sia come sopravvivenza globale sia come sopravvivenza libera da progressione, si sono rivelati particolarmente promettenti. Intervalli di *follow-up* più lunghi si rendono tuttavia necessari, in particolare nei linfomi indolenti, per poter confermare a lungo termine quanto finora osservato, permettendo di verificare la percentuale di remissioni complete che effettivamente si traducono in guarigioni definitive.

Gli aspetti di tossicità osservati nell'ambito di questi studi sono apparsi sovrapponibili a quelli riportati in letteratura, sia per quanto riguarda i valori assoluti delle componenti del sangue periferico, sia in relazione alla durata del nadir ematologico (figura 2), inteso come il tempo necessario al completo ristabilirsi dei parametri all'interno degli intervalli di normalità.

Figura 2 - Mediana di durata, in giorni, della tossicità ematologica di grado severo; le barre verticali indicano gli intervalli di variabilità.



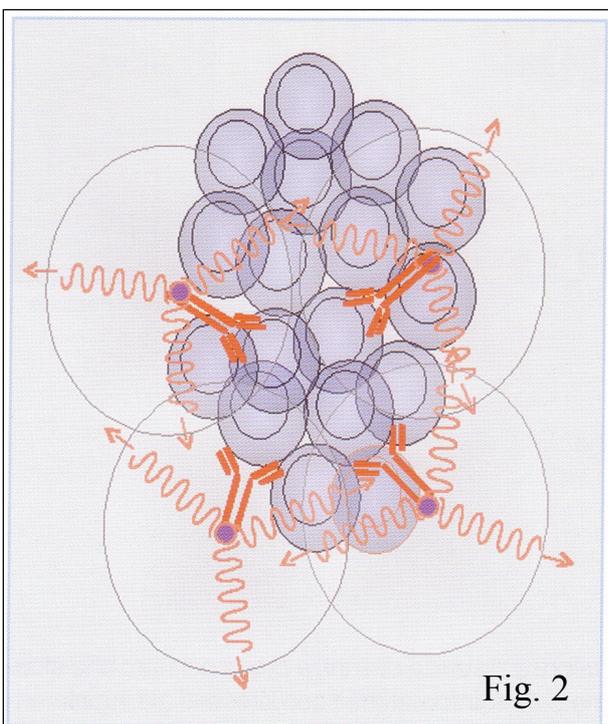
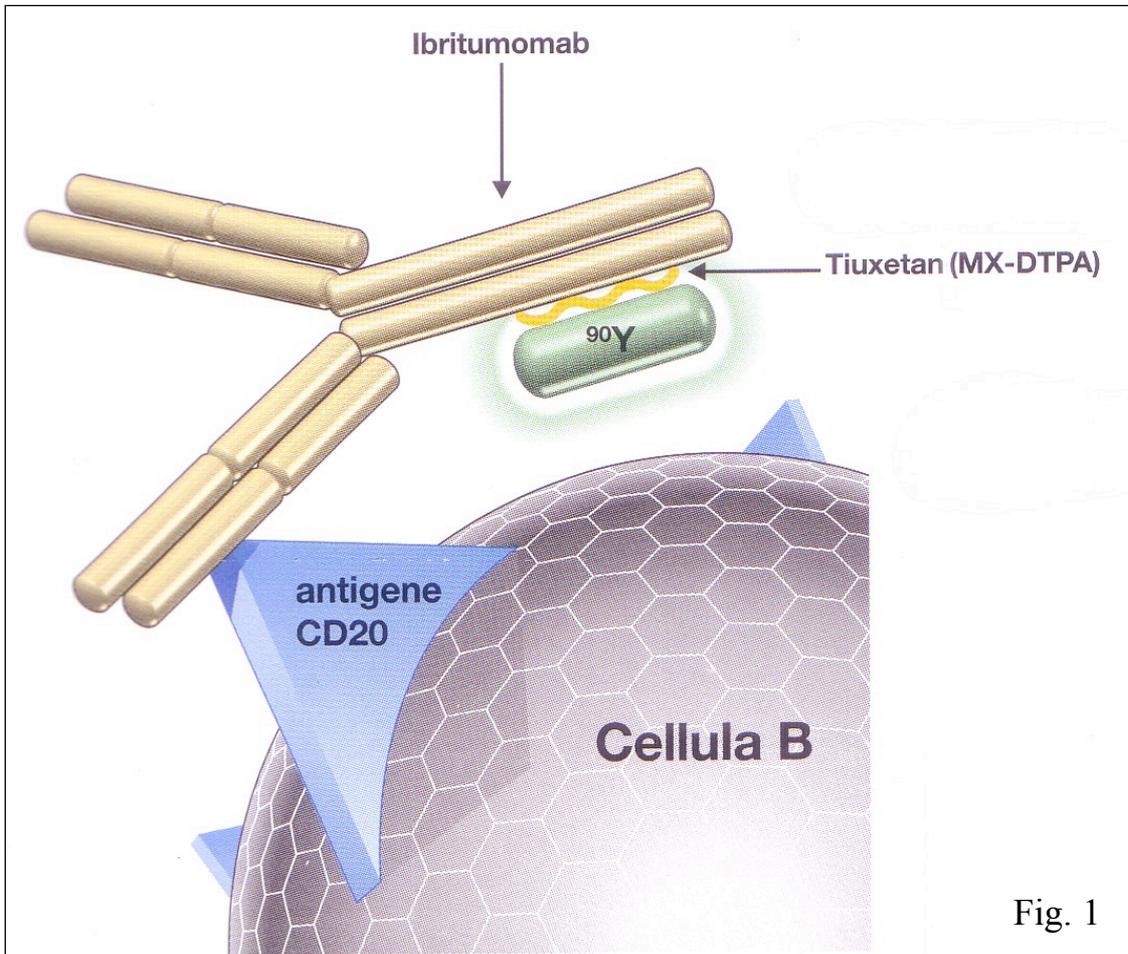
I dati raccolti da questi studi hanno costituito la base di partenza per il disegno di due ulteriori studi clinici, attualmente in corso presso l'Istituto "Seràgnoli", il cui scopo è quello di implementare la radioimmunoterapia con una precedente chemio-immunoterapia di induzione, erogata riducendo da 6 a 4 il numero di cicli di trattamento (4 cicli R-CHOP ogni 21 giorni, seguiti da ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, in pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule, ultrasessantenni, non precedentemente trattati; 4 cicli FMR, seguiti da ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, in pazienti con linfoma follicolare, non precedentemente trattati). Ciò allo scopo sia di valutare l'efficacia delle tre strategie terapeutiche – chemioterapia,

