

INDICE

1	Introduzione	3
1.1	Epidemiologia.....	3
1.2	Presentazione clinica.....	4
1.3	Diagnosi e definizione istologica.....	5
1.4	Staging	12
1.5	Stratificazione del rischio e prognosi.....	15
2	Standard terapeutici e nuove prospettive.....	19
2.1	Pazienti giovani in stadio localizzato o a basso rischio	19
2.2	Malattia in stadio avanzato	21
2.3	Terapie intensificate.....	21
2.4	Nuovi farmaci	22
2.5	Paziente anziano	22
2.6	Terapie basate sulla cellula d'origine e su sottogruppi molecolari.....	25
2.7	Profilassi del sistema nervoso centrale	26
2.8	Ricaduta e terapia di salvataggio	27
2.9	CAR-T Cell.....	29
3	Follow up	33
3.1	Tossicità.....	34
4	Parte sperimentale	40
4.1	Scopo dello studio.....	40
4.2	Materiali e metodi.....	40
4.3	Risultati.....	41
4.4	Analisi di sopravvivenza.....	59

5	Discussione.....	73
6	Conclusioni	78
7	Bibliografia	80
8	Ringraziamenti.....	93

1 Introduzione

I linfomi sono un gruppo di tumori complesso e altamente eterogeneo che originano dall'espansione clonale di specifiche popolazioni di linfociti B, T o NK nelle varie fasi del processo di differenziazione.

In base alla classificazione più recente, edita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 2017, 5^a edizione), oggi si contano più di 60 tipi diversi di linfoma [1] [2]. L'attuale approccio classificativo non si basa più sulle dimensioni della cellula e sulla morfologia del nucleolo bensì delinea un'elencazione di categorie di linfomi, per ognuno dei quali si cerca di definire la controparte cellulare normale ed una serie di parametri quali: morfologia, fenotipo, anomalie genetiche, siti anatomici interessati, clinica e prognosi.

I linfomi si dividono in due grandi categorie: Linfoma di Hodgkin (LH) e Linfoma Non Hodgkin (LNH); quest'ultimo è ulteriormente suddiviso in numerosi sottotipi in base alla cellula di origine, ciascuno con caratteristiche uniche in termini di patogenesi, manifestazioni cliniche e approcci terapeutici.

Schematicamente i linfomi possono essere distinti in due forme cliniche: indolenti e aggressivi. Con la forma indolente si intende una neoplasia che, indipendentemente dal trattamento, presenta una sopravvivenza valutabile in anni. Con la forma aggressiva si intende invece una neoplasia linfoide che presenta un esordio aggressivo con sintomi importati e che, se non opportunamente e prontamente trattati, vanno verso una rapida progressione e una prognosi infausta.

Fra i linfomi aggressivi il più comune è il Linfoma B Diffuso a Grandi Cellule (DLBCL).

1.1 Epidemiologia

I linfomi non-Hodgkin (LNH) sono la neoplasia ematologica più comune, costituiscono il 3% di tutti i tumori maligni e sono la quinta neoplasia più diffusa nel mondo occidentale. Il linfoma B diffuso a grandi cellule (DLBCL) rappresenta il 30% dei casi di linfoma non Hodgkin, risultando così il sottotipo più frequente. L'incidenza annuale stimata del DLBCL è di 4,8 casi ogni 100.000 abitanti. L'età mediana alla diagnosi è tra 60 e 70 anni, l'incidenza tende ad aumentare con l'età e la prevalenza è leggermente maggiore nel sesso maschile (il rapporto maschi/femmine è di 1,2:1) [3] [4].

Normalmente il DLBCL si sviluppa de novo tuttavia può originare dalla trasformazione di LNH indolenti come il linfoma follicolare o la leucemia linfatica cronica (LLC).

Ad oggi sembrano non essere definiti agenti eziologici certi per il DLBCL però sono noti alcuni fattori di rischio, in particolare quelli che indeboliscono il sistema immunitario come stati di immunodeficienza acquisita (HIV, trapianti d'organo) e congenita (agammaglobulinemia, sindrome di Wiskott-Aldrich, sindrome di Bloom, immunodeficienza comune variabile, etc.). Inoltre, risulta importante sottolineare l'associazione del DLBCL con infezione da HCV, EBV, disordini autoimmuni ed esposizione ad agenti tossici come fertilizzanti, pesticidi e radiazioni [5] [6].

1.2 Presentazione clinica

Il quadro clinico all'esordio della neoplasia risulta essere estremamente variabile. Solitamente la malattia si presenta come una tumefazione neoplastica a rapido accrescimento; il paziente può presentare linfoadenopatie superficiali o profonde (stazioni toraco-mediastiniche, paraotiche, preaortiche e mesenteriali) con linfonodi che possono raggrupparsi in pacchetti e assumere un volume considerevole. Linfonodi, milza e il tessuto linfatico dell'anello del Waldeyer sono considerati come tessuti nodali, come sottolineato nelle più recenti linee guida [1]. Inoltre, per i Linfomi Non Hodgkin non esiste una dimensione comunemente accettata per definire una tumefazione bulky come per il Linfoma Hodgkin in cui il cut off è selezionato a un diametro superiore a 10 centimetri o, quando situate nel mediastino, il diametro è superiore ad 1/3 del diametro toracico, per questo nei LNH è importante segnalare il diametro massimo della lesione di dimensioni maggiori.

In circa il 40% dei casi, il DLBCL può presentarsi con una localizzazione extranodale della malattia. Le sedi più comunemente coinvolte sono: il tratto gastroenterico (specialmente lo stomaco, meno frequentemente l'intestino), epatica, cutanea, ossea, tratto respiratorio, testicolo, tiroide, reni, sistema nervoso centrale (sia parenchimale che meningeo) e ghiandole salivari [7].

Nel 15% dei casi è documentabile all'esordio il coinvolgimento del midollo osseo, il quale può essere definito concordant se c'è interessamento da DLBCL oppure discordant se interessato da un linfoma di basso grado, con una prognosi nettamente migliore [8].

In alcuni casi, circa un terzo, le tumefazioni sono associate a sintomi sistemici, definiti sintomi B. Quest'ultimi rappresentati da: febbre o febbre tipicamente serotina, sudorazione notturna profusa e calo ponderale non altrimenti spiegato maggiore o uguale al 10% del peso corporeo nei sei mesi pregressi.

La sintomatologia può inoltre essere correlata alla localizzazione della massa neoplastica come: dolori addominali e disturbi dell'alvo se associata al tratto gastroenterico; fratture patologiche e dolore localizzato se interessano il sistema osseo; segni e sintomi da compressione come la sindrome della vena cava superiore (dispnea, edema a mantellina, turgore giugulare) se vi è interessamento mediastinico. Altre sindromi d'esordio, associate alla presenza di masse neoplastiche sono la sindrome da compressione della vena cava inferiore (edemi bilaterali agli arti inferiori e allo scroto) o la compressione delle vie escretorie renali (dilatazione pieloureterale con atrofia del parenchima e insufficienza renale).

Nello specifico il coinvolgimento del mediastino può essere associato ad altre localizzazioni nodali, tuttavia, nella maggior parte dei casi si presenta in maniera isolata, rappresentando così un variante anatomo-clinica distinta del DLBCL, secondo la classificazione WHO dei linfomi: il linfoma a grandi cellule B primitivo del mediastino. Questo ha un'incidenza maggiore nelle giovani donne e sebbene sia considerato un linfoma aggressivo ha una prognosi frequentemente favorevole [1].

1.3 Diagnosi e definizione istologica

La diagnosi dei linfomi B diffusi a grandi cellule si basa su un percorso che prevede l'integrazione di un'attenta valutazione anamnestica, laboratoristica, di imaging e dall'imprescindibile definizione istopatologica.

In passato, nelle primissime classificazioni, il linfoma B diffuso a grandi cellule veniva considerato come unica entità nosografica, ora è classificato in differenti entità suddivisibili clinicamente, morfologicamente e sul piano molecolare. Ad oggi non si conosce l'effettiva utilità clinica della suddivisione delle più recenti classificazioni [9], per questo è importante basare la diagnosi differenziale dei DLBCL sulla morfologia, citogenetica (FISH) e profilo immunofenotipico [1].

Per la diagnosi è indispensabile l'esame istologico. Infatti, la biopsia dei linfonodi coinvolti o degli organi extranodali costituisce il gold standard per la corretta definizione

diagnostica e l'identificazione di vari marcatori molecolari per determinare la prognosi e decidere la terapia. La scelta della lesione e della sede anatomica del prelievo è di fatto nella pratica clinica guidata dall'ematologo e/o dal chirurgo anche se sarebbe desiderabile, vista la complessità del percorso diagnostico, il coinvolgimento anche dell'anatomopatologo in un approccio multidisciplinare.

Si raccomanda la biopsia escissionale del linfonodo, quindi la sua intera rimozione.

I linfonodi di grosse dimensioni o situati in profondità possono rappresentare un'eccezione: in questo caso è indicata una biopsia incisionale o con ago tru-cut (ago con guida eco/TC).

L'aspirazione linfonodale è sconsigliata e l'analisi citologica non è raccomandata. Infatti, quest'ultima è un tipo di analisi meno affidabile perché di solito ha un gran numero di falsi negativi e manca di caratterizzazione [10] [11].

1.3.1 Caratteristiche isto-patologiche e classificazione

La nuova classificazione WHO 2017 origina dalla necessità di combinare le caratteristiche morfologiche, fenotipiche, molecolari e citogenetiche [2].

Fra le novità dell'ultima classificazione, nell'ambito dei Linfomi B a Grandi Cellule (Diffuse Large B Cell Lymphoma, DLBCL), compare l'importanza della differenziazione tra il DLBCL tipo GCB (a cellule B del centro germinativo) e quello ABC/non-GC (a cellule B attivate/ non centro germinativo), attraverso un algoritmo immunostochimico dato che tale distinzione può influenzare la scelta del percorso terapeutico. Vengono definite inoltre altre nuove entità istopatologiche come il DLBCL double expressor (coespressione di c-myc e Bcl2 o Bcl6), il DLBCL NOS EBV+ (non altrimenti specificato), il Linfoma B high grade (con traslocazioni di c myc e bcl-2 o bcl-6, definito quindi double/triple hit lymphomas), i linfomi a cellule B ad alto grado NOS (linfomi a morfologia blastoide non inquadrabili in altri istotipi) (Tabella 1).

Tabella 1. DLBCL Classificazione WHO 2017

Linfomi diffusi a grandi cellule B NAS (DLBCL, NAS*)
<ul style="list-style-type: none"> • Tipo a cellule B del Centro Germinativo • Tipo a cellule B attivate
Linfoma a cellule B ricco in linfociti T/istiociti
DLBCL primitivo del Sistema Nervoso Centrale (SNC)
DLBCL Primitivo della cute, tipo “gamba”
DLBCL EBV1-positivo, NAS
Ulcera mucocutanea EBV1+
DLBCL associato a infiammazione cronica
Granulomatosi Linfomatoide
Linfoma B a grandi cellule primitive del mediastino
Linfoma B a grandi cellule intravascolare
Linfoma B a grandi cellule, ALK1+
Linfoma Plasmablastico
DLBCL HHV8-positivo, NAS
Linfoma B di alto grado con riarrangiamento di MYC, BCL2 e/o BCL6
Linfoma B di alto grado, NAS
Linfoma a cellule B, inclassificabile, con aspetti intermedi tra DLBCL e linfoma di Hodgkin classico
Linfoma di Burkitt
Linfoma tipo Burkitt con anomalia 11q
* NAS = non altrimenti specificato

1.3.2 Aspetti morfologici

Il primo passo nel percorso diagnostico del DLBCL si basa proprio sull'analisi morfologica del tessuto prelevato.

Dal punto di vista morfologico i DLBCL sono per definizione proliferazioni linfoidi a crescita diffusa, che infiltrano il tessuto linfoide, rendendone così la struttura irriconoscibile. Si possono distinguere due tipi di sostituzione del tessuto linfonodale: totale o parziale. Quest'ultima può avere un aspetto sinusoidale, interfollicolare (risparmia i follicoli reattivi) o, più raramente, con netta distinzione tra aree coinvolte e no. Il pattern diffuso è quindi la morfologia classica del DLBCL.

Le cellule neoplastiche sono di taglia medio-grande con un diametro compreso tra 15 e 30 micron e con nucleoli ben evidenti, le quali possono assomigliare in modo variabile a centroblasti, immunoblasti, plasmoblasti o a cellule anaplastiche. Inoltre, le cellule tumorali possono essere frammiste in proporzione variabile con linfociti T di piccola taglia e macrofagi.

La predominanza di cellule centroblastiche, immunoblastiche, plasmoblastiche o anaplastiche definisce le rispettive varianti morfologiche: la variante centroblastica (circa l'80% dei casi), con cellule linfomatose caratterizzate da nucleo rotondeggiante o irregolare con molteplici nucleoli disposti perifericamente sulla membrana nucleare; la variante immunoblastica (8-10% dei casi), in cui la popolazione tumorale è prevalentemente rappresentata da immunoblasti con tipico nucleo rotondeggiante centrale, citoplasma basofilo e singolo nucleolo ben evidente; la variante anaplastica, estremamente rara, è caratterizzata da cellule molto grandi e con morfologia nucleare pleomorfa a volte simili alle cellule di Reed-Sternberg che rende difficile la distinzione con il LH ricco in linfociti o con tumori poco differenziati; la variante plasmoblastica che di solito più frequente nei soggetti con immunodeficienza.

Il DLBCL ricco in cellule T ed istiociti, rappresenta un'ulteriore variante morfologica, che si caratterizza per la presenza predominante di una popolazione di linfociti T e istiociti reattivi, commisti a una piccola percentuale di cellule B [2].

La distinzione di tali varianti morfologiche non ha alcun impatto né prognostico né di tipo terapeutico. Infatti, la sola morfologia può essere molto indicativa e utile per inquadrare la diagnosi differenziale ma la conferma immunoistochimica è necessaria per definire la diagnosi di DLBCL.

1.3.3 Esami immunoistochimici

Dopo aver definito le caratteristiche morfologiche del tessuto è imprescindibile un'ideale caratterizzazione immunoistochimica, utilizzando dei precisi e codificati algoritmi immunoistochimici basati su pannelli fenotipici.

Il primo passo consiste nel confermare od escludere la natura B della neoplasia, si utilizzano i markers caratteristici della linea B quali CD20, CD19, CD22, CD45 e CD79a. Questi marcatori, quindi, costituiscono il pannello immunoistochimico di base.

Nel 5% dei casi si riscontra una positività al CD5+ il quale dovrà essere incluso nella ricerca visto il suo valore prognostico negativo [12].

Nel pannello di base è fondamentale sottolineare la presenza del CD20, il quale non solo risulta essere altamente specifico ma anche un fattore predittivo di risposta ai farmaci anti CD20. Qualora il paziente venga trattato con questi farmaci in prima linea è importante utilizzare nella ricerca di eventuali recidive marcatori alternativi come il CD79a, PAX5 o CD19, questo perché è possibile che l'antigene CD20 scompaia dalla superficie delle cellule neoplastiche [13] [14]. Il CD20 non è mai espresso nei linfomi plasmoblastici, pertanto, si devono utilizzare marcatori di differenziazione plasmacellulare quali CD138, CD38, MUM1, catene leggere delle immunoglobuline e la presenza di antigeni virali quali EBV e HHV8 [15] [16].

Inoltre, è richiesta la valutazione della percentuale di cellule positive per ki67. Generalmente presentano un alto indice di proliferazione che viene identificato i cui valori sono sempre maggiori del 20% e talvolta possono superare il 90%. Nel caso in cui la distribuzione non fosse omogenea nel campione di tessuto è importante indicarlo nel referto e fornire una percentuale di positività che corrisponde al valore medio.

1.3.4 Cellula d'origine

Le nuove linee guida sottolineano l'importanza di definire la cellula d'origine (COO, Cell Of Origin), tramite l'utilizzo di determinati markers: BCL6, CD10 e MUM1.

Si distingue così un'origine dai linfociti B del centro germinativo del follicolo (tipo GCB, che mostrano positività per BCL6, CD10, LMO2, GCET1) o dalle cellule B attivate o non-centro germinativo (tipo ABC/ non-GCB, che mostrano positività per IRF4/MUM1, CD138, FOXP1).

Questo concetto deriva da studi che hanno dimostrato, mediante la tecnica del gene expression profiling (GEP), che l'iperpressione di alcuni geni tipici del tipo GCB sia associata ad una migliore prognosi, al contrario un'espressione maggiore dei geni del tipo ABC sia correlato ad una ridotta sopravvivenza con terapia CHOP o R-CHOP [17] [18]. La tecnica del gene expression profiling, pur essendo considerata il gold standard, non è sempre applicabile per la scarsa disponibilità di attrezzature adeguate e per i costi elevati. Per questo si è cercato di sostituire la GEP, con più semplici algoritmi diagnostici basati su pannelli anticorpali più semplici ma comunque affidabili da poter eseguire nella pratica clinica di routine [19] [20].

Tuttavia, nessuno degli algoritmi diagnostici sviluppati, correla perfettamente con l'espressione genica con una concordanza variabile tra il 75% e l'85%, infatti alcune metanalisi hanno mostrato come i vari algoritmi presentino un tasso di errore eccessivo per l'applicazione clinica [21] [22].

Per i motivi sopraelencati l'uso dell'immunoistochimica non è consigliato per le decisioni terapeutiche ma comunque è accettato. Infatti, l'organizzazione mondiale della sanità non indica l'utilizzo di uno specifico algoritmo immunoistochimico bensì raccomanda di specificare quello utilizzato. Tra gli algoritmi più diffusi troviamo l'algoritmo di Hans mostrato in figura 1 [23], anche se attualmente è il test Lymph2Cx ad essere consigliato come test diagnostico per uso clinico [24].

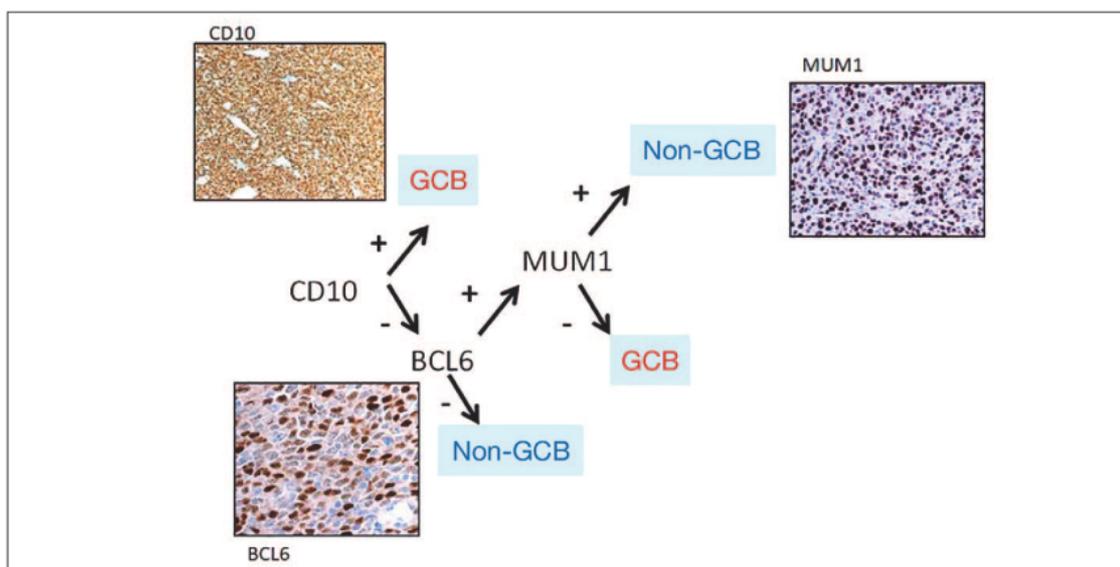


Figura 1. Algoritmo di Hans.

1.3.5 Caratteristiche molecolari

Il passo successivo per la corretta e completa diagnosi è la valutazione dell'espressione di bcl2, c-myc e bcl6, correlati ad una prognosi peggiore.

La proteina c-Myc (nucleare) è un protooncogene nel cromosoma 8q24 che codifica per un fattore di trascrizione la cui disregolazione altera i meccanismi di controllo della sopravvivenza e proliferazione cellulare, viene considerato positivo se la sua espressione è > 50%. La proteina BCL2 (citoplasmatica) è un oncogene nel cromosoma 18q21 che ha proprietà antiapoptotiche, il suo valore limite per definire la positività è >40%. La proteina BCL6 è un repressore di trascrizione nel cromosoma 3q27 [25]

I DLBCL con over espressione sia di c-myc che contemporaneamente di bcl2 sono definiti Double Expressor Lymphomas (DELs), importanti da identificare in quanto associati ad una prognosi peggiore e dunque ad una risposta non ottimale al trattamento standard. Infatti, i DELs costituiscono circa un terzo dei DLBCL e circa il 50 % dei ricaduti/refrattari [26] e appartengono più frequentemente al sottogruppo DLBCL non-GC.

Nel caso di positività immunohistochimica per c-myc, bcl2 e bcl6, soprattutto se associati ad alto ki67, è opportuna una conferma mediante metodiche di citogenetica molecolare (FISH), dal momento che l'iperespressione di quest'ultime proteine, evidenziata tramite immunohistochimica, non sempre corrisponde alle rispettive traslocazioni cromosomiche. Bisognerebbe effettuare in prima istanza la ricerca delle traslocazioni del gene MYC e solo in caso di positività procedere alla ricerca delle traslocazioni di BCL2 e BCL6.

Nel caso di presenza di doppia o tripla traslocazione il DLBCL sarà classificato come High Grade Lymphoma, Double o Triple Hit, secondo la nuova classificazione WHO 2017 [27]. Questi rappresentano il 4-16% dei DLBCL e sono più ricorrenti nel sottotipo GCB. Rappresentano ormai una categoria a parte, caratterizzati da una clinica aggressiva e una prognosi altamente sfavorevole, con una scarsa risposta ai regimi polichemioterapici considerati attualmente lo standard per i DLBCL (R-CHOP, DA-EPOCH).

Inoltre, un approfondimento mediante FISH può essere utile anche nelle varianti a morfologia blastoide e nei casi con caratteristiche morfologiche intermedie fra il DLBCL e il linfoma di Burkitt.

1.4 Staging

1.4.1 Stadiazione clinica

La stadiazione clinica prevede inizialmente un'anamnesi scrupolosa volta alla ricerca dei sintomi sistemici, ovvero dei sintomi B e di sintomi da compressione correlati ad eventuali localizzazioni extranodali della malattia. L'esame obiettivo prevede oltre alla classica valutazione dell'obiettività toraco/cardio/addominale la ricerca di tumefazioni palpabili sia nodali che extranodali, la ricerca di organomegalie nonché una valutazione attenta della cute.

Le indagini di laboratorio imprescindibili sono: esame emocromocitometrico completo; esami ematochimici di funzionalità epatica e renale; dosaggio della latticodeidrogenasi (LDH); elettroforesi sieroproteica; dosaggio dei livelli di acido urico; sierologia virale completa per HCV, HBV e HIV.

Indispensabile, per i risvolti prognostici e terapeutici è la valutazione del performance status del paziente secondo ECOG (eastern cooperative oncology group) (Tabella 2).

Tabella 2. Performance Status dell'Eastern Cooperative Oncology Group/World Health Organization (ECOG)

GRADO	ECOG
0	Completamente attivo, esegue tutte le attività precedenti alla malattia senza limitazioni
1	Limitato nelle attività fisiche ardue ma in grado di eseguire lavori leggeri o sedentari
2	Capace di provvedere completamente a sé stesso ma non in grado di svolgere attività lavorative di qualsiasi grado; in piedi per più delle 50% delle ore di veglia
3	Capace di provvedere a sé stesso, confinato a letto o in poltrona per più del 50% delle ore di veglia
4	Completamente inabile. Non in grado di provvedere a sé stesso. Completamente confinato a letto o poltrona
5	Decesso

Nei soggetti con età superiore a sessantacinque anni è altresì importante eseguire la valutazione geriatrica per stabilire il grado di fragilità del paziente.

La valutazione geriatrica multidimensionale (VGM) viene di norma eseguita utilizzando diverse scale: ADL (valutazione delle attività di base della vita quotidiana), IADL (valutazione delle attività strumentali della vita quotidiana) e CIRS (valutazione dell'indice di comorbidità) [28](tabella 3).