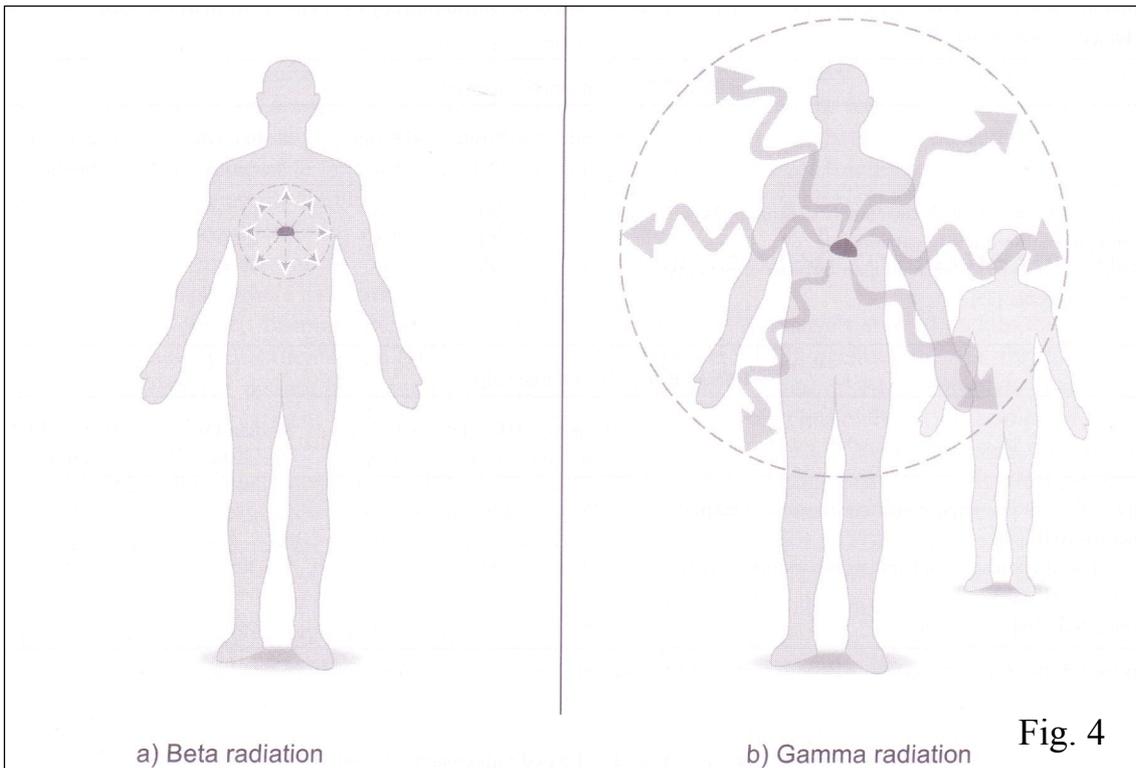
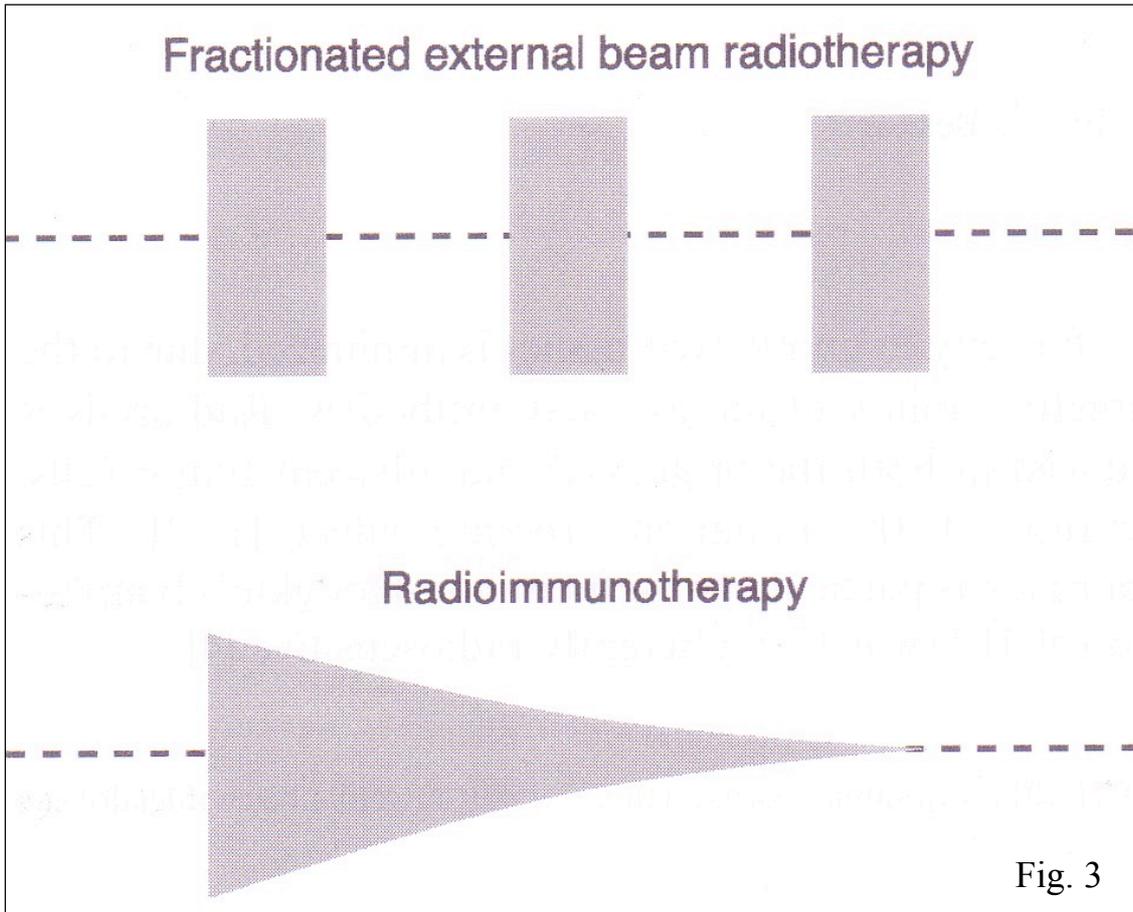
immunoterapia, radioimmunoterapia – impiegate contemporaneamente, sia di ridurre la tossicità legata alla chemioterapia standard, particolarmente correlata alle antracicline, nei pazienti anziani.

I programmi di ricerca futuri inerenti la radioimmunoterapia dovrebbero da un lato essere rivolti a determinare l'approccio più efficace che preveda l'integrazione delle diverse strategie terapeutiche, dimostrate di scelta nel trattamento dei linfomi non-Hodgkin, dall'altro protendere verso settori e modalità di utilizzo non ancora esplorati:

- linfomi non-Hodgkin follicolari esorditi in stadio I;
- linfomi della zona marginale extranodale tipo MALT, CD20⁺, a localizzazione gastrointestinale e non;
- linfomi non-Hodgkin aggressivi a localizzazione extranodale, in cui la radioimmunoterapia possa costituire una valida strategia di consolidamento dopo la chemioterapia standard.

FIGURE FUORI TESTO





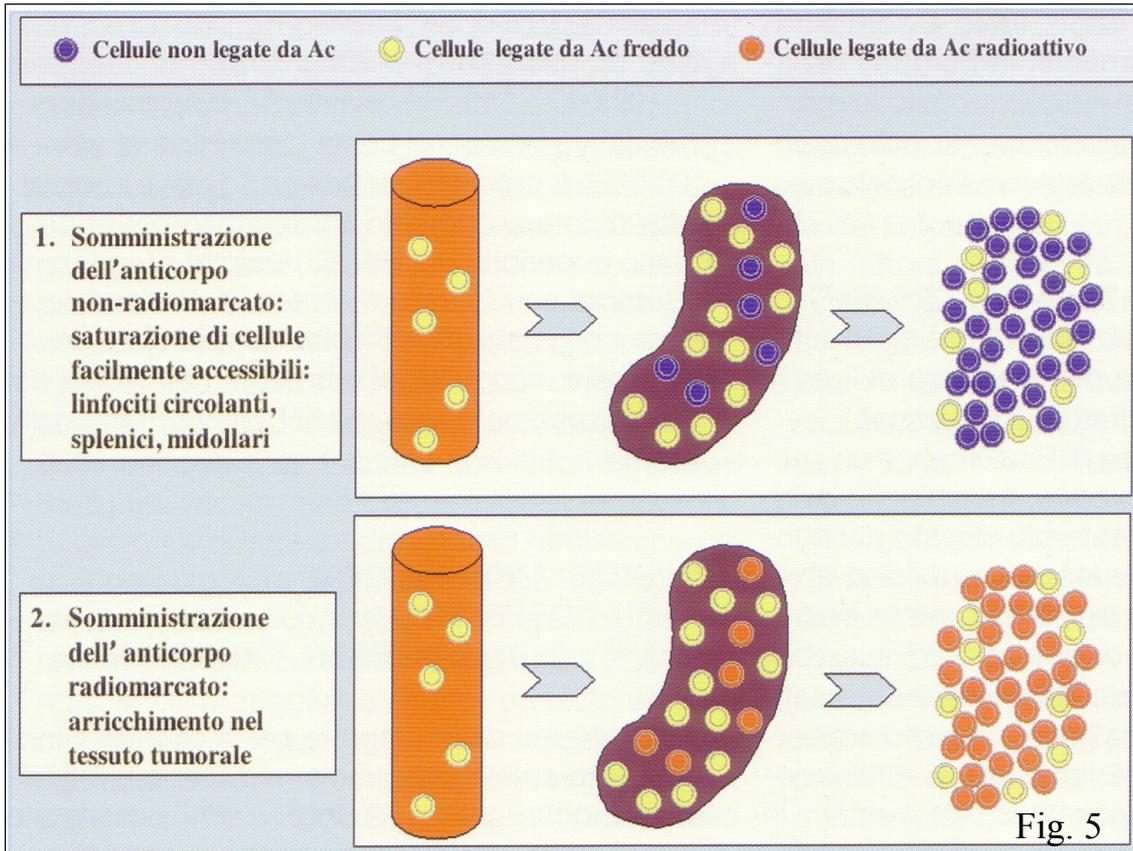


Figura 1 – Struttura di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan: sono evidenziati la parte anticorpale, l'isotopo radioattivo (^{90}Y) β -emittente e il chelante tiuxetan (MX-DTPA).

Figura 2 – Effetto “fuoco incrociato” (si veda il testo per i dettagli).