Tabella 3. Criteri per la valutazione geriatrica dimensionale

MISURA	FIT	UNFIT	FRAIL
ADL	6	5	≤
IADL	8	7-6	≤
CIRS	0 score = 3-4 <5 score=2	0 score = 3-4 1 score = 2	1 score = 3-4 >8 score =2
ETA'		≥80 FIT	≥UNFIT

1.4.2 Esami strumentali

La PET/TC, secondo le ultime linee guida, rappresenta il gold standard non solo per la stadiazione ma anche per la valutazione della risposta alla terapia dei pazienti con DLBCL [1].

Il coinvolgimento linfonodale viene evidenziato dalla PET/TC come un'aumentata ipercaptazione. L'interessamento epatico e splenico si sospetta in caso di una ipercaptazione miliare o nodulare, singola o multipla. L'esame si rivela fondamentale anche per evidenziare il coinvolgimento di sedi extranodali [29] [30].

Ad oggi la TC viene utilizzata per la pianificazione del trattamento radioterapico mentre non è più indispensabile per la stadiazione del linfoma.

Inoltre, la PET è considerata sufficiente per escludere o meno il coinvolgimento midollare, in quanto mostra una maggiore specificità e sensibilità rispetto all'esame bioptico [31].

La biopsia osteomidollare è raccomandata solo nei pazienti con PET negativa in cui si sospetta la presenza di un infiltrato linfomatoso a basso grado.

In alcuni casi specifici sono raccomandati ulteriori esami strumentali: per i linfomi cerebrali è indicata la risonanza magnetica nucleare; per i pazienti ad elevato rischio di

localizzazione nel sistema nervoso centrale (testicolo, regioni paravertebrali/vertebrali, seni paranasali, palato duro, midollo osseo) è indicata la rachicentesi con esame chimico-fisico e immunocitofluorimetrico del liquido spinale; nei pazienti con linfoma primitivo del testicolo o dell'encefalo è indicata l'esecuzione di un'ecografia testicolare.

La stadiazione attuale del DLBCL si fonda sulla revisione di Lugano del sistema di stadiazione di Ann Arbor, il quale definisce, in base al numero delle localizzazioni e alle sedi anatomiche interessate dal linfoma, quattro stadi di malattia (I-IV) (tabella 4).

I cambiamenti più sostanziali proposti dalla classificazione di Lugano per la stadiazione del DLBCL riguardano: l'utilizzo della designazione "E" da riservare ai pazienti con singola localizzazione extranodale in assenza di localizzazioni extra nodali (IE) , quindi negli stadi avanzati di malattia la designazione "E" non è più utilizzabile; il suffisso "X" per le masse Bulky non è più indispensabile, viene invece richiesto il diametro massimo della lesione di maggiori dimensioni; i suffissi "A" e "B" in riferimento alla presenza o meno dei sintomi sistemici non sono più utilizzati; tonsille, anello del Waldeyer e milza sono considerati tessuti nodali .

Tabella 4. Stadiazione LNH (revisione di Lugano della stadiazione Ann Arbor)

STADIO	SEDI INTERESSATE
I	Unica regione linfonodale (I) o singola sede extranodale (IE)
II	Due o più regioni linfonodali dallo stesso lato del diaframma (II) o estensione locale extranodale e una o più regioni dallo stesso lato del diaframma (IIE)
III	Regioni linfonodali in entrambi i lati del diaframma (III), accompagnate o meno da una estensione locale extranodale (IIIE)
IV	Diffuso coinvolgimento di una o più sedi extranodali
BULKY	Non esiste una definizione condivisa di massa bulky (alcune evidenze suggeriscono dimensioni >6 cm per LnH follicolare e dimensioni comprese tra 6-10 cm per DLBCL). Dovrà comunque essere riportato nella stadiazione il diametro massimo della lesione di maggiori dimensioni

1.4.3 Esami aggiuntivi

Per i pazienti candidati a trattamenti potenzialmente cardiotossici, la funzione cardiaca deve essere studiata con l'elettrocardiografia e l'ecocardiografia per valutare la frazione di eiezione.

Per i pazienti che ricevono Bleomicina, sono raccomandati test di funzionalità respiratoria tramite spirometria.

Tutti i giovani pazienti in età riproduttiva devono essere informati sui rischi di infertilità associati alla chemioterapia e sulla necessità di evitare una gravidanza durante il trattamento e per almeno due anni dopo. Pertanto, deve essere proposto al paziente un centro di procreazione medicalmente assistita per individuare un approccio individualizzato alla prevenzione dell'infertilità, come la crioconservazione del liquido seminale per l'uomo e la crioconservazione di ovociti/tessuti ovarici per la donna. Sempre per la donna è importante valutare l'assunzione di estrogeni-progestinici o analoghi dell'LH-RH con lo scopo di evitare gravidanze.

1.5 Stratificazione del rischio e prognosi

Sebbene la prognosi dei DLBCL sia sostanzialmente migliorata nelle ultime decadi grazie alle nuove terapie, essa rimane ad oggi ancora molto variabile.

Nella pratica clinica, nonostante ancora non siano del tutto noti i fattori predittivi di risposta alla terapia, la prognosi viene stimata combinando fattori clinici, aspetti molecolari, "Cell of Origin" e infine la localizzazione nel Sistema nervoso centrale (SNC).

1.5.1 Fattori clinici

I principali modelli prognostici applicati al DLBCL sono l'International Prognostic Index (IPI) e l'age-adjusted IPI (aaIPI) (Figura 2).

L'IPI viene calcolato in base a cinque varianti cliniche:

- Età superiore o inferiore ai 60 anni
- Performance status secondo ECOG
- Livello di LDH sierico
- Stadio clinico secondo Ann Arbor
- Numero di sedi extranodali coinvolte

Grazie a questi parametri l'IPI, attribuendo un numero ad ogni variabile, assegna i pazienti a quattro categorie di rischio: basso (0), intermedio-basso (1), intermedio-alto (2), alto (3). Tali categorie di rischio correlano con la probabilità di sopravvivenza libera da progressione nonché con la probabilità di sopravvivenza globale a 5 anni che varia da meno del 25% a più del 75% [32].

L'aaIPI, viene utilizzato per pazienti di età inferiore ai 60 anni e prende in considerazione tre fattori di rischio:

- Livelli di LDH sierico
- Performance status secondo ECOG
- Stadio avanzato secondo Ann Arbor

Lo score IPI è stato creato nel 1993 quando ancora l'unica chemioterapia disponibile era CHOP, pertanto dopo l'introduzione del Rituximab, visto il significativo miglioramento della sopravvivenza in tutte le classi di rischio, si è reso necessario introdurre un aggiornamento dell'IPI: il Rituximab-IPI (R-IPI). Quest'ultimo score mantiene gli stessi parametri dell'IPI originario ma discrimina tre soli classi di rischio con prognosi nettamente differente: basso (0), intermedio (1-2), elevato (3-4-5) [33].

L'ultima evoluzione dell'IPI è lo score NCCN IPI, costruito usando i dati del National Comprehensive Cancer Network raccolti nell'era Rtuximab. Lo scopo di tale aggiornamento è quello di perfezionare la stratificazione del rischio dei pazienti affetti da DLBCL trattati con immunochemioterapia, in quanto suggerisce una correlazione tra l'IPI elevato e il rischio di localizzazione centrale, che conferisce una cattiva prognosi.

Le varianti considerate dall'NCCN-IPI sono le stesse dell'IPI ma i punti sono attribuiti in maniera differenti, come mostrato nella figura 3. Si definiscono così quattro nuove classi di rischio: basso (0-1), intermedio basso (2-3), intermedio alto (4-5), elevato (6-8) [34].

Nonostante i diversi modelli proposti siano utili a stimare i rischi connessi alla patologia, ad oggi nella pratica clinica non vengono utilizzati come strumenti decisionali.

Risk Factor	0 Point	1 Point
IPI		
Age	≤60 years	>60 years
Ann Arbor stage	I or II	III or IV
Serum LDH level	Normal	Above normal
Number of extranodal sites of involvement	≤1	>1
ECOG performance status	0–1	≥2
aalPI (≤60 years or >60 years)		
Ann Arbor stage	I or II	III or IV
Serum LDH level	Normal	Above normal
ECOG performance status	≤1	>1

Figura 2. L'International Prognostic Index (IPI) e l'age-adjusted IPI (aaIPI).

NCCN-IPI	Score
Age, y	
>40 to ≤60	1
>60 to ≤75	2
>75	3
LDH, normalized	
>1 to ≤3	1
>3	2
Ann Arbor stage III-IV	1
Extranodal disease*	1
Performance status ≥2	1

*Disease in bone marrow, CNS, liver/GI tract, or lung.

Figura 3. Score NCCN IPI

1.5.2 Cellule d'origine

Numerosi studi hanno dimostrato che i pazienti con sottotipo ABC hanno un outcome significativamente peggiore con i regimi chemioterapici standard (contenenti antracicline e Rituximab) rispetto ai GCB [35].

1.5.3 Aspetti molecolari e immunoistochimici

L'esperienza clinica ha confermato che il DLBCL con alta espressione di c-myc e ki67, doppia o tripla espressione [36], o doppio o triplo Hit richiede approcci terapeutici più aggressivi, data la prognosi sfavorevole.

In particolare, il DLBCL double-hit tende ad avere un comportamento più aggressivo, con una sopravvivenza mediana inferiore a 12 mesi [37].

I linfomi double expressor hanno una prognosi avversa con una sopravvivenza a 5 anni inferiore al 30-40% se trattati secondo schema R-CHOP [36] come dimostrato in diversi studi con risultati che sembrano indicare un outcome intermedio fra il DLBCL senza alterazioni molecolari e il DH / THL più aggressivo.

Anche alla ricaduta, i riarrangiamenti MYC (MYC+) e DH/THL rimangono fattori con significato prognostico negativo [38].

L'espressione del CD5, evidenziata nel 5% circa dei DLBCL, è associato a una prognosi peggiore [12].

L'espressione in più dell'80% di p53, associata alla perdita di funzione del Tumor-suppressor gene e confermata dall'assenza dell'espressione di p21waf1 rappresentano marcatori prognostici negativi soprattutto nel DLBCL GCB [39] [40].

Marcatori prognostici positivi sono invece l'espressione di CD37 nei GCB-DLBCL e della proteina p63 [41] [42].

La nuova tipizzazione molecolare integrata con gli studi multiomici svolgerà un ruolo importante nella predizione della prognosi dei pazienti con DLBCL e aiuterà a sviluppare piani di trattamento individualizzati per i pazienti e a migliorare i tassi di guarigione e di sopravvivenza dei pazienti con DLBCL [43].

1.5.4 Localizzazione nel sistema nervoso centrale

Risulta importante valutare il rischio di coinvolgimento/recidiva centrale di malattia per la scelta del trattamento e della eventuale profilassi del SNC.

A questo proposito è stato redatto un ulteriore modello prognostico, volto a evidenziare i pazienti a maggiore rischio di ricaduta o progressione di malattia a livello del sistema nervoso centrale: il CNS-IPI score, creato in Germania e successivamente validato da ulteriori trial clinici in Canada [44].

Il CNS-IPI score assegna i pazienti a tre categorie di rischio, usando gli stessi fattori di rischio dell'IPI, con l'aggiunta del coinvolgimento renale e/o surrenalico. In questo modo si individuano tre differenti classi di rischio, definendo una probabilità di ricaduta a livello del sistema nervoso centrale inferiore al 5% nei pazienti con punteggio basso o intermedio e superiore al 10% per quelli con punteggio alto [45].

2 Standard terapeutici e nuove prospettive

Il regime polichemioterapico CHOP (ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina e predinsione) è stato definito negli anni 90 come trattamento di prima linea di scelta sia per il DLBCL che per altri linfomi aggressivi. Negli anni più recenti, tuttavia, la terapia ha subito delle importanti modificazioni, tra cui l'introduzione nel regime standard dell'anticorpo monoclonale anti-CD20 rituximab (R) allo schema CHOP.

Ad oggi il gold standard per il trattamento del Linfoma Non Hodgkin DLBCL rimane lo schema R-CHOP con uno schema di somministrazione ogni 21 giorni per un totale di 6 cicli di chemioterapia e 8 dosi di Rituximab [46] [47].

Il numero totale di cicli chemioterapici (4-6) e l'aggiunta di radioterapia dipendono, secondo le recenti linee guida, dallo stadio e dalla localizzazione della massa tumorale o bulky [1].

Grazie a questo schema immuno-chemioterapico si possono raggiungere risposte complete nel 60% con tassi di sopravvivenza a lungo termine del 60-70%.

Inoltre, oggi, oltre ai miglioramenti in campo farmacologico, sono da sottolineare alcuni elementi che hanno concorso al miglioramento della gestione della terapia del paziente con DLBCL. Prima di tutto la creazione degli score prognostici che hanno permesso di fondare le scelte terapeutiche sulla base del rischio individuale del paziente, ottenendo così un potenziamento tra rischi e benefici della terapia. In secondo luogo, l'introduzione FDG-PET sia per la valutazione dell'estensione che della risposta alla terapia. Per di più, i recenti dati della letteratura sottolineano l'importanza della risposta metabolica alla FDG-PET come ruolo prognostico [29]. Per ultimo, anche se ancora non si è concretizzato totalmente come modifica nelle scelte terapeutiche nella pratica clinica, il miglioramento delle conoscenze biologia del DLBCL [35] [17]. Quest'ultimo punto rappresenta ad oggi la spinta maggiore nella ricerca scientifica, soprattutto lo studio di terapie mirate e sempre più personalizzate.

2.1 Pazienti giovani in stadio localizzato o a basso rischio

In questa categoria di pazienti, assodato come gold standard il trattamento immuno-chemioterapico R-CHOP, la durata della terapia e la radioterapia di consolidamento dopo immunochemioterapia costituiscono i principali temi di dibattito.

Nello studio MInT [48], che prendeva in analisi una popolazione di pazienti di età tra 18 e 60 anni, con aaIPI compreso tra 0 e 1 o che avevano una malattia localizzata con lesione Bulky (definita ancora in questo studi con il cut off di 10 cm), si è dimostrata la netta superiorità in termini di Progression Free Survival (PFS) e di Sopravvivenza Globale (OS) del regime R-CHOP rispetto al regime CHOP [49].

Lo studio MInT ha aperto la strada ad un nuovo studio sempre da parte degli stessi autori: lo studio UNFOLDER [50] il cui scopo era di valutare l'efficacia di un consolidamento radioterapico per i pazienti con malattia Bulky rispetto alla sola osservazione post 6 cicli di R-CHOP. I risultati finali non sono stati pubblicati ma i dati preliminari hanno mostrato un eccesso di progressioni per il braccio osservazionale che ha decretato la modifica del trial, raccomandando il consolidamento con RT per tutti i pazienti con malattia bulky (NCT 00278408). Il maggiore limite di questo studio è rappresentato dalla valutazione della risposta alla terapia con TC e non con valutazione metabolica PET, questo non consente di supportare una raccomandazione forte in favore della RT di consolidamento. Per quest'ultimo motivo oggi sono in corso una nuova serie di studi che valutano la RT come consolidamento nei pazienti con malattia bulky che ottengono risposta metabolica completa dopo R-CHOP.

Il secondo tema di dibattito è la durata del trattamento per cui si discute l'utilizzo di 4 cicli di R-CHOP rispetto allo standard di 6 cicli per i pazienti negli stadi localizzati, la risposta giungerà dai risultati di un altro importante studio: lo studio FLYER che ad oggi ha mostrato la non inferiorità di 4 cicli rispetto ai 6 cicli [51].

Nell'attesa della pubblicazione di risultati finali e definitivi, il trattamento gold standard in questa categoria di pazienti, rimane lo schema R-CHOP di 6 cicli con indicazione a radioterapia di consolidamento se residuo PET positivo a fine terapia. L'eventuale consolidamento radioterapico in pazienti senza residuo PET di malattia deve essere deciso in base al rapporto rischio beneficio in una discussione multidisciplinare.

Ad ogni modo il trattamento radioterapico viene impostato rispettando le nuove raccomandazioni dell'International Lymphoma Radiation Oncology Group (ILROG), sia per la dose (30Gy se risposta metabolica completa, 36-40Gy se residui metabolicamente attivi), sia in termini di volume di trattamento. La radioterapia andrebbe somministrata dopo 4-6 settimane dalla fine del trattamento immunochemioterapico su volumi calcolati

in base non solo al residuo di malattia metabolicamente attiva alla PET-FDG ma anche della presentazione iniziale [52].

2.2 Malattia in stadio avanzato

La chemioterapia R-CHOP21, 6-8 cicli somministrati a intervalli di 21 giorni, è l'attuale standard di trattamento anche per i pazienti in stadio avanzato con età inferiore agli 80 anni. Ciò nonostante, circa il 40% dei pazienti non risponde o ricade dopo tale trattamento. Per migliorare l'outcome del trattamento di prima linea con R-CHOP21 sono state impiegate diverse strategie, le quali non hanno però portato i risultati desiderati. Tra queste strategie ritroviamo: l'intensificazione delle dosi (HDC) o della frequenza di somministrazione della chemioterapia (dose-dense); la sostituzione del rituximab con anticorpi anti-CD20 di nuova generazione; l'aggiunta di nuovi farmaci al classico R-CHOP.

2.3 Terapie intensificate

Nello studio RICOVER-60 [53] si è proposto il regime dose-dense con somministrazioni ogni 14 giorni invece che ogni 21 come nel regime R-CHOP21 con dati preliminari promettenti. Tuttavia, altri due studi randomizzati (LNH03-6B e British National Lymphoma Investigaton), che nel complesso hanno studiato circa 1600 pazienti non hanno dimostrato nessun vantaggio in termini di efficacia del regime dose dense (R-CHOP14) rispetto a R-CHOP21. Per di più sono stati evidenziate maggiori tossicità [54]. Molti studi si sono concentrati sull'uso di schemi dose-dense e di terapie ad alte dosi (HDC) seguite da trapianto di cellule staminali autologhe come consolidamento alla terapia di prima linea per i pazienti ad alto rischio e giovani. Il razionale di queste terapie deriva da studi di fase II che si erano dimostrati altamente promettenti, i più recenti prevedevano l'utilizzo di chemioimmunoterapia ad alte dosi sequenziali [55].

Questi risultati non sono stati confermati negli studi randomizzati più recenti come lo studio tedesco DSHNHL-2002-1, nel quale il regime a dosaggio intensificato R-Mega CHOEP, seguito da supporto di cellule staminali, non solo non ha evidenziato alcun vantaggio in termini di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da progressione bensì ha registrato un maggiore numero di eventi avversi rispetto al regime R-CHOEP 14 con cui è stato confrontato [56].

Il più recente studio DLCL04, della fondazione italiana linfomi (FIL), il quale ha confrontato il trattamento dose dense RCHOP14 8 CICLI o R-MegaCHOP-14 con un trattamento abbreviato degli stessi schemi (4 cicli) seguito da chemioterapia ad alte dosi (R-MAD) e trapianto autologo condizionato con BEAM, non ha registrato alcuna differenza nella sopravvivenza globale tra i due gruppi [57].

In definitiva, dai risultati ottenuti negli studi di fase III nel paziente giovane con aaIPI 2-3 la chemioterapia ad alte dosi non dovrebbe essere utilizzata di routine, tuttavia l'intensificazione rimane un'opzione terapeutica per i pazienti che fanno parte della categoria "very high risk" come i double hit o per tutti quei pazienti con residuo metabolico dopo terapia di prima linea.

Le terapie infusionali dose-adjusted sono un'ulteriore opzione terapeutica che prevedono l'utilizzo di schemi infusionali la cui dose viene definita in base alla tossicità ematologica osservata. Questo dopo di schema è stato supportato dai ricercatori del National Cancer Institute, i quali hanno sviluppato la schema R-DA-EPOCH, formato da: rituximab, etoposide, predinsone, vincristina, ciclofosfamide e doxorubicina. I migliori risultati sono stati ottenuti nel sottotipo GCB [58].

2.4 Nuovi farmaci

I nuovi farmaci rappresentano una nuova sfida per cercare di ottimizzare l'efficacia delle terapie attualmente in uso come prima linea. Molti sforzi sono stati attuati sulla ricerca di nuovi anticorpi monoclonali contro il CD20. Tra questi si è studiato l'Obinutuzumab (Ga101), il quale rispetto al rituximab mostra una maggiore affinità per il recettore e una maggiore citotossicità diretta in vitro.

Un ampio studio randomizzato (GOYA) non ha mostrato benefici dall'associazione obinutuzumab-CHOP (G-CHOP) rispetto allo standard R-CHOP, non mostrando un miglioramento rispetto la terapia standard, aumentando però la frequenza di eventi avversi di grado severo [59].

2.5 Paziente anziano

Nel paziente anziano, con età superiore ai 65 anni, un trattamento appropriato può indurre le stesse risposte del paziente giovane. Tuttavia, appare indispensabile la distinzione tra l'età anagrafica e biologica nonché tra pazienti fragili e non fragili per poter bilanciare

rischi e benefici della terapia e poter così definire il trattamento più appropriato [60] [61]. Per oggettivare quindi l'età del paziente è importante utilizzare la valutazione geriatrica multidimensionale (VGM). Quest'ultima ci permette di definire il paziente anziano come fit, unfit e fragile. Il paziente fit è candidabile a terapia standard con scopo curativo. Il paziente unfit, presenta ridotte riserve d'organo per cui risulta necessario utilizzare dosi ridotte oppure farmaci a profilo di tossicità basso. Infine, il paziente fragile, con comorbidità importanti e altrettante limitazioni funzionali che impongono la scelta di una terapia con finalità palliative.

La valutazione geriatrica multidimensionale come strumento di definizione standard della categoria di rischio di ogni paziente, si presenta oggi come un efficace approccio per la gestione dei pazienti anziani affetti da DLBCL.

Per quanto riguarda il paziente anziano non fragile, lo standard terapeutico rimane R-CHOP ogni 21 giorni.

Nell'ultimo decennio è stato dato molto spazio agli studi su pazienti anziani o cardiopatici con l'obiettivo di valutare l'efficacia e la tollerabilità dell'Antraciclina Liposomiale Peghiliata nello schema R-COMP, sostituendola dunque a quella convenzionale [62].

Questi studi hanno dimostrato una pari efficacia dello schema R-COMP rispetto all'R-CHOP a fronte di una maggiore sicurezza. Pertanto, attualmente lo standard di cura per i pazienti anziani FIT o UNFIT o i pazienti giovani (<65 anni) con importanti comorbidità cardiovascolari è rappresentato dallo schema R-COMP.

Per i pazienti di età superiore agli 80 anni, gli studi più importanti sono stati svolti sull'utilizzo del trattamento standard a dosi ridotte R-mini-CHOP/COMP, in cui la dose del Rituximab rimane invariata e quella di CHOP/COMP viene dimezzata. Questi studi hanno mostrato una efficacia paragonabile al regime a dosaggio pieno, con una minore tossicità soprattutto ematologica [63]. Lo schema R-mini-CHOP/COMP rappresenta, per molti, la scelta terapeutica standard per pazienti di età superiore agli 80 anni.

Sempre nell'ambito della ricerca di terapia a minore tossicità si è valutato anche l'utilizzo di un nuovo schema R-CEOP con etoposide, il quale ha mostrato una buona efficacia, senza differenze significative con il regime R-CHOP, soprattutto per i pazienti con DLBCL tipo GCB, e una minore tossicità [64].

Per il paziente fragile, il cui scopo della terapia è palliativo, si sono valutati schemi a tossicità ridotta che consentono di ottenere risposte nel 30-40%. Questi schemi prevedono

l'associazione del Rituximab con la bendamustina, gemcitabina oppure con il regime CVP (ciclofosfamide, vincristina, prednisone) [65].

Un altro aspetto da considerare nel paziente anziano è la tossicità precoce della terapia associata ad outcomes sfavorevoli. Per questo si è valutato l'utilizzo di un pretrattamento nei pazienti destinati a ricevere un regime chemioimmunoterapico. Tra i trattamenti di prefase il più comune prevede l'utilizzo una settimana prima dell'inizio della terapia di prednisone associato o meno a una dose di 1-2mg di Vincristina che anticipa la somministrazione prevista con il regime CHOP, il quale ha dimostrato una riduzione della tossicità midollare e di sindrome da lisi tumorale nei pazienti trattati con R-CHOP. Tuttavia, nella scelta del trattamento di prefase bisogna sempre considerare le comorbidità del paziente anziano, in primis il diabete, valutandone gli effettivi benefici a fronte dei rischi.

Sempre in questo ambito un diverso approccio per migliorare l'outcome dei pazienti anziani non fragili affetti da DLBCL è introdurre nel trattamento di prima linea farmaci biologici in associazione alla chemioimmunoterapia standard.

Lo studio della fondazione italiana linfomi (FIL) "The Reri", è stato il primo studio a vagliare l'attività e la sicurezza di un regime senza chemioterapia nei pazienti fragili non candidabili a terapia standard. Il regime ReRI è costituito da un ciclo di 28 giorni (R2) che combina Lenalidomide orale (20 mg nei giorni da 1 a 21) e Rituximab i.v. (375 mg/m² il giorno 1). L'efficacia della combinazione ReRI è stata dimostrata in un significativo numero di casi aprendo la strada ad ulteriori ricerche nell'ambito dell'approccio chemio-free nel paziente anziano fragile con DLBCL [66]

Una nuova frontiera della terapia del DLBCL, anche nel paziente anziano, sono gli anticorpi bispecifici come il Mosunetuzumab. Infatti, nello studio di fase I/II GO40554 (NCT03677154), si sta valutando Mosunetuzumab in monoterapia per il trattamento di prima linea di pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B anziani o unfit, i cui dati iniziali sembrano essere promettenti [67].

2.6 Terapie basate sulla cellula d'origine e su sottogruppi molecolari

Grazie ad un miglioramento nella conoscenza della biologia molecolare del DLBCL, la ricerca sta esplorando la possibilità di migliorare gli outcomes dei pazienti personalizzando la terapia in base ai diversi istotipi di DLBCL.

Questa possibilità origina da studi di fase II che hanno dimostrato l'azione selettiva di nuovi farmaci aggiunti allo standard R-CHOP nei differenti isotipi. Questi includono bortezomib, ibrutinib e lenalidomide.

Il bortezomib è un inibitore del proteasoma, implicato nella via di trasduzione del segnale di NF-kb, coinvolto nella patogenesi del DLBCL tipo non-GCB. Gli studi randomizzati, che hanno confrontato la terapia standard con l'aggiunta di bortezomib, non hanno evidenziato benefici in termini di sopravvivenza libera da progressione rispetto a R-CHOP [68].

L'ibrutinib, inibitore di BTK a somministrazione orale, è già utilizzato nella terapia del linfoma mantellare, nel morbo di Waldenstrom e nella B-LLC ed ora si valuta il suo ruolo nella terapia del DLBCL. L'associazione di ibrutinib alla terapia R-CHOP ha fornito risultati preliminari incoraggianti nel DLBCL tipo non-GCB, tuttavia il confronto tra R-CHOP con ibrutinib o con placebo in pazienti con DLBCL di tipo ABC di nuova diagnosi non ha raggiunto una maggiore sopravvivenza libera da progressione (PFS) rispetto allo standard terapeutico, soprattutto a causa dei numerosi effetti avversi nei pazienti di età superiore ai 60 anni che ha compromesso la possibilità di completare tutti i 6 cicli di R-CHOP [69].

Infine, gli agenti immunomodulatori rivestono un particolare interesse, tra cui la Lenalidomide, immunomodulante già utilizzato nella terapia del Mieloma Multiplo, del Linfoma Mantellare e del Linfoma Follicolare. Uno studio randomizzato ha evidenziato che lo schema di combinazione con Lenalidomide (dose 25 mg al giorno per 10 giorni) determina una riduzione del rischio di progressione e morte del 33% rispetto alla terapia standard [70].

Per quanto riguarda il ruolo di cMyc, BCL2 e BCL6, al giorno d'oggi ancora non è chiaro quale sia la migliore strategia terapeutica per i pazienti ad alto rischio con doppia traslocazione di cMyc e BCL2 o BCL6, e ancora non è definito un trattamento standard. Per le forme più aggressive, quali i Double o triple hit Lymphomas, sono stati sperimentati regimi di chemioterapia intensificata ovvero R-DA-EPOCH, MAGRAT

(CODOX-R-M/R-IVAC) e anche Hyper-C-VAd seguito da trapianto autologo di cellule staminali in prima remissione.

Attualmente non ci sono evidenze tali da raccomandare ognuna di queste strategie che comunque sono state dimostrate efficaci da studi retrospettivi.

Uno studio retrospettivo ha mostrato come nei linfomi double hit, l'utilizzo del regime R-DAEPOCH seguito da trapianto di cellule staminali autologhe è associato ad un maggior numero di risposte complete rispetto a R-CHOP [71].

Questi risultati, nonostante non siano stati ancora validati in modo prospettico, hanno portato all'utilizzo diffuso di questi regimi intensificati nella popolazione double hit.

Un ulteriore agente immunomodulante è l'inibitore di Bcl2 venetoclax. Quest'ultimo è stato aggiunto alla terapia DA-EPOCH-R nella classe Double Hit, tutta via lo studio è stato interrotto per un eccesso di mortalità correlata al trattamento rispetto al DA-EPOCH-R da solo [72].

In conclusione, in accordo con le ultime linee guida, ad oggi non è ancora possibile sostenere l'utilità di trattamenti basati sulla definizione della cellula d'origine e lo schema RCHOP 21 rimane il Gold standard. Solo per i linfomi Double hit appare ormai ampiamente dimostrata la superiorità del trattamento intensificato con R-DA-EPOCH, il quale permette di ottenere in prima linea risultati più soddisfacenti rispetto lo standard R-CHOP.

2.7 Profilassi del sistema nervoso centrale

La recidiva al sistema nervoso centrale (SNC) rappresenta una complicanza sconvolgente che incide notevolmente sulla sopravvivenza, che è di soli 2-5 mesi dall'evento [73]. Fortunatamente con l'introduzione del Rituximab il rischio di recidiva al sistema nervoso centrale è diminuito sensibilmente.

Oggi grazie al CNS-IPI insieme alla definizione del maggior rischio di coinvolgimento del SNC per il tipo GCB o nel caso del Double Hit, si riesce a predire una stima del rischio di coinvolgimento del SNC. La stima del rischio permette di delineare i pazienti che necessitano della profilassi per le recidive al SNC. Attualmente lo schema di profilassi più utilizzato prevede la somministrazione di Metotrexate intratecale al dosaggio di 12 mg per settimana, per quattro volte al giorno 1 dei primi quattro cicli di terapia. L'utilizzo

del metotrexate a dosi intermedio-alte per via sistemica può essere una buona opzione per i soggetti con buon performance status.

2.8 Ricaduta e terapia di salvataggio

Nel DLBCL la percentuale di pazienti con malattia refrattaria al trattamento ovvero con una recidiva o un'assenza di risposta entro tre mesi dalla terapia di prima linea, si attesta intorno al 10-15%. Invece sono circa il 25% i pazienti che vanno incontro ad una recidiva dopo una prima risposta alla terapia di I linea. Questi soggetti con DLBCL recidivo/refrattario alla terapia di prima linea vanno avviati a chemioterapia di salvataggio e successivamente, se la malattia si dimostra chemiosensibile, al trapianto autologo di cellule staminali [74] [1].

I fattori prognostici più importanti nei pazienti con DLBCL recidivo/refrattario sono la chemioresistenza alla terapia di prima linea e la durata della risposta, la risposta alla terapia di salvataggio, l'IPI alla recidiva o progressione, il precedente trattamento con rituximab, lo stato della malattia al momento del trapianto, valutato tramite PET.

Lo studio PARMA e lo studio CORAL hanno valutato l'utilizzo degli schemi R-DHAP (rituximab-desametasone-citarabina-cisplatino), R-ICE (rituximab-ifosfamide, carboplatino-etoposide) e Chemioterapia ad Alte Dosi dimostrando l'efficacia di questi approcci. Dallo studio CORAL si è potuto evidenziare il ruolo del rituximab usato in prima linea come fattore prognostico negativo per i pazienti con recidiva, questa evidenza come i farmaci di prima linea possano verosimilmente selezionare delle recidive più aggressive, sottolineando la vitale importanza di ottenere a remissione completa con a prima linea di trattamento.

Secondo le linee guida internazionali i pazienti che non ottengono una Remissione Completa (RC) dopo la terapia di I linea e hanno una età inferiore a 65 anni dovrebbero essere avviati a terapia di salvataggio secondo schema R-DHAP/R-ICE/HDS. I pazienti con un buon performance status che rispondono a tale regime di II linea dovrebbero essere avviati a trapianto autologo di cellule staminali. I pazienti che purtroppo invece si mostrano chemio resistenti dovrebbero essere arruolati in studi clinici o terapie sperimentali e trapianto allogenico di cellule staminali. Per i pazienti non candidabili a terapia ad alte dosi di salvataggio, inclusi i pazienti di età maggiore ai 70 anni, i potenziali trattamenti comprendono terapia con agente singolo, la scelta di un trattamento palliativo,

e l'inclusione all'interno di trial clinici controllati. Sono ben tollerati inoltre regimi di combinazione che includono R-gemox [75], la bendamustina con o senza rituximab [76], il pixantrone [77] e CVP +/- rituximab. La lenalidomide sembra avere un importante ruolo nei pazienti del sottogruppo non-GBC con o senza rituximab [78].

2.8.1 Anticorpi Bispecifici e Anticorpi farmaco-coniugati

Importanti studi stanno cercando di evidenziare nuove strategie terapeutiche per i pazienti con DBLCL ricaduto refrattario. Nell'ultimo congresso dell'American Society of Hematology, i numerosi studi riguardanti l'uso degli anticorpi bispecifici anti CD20 e anti-CD3 hanno evidenziato come essi rappresentino una delle strategie innovative più promettenti. Gli anticorpi bispecifici sono anticorpi monoclonali la cui struttura consente loro di interagire da un lato con l'antigene bersaglio espresso dalle cellule tumorali, e contemporaneamente con l'antigene espresso dai linfociti T, in questo caso particolare l'antigene CD30. Ciò consente di stabilire una sinapsi immunitaria tra le cellule tumorali bersaglio della terapia e i linfociti T che vengono successivamente attivati per esercitare effetti citotossici sulle cellule bersaglio.

Tra questi è importante citare i dati molto incoraggianti che provengono dallo studio di fase I/II NP30179, che ha valutato il Glofitamab nel linfoma non-Hodgkin refrattario recidivato o fortemente pretrattato. I risultati dello studio clinico hanno mostrato che, dopo un follow-up mediano di 6,3 mesi, in pazienti con una mediana di 3 linee di terapia, Glofitamab ha ottenuto una risposta metabolica completa nel 71,4% dei pazienti con linfoma [79].

Epcoritamab, un altro anticorpo bispecifico, somministrato per via sottocutanea, come agente singolo ha mostrato attività antitumorale nei pazienti ampiamente pretrattati con linfoma diffuso a grandi cellule B recidivato o refrattario. Tassi di risposta clinicamente rilevanti sono stati osservati a dosi di 48 mg (88% di risposta complessiva, 38% di risposta completa) e 48-60 mg (91% di risposta complessiva, 55% di risposta completa) [80].

Altri risultati importanti derivano da studi clinici condotti con lo scopo di vagliare l'efficacia del Polatuzumab vedotin un anticorpo farmaco-coniugato (ADC) anti-CD79b. L'efficacia di polatuzumab vedotin in combinazione con bendamustina e rituximab nei pazienti con DLBCL recidivo/refrattario non candidabili al trapianto con cellule staminali è stata dimostrata nello studio di fase Ib/II GO29365. I risultati attestano una riduzione

del rischio di morte del 58% nei pazienti trattati con polatuzumab vedotin in associazione a bendamustina e rituximab rispetto al trattamento con bendamustina e rituximab (BR) e una sopravvivenza globale (OS) mediana oltre 2,5 volte superiore. I dati della coorte di estensione composta da ulteriori 106 pazienti trattati con polatuzumab vedotin in combinazione a BR, rafforzano il profilo di efficacia e sicurezza della terapia in una popolazione più ampia di pazienti, dimostrando maggior beneficio nella seconda linea di trattamento, una sopravvivenza globale mediana di 18.4 mesi, una sopravvivenza libera dalla progressione mediana di 11.5 mesi [81]

Inoltre, è in corso uno studio di fase III, POLARIX (NCT03274492) che valuta la sostituzione di polatuzumab vedotin con vincristina nella R-CHOP per pazienti con DLBCL non trattati, quindi come terapia di I linea [82].

In conclusione, ad oggi non esistono evidenze definitive per redigere raccomandazioni per la scelta terapeutica di questa fase della malattia, anche se dagli studi sopracitati sono emersi dati molto incoraggianti; perciò, la scelta del programma terapeutico deve essere basata sulla valutazione del singolo paziente optando, quando possibile, per l'arruolamento in uno studio clinico controllato.

Infine, negli ultimi anni, la terapia con CAR-T cell si è imposta come la migliore possibilità per i pazienti con DLBCL refrattario.

2.9 CAR-T Cell

È noto che pazienti con DLBCL ricaduto/refrattario abbiano urgente bisogno di nuove e più efficaci terapie. Infatti, quest'ultimi hanno una prognosi particolarmente infausta, con una sopravvivenza globale mediana (OS) di soli 6 mesi [83].

Le CAR-T cell, dall' acronimo inglese Chimeric Antigen Receptor T-cell, rappresentano una tecnica di immunoterapia avanzata che, agendo direttamente sul sistema immunitario del paziente, lo rendono capace di riconoscere e distruggere le cellule tumorali.

Può essere considerata una terapia genica in quanto consiste nella inserzione di materiale genetico all'interno delle cellule dell'organismo umano, i Linfociti T del paziente vengono raccolti mediante leucaferesi, geneticamente modificati ovvero "ingegnerizzati" in laboratorio e reinfusi nel paziente per attivare la risposta immunitaria contro la malattia. Pertanto, le cellule CAR-T sono linfociti T geneticamente modificati che esprimono recettori chimerici (CAR) sulle membrane antigene-specifiche del tumore. Dopo il

riconoscimento dell'antigene in modo indipendente dall'MHC, i linfociti chimerici vengono attivati e dirigono la loro attività citotossica contro le cellule bersaglio.

Il principale antigene bersaglio studiato nel DLBCL è l'antigene di linea B CD19.

Dopo la raccolta per aferesi delle cellule T del paziente sono necessarie circa tre o quattro settimane per produrre le CAR T cells. Intanto i pazienti sono candidati a ricevere o meno una chemioterapia detta ponte, a seconda dell'attesa per ricevere le CAR T, per controllare momentaneamente l'espansione del DLBCL. Prima dell'infusione delle cellule CAR T, i pazienti ricevono una chemioterapia linfodepletiva che ha dimostrato di promuovere la proliferazione e l'espansione del prodotto delle cellule T e di prevenire una risposta immunitaria diretta contro le cellule CAR T [84].

La terapia con CART è ad oggi approvata per il trattamento della Leucemia Linfoblastica Acuta B, per il DLBCL e il Linfoma Primitivo del Mediastino refrattari dopo 2 linee di terapia sistemica [85].

Attualmente ci sono tre farmaci CAR T-cells anti-CD19 approvati dalla FDA per il DLBCL recidivato/refrattario: axicabtagene ciloleucel (axi-cel), tisagenlecleucel (tisa-cel), e lisocabtagene maraleucel (liso-cel). Questi ultimi sono stati approvati nel contesto di tre studi clinici differenti e separati, i quali sono diversi per il disegno di studio, per le tecniche di produzione e per gli effetti collaterali [86] [87] [88].

Per di più, Axi-cel, tisa-cel e liso-cel non sono stati confrontati tra di loro in quanto tutti e tre hanno dimostrato di condurre a remissioni durature in una percentuale significativa di pazienti trattati. Pertanto, la scelta del prodotto per ogni paziente viene fatta tenendo in considerazione più criteri come: la disponibilità, i tempi di lavorazione e i profili degli effetti collaterali.

Nello specifico, Axi-cel (Yescarta) è stato il primo farmaco CAR-T anti-CD19 approvato dalla prima nel 2017 dalla FDA e successivamente dall'Agenzia europea per i medicinali nel 2018 per il DLBCL, con lo studio ZUMA-1 che ha ottenuto un tasso di risposta globale dell'83%, quello di risposta completa (RC) del 58% con una mediana di tempo alla risposta di un mese.

Tisa-cel (Kymriah) è stato il secondo farmaco anti-CD19 CAR T ad essere approvato dalla FDA e dall'EMA 2018 nel DLBCL grazie allo studio clinico JULIET. Lo studio JULIET a differenza dello studio ZUMA-1, prevedeva l'impiego di trattamenti ponte,

mostrando un tasso di risposta globale dei pazienti che hanno effettivamente ricevuto le cellule CAR-T è stato del 52%, con un 40% di risposta completa.

Infine, Liso-cel (Breyanzi) è il terzo importante prodotto anti-CD19 CAR T per il DLBCL recidivato/refrattario ed è stato approvato dalla FDA nel 2021 grazie allo studio clinico TRASCEND con tassi di risposta globale e completa sono stati rispettivamente del 73% e 53% [86].

In tutti gli studi clinici con CAR-T si sono evidenziate specifiche tossicità, quali le più frequenti sono la neurotossicità e la sindrome da rilascio citochinico e le meno frequenti citopenie, aplasia delle cellule B e ipogammaglobulinemia. Quest'ultime meno frequenti sono verosimilmente secondarie alla chemioterapia linfodepletante anche se si sono verificate nei pazienti in assenza di condizionamento quindi da correlare a una soppressione infiammatoria del midollo mediata dalle citochine [89].

Tuttavia, gli effetti collaterali acuti, in particolare la sindrome da rilascio citochinico e la neurotossicità, risultano particolarmente gravi solo in una minoranza di pazienti e diversi studi clinici stanno elaborando delle metodiche predittive per una gestione ottimale dei pazienti che sviluppano tali eventi avversi.

Sebbene siano stati fatti numerosi passi avanti restano ancora da chiarire importanti dubbi come le tempistiche di somministrazione delle CAR T, l'eventuale combinazione di CAR T con altri agenti e anche la definizione e l'ampliamento dell'eleggibilità a questo trattamento.

Per quanto riguarda le tempistiche di somministrazione, potrebbe esserci una popolazione di pazienti ad alto rischio di ricaduta che beneficia di una somministrazione più precoce di cellule CAR T, quindi come terapia di seconda linea. ZUMA-12 è uno studio di fase 2, a braccio singolo che utilizza axi-cel in pazienti DLBCL ad alto rischio che hanno una PET intermedia positiva dopo 2 cicli di terapia standard di I linea [90]. In più sono in corso altri tre studi clinici multicentrici randomizzati che confrontano la terapia con cellule CAR T con l'ASCT alla prima recidiva nel DLBCL: ZUMA-7 (NCT03391466) [91], BELINDA (NCT03570892) [92] e TRANSFORM (NCT03575351).

Per quanto riguarda l'efficacia della combinazione delle CAR-T con agenti immunomodulanti sono in corso altri tre studi: ZUMA-6 (atezolizumab dopo axi-cel nel DLBCL refrattario) [93]; PORTIA (pembrolizumab dopo tisa-cel nel DLBCL

recidivato/refrattario [94]; PLATFORM (NCT03310619) (durvalumab dopo liso-cel nel NHL a cellule B aggressive recidivato/refrattario).

In più studi preclinici si è evidenziato come ibrutinib migliori la funzione delle cellule CAR T, la qualità e le risposte antitumorali [95], suggerendo così che il BTKi in combinazione con CAR T potrebbe portare a risultati migliori.

Le cellule CAR T hanno aperto la strada a nuove opzioni terapeutiche per i pazienti con linfomi a grandi cellule B recidivati/refrattari.

Ad oggi, grazie a diversi studi che hanno contribuito notevolmente a sperimentare l'efficacia e la sicurezza della terapia con CAR-T cells e ad altrettanti studi in corso, tale trattamento rappresenta lo standard in diversi paesi per i pazienti affetti da DLBCL refrattario a due linee precedenti di terapia. I vantaggi delle CAR-T cell sono sicuramente quello di offrire una possibilità terapeutica efficace e con risposte durature per pazienti a prognosi altrimenti infausta.

3 Follow up

Il follow-up inizia dopo la valutazione della risposta al termine del percorso terapeutico. Le raccomandazioni per il follow-up sono delineate in base all'istologia, alla risposta al trattamento e all'eventuale arruolamento del paziente in un trial clinico controllato.

La natura del follow-up è variabile e può includere la visita routinaria con anamnesi ed esame fisico, esami del sangue e una scansione di sorveglianza di routine sotto forma di TC o PET-TC.

La probabilità di ricaduta nel DLBCL diminuisce nel tempo, perciò la anche frequenza del follow-up dovrebbe diminuire: ogni 3 mesi nei primi due anni, ogni 6 mesi per i successivi tre anni e annualmente dopo il quinto anno.

Nei pazienti in remissione dopo il trattamento con intento curativo lo scopo del follow-up durante i primi 2-3 anni è l'individuazione precoce della ricaduta per un ritrattamento tempestivo per migliorare le prospettive di sopravvivenza.

Successivamente il follow-up è volto all'individuazione delle tossicità causate dalla terapia.

Ad oggi non ci sono studi prospettici randomizzati che dimostrino che l'uso sistematico di esami radiologici, nei pazienti in remissione completa ed in assenza di sintomi specifici migliori la sopravvivenza. Infatti, solitamente le recidive vengono individuate per l'alterazione degli esami di laboratorio e per la comparsa di sintomi [96].

Per i pazienti arruolati in sperimentazioni cliniche invece, per il calcolo degli endpoint specifici dello studio è necessario eseguire una TC o PET ad intervalli prestabiliti.

In ogni caso, sia che si tratti di pratica clinica sia di sperimentazioni, si dovrebbe tentare di limitare il più possibile l'esposizione del paziente a radiazioni non necessarie.

Non vi è inoltre indicazione all'utilizzo della PET nel corso del follow-up.

In uno studio del 2003 su 117 pazienti in remissione completa solo il 5.7% dei ricaduti è stato individuato con una TC (eseguita a 3 e 12 mesi dal termine della chemioterapia) in assenza di altri sintomi specifici, mentre nell'86% dei casi la recidiva era riscontrata in seguito alla comparsa di segni e/o sintomi [97].

In uno studio nel quale il follow-up dei pazienti comprendeva l'uso periodico della TC (ogni 6 mesi per i primi 2 anni) una diagnosi precoce di recidiva riscontrata mediante imaging non hanno mostrato un vantaggio nell'outcome dei pazienti.

I dati di uno studio retrospettivo multicentrico condotto su pazienti con NHL aggressivi e HL dimostrano, nei pazienti affetti da linfoma diffuso a grandi cellule B, che nel 41% dei casi la recidiva è riconosciuta per la comparsa di sintomi e per anomalie agli esami di laboratorio e solo nel 26% dei casi la TC aveva anticipato la diagnosi di recidiva con un modesto beneficio sulla sopravvivenza a scapito di un elevato numero di indagini radiologiche eseguite [98].

In base a quanto evidenziato, nei pazienti con DLBCL in remissione completa dopo terapia di prima o anche seconda linea devono essere seguiti:

- routine ematochimici, LDH ed esame clinico ogni 3 mesi per i primi 2 anni, poi ogni 6 mesi per i 3 anni successivi, poi annualmente.
- la TC può essere eseguita a 6, 12 e 24 mesi dal termine del trattamento.
- Nel caso sussista un dubbio clinico e/o radiologico di ricaduta di malattia è raccomandata la biopsia diagnostica.

3.1 Tossicità

La chemioterapia e la radioterapia adottate nella cura del DLBCL possono causare problemi fisici molto tempo dopo la fine del trattamento [99].

Danni cardiaci, neuropatia periferica, deterioramento cognitivo, infertilità, stanchezza cronica, tumori secondari e incapacità di svolgere le attività quotidiane sono alcuni degli effetti collaterali tardivi che possono verificarsi dopo il trattamento del linfoma.

I pazienti possono anche avere effetti psicologici ed emotivi a lungo termine dopo il trattamento del DLBCL, come depressione, ansia e persino disturbo da stress post-traumatico, che coinvolgono anche le famiglie e chi si prende cura di loro.

Gli effetti tardivi della chemioterapia sono molto variabili e dipendono sia dai farmaci utilizzati (tipo e dose), sia dalla sede, dalla dose e dalla modalità di erogazione della radioterapia.

Complessivamente, quasi la metà dei pazienti con NHL aggressivo ha sviluppato eventi individuati come complicazioni non neoplastiche tardive. La terapia di salvataggio, il fumo, l'età > 50 anni e la RT in campo sono importanti fattori di rischio [100].

La mortalità per recidiva e/o progressione di malattia tende a diminuire nel tempo, quella derivata dagli effetti tardivi delle terapie oncologiche tende invece ad aumentare.

Ciò suggerisce che gli effetti tardivi possono persistere per molti anni e che è necessario, durante il follow-up, porre l'attenzione su questi effetti tardivi con esami mirati.