Figura 3 – Curve dose/tempo tracciate per la radioterapia esterna e per la radioimmunoterapia: si noti che nel caso della radioimmunoterapia non esiste frazionamento di dose, e che la dose impartita è progressivamente minore, contestualmente al decadimento dell'isotopo radioattivo

Figura 4 – Differenze di penetrazione tra le radiazioni α (parte *a*) e β (parte *b*).

Figura 5 – Schema che riassume il meccanismo d'azione delle due somministrazioni di rituximab prima dell'infusione di ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (ulteriori dettagli nel testo).

Figura 6 – Schermo in plexiglas utilizzato durante l'infusione del radioimmunocongiugato.

BIBLIOGRAFIA

1. Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life. *Proc R Soc Lond* 1900; 66: 424-448.
2. Bale WF, Spar IL, Goodland RL. Experimental radiation therapy of tumors with I-131-carrying antibodies to fibrin. *Cancer Res* 1960; 20: 1488-1494.
3. Spar IL, Bale WF, Goodland RL, et al. Preparation of purified I-131-labeled antibody which reacts with human fibrin. Preliminary tracer studies on tumor patients. *Cancer Res* 1964; 24: 286-293.
4. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-497.
5. Pressman D. The development and use of radiolabeled antitumor antibodies. *Cancer Res* 1980; 40: 2960-2964.
6. Cheson BD. What is new in lymphoma? *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 260-272.
7. Harris N, Jaffe E, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-1392.
8. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting – Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3835-3849.
9. Lennert K. Morphology and classification of malignant lymphomas and so-called reticuloses. *Acta Neuropathol Suppl (Berl)* 1975; S6: 1-16.
10. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, et al. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res* 1971; 31: 1860-1861.
11. Hagenbeek A. Radioimmunotherapy for NHL: experience of ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan in clinical practice. *Leuk Lymphoma* 2003; 44(S4): S37-S47.
12. Pezzutto A. I radioimmunoconiugati: impiego clinico. *Seminari di Ematologia Oncologica* 2006; 3(3): 207-226.
13. Marcus R. Use of ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan in non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 2005; 32: S36-S43.
14. Press OW. Radiolabeled antibody therapy of B-cell lymphomas. *Semin Oncol* 1999; 26 (5 Suppl 14):58-65.

15. Maloney DG. Concepts in radiotherapy and immunotherapy: anti-CD20 mechanisms of action and targets. *Semin Oncol* 2005; 32: S19-S26.
16. Bischof Delaloye A. The role of nuclear medicine in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Leuk Lymphoma* 2003; 44(S4): S37-S47.
17. Lemieux B, Coiffier B. Radio-immunotherapy in low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Best Practice & Res Clin Haem* 2005; 18: 81-95.
18. DeNardo GL. Concepts in radioimmunotherapy from a Lym-1 perspective. *Semin Oncol* 2005; 32: S27-S35.
19. Cheson BD, Leonard JP, Raubitschek, et al. *Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin[®]) in Non-Hodgkin's Lymphoma. Clinical Background, Practical Considerations, and Case Studies*. The Oncology Group, New York, 2003.
20. Grillo-López AJ. ⁹⁰Y-Ibritumomab Tiuxetan: rationale for patient selection in the treatment of indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 2005; 32: S44-S49.
21. Tennvall J, Fischer M, Bischof Delaloye A, et al. EANM procedure guideline for radio-immunotherapy for B-cell lymphoma with ⁹⁰Y-radiolabelled ibritumomab tiuxetan (Zevalin). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34: 616-622.
22. Weigert O, Illidge T, Hiddenmann W, et al. Recommendations for the use of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan in malignant lymphoma. *Cancer* 2006; 107: 686-695.
23. Montini G, Fanti S, Santi I. Il ruolo del medico nucleare nella terapia oncoematologica. *Seminari di Ematologia Oncologica* 2006; 3(3): 227-242.
24. Witzig TE, Wiseman G. Clinical development of ⁹⁰yttrium-conjugated murine anti-CD20 radioimmunoconjugate (⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, ⁹⁰Y-Zevalin) for B-cell non-Hodgkin's lymphomas. In *Monoclonal antibody therapy of hematologic malignancies* (editor: Cheson BD). Darwin Scientific Publishing Ltd, Abingdon, UK, 2001.
25. Knox SJ, Goris ML, Trisler RN, et al. Yttrium-90-labeled anti-CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 457-470.
26. Witzig TE, White CA, Wiseman GA, et al. Phase I/II trial of IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy for treatment of relapsed or refractory CD20⁺ B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3793-3803.
27. Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, et al. Randomized controlled trial of Yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab

- immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2000; 20: 2453-2463.
28. Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3262-3269.
29. Wiseman GA, Gordon LI, Multani PS, et al. Ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma and mild thrombocytopenia: a phase II multicenter trial. *Blood* 2002; 99: 4336-4342.
30. Schilder R, Molina A, Bartlett N, et al. Follow-up results of a phase II study of ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with relapsed or refractory low-grade, follicular or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma and mild thrombocytopenia. *Cancer Biother Radiopharm* 2004; 19(4): 478-481.
31. Witzig TE, Molina A, Gordon LI, et al. Long-term responses in patients with recurring or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma treated with yttrium 90 ibritumomab tiuxetan. *Cancer* 2007; 109(9): 1804-1810.
32. Wiseman GA, Witzig TE. Yttrium-90 (^{90}Y) ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®]) induces long-term durable responses in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Biother Radiopharm* 2005; 20(2): 185-188.
33. Gordon LI, Molina A, Witzig T, et al. Durable responses after ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for CD20⁺ B-cell lymphoma: long-term follow-up of a phase I/II study. *Blood* 2004; 103: 4429-4431.
34. Gordon LI, Witzig T, Molina A, et al. Yttrium 90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy produces high response rates and durable remissions in patients with previously treated B-cell lymphoma. *Clinical Lymphoma* 2004; 5(2): 98 (abstract).
35. Emmanouilides C, Witzig TE, Gordon LI, et al. Treatment with yttrium 90 ibritumomab tiuxetan at early relapse is safe and effective in patients with previously treated B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2006; 47: 629-636.
36. Ansell SM, Schilder RJ, Pieslor PC, et al. Antilymphoma treatments given subsequently to yttrium 90 ibritumomab tiuxetan are feasible in patients with progressive non-Hodgkin's lymphoma: a review of the literature. *Clinical Lymphoma* 2004; 5(3): 202 (abstract).

37. Ansell SM, Ristow KM, Habermann TM, et al. Subsequent chemotherapy regimens are well tolerated after radioimmunotherapy with yttrium-90 ibritumomab tiuxetan for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3885-3890.
38. Schilder RJ, Witzig T, Gordon L, et al. ⁹⁰Y ibritumomab tiuxetan (Zevalin) radioimmunotherapy does not preclude effective delivery of subsequent therapy for lymphoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21 (ASCO 2002, abstract 1064).
39. Witzig TE, Emmanouilides C, Molina A, et al. Yttrium-90 ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy (RIT) induces durable complete responses (CR/CRu) in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22 (ASCO 2003, abstract 2400).
40. Witzig TE, White CA, Gordon LI, et al. Safety of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for relapsed low-grade, follicular, or transformed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1263-1270.
41. Schilder RJ, Emmanouilides C, Vo K, et al. Yttrium 90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®]) is safe and effective in older patients with relapsed or refractory NHL. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2005; 23 (ASCO 2005, abstract 6562).
42. Wiseman GA, Kornmehl E, Leigh B, et al. Radiation dosimetry results and safety correlations from ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma: combined data from 4 clinical trials. *J Nucl Med* 2003; 44: 465-474.
43. Hagenbeek A. Future trends in radioimmunotherapy. *Semin Oncol* 2005; 32: S57-S62.
44. Weiden PL, Breitz HB, Press O, et al. Pretargeted radioimmunotherapy (PRIT) for treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): initial phase I/II study results. *Cancer Biother Radiopharm* 2000; 15: 15-29.
45. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), version 3.0, Cancer therapy evaluation program, DCTD, NCI, NIH, DHHS, 2006.
46. Hoppe RT, Kushlan P, Kaplan HS, et al. The treatment of advanced stage favourable histology non-Hodgkin's lymphoma: a preliminary report of a randomized trial comparing single agent chemotherapy, combination chemotherapy, and whole body irradiation. *Blood* 1981; 58: 592-598.