Sarebbe auspicabile una collaborazione multidisciplinare che coinvolga l'ematologo, il medico di medicina generale e tutti gli specialisti, quali cardiologo, neurologo, endocrinologo. Gli effetti tardivi più comuni riguardano l'apparato cardiovascolare, il sistema endocrino, l'apparato respiratorio, il sistema gonadico e la comparsa di seconde neoplasie.

3.1.1 Tossicità Cardiologica

Gli eventi cardiovascolari tardivi continuano a essere una delle cause più comuni di morbilità e mortalità nei lunghi sopravvissuti al DLBCL [101]. La diagnosi precoce e il monitoraggio della riduzione di EF (Ejection Fraction) e della CHD (Coronary Heart Disease) possono migliorare la prognosi e la qualità della vita dei pazienti. Parallelamente, la prevenzione terziaria di questi eventi gioca un ruolo fondamentale e può essere raggiunta regolando i fattori di rischio cardiovascolare e lo stile di vita.

Tuttavia, ad oggi, sono necessari ulteriori studi per definire uno score predittivo di tossicità cardiaca e non sono ancora presenti indicazioni univoche per le modalità e le tempistiche del follow up [102]; in particolare i pazienti trattati con dosi di doxorubicina >250 mg/m² e radioterapia mediastinica >30 Gy, dovrebbero essere considerati ad alto rischio di CHF (Congestive Heart Failure). In più l'età al trattamento <25 anni e età>60 anni, con fattori di rischio CV generici devono essere presi in considerazione come ulteriori fattori di rischio [103]. I restanti pazienti potrebbero essere considerati a rischio standard per CVD. Come sottolineato precedentemente pur non esistendo linee guida precise sulle tempistiche e modalità del follow-up cardiologico i ricercatori della Fondazione Italiana Linfomi concordano per l'esecuzione di un ECG più studio ecocardiografico 2D-STE a intervalli di 5-10 anni nei pazienti a rischio standard [104] mentre ogni 1-3 anni per i pazienti ad alto rischio cardiovascolare.

Nella pratica clinica ancora oggi il follow-up cardiologico viene eseguito in modo eterogeneo nei vari centri mediante visita cardiologica con ecocardiogramma, dosaggio di troponine I e BNP, controllo dei fattori di rischio vascolare, con tempistiche variabili in base alle caratteristiche del paziente e dai chemioterapici utilizzati.

Una collaborazione multidisciplinare tra ematologi, radioterapisti e cardiologi costituisce la base per futuri progetti di ricerca clinica volti a colmare le lacune esistenti e a rispondere a domande cliniche irrisolte.

3.1.2 Tossicità Neurologica

La tossicità neurologica risulta essere molto complessa da valutare, può essere variabile e pertanto comprendere svariati sintomi: camptocormia, deterioramento cognitivo, affaticamento, ansia, depressione e le più studiate neuropatia periferica (PN) e “fatigue”. Anche se molti studi hanno evidenziato una maggiore incidenza di neuropatia periferica, deterioramento cognitivo, ansia e depressione nei sopravvissuti a lungo termine al DLBCL, non si possono avere delle conclusioni definitive poiché i molteplici studi disponibili mostrano dei limiti metodologici degli studi analizzati [105].

Nonostante questo, i ricercatori della Fondazione Italiana Linfomi sono concordi sul fatto che una individuazione precoce di tutti i sintomi in ambito neuropsicologico e la loro regolare valutazione è fondamentale per la gestione e il miglioramento della qualità di vita dopo il DLBCL.

Si auspica che gli studi futuri in questo ambito possano delineare precise strategie di follow-up per la tossicità neurologica.

3.1.3 Tossicità Polmonare

Nei lungo sopravvissuti al DLBCL, i late effects riguardanti l'apparato respiratorio sono poco frequenti. Questi ultimi riguardano soprattutto il danno polmonare fibrosante post-radioterapia toracica.

Le pneumopatie post attiniche iniziano classicamente con un danno infiammatorio a cui segue una fase tardiva fibrosante.

Nella pratica clinica questo danno può essere evidenziato in primis con la riduzione della capacità polmonare totale (TLC), usato comunemente come indice di patologia restrittiva, e successivamente con la riduzione della diffusione del monossido di carbonio (DLCO), indice di fibrosi interstiziale.

Pertanto, si raccomanda di eseguire almeno un esame spirometrico a 5 anni dall'ultima radioterapia e di programmare un eventuale follow-up in base al risultato della stessa [106].

3.1.4 Prevenzione delle seconde neoplasie

Nel DLBCL, l'incidenza di seconde neoplasie risulta essere maggiore nei pazienti trattati con i regimi più intensivi rispetto a quelli trattati con R-CHOP. Un ulteriore aumento del rischio di seconde neoplasie si ha nei pazienti sottoposti a chemioterapia di salvataggio e a trapianto autologo. Tuttavia, oggi, grazie ad un approccio modernizzato sia alla radioterapia che alla chemioterapia i tassi di seconde neoplasie sembrano essere in diminuzione. In quest'ottica risulta importante un attento follow-up volto a individuare precocemente queste neoplasie.

Le strategie di screening e monitoraggio devono essere personalizzate in base al rischio individuale, a seconda della dose di radioterapia, del tipo di regime chemioterapico, dell'età al momento della terapia e di ulteriori fattori di rischio quali storia familiare, sesso, e stile di vita [107].

Tra i tumori solidi secondari i più frequenti sono: le neoplasie mammarie, per cui è fondamentale indirizzare le pazienti a programmi di screening dedicati, soprattutto nelle donne trattate con radioterapia >10 Gy; le neoplasie polmonari da monitorare con low-dose chest computed tomography annuale al torace per i fumatori trattati con radioterapia o agenti alchilanti; le neoplasie cutanee, per cui è necessario eseguire una visita dermatologica annuale ponendo particolare attenzione alle aree irradiate; le neoplasie tiroidee, per cui è necessario eseguire un'ecografia del collo per i pazienti trattati con Radioterapia del collo; il cancro colon-rettale, per cui si raccomanda la stretta aderenza alle procedure di screening del Carcinoma colon-retto consigliate per la popolazione generale soprattutto nei pazienti trattati con RT addominale (≥ 20 Gy), a partire dall'età di 30 anni o 5 anni dopo la RT.

L'incidenza di Leucemie/Mielodisplasie successive alle chemioterapie convenzionali (t-MDS/AML), 20 anni dopo la fine della terapia, varia dallo 0.8% al 6.3%. Esistono tre cause principali riconosciute rispettivamente nell'utilizzo di agenti alchilanti, delle radiazioni e degli inibitori della topoisomerasi. Inoltre, la comparsa di t-MDS/AML rappresenta la prima causa di mortalità non recidiva dopo il trapianto autologo. Lo screening di primo livello consiste nel controllo dell'emocromo annuale [108].

3.1.5 Tossicità Sistema Endocrino

Le tossicità più frequenti nell'ambito del sistema endocrino riguardano: la disfunzione tiroidea, la menopausa precoce, la riduzione della fertilità maschile e femminile, la riduzione della densità ossea e la sindrome metabolica.

Per quanto riguarda la tiroide, l'ipotiroidismo sembra essere la manifestazione più frequente, la maggior parte degli studi riporta una prevalenza media del 30%, e generalmente si verifica entro 10 anni dal trattamento radioterapico sul collo e sulle strutture circostanti [109].

Nonostante l'uso della moderna radioterapia, caratterizzata da una progressiva riduzione della dose e del volume delle radiazioni, come la RT a campo coinvolto (IFRT) e la RT a nodo coinvolto/sito coinvolto (INRT/ISRT) [110], questa si dimostra come il principale fattore di rischio per l'ipotiroidismo. Il ruolo della chemioterapia, invece, deve ancora essere chiarito.

Evidenziato ciò bisogna considerare i pazienti che hanno eseguito la radioterapia come pazienti ad alto rischio di disfunzione tiroidea e monitorarli mediante misurazioni annuali dei livelli sierici di TSH, FT3 e FT4 ed eventuale ecografia tiroidea.

La tossicità gonadica dopo la terapia del DLBCL comporta principalmente una riduzione delle funzioni endocrine che sostengono la produzione di ormoni sessuali (testosterone ed estrogeni) e delle cellule germinali (ovuli e sperma) [111].

Per quanto riguarda la gestione della tossicità gonadica bisogna avere un approccio differenziato per la popolazione maschile e femminile:

- Maschi: I pazienti sottoposti a chemioterapia e/o irradiazione gonadica sono a maggior rischio di insufficienza testicolare. Questo non solo comporta disfunzioni sessuali e riproduttive ma anche un rischio aumentato di osteoporosi e di sindrome metabolica. Per questo è importante da un lato proporre a tutti i soggetti maschi la criopreservazione del liquido seminale al momento della diagnosi e dall'altro dopo la fine delle terapie eseguire i controlli ormonali e le opportune valutazioni andrologiche. Di conseguenza, gli esami del sangue di LH, FSH, testosterone totale e SHBG dovrebbero essere offerti ai sopravvissuti maschi al linfoma come parte del loro regolare follow-up per rilevare eventuali segni di carenza di androgeni [112].

- Femmine: I trattamenti maggiormente responsabili di tossicità ovarica tardiva sono i farmaci alchilanti e la radioterapia addominale (peraltro oggi raramente impiegata). La radioterapia e la chemioterapia danneggiano i follicoli ovarici e ne accelerano il naturale declino. I tassi di amenorrea sono più alti nelle donne che hanno ricevuto R-CHOP piuttosto che ABVD, inoltre l'età avanzata al momento della diagnosi si mostra come uno dei principali fattori di rischio per l'amenorrea. Sembrerebbe che l'utilizzo di contraccettivi orali e analoghi del GH durante la chemioterapia possa avere un ruolo nella ripresa dell'attività mestruale dopo la terapia [113]. Le pazienti con normale funzionalità gonadica, sia all'inizio che eventualmente alla fine del trattamento, le quali desiderano procrastinare il concepimento possono essere indirizzate al programma criopreservazione del tessuto ovarico. Gli esami del sangue ormonali con misurazione di LH, FSH ed estradiolo sono indicati nel follow-up per l'individuazione di insufficienza follicolare e amenorrea.

La sindrome metabolica sembra essere un'ulteriore complicanza metabolica a lungo termine nei pazienti guariti del DLBCL. Nello specifico sono considerati a rischio di sindrome metabolica i pazienti trattati con chemioterapia che include steroidi ad alte dosi. In questi soggetti è importante includere nel follow-up il monitoraggio nutrizionale e soprattutto correggere lo stile di vita [109].

Infine, si considerano ad alto rischio di comparsa di grave osteoporosi e fratture i pazienti con età > 60 anni che hanno ricevuto steroidi ad alte dosi come R-DHAP (desametasone-citarabina-cisplatino ad alte dosi), ASCT e radioterapia. In questi pazienti si raccomanda di eseguire la densitometria ossea (DXA) od eventualmente una tomografia computerizzata che può fornire informazioni dirette, con lo scopo di identificare e trattare precocemente eventuali demineralizzazioni [109]. Recentemente, durante la chemioterapia R-CHOP si è introdotta la vitamina D nei pazienti carenti, tuttavia la sua efficacia a lungo termine nella prevenzione del danno osseo e delle fratture è attualmente sconosciuta.

4 Parte sperimentale

4.1 Scopo dello studio

L'intento di questo studio è revisionare tutta la casistica dei Linfomi B a Grandi Cellule Ricaduto/ Refrattario di un singolo centro, la Clinica di Ematologia di Ospedali Riuniti di Ancona, nel periodo 2008-2021. L'obiettivo dello studio è l'analisi retrospettiva delle caratteristiche della popolazione, delle scelte terapeutiche e dell'outcome dei pazienti.

4.2 Materiali e metodi

Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti con diagnosi di Linfoma Non Hodgkin B a Grandi Cellule dal settembre 2008 al novembre 2021, senza limiti di età. Sono stati esclusi i pazienti affetti da DLBCL primitivo cerebrale per le caratteristiche peculiari di tale patologia che richiede un approccio diagnostico e terapeutico specifico e poco paragonabile con i restanti sottotipi del DLBCL. Sono stati invece mantenuti nel campione i Linfomi B a Grandi Cellule con coinvolgimento cerebrale e sistemico.

Tutte le procedure dello studio sono conformi agli standard etici sulla sperimentazione e in linea con la Dichiarazione di Helsinki del 2013.

Le informazioni relative all'anamnesi, la diagnosi e la storia clinica dei pazienti nonché i follow-up sono state ricavate dalle cartelle cliniche e dal database dell'Azienda Ospedaliera Universitaria -Ospedali Riuniti di Ancona.

I pazienti sono stati stratificati in base allo score di rischio R-IPI. Lo stadio della malattia è stato definito secondo i criteri di Ann Arbor. La Risposta alla terapia è stata valutata secondo i criteri di Cheson.

I dati sono stati analizzati con il software GraphPad Prism 9 (Version 9.3.1 (350), December 7, 2021). Le variabili continue distribuite secondo gaussiana sono state riportate come media \pm deviazione standard altrimenti come mediana e range interquartile. Le variabili nominali sono state descritte come frequenza percentuale. Il test del chi-quadro è stato utilizzato per analizzare le differenze tra le variabili categoriche. Per l'analisi della sopravvivenza è stata utilizzata l'analisi uni variata di Kaplan Meier, log rank test per la comparazione tra i gruppi e la mediana di follow up è stata ricavata tramite il metodo del Reverse Kaplan Meier.

4.3 Risultati

4.3.1 Caratteristiche generali popolazione iniziale

Il campione iniziale dello studio era costituito da 304 pazienti, 149 femmine (49 %) e 155 maschi (51%), cui era stato diagnosticato un Linfoma Non Hodgkin B diffuso a Grandi cellule nel periodo dal 2008 al 2021. L'età media era di 63.6 ($\pm 16,3$); mediana 67 (minimo 17, massimo 93). Il 92,4% dei pazienti aveva un R-IPI ≥ 1 alla diagnosi.

4.3.2 Descrittiva popolazione oggetto dello studio

Dopo avere escluso i pazienti in remissione completa dopo terapia di prima linea senza alcuna ricaduta, si sono considerati 89 pazienti i quali rappresentano la popolazione oggetto dello studio ovvero pazienti con DLBCL ricaduto/refrattario.

La popolazione oggetto di studio è suddivisa in 38 donne e 51 uomini con un'età mediana di 69 anni (59-78).

Per quanto riguarda lo stadio di malattia il 15,7% dei soggetti si presentava con uno stadio da IA a IIB; l'84,3% si presentava con uno stadio avanzato definito a partire dal III o superiore (Tabella 5). Relativamente ai sintomi B, 26 pazienti pari al 29% della popolazione si presentava sintomatico all'esordio.

Per quanto riguarda la localizzazione della malattia all'esordio:

- Il 17% presentava un interessamento splenico.
- Il 61% presentava una localizzazione extranodale.
- Il 10% presentava una massa Bulky.

Le caratteristiche prognostiche del campione secondo lo score prognostico R-IPI documentavano il 12,3% dei pazienti con IPI pari o inferiore a 1, di cui 2 pazienti con R-IPI = 0 (2%) e 9 pazienti R- IPI = 1 (10%); 39 pazienti avevano un R-IPI=1(44%); 34 pazienti avevano R-IPI=3 (38%); infine, 5 pazienti si presentavano con un R-IPI=4 al momento della diagnosi (6%) (tabella 6).

Le caratteristiche generali della popolazione oggetto dello studio sono riportate in tabella 7.

Tabella 5. Stadio della malattia alla diagnosi nella popolazione oggetto dello studio

	Frequenza	Percentuale	Percentuale cumulativa
IB	1	1%	1%
IIA	6	7%	8%
IIAE	4	5%	13%
IIAS	1	1%	14%
IIB	2	2%	16%
IIIA	15	17%	33%
IIIAE	1	1%	34%
IIIAES	2	2%	36%
IIIAS	3	3%	39%
IIIB	1	1%	40%
IIIBE	2	2%	42%
IVA	18	20%	62%
IVAE	12	14%	76%
IVAS	3	3%	79%
IVB	8	9%	88%
IVBE	5	6%	94%
IVBES	5	6%	100%
Totale	89	100%	

Tabella 6. R-IPI nella popolazione oggetto dello studio.

	Frequenza	Percentuale	Percentuale cumulativa
0	2	2%	2%
1	9	10%	12%
2	39	44%	56%
3	34	38%	94%
4	5	6%	100%

Tabella 7. Caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti all'inizio del trattamento della popolazione oggetto dello studio

Caratteristiche	Valori
SESSO n (%)	
Maschio	51 (57%)
Femmina	38 (43%)
ETÀ mediana (IQ)	69 (59-78)
ULTRASESSANTENNI n(%)	66 (74%)
ULTRAOTTANTENNI n(%)	17 (19%)
STADIO n(%)	
I	1(1%)
II	13(15%)
III	23(26%)
IV	52(52%)
SINTOMI B n(%)	26 (29%)
BULKY n(%)	9 (10%)
COINVOLGIMENTO SPLENICO	15 (17%)
VALORE LDH MEDIO (±DS)	541 (± 542)
COINVOLGIMENTO EXTRANODALE n(%)	54 (61%)

4.3.3 Istologia

Nella popolazione oggetto dello studio sono state analizzate le caratteristiche molecolari/immunoistochimiche e citogenetiche. Tali informazioni sono tuttavia molto limitate nei pazienti esorditi prima del 2015, data la precedente indisponibilità e inaccessibilità di determinate metodiche e strumenti per l'immunoistochimica e per le indagini citogenetiche (tabella 8).

Evidenziati tali limiti i DLBCL High Grade erano così rappresentati: 7 pazienti (7,9%) erano affetti da DLBCL Double Expressor (DLBCL DE); 2 (2,3%) pazienti avevano diagnosi di DLBCL Double Hit/ Triple Hit (DLBCL DH/TH).

Per quanto riguarda la Cell Of Origin (COO), 15 pazienti (16,9 %) erano DLBCL Germinal Centre B-cell like (DLBCL GCB) di cui 3 erano DLBCL GCB-DE e 27 pazienti (30,3%) erano DLBCL non Germinal Centre B-cell like/Activated B-Cell (DLBCL nonGCB/ABC) di cui 4 pazienti erano DLBCL non GCB/ABC DE.

Viste le precedenti considerazioni è importante sottolineare come i dati disponibili potrebbero essere sottostimati per almeno tre motivazioni principali:

- 1) il pannello immunoistochimico utilizzato per la diagnosi è scelto in modo operatore-dipendente;
- 2) la quantità del campione non sempre consente di eseguire indagini approfondite;
- 3) non è stato possibile revisionare la totalità dei blocchetti istologici.

Tabella 8. Caratteristiche istologiche della popolazione oggetto dello studio

	Frequenza	Percentuale	Percentuale cumulativa
DLBCL	45	51%	51%
DLBCL DH/TH	2	2%	53%
DLBCL GCB	12	13%	66%
DLBCL GCB DE	3	3%	69%
DLBCL nonGCB/ABC	23	26%	95%
DLBCL nonGCB/ABC DE	4	5%	100%

4.3.4 Terapia di prima linea

In tabella 9 sono riportati con integrità tutti i cicli chemioterapici utilizzati nella prima linea di trattamento nella popolazione oggetto di studio.

La scelta prevalente è rappresentata dai regimi CHOP-like. Infatti, nella pratica clinica il gold standard terapeutico per la prima linea di terapia è rappresentato dallo schema R-CHOP 21 per 6 cicli con 8 dosi di Rituximab, tale schema è stato utilizzato in 15 pazienti (16,9%).

Lo schema R-CHOP 14 (protocollo R-CHOP intensificato con cicli ripetuti ogni 14 giorni) è stato utilizzato in 14 pazienti (15,7%), tuttavia tale schema è stato oramai abbandonato viste le ampie pubblicazioni in letteratura che non hanno evidenziato alcun vantaggio in termini di risposta alla terapia bensì hanno evidenziato una maggiore tossicità ematologica.

Lo schema R-COMP 21, che si differenzia dal precedente per la sostituzione dell'antraciclina classica con quella liposomiale meno cardi tossica, è da considerare come terapia di prima scelta per pazienti con età maggiore dei 65 anni o nei pazienti cardiopatici e/o con importanti fattori di rischio cardiovascolare; in totale sono stati trattati con questo schema 36 pazienti (40,4%) e 1 paziente con schema R-COMP 14 (1,1%).

Il regime CHOP-like a dosaggio ridotto: R-mini-COMP 21 è da preferire per i pazienti molto anziani, candidabili ad un regime polichemioterapico, con malattia aggressiva; tale schema è stato utilizzato in 8 pazienti (9,0%), di cui 6 con età uguale o superiore agli 80 anni e due pazienti con età di 75 anni considerati non candidabili allo schema R-COMP 21 classico.

La profilassi del Sistema Nervoso Centrale (SNC) prevede la somministrazione intrarachide di Methotrexate, Citarabina (ARA-C) e Desametasone per 4 dosi totali a distanza di circa 21-28 giorni nei pazienti ad alto rischio di recidiva centrale, secondo CNS-IPI. È stata eseguita profilassi del SNC in 10 pazienti in associazione alla terapia con regimi CHOP-like i quali avevano localizzazioni considerate a rischio di recidiva centrale (testicolo, ovaio, tonsillare, massiccio facciale, surrene, paravertebrale, cute).

L'anticorpo monoclonale Obinutuzumab (GA101) è stato utilizzato al posto del Rituximab in associazione alla terapia secondo schema mini-COMP nell'ambito di un trial clinico (Protocollo FIL GAEL) per 2 pazienti anziani unfit (2,3%).

Lo schema CVP- Rituximab (R-CVP, Rituxmab-Ciclofosfamide-Vincristina-Prednisone) è stato utilizzato in 3 pazienti (3,4%).

La terapia secondo schema R-HDS (terapia ad alte dosi sequenziale seguita da trapianto autologo di cellule staminali) è stata utilizzata in un paziente (1,1%) nell'ambito di un trial clinico (GITIL).

I regimi di chemioterapia più intensivi sono stati utilizzati per malattie particolarmente aggressive tipo Burkitt-type o DLBCL cerebrale e sistemico e nei DH/TH e Double Expressor.

Il regime R-DA EPOCH (Etoposide-Prednsone-Vincristina-Cliclofosfamide-Doxorubicina-Rituximab) in 4 pazienti (4,5%) (3 dei quali erano double Hit), il regime Matrix in 2 pazienti (2,3%) e il Protocollo Magrath (2,3%) in 2 pazienti di cui uno con DLBCL non GCB e Double Expressor.

Tabella 9. Differenti regimi di trattamento utilizzati nella popolazione oggetto dello studio

	Frequenza	Percentuale	Percentuale cumulativa
R-CHOP 14+ 2RTX	14	15,7%	15,7%
R-CHOP 21+ 2RTX	13	14,6%	30,3%
R-CHOP 21+ 2RTX+ rachicentesi	2	2,2%	32,5%
R-COMP 14+ 2RTX	1	1,1%	33,6%
R-COMP 21+ 2RTX	29	32,6%	66,2%
R-COMP 21+ 2RTX+ rachicentesi	6	6,7%	72,9%
R-COMP 21+ 2RTX+ rachicentesi+ MTX	1	1,1%	74,0%
R-DAEPOCH	3	3,4%	77,4%
R-DAEPOCH + rachicentesi + MTX	1	1,1%	78,5%
R-HDS (MTX-ARAC HD)	1	1,1%	79,6%
R-miniCOMP21+ 2RTX	8	9,0%	88,6%
CVP-Rituximab	3	3,4%	92,0%
Matrix	2	2,3%	94,3%
GA101-mini-COMP21	2	2,3%	96,6%
Vincristina	1	1,1%	97,7%
Magrath	2	2,3%	100%

4.3.5 Risposta al trattamento

Nella casistica in esame hanno ottenuto una iniziale Remissione Completa (RC) complessivamente 30 pazienti (33,7 %), una Remissione Parziale (RP) 15 pazienti (16,9%) pazienti. Avevano malattia stabile (SD) al termine delle terapie 3 pazienti (3,3%) ed erano in progressione (PD) 41 pazienti (46%) (tabella 10).

La Risposta in relazione al regime di trattamento, alle caratteristiche prognostiche (R-IPI) e allo stadio è riportata in tabella 11.

Nello specifico hanno ottenuto una Remissione Completa 28 pazienti (36,8%) dei 76 trattati con regimi CHOP-like (R-CHOP 21/14, R-COMP21, R-miniCOMP, GA101-miniCOMP) e 1 (25,0%) dei 8 pazienti trattati con regimi Intensivi (R-DA-EPOCH, magrath, matrix).

Hanno ricevuto terapia secondo schema R-CHOP 14/21 in totale 29 pazienti, di questi hanno ottenuto una RC 9 pazienti (31,0%), una RP 7 pazienti (24,1%) una SD 1 pazienti (3,4%), e 12 pazienti (41,4%) erano in PD.

Sono stati trattati secondo schema R-COMP14/21 37 pazienti, di questi 18 (48,6%) hanno ottenuto una RC iniziale, 6 pazienti una RP (16,2%), 1 Paziente SD (2,7%) e 12 in PD (32,4%).

La terapia secondo schema R-miniCOMP è stata condotta in 8 pazienti prevalentemente di età superiore a 80 anni, vi era una minoranza di pazienti di età compresa fra 70 e 80 anni, ma considerati non candidabili allo schema R-COMP 21 classico. Di questi 1 era in SD (12,5%) e 7 in PD (87,5%).

Entrambi i 2 pazienti trattati con schema Ga101-mini-COMP hanno avuto una ricaduta precoce (PD) e sono deceduti.

Dei 3 pazienti trattati con CVP-R, preferito al regime R-CHOP per via delle numerose comorbidity, in 2 è stata ottenuta una RC (66,6%) e nell'altro una PD (33,3%).

I pazienti sottoposti a regimi intensivi, con lo schema R-DA EPOCH sono stati 4, di cui uno ha ottenuto una RC (25,0%), uno una RP (25,0%) e due una PD (50,0%).

Il paziente trattato secondo schema R-HDS era purtroppo in PD al termine della terapia e non è stato possibile procedere con il trapianto autologo in prima linea.

Tabella 10. Risposta al trattamento di I linea nella popolazione oggetto dello studio

	Frequenza	Percentuale	Percentuale cumulativa
PD	41	46,0%	46,0%
RC	30	33,7%	79,7%
RP	15	16,9%	96,6%
SD	3	3,4%	100%

Tabella 11. Risposta al trattamento di I linea in relazione al regime di trattamento, alle caratteristiche prognostiche (R-IPI) e allo stadio

	Risposta			
	RC	RP	SD	PD
Rituximab + CHOP (e CHOP like)	28 (36,8%)	13(17,1%)	3(3,9%)	32(42,1%)
Rituximab + altro	1 (25,0%)	0 (0,0%)	0(0,0%)	3 (75,0%)
regimi intensivi	1(12,5%)	2 (25,0%)	0 (0,0%)	5 (62,5%)
SCORE R-IPI				
0	2 (100%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
1	2 (22,2%)	4 (44,4%)	1 (11,1%)	2 (22,2%)
2	11(28,2%)	6 (15,4%)	0 (0,0%)	22 (56,1%)
3	12(35,3%)	5(14,7%)	2 (5,8%)	15(44,1%)
4	3 (60,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (40,0%)

STADIO				
I	1 (50,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1(50,0%)
II	6 (42,9%)	4 (28,6%)	1(7,1%)	3(21,40%)
III	9(42,9%)	1(4,8%)	1(4.8%)	10 (47.6%)
IV	15(28,8%)	8 (15,4%)	2(3,8%)	27(51,9%)

4.3.6 Terapia di seconda linea

Nella popolazione oggetto di studio i 30 dei pazienti che avevano ottenuto una remissione completa alla terapia di prima linea e i 3 che avevano una malattia stabile hanno avuto una ricaduta. I pazienti ricaduti dopo terapia di I linea erano per la maggior parte pazienti che all'esordio avevano una malattia stadio 3 o 4 e un R-IPI elevato (Tabella 12).

Invece erano 56 i pazienti con progressione della malattia dopo prima linea di terapia. Anche i pazienti in progressione presentavano per la maggior parte un R-IPI elevato ed uno stadio 3 o 4 all'esordio (Tabella 13).

Degli 89 pazienti ricaduti/refrattari 67 (75,3%) sono stati sottoposti ad una terapia di seconda linea mentre 22 pazienti (24,7%) non hanno ricevuto terapia di seconda linea. Tra quest'ultimi 1 paziente (4,5%) risulta perso al follow-up, 2 pazienti (9,1%) non hanno ricevuto terapia di seconda linea per l'età avanzata e le scarse condizioni cliniche e 19 pazienti (86,4%) sono deceduti per la progressione della malattia in concomitanza del termine della prima linea di terapia.

Tabella 12. Prevalenza di ricaduta in relazione alle caratteristiche prognostiche (R-IPI) e allo stadio

	RICADUTA
SCORE R-IPI	
0	2 (6,1%)
1	3 (9,1%)
2	11 (33,3%)
3	14 (42,4%)
4	3 (9,1%)
STADIO	
I	0 (0,0%)
II	6 (18,2%)
III	10 (30,3%)
IV	14 (42,2%)

Tabella 13. Prevalenza di progressione in relazione alle caratteristiche prognostiche (R-IPI) e allo stadio

	PROGRESSIONE
SCORE R-IPI	
0	0 (0,0%)
1	6 (10,7 %)
2	28 (50,0%)
3	20 (35,7%)
4	2 (3,6%)
STADIO	
I	1(1,8%)
II	7(12,5%)
III	13 (23,2%)
IV	35 (62,5%)

4.3.7 Caratteristiche dei pazienti e risposta alla II linea di terapia

In tabella 14 sono riportati con integrità tutti i cicli chemioterapici utilizzati nella seconda linea di trattamento nella popolazione oggetto di studio.

Il trattamento più utilizzato in seconda linea è stato lo schema *R-DHAP* (Rituximab-Desametasone-Cisplatino-Antraciclina). Tale schema è stato eseguito in 27 (40,3%) pazienti tutti di età inferiore a 65 anni ad eccezione di un paziente che aveva 72 anni ed era considerato FIT. Tutti i pazienti erano stati candidati all'autotrapianto (ASCT), tuttavia solo 12 pazienti hanno ottenuto una risposta ottimale tale da consentire il proseguo del programma terapeutico. Un paziente in SD dopo R-DHAP è stato trattato con 2 cicli secondo schema IEV (Ifosfamide-Epirubicina-Vepesid) in III linea con ottenimento di una RC e successivamente è stato sottoposto a ASCT. Dei restanti 15 pazienti che non hanno ottenuto risposta completa sono stati avviati ad altri regimi di terapia in 8 pazienti, 5 pazienti sono deceduti per malattia e 1 è stato avviato a trapianto allogenico e 1 paziente che aveva ottenuto una progressione di malattia è stato avviato a terapia con Pixantrone e successiva terapia con CAR-T ed è attualmente in RC.

Un paziente che era in RP dopo la terapia di I linea ha eseguito un trattamento di II linea secondo schema *B-R-DHAP* (Bortezomib + R-DHAP) (1,5%) per 4 cicli seguiti da autotrapianto nell'ambito di un trial clinico. Tale paziente era in PD al termine del trattamento, non ha ricevuto autotrapianto ed è deceduto.

I 12 pazienti trattati secondo schema *Re-Ri* (Lenalidomide-Rituximab) (17,9%) avevano tutti un'età >65 anni e di questi solo due pazienti hanno ottenuto una risposta duratura, sono stati avviati a terapia di mantenimento e sono attualmente in follow-up; 1 paziente è invece progredito durante la terapia di mantenimento ed è stato avviato a terapia di III linea nell'ambito di un trial clinico (DEBIO-Rituximab). I restanti 9 pazienti erano in SD o PD e sono infine deceduti.

Sono stati trattati con schema *GDP-Rituximab* (Rituximab-Gemcitabina-Desametasone-Cisplatino) 3 pazienti (4,5%), tutti di età compresa fra i 65 e i 70 anni; tutti e tre i pazienti sono stati candidati all'autotrapianto, solo due però hanno eseguito l'ASCT e uno solo ha ottenuto una RC ed è attualmente in follow-up. Un paziente è deceduto in PD dopo il trapianto autologo e il paziente che non ha risposto al GDP-Rituximab è stato avviato a terapia di III linea ed è deceduto per PD.

Un paziente è stato trattato in seconda linea, secondo il protocollo XPORT-DLBCL-030, con *R-GDP + Selinexor* (1,5%), ottenendo però un PD, e quindi avviato a terapia di III linea con Pixantrone attualmente in atto.

Due pazienti, in PD dopo la I linea di terapia sono stati trattati secondo schema *R-GEMOX* (Rituximab-Gemcitabina-Oxaliplatino) (3,0%). Un paziente di 74 anni ha eseguito 3 cicli, tuttavia era in SD alla rivalutazione intermedia; perciò, è stato avviato a terapia di III linea secondo schema Polatuzumab-Rituximab-Bendamustina in uno compassionate per il Polatuzumab. Il paziente non ha risposto alla terapia ed è poi deceduto. L'altro paziente di 69 anni non ha risposto alla terapia di seconda linea né è stato avviato a quella di III linea per le scarse condizioni generali.

Sono stati trattati 2 pazienti nell'ambito di un trial clinico randomizzato (PIX306) secondo schema *Gemcitabina-Rituximab* (3,0%). Entrambi i pazienti avevano avuto una ricaduta <12 mesi e avevano un'età >80 anni. Un paziente è progredito dopo 2 cicli ed è deceduto, 1 paziente è progredito dopo 5 cicli ed è stato trattato con Lenalidomide in III linea per 12 mesi con iniziale risposta e successiva progressione ed exitus. Nell'ambito del medesimo trial clinico (PIX306), un paziente in ricaduta dopo terapia di I linea è stato trattato con 6 cicli secondo schema *Pixantrone -Rituximab* (1,5%) con ottenimento di una Remissione Completa ed è attualmente in follow-up.

Lo schema *Caelix-Endoxan-Rituximab* è stato utilizzato nel 2010 in 2 pazienti (3,0%) entrambi ricaduti dopo 2 anni dal completamento della terapia di I linea. I due pazienti avevano più di 75 anni ed hanno ottenuto una RC dopo 4 cicli. Per una successiva progressione un paziente è stato trattato secondo schema Rituximab-Lenalidomide ottenendo una risposta duratura ed è tutt'ora in follow-up.

Il *Rituximab* senza chemioterapia è stato utilizzato per 2 pazienti (3,0%) che avevano multiple comorbidity ed uno aveva una concomitante riattivazione di EBV ed è deceduto. L'altro paziente aveva una diagnosi di linfoma misto aggressivo ed indolente ed ha ottenuto una RC ed è tutt'ora in follow-up.

Una paziente con DLBCL Double Hit è stata trattata in II linea con 2 cicli di *R-ICE* (1,5%) e successivo autotrapianto, ottenendo una RP e successivamente candidata all'infusione di CAR-T, attualmente è in RC in follow-up.

Il regime *R-DHAOX* (Rituximab-Desametasone-Citarabina-Oxaliplatino) è stato utilizzato in II linea in 5 pazienti (7,5%), tutti erano candidati all'autotrapianto. Tuttavia,

solo tre pazienti hanno avuto una risposta tale da proseguire con il trattamento. Di questi un paziente non ha firmato il consenso e quindi non è stato sottoposto all'autotrapianto, un paziente ha eseguito l'autotrapianto ed è in RC, l'ultimo paziente ha avuto una progressione dopo autotrapianto ed è stato trattato con Polatuzumab-BR con ottima risposta ed attualmente in follow-up. Gli altri due pazienti sono progrediti dopo terapia di II linea; uno è deceduto, l'altro è stato trattato con Rituximab-Lenalidomide come terapia ponte per la successiva infusione di CAR-T cells avvenuta a Bologna.

Due pazienti sono stati arruolati nel protocollo FIL con *COPA-RB* (Copanlisib-Rituximab-Bendamustina) (3,0%), entrambi però hanno avuto una progressione di malattia e decesso durante la terapia, di cui una morta in concomitanza dell'Infezione da SARS-CoV-2.

Sono 4 i pazienti trattati con *ARA-c DMZ + RITUXIMAB* (6,0%), un solo paziente ha ricevuto autotrapianto ed è attualmente in RC, un paziente ha ottenuto un'SD ed è stato avviato a terapia di III linea con R-ICE (Rituximab-Carboplatino-Eroposodie) ed è successivamente deceduto e gli altri due pazienti sono deceduti per progressione di malattia durante la terapia di II linea.

Infine, 2 pazienti sono stati trattati con *ARAc+MTX+RTX* (3,0%), di cui uno non ha completato il programma terapeutico per progressione di malattia ed exitus. Uno paziente è stato avviato al trapianto autologo dopo ottenimento di una RC. Quest'ultimo successivamente ha sviluppato una mielodisplasia (mds) secondaria trattata con trapianto allogenico.

Tabella 14. Terapia di II linea. (segue)

ARA-c DMZ + RITUXIMAB	4(6,0%)
ARAc+MTX+RTX	2(3,0%)
B-R-DHAP	1(1,5%)
CAELYX-ENDOXAN-RITUXIMAB	2(3,0%)
GDP-RTX	3(4,5%)
GDP-RTX+ SELINEXOR	1(1,5%)
GEMCITABINA-RTX	2(3,0%)
PIXANTRONE-RITUXIMAB	1(1,5%)
R-DHAP	27(40,3%)
R-DHAOX	5(7,5%)
R-GEMOX	2(3,0%)
RE-RI	12(17,9%)

RITUXIMAB	2(3,0%)
R-ICE	1(1,5%)
COPA-RB	2(3,0%)

4.3.8 Autotrapianto

Dei 44 pazienti ricaduti/refrattari sottoposti a terapia di II linea candidati ad autotrapianto sono stati sottoposti a trapianto autologo solo 19, come descritto in tabella 15.

Tabella 15. Terapia di II linea e Autotrapianto

	AUTOTRAPIANTO
ARA-c DMZ + RITUXIMAB	1(5,3%)
ARAc+MTX+RTX	1(5,3%)
B-R-DHAP	0(0,0%)
CAELYX-ENDOXAN-RITUXIMAB	0(0,0%)
GDP-RTX	2(10,5%)
GDP-RTX+ SELINEXOR	0(0,0%)
GEMCITABINA-RTX	0(0,0%)
PIXANTRONE-RITUXIMAB	0(0,0%)
R-DHAP	12(63,2%)
R-DHAOX	2(10,5%)
R-GEMOX	0(0,0%)
RE-RI	0(0,0%)
RITUXIMAB	0(0,0%)
COPA-RB	0(0,0%)
R-ICE	1(5,3%)

4.3.9 Risposta all'autotrapianto e successive linee di terapia

A seguito dell'autotrapianto ottenevano una iniziale Remissione Completa (RC) 16 pazienti, 2 pazienti ottenevano la Remissione Parziale (RP), e uno la progressione (PD). Dei pazienti in RP dopo autotrapianto uno è progredito ed è stato trattato secondo schema *Caelix-Endoxan-Rituximab* come terapia di III linea ed otteneva una RC duratura, l'altro è stato sottoposto come terapia di III linea a infusione di *CAR-T cells* ed è attualmente in RC.

Dei pazienti che avevano ottenuto una RC all'autotrapianto, successivamente uno progrediva senza poter essere candidato a terapia di III linea. Entro 1 anno dall'autotrapianto andavano incontro a ricaduta 4, di questi 2 pazienti venivano sottoposti a III linea di trattamento secondo schema *Caelix-Endoxan-Rituximab* e 2 pazienti venivano trattati secondo schema *Re-Ri*. Tre pazienti sono andati incontro a progressione di malattia e sono deceduti entro pochi mesi mentre un paziente dopo terapia con *Re-Ri*, è stato sottoposto a trapianto allogenico previo condizionamento secondo protocollo RIC Corradini; tuttavia, è successivamente deceduto per complicanze legate al trapianto.

Un paziente ha ottenuto una progressione subito dopo l'autotrapianto e successivamente è stato trattato con terapia di III Linea con con *Polatuzumab-BR* con ottima risposta ed attualmente in follow-up.

I pazienti non sottoposti ad autotrapianto perché non più candidabili o non eleggibili già dalla prima ricaduta per età o comorbidità erano 25:

- 15 pazienti non avevano risposto all'R-DHAP in seconda linea: 3 sono stati trattati secondo schema *IEV* come III linea e sono deceduti per PD; 4 pazienti con *Pixantrone* si cui 2 sono morti, 1 ha ottenuto risposta completa ed è attualmente in follow-up, e l'ultimo è stato sottoposto a infusione di *CAR-T cells* ed è attualmente in RC; 1 paziente è stato trattato con *Lenalidomide* e uno con *Endoxan*, entrambi senza risposta; 5 pazienti sono morti senza ricevere né autotrapianto né terapia di III linea per progressione di malattia; un paziente nel 2010 è stato sottoposto ad *allogotrapianto* come unica alternativa e successivamente è deceduto per le complicanze legate a quest'ultimo

- 1 paziente candidabile all'autotrapianto, trattato con B-R-DHAP per 4 cicli nell'ambito di un trial clinico, era in PD al termine del trattamento, non ha ricevuto autotrapianto ed è deceduto
- 1 paziente trattato con GDP-RTX, non è stato sottoposto all'autotrapianto ma avviato a terapia di III linea con *RE-RI* e successivamente è deceduto. Il paziente trattato R-GDP + Selinexor, ottenendo però un PD, e quindi avviato a terapia di III linea con Pixantrone attualmente in atto
- Dei 3 pazienti trattati con ARA-c DMZ + RITUXIMAB, che non hanno ricevuto autotrapianto, un paziente è stato avviato a terapia di III linea con *R-ICE* ed è successivamente deceduto e gli altri due pazienti sono deceduti per progressione di malattia durante la terapia di II linea
- 1 paziente trattato con ARAc+MTX+RTX, candidato all'autotrapianto, non ha completato il programma terapeutico per progressione di malattia ed exitus
- Dei pazienti trattati con R-DHAOX, 1 non ha firmato il consenso per l'autotrapianto ma è tutt'ora in RC, due sono progrediti dopo terapia di II linea e quindi non sottoposti ad autotrapianto; uno è deceduto, l'altro è stato trattato con *Re-Ri* come terapia ponte per la successiva infusione di CAR-T cells avvenuta a Bologna ed è attualmente in RC

Altri regimi utilizzati in III linea nei pazienti non candidabili a terapie ad alte dosi erano per cui non era previsto l'autotrapianto:

- *Debio-Rituximab*, utilizzato come III linea in ambito di un trial clinico, dopo progressione post terapia di seconda linea RE-RI, ottenendo una RC
- *Polatuzumab-B-R*, come terapia di III linea in 1 paziente in uso compassionevole dopo progressione dopo terapia di II linea R-GEMOX, morto poco dopo per progressione di malattia
- *Lenalidomide*, come III linea in 1 paziente progredito dopo 5 cicli di terapia di II linea con Gemcitabina-rituximab, con iniziale risposta ma successiva progressione ed exitus
- *Re-Ri*, 1 paziente ricaduto dopo terapia di II Linea con Caelix-Endoxan-Rituximab, ottenendo una risposta duratura ed è tutt'ora in follow-up

In tabella 16 sono riportati con integrità tutti i cicli chemioterapici utilizzati nella seconda linea di trattamento nella popolazione oggetto di studio.

Dei 24 pazienti sottoposti a terapia oltre la II linea, sono attualmente in RC solo 6 pazienti (25%). Il paziente trattato con *Debio-Rituximab*, un paziente trattato con *Caelix-Endoxan-Rituximab*, un paziente trattato con *Polatuzumab-B-R*, 2 pazienti trattati in III linea con lo schema *Re-Ri* di cui uno successivamente sottoposto a infusione di CAR T cells, 1 paziente trattato con Pixantrone come terapia ponte per infusione di CAR T cells e infine un paziente sottoposto direttamente a infusione di CAR T cells come terapia di III linea.

Tabella 16. Terapia di III linea

CAELYX-ENDOXAN-RITUXIMAB	3(12,5%)
IEV	3(12,5%)
R-ICE	1(4,2%)
PIXANTRONE	3(12,5%)
PIXANTRONE + CAR T Cells	1(4,2%)
ENDOXAN	1(4,2%)
DEBIO-RTX	1(4,2%)
LENALIDOMIDE	2(8,3%)
RE-RI	4(16,7%)
RE-RI + CAR T Cells	1(4,2%)
POLATUXUMAB-BR	2(8,3%)
CAR T Cells	1(4,2%)
ALLOTRAPIANTO	1(4,2%)

4.3.10 Trapianto allogenico

Sono 4 i pazienti che sono stati sottoposti a trapianto allogenico.

Un paziente era risultato refrattario a più linee di terapia e non candidabile al trapianto autologo ed è deceduto dopo il trapianto allogenico. Un paziente era ricaduto dopo autotrapianto, trattato in terza linea con RE-RI e successivamente sottoposto ad allotrapianto previo condizionamento secondo RIC Corradini, successivamente è deceduto per complicanze legate al trapianto allogenico.

Infine, 2 pazienti erano in RC dopo autotrapianto, ma hanno sviluppato una mielodisplasia secondaria per cui venivano sottoposti ad Allotrapianto ed anch'essi sono deceduti per complicanze legate al trapianto.

4.4 Analisi di sopravvivenza

4.4.1 Progression-free survival popolazione iniziale

La mediana della progression-free survival (PFS) non è stata raggiunta nella popolazione iniziale costituita da 304 pazienti.

La PFS globale (comprendente progressione, ricaduta o decesso per malattia) a 5 anni era dell'60,9% (figura 4). Nei soggetti a basso rischio (R-IPI=0 e 1) la PFS rate a 5 anni era 84,6%, contro il 47,3% dei soggetti a rischio intermedio elevato (R-IPI ≥ 2), con una differenza statisticamente significativa nelle 2 curve di PFS ($p=0,0001$) (figura 5a, tabella 17). Nei soggetti in stadio I-II la PFS rate a 5 anni era 73,3%, contro il 51,6% dei soggetti in stadio III-IV, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa ($p=0.0003$) (figura 5b, tabella 17). Nei soggetti ultrasessantenni la PFS rate a 5 anni era 48,5%, contro il 76,6% dei soggetti con età inferiore ai 60 anni, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa ($p=0.0001$) (figura 5c, tabella 17). La mediana di PFS dei soggetti ultra60enni era di poco superiore ai 50 mesi. Nei soggetti ultraottantenni la PFS rate a 5 anni era 29,1%, contro il 64,7% dei soggetti con età inferiore agli 80 anni, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa ($p=0.0001$). La mediana di PFS dei soggetti ultra80enni era di quasi 20 mesi. (figura 5d, tabella 17).