47. McLaughlin P, Hagemeister FB, Swan F, et al. Phase I study of the combination of fludarabine, mitoxantrone, and dexamethasone in low-grade lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 575-579.
48. Zinzani PL, Bendandi M, Tura S. FMP regimen (fludarabine, mitoxantrone, prednisone) as therapy in recurrent low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 1995; 55: 262-266.
49. McLaughlin P, Hagemeister FB, Ramaguerra JE, et al. Fludarabine, mitoxantrone, and dexamethasone: an effective new regimen for indolent lymphoma. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1262-1268.
50. Zinzani PL, Bendandi M, Magagnoli M, et al. Fludarabine-mitoxantrone combination-containing regimen in recurrent low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1997; 8: 379-383.
51. Zinzani PL, Magagnoli M, Bendandi M, et al. Efficacy of fludarabine and mitoxantrone (FN) combination regimen in untreated indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol* 2000; 11: 363-365.
52. Zinzani PL, Pulsoni A, Perrotti A, et al. Fludarabine plus mitoxantrone with and without rituximab versus CHOP with and without rituximab as front-line treatment for patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2654-2661.
53. Zinzani PL, Bendandi M, Gherlinzoni F, et al. FLU-ID (fludarabine and idarubicin) regimen as salvage therapy in pre-treated low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 1996; 81: 168-171.
54. Zinzani PL, Magagnoli M, Moretti L, et al. Randomized trial of fludarabine versus fludarabine and idarubicin as front-line treatment in patients with indolent or mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2000; 18: 773-779.
55. Zinzani PL, Pulsoni A, Gentilini P, et al. Effectiveness of fludarabine, idarubicin and cyclophosphamide (FLUIC) combination regimen for young patients with untreated non-follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2004; 45: 1815-1819.
56. Hochster HS, Oken MM, Winter JN, et al. Phase I study of fludarabine plus cyclophosphamide in patients with previously untreated low-grade lymphoma: results and long-term follow-up: a report from the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2000; 18: 987-994.

57. Flinn IW, Byrd JC, Morrison C, et al. Fludarabine and cyclophosphamide with filgrastim support in patients with previously untreated indolent lymphoid malignancies. *Blood* 2000; 96: 71-75.
58. Lazzarino M, Orlandi E, Montillo M, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and dexamethasone (FluCyD) combination is effective in pretreated low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1999; 10: 59-64.
59. Foran JM, Rohatiner AZS, Cunningham D, et al. European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma. *J Clin Oncol* 2000; 18: 317-324.
60. Hainsworth JD, Litchy S, Barton JH, et al. Single-agent rituximab as first line and maintenance treatment for patients with chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma: a phase II trial of the Minnie Pearl Cancer Research Network. *J Clin oncol* 2003; 21: 1746-1751.
61. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1244-1253.
62. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481.
63. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood* 2004; 104: 1258-1265.
64. Marcus R, Imrie K, Belch A, et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood* 2005; 105: 1417-1423.
65. Czuczman MS, Weaver R, Alkuzweny B, et al. Prolonged clinical and molecular remission in patients with low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab plus CHOP chemotherapy: 9-year follow-up. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4711-4716.
66. Sweetenham JW, Dicke K, Arcaroli J, et al. Efficacy and safety of yttrium 90 (⁹⁰Y) ibritumomab tiuxetan (Zevalin[®]) therapy with rituximab maintenance in patients with untreated low-grade follicular lymphoma. *Blood* 2004; 104 (ASH 2004, abstract 2633).

67. Shipley DL, Greco FA, Spigel DR, et al. Rituximab with short duration chemotherapy followed by ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan as first-line treatment for patients with follicular lymphoma: update of a Minnie Pearl Cancer Research Network phase II trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2005; 23 (ASCO 2005, abstract 6577).
68. DeMonaco NA, Wu M, Osborn J, et al. Imaging results after CHOP-rituximab followed by ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan and rituximab (R) in patients with previously-untreated follicular lymphoma (FL). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2006; 24 (ASCO 2006, abstract 7589).
69. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP plus rituximab with CHOP chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. A Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte study. *N Engl J Med* 2002; 346: 235-242.
70. Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M, et al. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5027-5033.
71. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2005; 23:4117-4126.
72. Pfreundschuh M, Kloess M, Zeynalova S, et al. Six vs eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab for elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): results of the completed RICOVER-60 trial of the German high-grade non-Hodgkin lymphoma study group (DSHNHL). *Blood* 2006; 108 (suppl.): 64a.
73. Morschhauser F, Illidge T, Huglo D et al. Efficacy and safety of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma not appropriate for autologous stem cell transplantation. *Blood* 2007; 110: 54-58.
74. The International non-Hodgkin's lymphoma prognostic factors project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 987-994.