Tabella 17. Progression-free survival rate in base a R- IPI, stadio ed età

Progression-free survival rate (%)						
	1 anno	2 anni	3 anni	5 anni	10 anni	Mediana
SCORE IPI						
Basso rischio (0-1)	92,8	89,0	86,9	84,4	76,3	NR
Rischio intermedio elevato (≥2)	68,1	58,3	54,2	47,3	39,9	50,9
STADIO						
I-II	91,2	82,5	80,8	73,0	60,6	NR
III-IV	70,5	60,4	56,6	51,6	44,8	70,3
ETÀ						
< 60 anni	86,1	80,3	78,1	76,2	75,8	NR
≥ 60 anni	70,4	57,9	53,8	48,5	31,3	50,9
ETÀ						
< 80 anni	79,5	69,7	66,3	64,7	53,3	NR
≥ 80 anni	66,9	44,8	40,2	29,1	/	19,8

Figura 4. Progression-free survival Corte iniziale

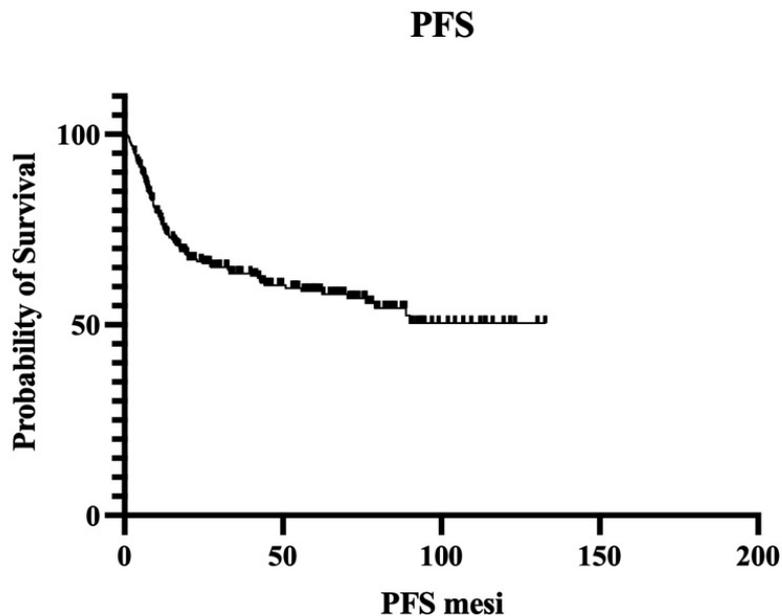
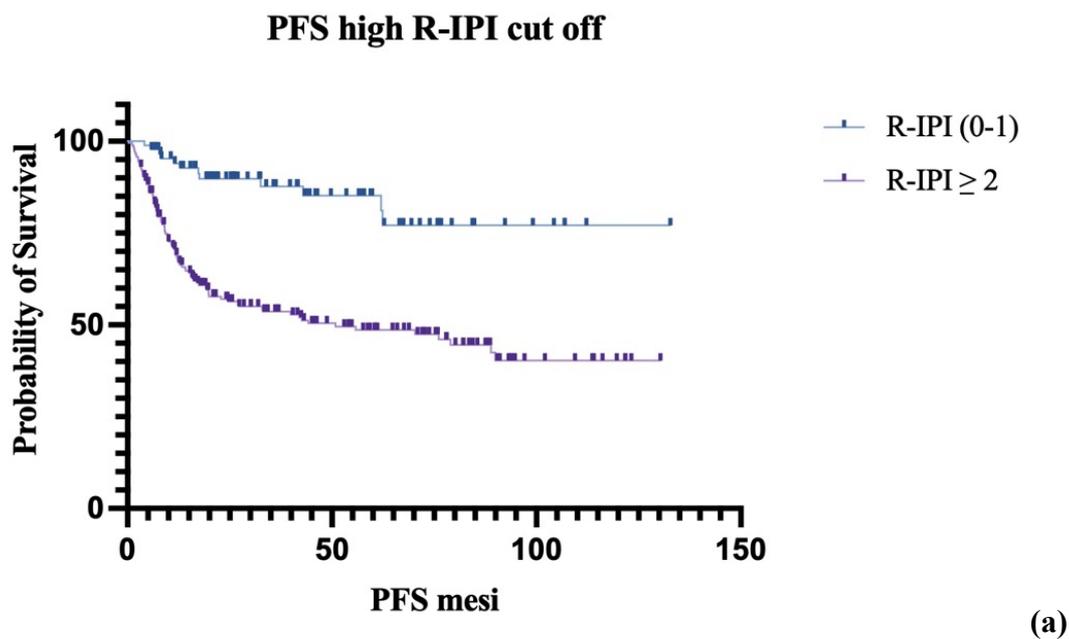
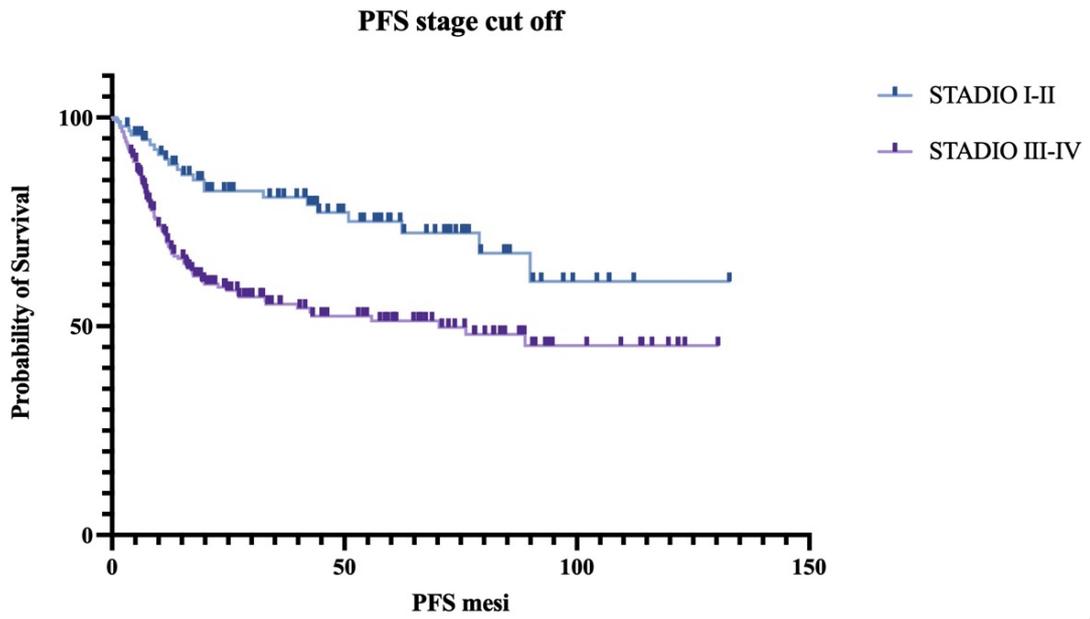
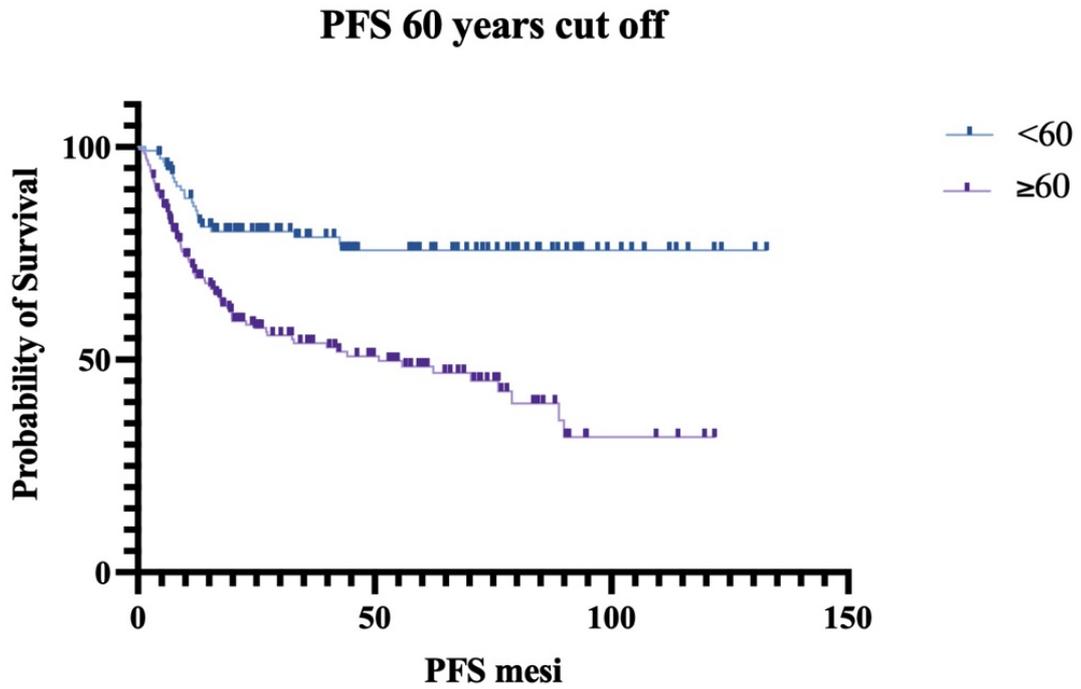


Figura 5. Progression-free survival in base a R-IPI (a), stadio (b), 60 anni (c) ed 80 anni (d). In linea viola le categorie di riferimento a: R-IPI alto rischio; b: stadio III-IV; c: ultra60enni; d: ultra80enni



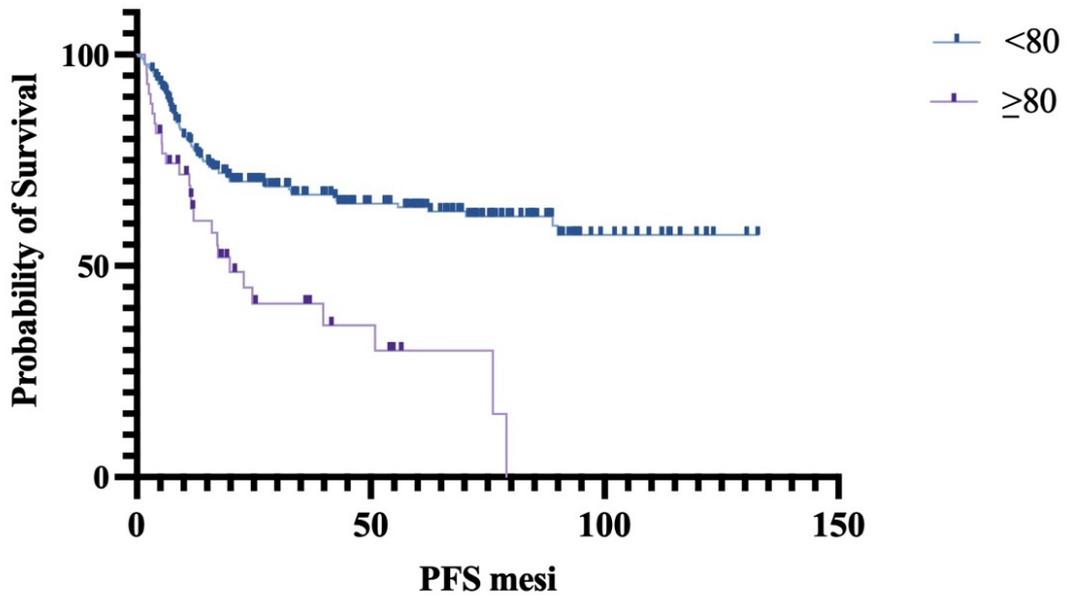


(b)



(c)

PFS 80 years cut off



(d)

4.4.2 Progression-free survival dopo terapia di seconda linea

Degli 89 pazienti ricaduti/refrattari 67 (75,3%) sono stati sottoposti ad una terapia di seconda linea.

La mediana della second progression-free survival (2ND-PFS) è di 5,2 mesi nella popolazione costituita dai 67 pazienti ricaduti/refrattari trattati con terapia di II linea.

La 2ND-PFS (comprendente progressione, ricaduta o decesso per malattia) a 5 anni era dell'13,6% (figura 6).

Nei soggetti ultrasessantenni la 2ND-PFS rate a 5 anni era 6,6%, contro il 20,7% dei soggetti con età inferiore ai 60 anni, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa ($p=0.01$) (figura 7, tabella 18). La mediana di 2ND-PFS dei soggetti ultra60enni era di poco superiore ai 7 mesi mentre nei soggetti con età inferiore ai 60 anni era di 3 mesi.

Tabella 18. Second progression-free survival rate in base all'età

Second progression-free survival rate (%)						
	1 anno	2 anni	3 anni	5 anni	10 anni	Mediana
ETÀ						
< 60 anni	43,8	25,0	24,6	20,7	/	3,03
≥ 60 anni	21,0	20,1	19,4	6,6	/	7,4

Figura 6. Second-Progression-free survival

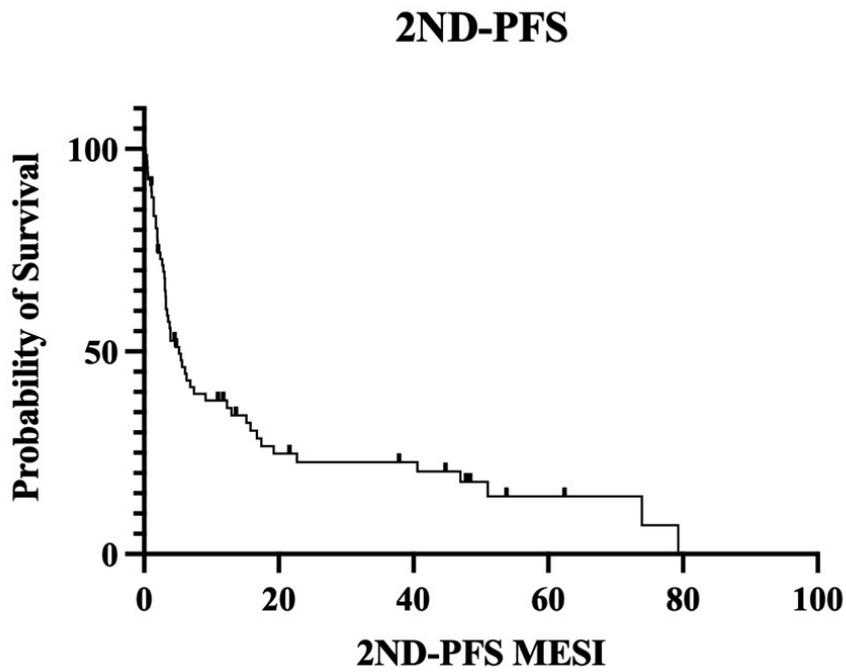
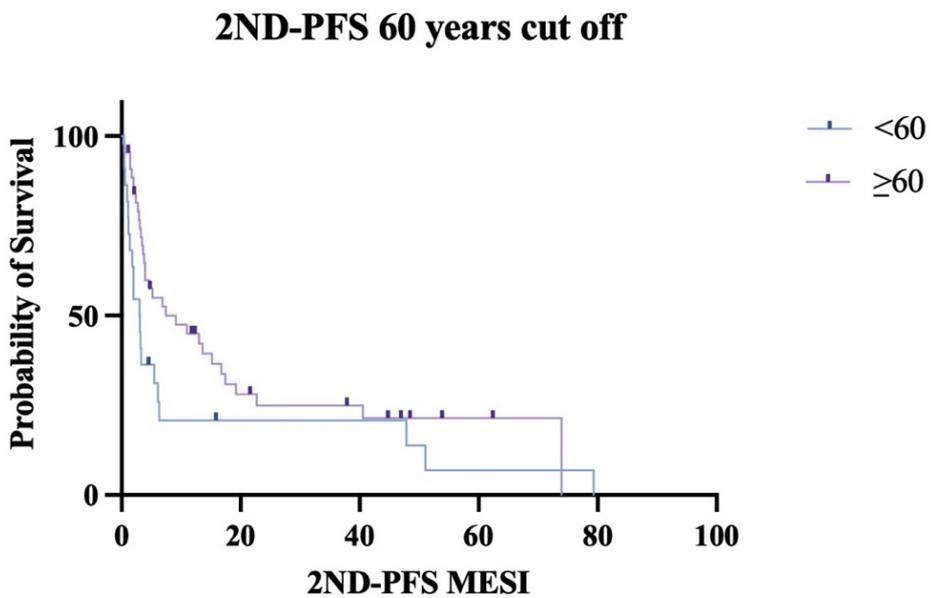


Figura 7. Second-Progression- free survival 60 years cut off. In linea viola la categoria di riferimento ultra60enni

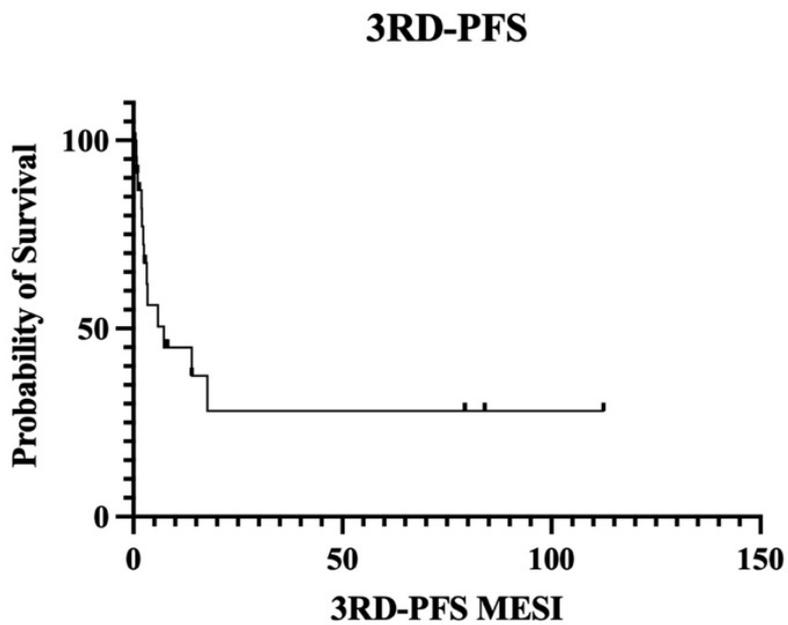


4.4.3 Progression-free survival dopo terapia di terza linea

24 pazienti sono stati trattati con terapia di terza linea. Valutando questo piccolo campione la mediana della Third progression-free survival (3RD-PFS) è di 7,3 mesi.

La 3RD-PFS (comprendente progressione, ricaduta o decesso per malattia) a 5 anni era dell' 27,3%. (figura 8).

Figura 8. Third-progression-free survival



4.4.4 Overall survival popolazione iniziale

Con una mediana di Follow up di 44.53 mesi, la mediana della overall survival (OS) non è stata raggiunta nella popolazione iniziale comprendente 304 pazienti.

La OS globale a 5 anni era del 68,5%; a 10 anni del 52,6% (figura 9).

Nei soggetti a basso rischio (IPI=0 e 1) la OS rate a 10 anni era 85,9%, contro il 44,0% dei soggetti a rischio intermedio elevato (IPI \geq 2), con una differenza statisticamente significativa nelle 2 curve di OS (p=0.0001) e la mediana di sopravvivenza dei pazienti con altro rischio IPI (\geq 2) era di 89,93 mesi (figura 10a, tabella 19).

Nei soggetti in stadio I-II la OS rate a 10 anni era 66,5%, contro il 48,0% dei soggetti in stadio III-IV, la differenza tra i due gruppi era significativa (p=0.002). la mediana di sopravvivenza per gli stadi III-IV era di 104,5 mesi (figura 10b, Tabella 19).

Nei soggetti di età inferiore ai 60 anni la OS rate a 10 anni era 75,8%, contro il 36,8% dei soggetti ultra 60enni, la differenza tra i due gruppi era significativa (p=0.0001) (figura 10c, Tabella 19).

La OS rate a 5 anni negli over 80 era del 38,0%, contro il 73,5% dei soggetti di età inferiore ai 80 anni, la differenza tra i due gruppi era significativa (p=0.0001). La mediana di sopravvivenza per i soggetti di età \geq 80 anni era di 44,2 mesi (figura 10d, tabella 19).

Tabella 19. Overall survival rate in base ad R-IPI, stadio ed età

	Overall survival rate (%)					
	1 anno	2 anni	3 anni	5anni	10 anni	Mediana
SCORE IPI						
Basso rischio (0-1)	97,5	94,5	94,0	91,3	85,9	NR
Rischio intermedio elevato (≥ 2)	81,3	71,0	68,2	59,3	44,0	89,9
STADIO						
I-II	97,8	88,8	88,0	78,9	66,5	NR
III-IV	83,7	72,9	69,6	63,2	48,0	104,5
ETÀ						
< 60 anni	94,0	86,6	85,6	81,9	75,8	NR
≥ 60 anni	82,7	72,2	69,7	59,6	36,8	88,9
ETÀ						
< 80 anni	89,2	80,8	78,6	73,5	59,7	NR
≥ 80 anni	69,4	58,9	58,8	38,0	/	44,2

Figura 9. Overall Survival corte iniziale

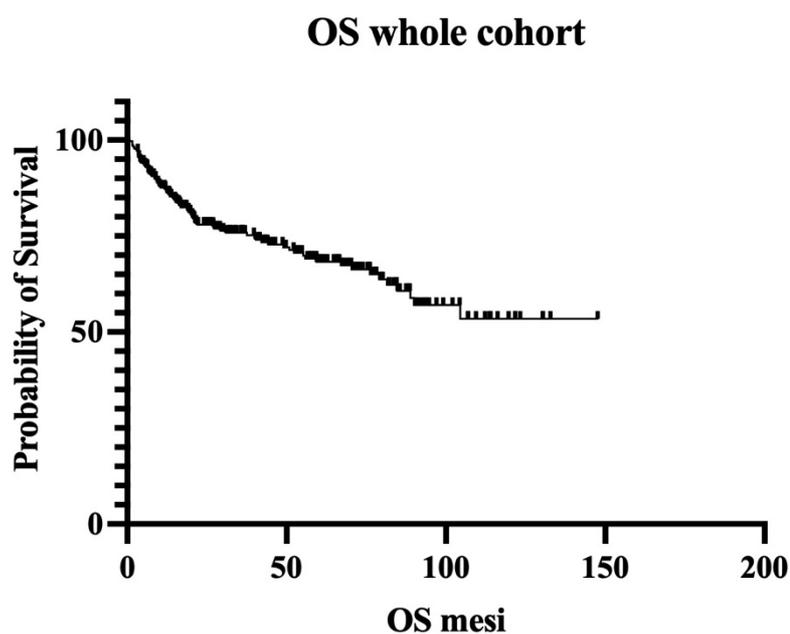
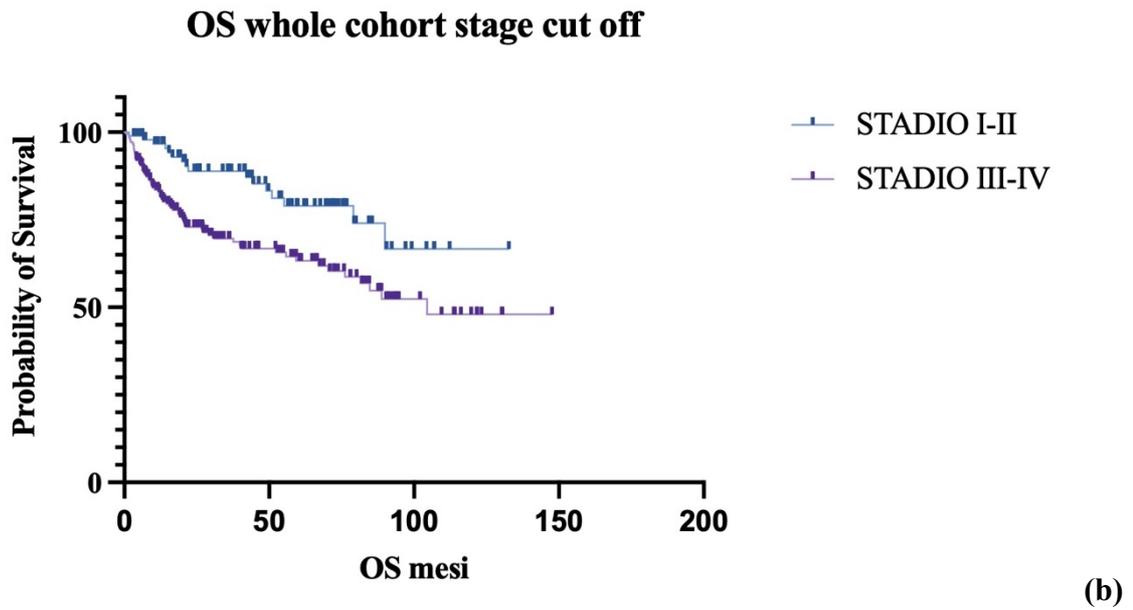
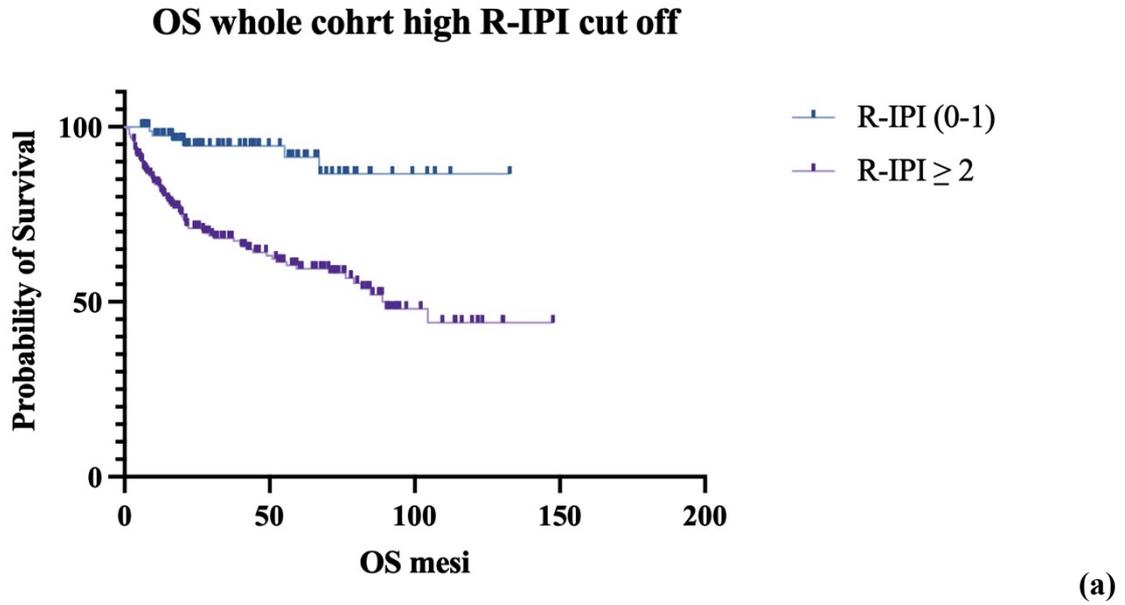
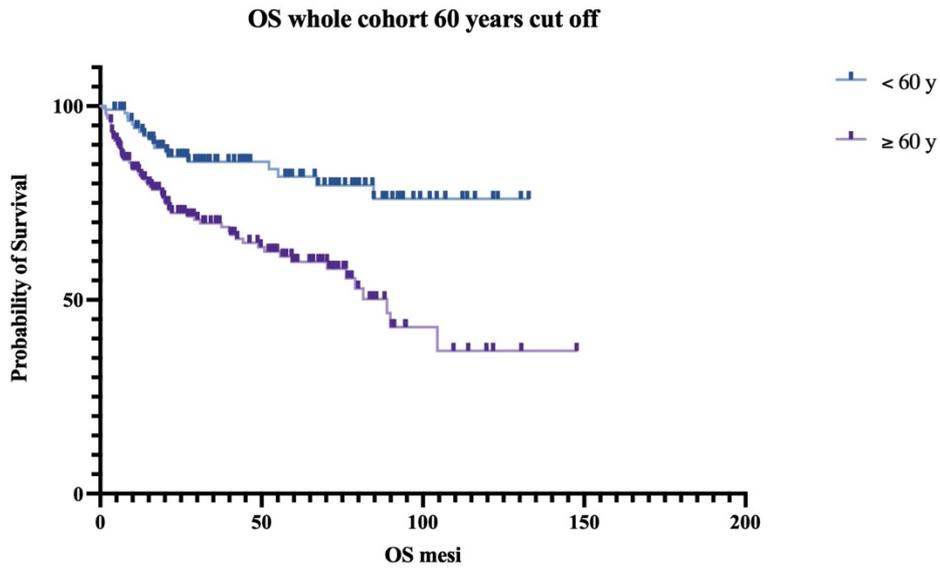
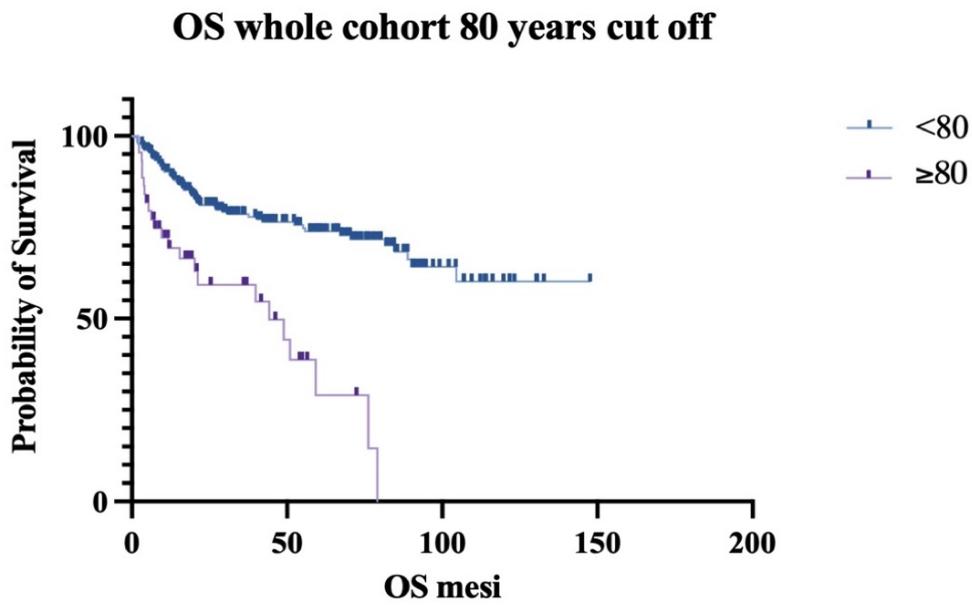


Figura 10. Overall survival in base a R-IPI (a), stadio (b), 60 anni (c) ed 80 anni (d). In linea viola le categorie di riferimento a: R-IPI alto rischio; b: stadio III-IV; c: ultra60enni; d:ultra80enni





(c)



(d)

4.4.5 Overall survival ricaduti/refrattari

Con una mediana di follow up i 44,7 mesi, la mediana della sopravvivenza nella popolazione oggetto dello studio (OS R/R) è di 6,8 mesi. La OS R/R della popolazione oggetto dello studio a 5 anni era del 22,2% (figura 11)

Nei soggetti a basso rischio (IPI=0 e 1) la OS R/R rate a 3 anni era 40,3%, contro il 26,6% dei soggetti a rischio intermedio elevato (IPI \geq 2), con una differenza non statisticamente significativa nelle 2 curve di OS R/R (p=0.1) (figura 12a).

La OS R/R rate a 3 anni negli over 80 era del 20,0%, contro il 28,9% dei soggetti di età inferiore ai 80 anni, la differenza tra i due gruppi non era statisticamente significativa (p=0.3) (figura 12b)

Figura 11. Overall Survival Ricaduti/Refrattari

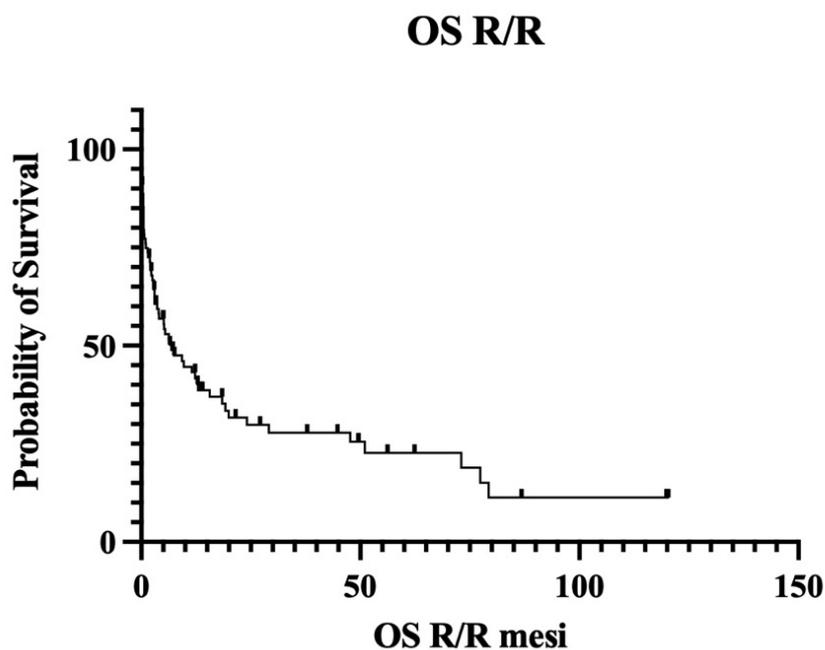
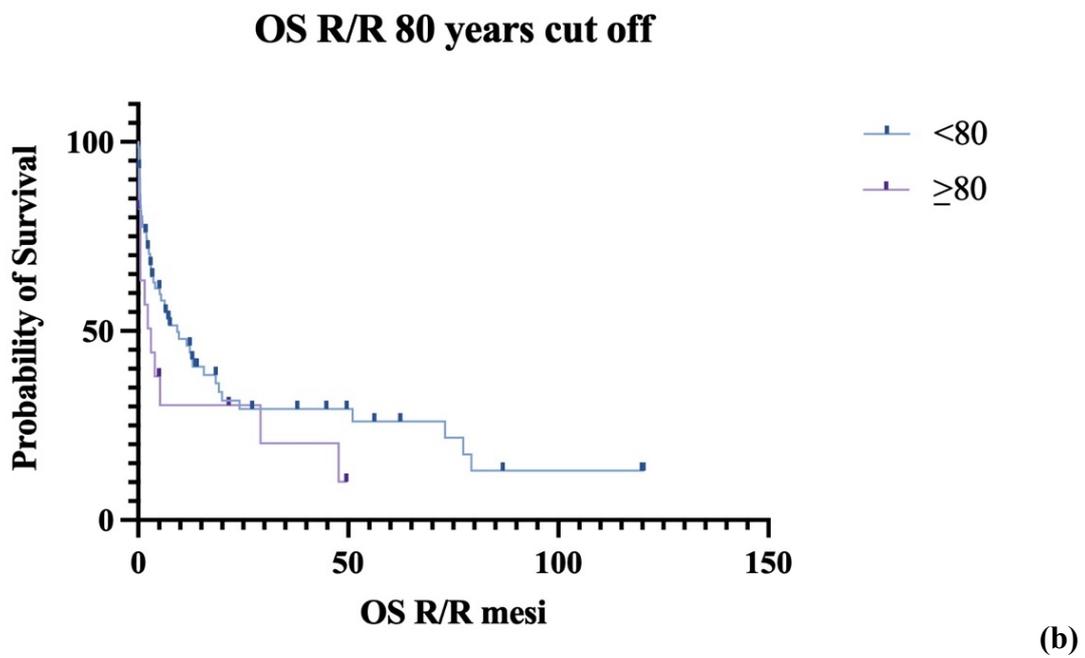
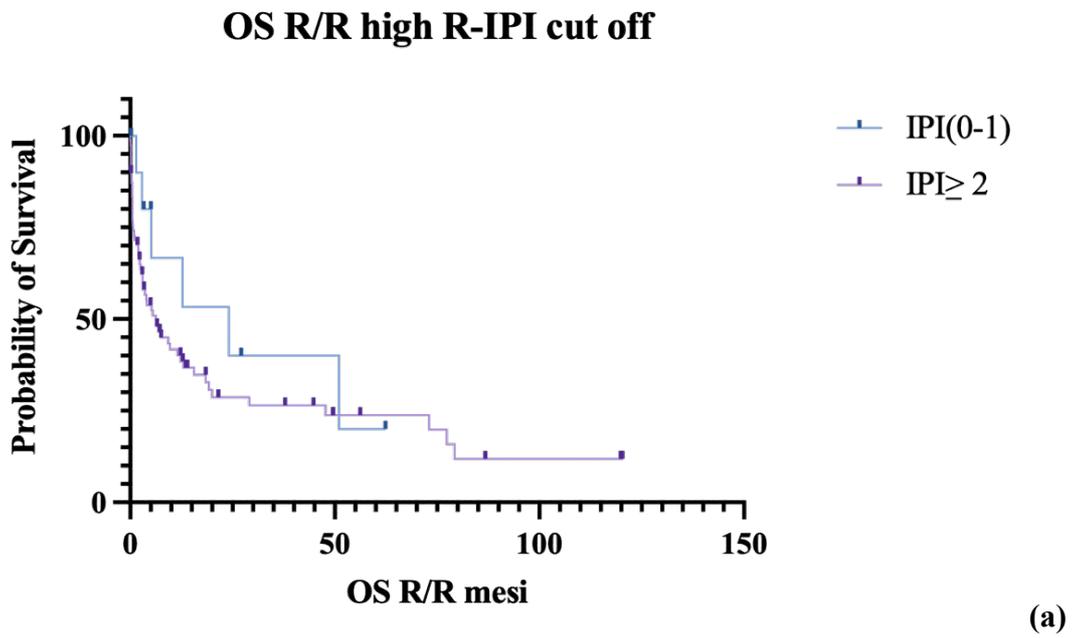


Figura 12. Overall survival in base a R-IPI (a), ed 80 anni (b). In linea viola le categorie di riferimento a: R-IPI alto rischio; b: ultra80enni



5 Discussione

Questo studio fornisce interessanti dati riguardanti i pazienti affetti da DLBCL seguiti per un lungo follow-up nella comune pratica clinica. Lo scopo dello studio era l'analisi retrospettiva delle caratteristiche e della sopravvivenza della popolazione iniziale costituita da 304 pazienti e soprattutto la valutazione delle caratteristiche della popolazione oggetto dello studio (89 pazienti ricaduti/refrattari dopo terapia di I linea), delle scelte terapeutiche e dell'outcome.

La popolazione si presentava logicamente eterogenea per età, stadio, fattori prognostici e per le caratteristiche molecolari e citogenetiche.

Premesse fondamentali prima di discutere il presente lavoro sono che l'analisi dei risultati ha mostrato dati in linea con la letteratura.

La popolazione iniziale dello studio comprende pazienti trattati prevalentemente con regimi CHOP-like in prima linea. Il nostro studio ha mostrato risultati ottimali e paragonabili a quelli di Coiffier et al. in termini di sopravvivenza con una Overall Survival a 10 anni del 52,6% vs 51% del lavoro di Coiffier [47].

Sempre in merito ai dati di sopravvivenza nella corte iniziale è stata analizzata la OS in base all'età dei pazienti, allo stadio e all'R-IPI. L'outcome peggiore nei pazienti con R-IPI elevato e stadio avanzato riscontrato nel nostro studio, con una OS del 85,9% nei soggetti a basso rischio (R-IPI=0 e 1) contro il 44,0% dei soggetti a rischio intermedio elevato (R-IPI \geq 2), è in linea con i dati di Hovart et al. rispettivamente del 87% e del 37% [114].

Dati analoghi possono essere evidenziati confrontando l'OS a 3 anni dei pazienti ultra80enni e quella dei pazienti con età inferiore ai 80, rispettivamente del 36,8% e del 75,8%, paragonabili ancora una volta con il recente studio di Hounsome et al. che evidenziava una OS a 3 anni per i pazienti di età \geq 80 anni pari al 32% [115].

Pertanto, parametri quali l'R-IPI elevato e l'età avanzata impattano negativamente sulla sopravvivenza come riportato in letteratura.

Nel nostro studio, i soggetti di età superiore agli 80 anni avevano una OS significativamente peggiore. I dati "real life" provenienti dai Paesi Bassi mostrano miglioramenti nella prognosi per DLBCL in tutte le fasce di età ad esclusione del gruppo degli over 80. Ciò deriva dal fatto che i pazienti anziani sono spesso sottotrattati a causa

di un aumentato rischio di sviluppare tossicità indotta dalla chemioterapia. Inoltre, i pazienti più anziani sono sottorappresentati negli studi clinici perché spesso non sono inclusi negli studi a causa di comorbidità multiple o scarso stato funzionale. Le comorbidità (altri tumori, diabete, osteoporosi e artrite, malattie cardiovascolari o polmonari, disfunzione renale, depressione, morbo di Alzheimer, ecc.) sono comuni nei pazienti più anziani; infatti, il 61% dei pazienti con più di 70 anni e oltre l'85% dei pazienti con più di 80 anni presenta comorbidità, rispetto al 20% dei pazienti più giovani. Inoltre, la riserva ematopoietica diminuisce con l'età ed è stato dimostrato che la mielotossicità con i regimi di dosaggio standard è più grave negli anziani [116].

Nel loro studio, Van Spronsen et al. hanno riscontrato che il 66% dei pazienti con NHL di età superiore ai 60 anni presentava una o più comorbidità. La sopravvivenza globale a 5 anni nei pazienti con NHL (di età > 60 anni) era significativamente inferiore in quelli con due o più comorbidità rispetto quelli senza. Quindi, più comorbidità ha avuto un paziente, meno è probabile che riceva una terapia curativa ed il motivo principale di uno scarso esito nei pazienti anziani è la loro ridotta capacità di tollerare il trattamento. La compromissione della funzione del midollo osseo, l'alterazione del metabolismo dei farmaci e la presenza di malattie da comorbidità possono aumentare il numero di complicanze correlate al trattamento [116]. Il fattore decisivo nella scelta di un regime terapeutico per un paziente anziano con NHL aggressivo è quello di accertare se un paziente è abbastanza idoneo a tollerare regimi contenenti antraciclina con intento curativo oppure è troppo fragile e quindi a rischio di essere sottotrattato.

Rimanendo nell'ambito dell'analisi di sopravvivenza della corte iniziale, nel nostro studio la Progression Free Survival a 5 anni era pari al 60,9%. La Progression Free Survival risulta influenzata ancora una volta in maniera statisticamente significativa dall'età del paziente, dallo stadio di malattia all'esordio e dall'R-IPI. Infatti, nei soggetti a basso rischio (R-IPI=0 e 1) la PFS rate a 5 anni era 76,3%, contro il 39,9% dei soggetti a rischio intermedio elevato (R-IPI ≥2). Nei soggetti in stadio I-II la PFS rate a 10 anni era 60,6%, contro il 44,8% dei soggetti in stadio III-IV. Nello studio di Hovart et al la PFS a 10 anni per i pazienti a basso rischio era dell'84% mentre era pari al 66% per i pazienti a cattiva prognosi [114].

Con gli studi clinici più recenti si è esplorata la possibilità di migliorare la sopravvivenza dei pazienti con DLBCL, adattando i trattamenti ai diversi istotipi di DLBCL. Il razionale

per questo tipo di approccio deriva da studi di fase II che hanno dimostrato l'attività selettiva dei nuovi farmaci aggiunti allo schema R-CHOP nei singoli istotipi e hanno costituito il razionale per condurre studi randomizzati. Tra i farmaci studiati quelli che sono stati trasferiti a studi randomizzati sono il bortezumib, la lenalidomide e l'ibrutinib. Lo studio randomizzato PHOENIX, che confronta lo standard R-CHOP con il regime sperimentale R-CHOP + ibrutinib in pazienti con DLBCL di tipo ABC non precedentemente trattati, i risultati di questo studio hanno mostrato vantaggi con l'aggiunta dell'Ibrutinib in termini di sopravvivenza nei pazienti di età < 60 anni [69]. Attualmente è in corso uno studio FIL che prevede tale associazione, RI-CHOP.

La Lenalidomide ha mostrato attività in monoterapia e in schemi di combinazione nel trattamento dei DLBCL [70]. Recentemente sono stati pubblicati i risultati di due studi di fase II, uno italiano (REAL07) e l'altro guidato dal gruppo della Mayo Clinic, che hanno valutato la combinazione di R-CHOP con la Lenalidomide in paziente con DLBCL non precedentemente trattati.

Entrambi gli studi hanno riportato un ottimo tasso di risposte. Nessuna differenza in PFS e OS con l'aggiunta della Lenalidomide è stata registrata nei due sottogruppi molecolari ABC e GCB suggerendo che l'aggiunta del farmaco allo standard immunochemioterapico potrebbe consentire di migliorare l'efficacia di trattamenti per i pazienti con DLBCL non GCB. Sulla base di questi risultati è stato condotto studio di fase III ROBUST, in cui è previsto un confronto randomizzato tra R2CHOP vs R-CHOP placebo nei pazienti con DLBCL di tipo ABC (NCT02285062), tuttavia i dati preliminari non hanno mostrato dei vantaggi nel gruppo di studio anche se i risultati definitivi sono in attesa di pubblicazione. È inoltre attivo lo studio Fil Re-Ri che prevede il trattamento in prima linea con Rituximab e Lenalidomide per i pazienti anziani Frail [66]. Nel nostro centro sono stati arruolati 3 pazienti, che hanno mostrato una risposta duratura al trattamento.

I pazienti con malattia in recidiva o refrattaria alla prima linea di terapia vanno avviati a una chemioterapia di salvataggio seguita, se la malattia si dimostra chemiosensibile, da chemioterapia ad alte dosi (HDC) con supporto cellulare autologo [74]. Lo studio PARMA e successivamente lo studio CORAL, hanno dimostrato l'efficacia degli schemi R-DHAP o R-ICE seguiti dal consolidamento ad alte dosi ed autotrapianto nei pazienti ricaduti/refrattari [117]. Lo schema R-DHAP rappresenta la strategia più utilizzata presso

il nostro centro con un discreto tasso di risposta (44,5%). I pazienti ricaduti dopo trapianto autologo di cellule staminali o non candidabili a tale procedura hanno una prognosi infausta a breve termine. Per i pazienti non candidabili a terapia ad alte dosi di salvataggio, inclusi i pazienti di età > a 70 anni, i potenziali trattamenti comprendono terapia con agente singolo, la scelta di un trattamento palliativo, e l'inclusione all'interno di trial clinici controllati. Sono ben tollerati inoltre regimi di combinazione che includono R-gemox, la bendamustina con o senza rituximab e CVP +/- rituximab. Un ruolo importante inoltre sembra essere svolto dalla lenalidomide nei pazienti del sottogruppo non-GBC con o senza rituximab [75] [76] [77].

Ad oggi non esistono evidenze sufficienti per formulare raccomandazioni assolute per la scelta terapeutica in questa fase della malattia; pertanto, la definizione del programma terapeutico deve essere basata sulla valutazione del singolo paziente optando, se possibile, per l'arruolamento in uno studio clinico controllato.

Nella nostra casistica si conferma il peggior outcome nei pazienti che ricadono dopo la terapia di prima linea ed in particolare nei pazienti che non ottengono una risposta con la II linea e in quelli non candidabili al trapianto si è tentato dove possibile l'arruolamento in trial clinici e la sperimentazione di nuovi farmaci.

È chiaro come la chemio refrattarietà si traduca anche in peggiori dati di outcome clinico. Nel nostro studio, infatti, la Overall Survival a 5 anni dei pazienti ricaduti/refrattari, calcolata a partire dalla data di ricaduta/progressione, era del 22,2% conforme con l'OS dei pazienti ricaduti/refrattari del 26% nello studio di W. Daneels et al [118]. Sono stati confrontati anche i pazienti a basso e alto rischio R-IPI, nonché pazienti con età superiore o inferiore ai 80 anni senza tuttavia mostrare una differenza statisticamente significativa in termini di OS.

Inoltre, la 2ND-PFS (comprendente progressione, ricaduta o decesso per malattia) a 5 anni era dell'13,6%. Nei soggetti ultrasessantenni la 2ND-PFS rate a 5 anni era 20,7%, contro il 6,6% dei soggetti con età inferiore ai 60 anni, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa (p=0.01). I Fattori prognostici nel DLBCL recidivato/refrattario sembrano essere l'Age-Adjusted International Prognostic Factors Index e lo stato di naïve al rituximab; infatti, i pazienti naïve al rituximab hanno un tasso di risposta migliore [119]. In più, la 3RD-PFS (comprendente progressione, ricaduta o

decesso per malattia) a 5 anni era dell'27,3%, bisogna sottolineare come questo dato derivi però da un piccolo campione composto da soli 24 pazienti.

È evidente e ampiamente noto come i pazienti giovani, ad alto rischio, ricaduti/refrattari alla terapia di I linea abbiano una prognosi nettamente inferiore rispetto ai pazienti che ottengono una Remissione Completa alla terapia di I linea. La nostra casistica conferma tale dato rimarcando la necessità di trovare nuove strategie terapeutiche risolutive.

La terapia con Car-T-cell sta mostrando ottimi risultati in questo senso e sono sempre più numerosi i centri in Italia che si stanno cimentando in tale trattamento che prevede un approccio multiprofessionale e multidisciplinare per garantire il corretto processo che va dalla selezione del paziente, alla preparazione e raccolta dei linfociti T mediante leucoaferesi, alla successiva chemioterapia e reinfusione, fino alla gestione delle complicanze precoci e tardive.

Nella Clinica di Ematologia di torrette c'è ancora una scarsa esperienza diretta, tuttavia recentemente tre paziente pluri-refrattari, come discusso nei risultati, sono stati trattati con Car-T Cells, uno presso un altro centro gli altri direttamente nella clinica di Torrette ed attualmente sono tutti e tre in Remissione Completa e in assenza di complicanze maggiori.

La tendenza nei prossimi anni sarà verosimilmente di estendere e rendere accessibile tale pratica il più possibile per offrire ai pazienti la migliore opzione attualmente disponibile.

6 Conclusioni

I linfomi non-Hodgkin sono la neoplasia ematologica più comune, costituiscono il 3% di tutti i tumori maligni e sono la quinta neoplasia più diffusa nel mondo occidentale. Il linfoma B diffuso a grandi cellule (DLBCL) rappresenta il 30% dei casi di linfoma non Hodgkin, risultando così il sottotipo più frequente. Il linfoma diffuso a grandi cellule B recidivato-refrattario (DLBCL R/R), che rappresenta circa un terzo dei pazienti con DLBCL, rimane una delle principali cause di morbidità e mortalità con tassi di Overall survival nettamente peggiori rispetto ai pazienti guariti dopo terapia di prima linea. La chemioterapia di salvataggio ad alte dosi seguita da trapianto autologo di cellule staminali è lo standard di cura per le recidive chemiosensibili nel DLBCL. Sono disponibili diversi regimi di salvataggio, ma la ricerca di un regime ottimale è tutt'ora in corso.

Infatti, attualmente sono in atto numerosi studi clinici randomizzati volti ad individuare nuove strategie terapeutiche. Tra questi è importante citare i dati molto incoraggianti che provengono dall'utilizzo in studi clinici controllati dei nuovi anticorpi bispecifici anti CD20 e anti-CD3 come lo studio di fase I/II NP30179, che ha valutato il Glofitamab nel linfoma non-Hodgkin refrattario recidivato o fortemente pretrattato con una risposta metabolica completa nel 71,4% dei pazienti con linfoma [79].

Un altro anticorpo bispecifico Epcoritamab, somministrato per via sottocutanea, come agente singolo ha mostrato attività antitumorale nei pazienti ampiamente pretrattati con linfoma diffuso a grandi cellule B recidivato o refrattario, con il 55% di risposta completa. Nuove strategie terapeutiche possono essere identificate anche con anticorpi farmaco-coniugati come nel caso del Polatuzumab vedotin un anticorpo farmaco-coniugato (ADC) anti-CD79b in associazione a bendamustina e rituximab [81].

Ad oggi, grazie a diversi studi che hanno contribuito notevolmente a sperimentare l'efficacia e la sicurezza della terapia con CAR-T cells e ad altrettanti studi in corso, tale trattamento rappresenta lo standard in diversi paesi per i pazienti affetti da DLBCL refrattario a due linee precedenti di terapia. I vantaggi delle CAR-T cell sono sicuramente quello di offrire una possibilità terapeutica efficace e con risposte durature per pazienti a prognosi altrimenti infausta. Attualmente sono tre i farmaci CAR T-cells anti-CD19 approvati dalla FDA per il DLBCL recidivato/refrattario: axicabtagene ciloleucel (axi-

cel), tisagenlecleucel (tisa-cel), e lisocabtagene maraleucel (liso-cel). Studi futuri permetteranno di migliorare l'efficacia delle CAR-T e ridurre la tossicità.

In conclusione, i pazienti con DLBCL ricaduti/refrattari hanno urgentemente bisogno di nuove e più efficaci terapie che si auspica possano essere disponibili ed accessibili a tutti i centri specializzati nel futuro più immediato, per questo ancora oggi la gestione del DLBCL R/R continua a rappresentare una delle maggiori sfide per l'oncoematologia.

7 Bibliografia

- [1] Linee Guida AIOM, 2018.
- [2] Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., et al. «WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues», IARC, 2017.
- [3] Thandra, C., Barsouk, A., et al. «Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma» *MDPI Med. Sci.*, n. 9, 5, 2021.
- [4] Siegel, R., Miller, K., Jemal, A., et al. «Cancer statistics» *CA Cancer J Clin*, 69(1), pp. 7-34, 2019.
- [5] Arcaini, L., Rossi, D., Lucioni, M., et al. «The NOTCH pathway is recurrently mutated in diffuse large B-cell lymphoma associated with hepatitis C virus infection» *Haematologica*, n. 100(2), pp 246-252, 2015.
- [6] Altahan, A., Harris, L.J., Porta, J., et al. «Association Between Pesticide Use and Incidence of Diffuse Large B-Cell Lymphoma» *Anticancer Research*, n. 40 (10) pp. 5423-5426, 2020.
- [7] Castillo, J.J., Winer, E.S., et al. «Sites of extranodal involvement are prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database» *Am J Hematol.*, n. 89(3), pp. 31, 2014.
- [8] Yao, Z., Deng, L., Xu-Monette, Z.Y., et al. «Concordant bone marrow involvement of diffuse large B-cell lymphoma represents a distinct clinical and biological entity in the era of immunotherapy» *Leukemia Journal*, vol. 32, pp. 353-363, 2018.
- [9] Quintanilla-Martinez, L. «The 2016 updated WHO classification of lymphoid neoplasias» *Hematol Oncol.*, vol. 35 Suppl n. 1, pp. 37-45, 2017.
- [10] Hehn, S.T., Grogan, T.M., Miller T.P. «Utility of Fine-Needle Aspiration as a Diagnostic Technique in Lymphoma» *J Clin Oncol.*, Vol. 22(15), pp.3046-52, 2004.

- [11] Cozzolino, I., Varone, V., Picardi, M., Baldi, C., et al. «CD10, BCL6, and MUM1 expression in diffuse large B-cell lymphoma on FNA samples» *Cancer Cytopathol*, Vol. 124(2), pp. 135-43, 2016.
- [12] Xu-Monette, Z.Y., Tu, M., Jabbar, K.J., et al. «Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries» *Oncotarget*, Vol 6(8), pp. 5615-33, 2015.
- [13] Davis, T.A., Czerwinski, D.K., Levy R. «Therapy of B-cell lymphoma with anti-CD20 antibodies can result in the loss of CD20 antigen expression» *Clin Cancer Res* , vol. 5 (3), pp. 611-5, 1999.
- [14] Maeshima, A.M., et al. «Histological and immunophenotypic changes in 59 cases of B-cell non-Hodgkin's lymphoma after rituximab therapy» *Cancer Sci.* , vol. 100, n. 1, pp. 54-61, 2009 Jan.
- [15] Colomo, L., Loong, F., Rives,S., et al. «Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities» *Am J Surg Pathol.*, vol. 28, n. 6, pp. 736-47, 2004.
- [16] Vega, F., Chang, C.C., et al. «Plasmablastic lymphomas and plasmablastic plasma cell myelomas have nearly identical immunophenotypic profiles» *Mod Pathol.*, vol. 18, n. 6, pp. 806-15, 2005.
- [17] Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., et al. «Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling» *Nature* , n. 40, pp. 503-511, 2000.
- [18] Wright, G., Tan, B., Rosenwald, A., Hurt, E.H., Wiestner, A., Staudt, L.M. «A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma» *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 100, n. 17, pp. 9991-9996, 2003.
- [19] Meyer, P.N., Fu, K., Greiner, T.C., et al. «Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab» *J Clin Oncol* , vol. 29, n. 2, pp. 200-207, 2011.
- [20] Italian Group of Haemtopathology (G.I.E.), Arianna Di Napoli «A practical algorithmic approach to mature aggressive B cell lymphoma diagnosis in the

- double/triple hit era: selecting cases, matching clinical benefit» *Springer*, vol. 475, n. 4, pp. 513-518, 2019.
- [21] Hwang, H.S., Park, C.S., Yoon, D.H., et al. «High concordance of gene expression profiling correlated immunohistochemistry algorithms in diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified» *Am J Surg Pathol.*, vol. 38, n. 8, pp. 1046-1057, 2014.
- [22] Read, J.A., Koff, J.L., et al. «Evaluating cell-of-origin subtype methods for predicting diffuse large B-cell lymphoma survival: a meta-analysis of gene expression profiling and immunohistochemistry algorithms» *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, vol. 14, n. 6, pp. 460-467, 2014.
- [23] Hans, C.P., et al. «Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray» *Blood*, vol. 103, n. 1, pp. 275-282, 2004.
- [24] Robetorye, R.S., Ramsower, C.A., et al. «Incorporation of digital gene expression profiling for cell-of-origin determination (Lymph2Cx testing) into the routine work-up of diffuse large B cell lymphoma» *Journal of Hematopathology*, n. 12, pp. 3-10, 2019.
- [25] Sesques, P., Johnson N.A. «Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements» *Blood*, vol. 129, n. 3, pp. 280-288, 2017.
- [26] Miura, K., Takahashi, H., et al. «Clinical significance of coexpression of MYC and BCL2 protein in aggressive B-cell lymphomas treated with a second line immunochemotherapy» *Leuk Lymphoma*, vol. 57, n. 6, pp. 1335-1341, 2016.
- [27] Aukema, S.M., et al. «Double-hit B-cell lymphomas» *Blood*, vol. 117, n. 8, pp. 2319-2331, 2011.
- [28] Goede, V., Schulz, R.J. «Geriatric assessment in older adults with aggressive lymphoma: growing evidence and new emerging questions» *Leukemia & Lymphoma*, vol. 56, n. 4, pp. 835-836, 2015.
- [29] Cheson, B.D., Fisher, R.I., et al. «Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification» *J Clin Oncol*, vol. 32, n. 27, pp. 3059-3067, 2014.

- [30] Pelosi, E., Pregno, D., Penna, D., et al. «Role of whole-body [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (FDG-PET/CT) and conventional techniques in the staging of patients with Hodgkin and aggressive non Hodgkin lymphoma» *La radiologia medica*, vol. 113, pp. 578-590, 2008.
- [31] Khan, A.B, et al. «PET-CT staging of DLBCL accurately identifies and provides new insight into the clinical significance of bone marrow involvement» *Blood* , vol. 122, n. 1, pp. 61-67, 2013.
- [32] The International Non- Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factor Project, A predictive model for aggressive non -Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* , n. 329, pp. 987-994, 1993.
- [33] Sehn L.H., Berry, B., et al. «The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R- CHOP» *Blood*, vol. 109, n. 5, pp. 1857-1851, 2007.
- [34] Zhou Z, Shen, L.H., et al. «An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era» *Blood* , vol. 123, n. 6, pp. 837-842, 2014.
- [35] Liu, Y., Barta, S.K., et al. «Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment» *Am J Hematol* , vol. 94, n. 5, pp. 604-616, 2019 .
- [36] Green, T.M., et al. «Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone» *J Clin Oncol*, vol. 1, n. 30, pp. 3460-3467, 2012.
- [37] Aukema, S.M., et al. « Molecular Mechanisms in Malignant Lymphomas Network Project. Biological characterization of adult MYC-translocation-positive mature B-cell lymphomas other than molecular Burkitt lymphoma» *Haematologica* , vol. 99, n. 4, pp. 726-735, 2014.
- [38] Thieblemont, C., et al. «The germinal center/activated B-cell subclassification has a prognostic impact for response to salvage therapy in relapsed/refractory diffuse

- large B-cell lymphoma: a bio-CORAL study» *J Clin Oncol* , vol. 29, n. 31, pp. 4079-4087, 2011.
- [39] Chilosì, M., Doglioni, C., et al. « p21/WAF1 cyclin-kinase inhibitor expression in non-Hodgkin's lymphomas: a potential marker of p53 tumor-suppressor gene function» *Blood* , vol. 88, n. 10, pp. 4012-4020, 1996.
- [40] Ichikawa, A., Kinoshita, T., et al. «Mutations of the p53 gene as a prognostic factor in aggressive B-cell lymphoma» *Engl J Med* , vol. 337, n. 8, pp. 529-524, 1997.
- [41] Zijun, Y., Xu-Monette, Y., et al. «p63 expression confers significantly better survival outcomes in high-risk diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates p53-like and p53-independent tumor suppressor function» *Aging (Albany NY)* , vol. 8, n. 2, pp. 345-365, 2016.
- [42] Zijun, Y., Xu-Monette, et al. « Assessment of CD37 B-cell antigen and cell of origin significantly improves risk prediction in diffuse large B-cell lymphoma» *Blood* , vol. 128, n. 26, pp. 3083-3100, 2016.
- [43] Liang, X.J., et al. «Advances in Multi-Omics Study of Prognostic Biomarkers of Diffuse Large B-Cell Lymphoma» *J Biol Sci*, vol. 18, n. 4, pp. 1313-1327, 2022.
- [44] Schmitz, et al. «CNS International Prognostic Index: A Risk Model for CNS Relapse in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With R-CHOP» *Journal of Clinical Oncology*, vol. 34, n. 26, pp. 3150-3156, 2010.
- [45] Qualls, D., Abramson, J.S. «Advances in risk assessment and prophylaxis for central nervous system relapse in diffuse large B-cell lymphoma» *Haematologica*, vol. 104, pp. 25-34, 2019.
- [46] Habermann, T.M., Weòòer, E.A., et al. « Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma» *J Clin Oncol* , vol. 24, pp. 3121-3127, 2006.
- [47] Coiffier, B., Thieblemont, C., Van Den Neste, E., et al. « Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des lymphoma» *N Engl J Med.*, vol. 333, n. 23, pp. 1540-1545, 2015.

- [48] Pfreundschuh, M., et al. «CHOP-like chemotherapy plus rituximab compared with CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large B-cell lymphoma: a randomized controlled trial by the Mabthera International Trial(MInT) Group» *Lancet Oncol*, vol. 7, pp. 379-391, 2006.
- [49] Pfreundschuh, M., Ho, A.D., et al. «Prognostic significance of maximum tumour (bulk) diameter in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the Mab Thera International Trial Group» *Lancet*, vol. 9, n. 5, pp. 435-444, 2008.
- [50] Pfreundschuh, M., Murawski, N., et al. «Radiotherapy (RT) to bulky (B) and extralymphatic (E) disease in combination with 6xR-CHOP-14 or R-CHOP-21 in young good-prognosis DLBCL patients: Results of the 2x2 randomized UNFOLDER trial of the DSHNHL/GLA» *J Clin Oncol*, vol. 36, n. 15, 2018.
- [51] Poeschel, V., Held, G., et al. «Four versus six cycles of CHOP chemotherapy in combination with six applications of rituximab in patients with aggressive B-cell lymphoma with favourable prognosis (FLYER): a randomised, phase 3, non-inferiority trial» *Lancet*, vol. 394, n. 10216, pp. 2271-2281, 2019.
- [52] Illidge, T., et al. Modern radiation therapy for nodal non-Hodgkin lymphoma-target definition and dose guidelines from the International Lymphoma Radiation Oncology Group *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, n. 89, pp. 49-58, 2014.
- [53] Pfreundschuh, M., et al. «Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60)» *Lancet Oncol*, vol. 9, n. 2, pp. 105-116, 2008.
- [54] Cunningham, D., Hawkes, E.A., et al. «Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles» *Lancet*, vol. 381, n. 9806, pp. 1817-1826, 2013.
- [55] Vitolo, U., Chiappella, A., Angelucci, E., et al. « Dose-dense and high-dose chemotherapy plus rituximab with autologous stem cell transplantation for

- primary treatment of diffuse large B-cell lymphoma with a poor prognosis: a phase II multicenter study» *Haematologica*, vol. 94, n. 9, pp. 1250-1258, 2009.
- [56] Schmitz, N., et al. «Conventional chemotherapy (CHOEP-14) with rituximab or high-dose chemotherapy (MegaCHOEP) with rituximab for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: an open-label, randomised, phase 3 trial(DSHNHL 2002-1)» *Lancet Oncol*, vol. 13, n. 12, pp. 1250-1259, 2012.
- [57] Chiappella, A., Martelli, M., Angelucci, E., et al. «Rituximab-dose-dense chemotherapy with or without high-dose chemotherapy plus autologous stem-cell transplantation in high-risk diffuse large B-cell lymphoma (DLCL04):final results of a multicentre, open-lable, randomised, controlled, phase 3 study» *Lancet Oncol*, vol. 18, n. 8, pp. 1076-1088, 2017.
- [58] Wilson, W.H., Jung, S.H., Porcu, P., et al. «A Cancer and Leukemia Group B multi-center study of DA-EPOCH-rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of outcome by molecular subtype» *Haematologica*, vol. 97, n. 5, pp. 758-765, 2012.
- [59] Vitolo, U., et al «Obinutuzumab or Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma» *J Clin Oncol.* , vol. 35, n. 31, pp. 3529-3537, 2017.
- [60] Isaksen, K.T., Mastroianni, M.A., et al. «A simplified frailty score predicts survival and can aid treatment-intensity decisions in older patients with DLBCL» *Blood Adv.* , vol. 5, n. 22, pp. 4771-4782, 2021 .
- [61] Keeney, T., Belanger, E., et al. «Global Risk Indicator and Therapy for Older Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Population-Based Study» *JCO Oncol Pract.* , vol. 18, n. 3, pp. e383-e402, 2022.
- [62] Gini, G., Olivieri, J., Bocci, C., Sampaolo, M., Trappolni,S., Olivieri, A. , et al. «Preventive Effects of Cardotoxicities By Liposomal Anthracyclines non Pegilated in 95 Perspective Patients Affected By Lymphoma and Monitored By Biomarkers and Ecocardiography» *Blood* , vol. 124:5433, 2014.
- [63] Peyrade, F., Jardin, F., et al. «Attenuated immunochemotherapy regimen (R-miniCHOP) in elderly patients older than 80 years with diffuse large B-cell

- lymphoma: a multicentre, single-arm, phase 2 trial» *Lancet Oncol* 2011, vol. 12, pp. 460-468, 2011.
- [64] Moccia, A.A., Schaff, K., et al. «R-CHOP with Etoposide Substituted for Doxorubicin (R-CEOP): Excellent Outcome in Diffuse Large B Cell Lymphoma for Patients with a Contraindication to Anthracyclines» *ASH Annu Meet Abstr*, vol. 114, 2009.
- [65] Park, S.I., Grover, N.S., et al. «A phase II trial of bendamustine in combination with rituximab in older patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma» *Br J Haematol.*, vol. 175, n. 2, pp. 281-289, 2016.
- [66] Gini, G., Tani, M., Bassan, R. et al. «Lenalidomide and Rituximab (ReRi) As Front-Line Chemo-Free Therapy for Elderly Frail Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. a Phase II Study of the Fondazione Italiana Linfomi (FIL)» *Blood*, vol. 138, n. Supplement1, p. 305, 2021.
- [67] Olszewski, A., et al. «Single-agent Mosunetuzumab is a Promising Safe and Efficacious Chemotherapy-Free Regimen for Elderly/Unfit Patients with Previously Untreated Diffuse Large B cell Lymphoma» *Blood*, vol. 136, n. supplement 1 , pp. 43-45, 2020.
- [68] Davies, A., Cummin, T.E., et al. «Gene-expression profiling of bortezomib added to standard chemoimmunotherapy for diffuse large B-cell lymphoma (REMoDL-B): an open-label, randomised, phase 3 trial» *Lancet Oncol* 2019; vol. 20, pp. 649-662, 2019.
- [69] Younes, A., Sehn, L.H., et al. «Randomized phase III trial of ibrutinib and rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone in non-germinal center B-cell diffuse large B-cell lymphoma» *J Clin Oncol* , vol. 37, pp. 1285-1295, 2019.
- [70] Nowakowski, G.S., Hong, F., et al. «Addition of lenalidomide to R-CHOP (R2CHOP) improves outcomes in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): first report of ECOG-ACRIN 1412 a randomized phase II US Intergroup study of R2CHOP vs R-CHOP» *Hematol Oncol* , vol. 37, n. abstract 006, 2019.

- [71] Petrich, A.M., Gandhi, M., et al. «Impact of induction regimen and stem cell transplantation on outcomes in double-hit lymphoma: a multicenter retrospective analysis» *Blood* , vol. 124, n. 15, pp. 2354-61 , 2014.
- [72] Abramson, J.S., Ruppert, A.S., et al. «Randomized Phase II/III Study of DA-EPOCH-R +/- Venetoclax in Previously Untreated Double Hit Lymphoma: Initial Results from Alliance A051701» *BLOOD*, vol. 138, n. Supplement 1, p. 523, 2021.
- [73] Gleeson, M., Counsell, N., et al «Central nervous system relapse of diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: results of the UK NCRI R-CHOP-14 versus 21 trial» *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*, vol. 28, n. 10, pp. 2511-2516, 2017.
- [74] Philip, T., Gugliemi, C., et al. «Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma» *N Engl J Med* , n. 333, p. 1540–1545, 1995.
- [75] El Gnaoui, T., Dupuis, J., et al. «Rituximab, gemcitabine and oxaliplatin: an effective salvage regimen for patients with relapsed or refractory B-cell lymphoma not candidates for high-dose therapy» *Ann Oncol* , vol. 18, p. 1363–1368, 2007.
- [76] Weidmann, E., Kim, S.Z., Rost, A., et al. «Bendamustine is effective in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma» *Ann Oncol* , vol. 13, pp. 1285-1289, 2002.
- [77] Pettengell, R., et al. «Monotherapy with pixantrone in histologically confirmed relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma: post-hoc analyses from a phase III trial» *Br J Haematol*, vol. 174, n. 5, pp. 692-699, 2016.
- [78] Zinzani, P.L., Pellegrini, C., et al. «Combination of lenalidomide and rituximab in elderly patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: a phase 2 trial» *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* , vol. 11, pp. 462-466, 2011.
- [79] Dickinson, M., Minson, A., « Glofitamab CD20-TCB bispecific antibody» *Leukemia & Lymphoma*, vol. 62, n. 13, 2021.
- [80] Hutchings, M., et al. «Dose escalation of subcutaneous epcoritamab in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma: an open-label, phase 1/2 study» *The Lancet*, vol. 398, n. 10306, pp. 1157-1169, 2021.

- [81] Sehn, L.H, Herrera, A. F., et al. «Polatuzumab Vedotin in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma» *J Clin Onc*, vol. 38, n. 2, pp. 155-165, 2019.
- [82] Tilly, H., et al. «Polatuzumab Vedotin in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma» *N Engl J Med*, vol. 386, pp. 351-363, 2022.
- [83] Crump, M., Neelapu, S.S., et al. «Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study» *Blood*, vol. 130, pp. 1800-1808, 2017.
- [84] Turtle, C.J., Hanafi, L.A., et al. « Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells» *Sci Transl Med*, vol. 8, pp. 1-12, 2016.
- [85] Neelapu, S.S., Locke, F.L., et al. «Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell, lymphoma» *N Engl J Med*, vol. 377, pp. 2531-2544, 2017.
- [86] Abramson, J.S., Palomba, M.L., Gordon, L.I., et al. «Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study» *Lancet*, vol. 396, pp. 839-852, 2020.
- [87] Schuster, S.J., Locke, F.L., et al. «JULIET Investigators. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma» *N Engl J Med*, vol. 380, pp. 45-56, 2019.
- [88] Neelapu, S.S., et al. «Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma» *N Engl J Med*, vol. 377, pp. 2531-2544, 2017.
- [89] Brudno, J.N., Somerville, R.P., et al. «Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host-disease» *J Clin Oncol*, vol. 34, pp. 1112-1121, 2016.
- [90] Neelapu, S.S., Dickinson, M., et al. «Interim analysis of ZUMA-12: a phase 2 study of axicabtagene ciloleucel (axi-cel) as first-line therapy in patients with high-risk large B cell lymphoma (LBCL)» *Blood*, vol. 136, p. 49, 2020.
- [91] Oluwole, O.O., Bishop, M.R., et al. «ZUMA-7: A phase 3 randomized trial of axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) versus standard-of-care (SOC) therapy in

- patients with relapsed/refractory diffuse large B cell lymphoma (R/R DLBCL)» *J Clin Oncol*, 2018.
- [92] Westin, J., Bishop, M., et al. «BELINDA: a phase 3 study evaluating the safety and efficacy of tisagenlecleucel versus standard of care in adult patients with relapsed/refractory aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma» *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* , vol. 19, pp. 270-271, 2019.
- [93] Jacobson, C.A., Westin, J.R., et al. «Abstract CT055: phase 1/2 primary analysis of ZUMA-6: axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in combination with atezolizumab for the treatment of patients with refractory diffuse large B cell lymphoma (DLBCL)» *Cancer res*, vol. 80, 2020.
- [94] Jaeger, U., Worel, N., et al. «Portia: a phase 1b study evaluating safety and efficacy of tisagenlecleucel and pembrolizumab in patients with relapsed/refractory diffuse large B-CELL lymphoma» *Blood* , vol. 134, 2019.
- [95] Ruella, M., Kenderian, S.S., et al. «The Addition of the BTK inhibitor ibrutinib to anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells (CART19) improves responses against mantle cell lymphoma» *Clin Cancer Res* , vol. 22, pp. 2684-2696, 2016.
- [96] T.Fukuta, Nishimura, N., et al «Insignificance of surveillance imaging in patients with diffuse large B-cell lymphoma who achieved first complete remission: a retrospective cohort study» *J Hematol*, vol. 111, n. 4, pp. 567-573, 2020.
- [97] Guppy, A.E., Tebbutt, N.C., et al., «The role of surveillance CT scans in patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma» *Leuk Lymphoma* , vol. 44, pp. 123-125, 2003.
- [98] El-Galaly, T.C., Mylam, K.J., et al. «Role of routine imaging in detecting recurrent lymphoma: A review of 258 patients with relapsed aggressive non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma » *Am J Hematol* , vol. 89, p. 575–580, 2014.
- [99] Gerardi, C., Allocati, E., et al. «Long-Term Follow-Up of Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma Survivors: Aims and Methodological Approach for Fondazione Italiana Linfomi Systematic Reviews» *Cancers (Basel)* , vol. 13, n. 12, p. 2976, 2021.
- [100] Moser, E.C., Noordijk, E.M., et al. «Late non neoplastic events in patients with aggressive non Hodgkin lymphoma in four randomized european organisation for

- research and treatment cancer trials» *Clin Lymphoma and Myeloma* , vol. 6, pp. 122-130, 2005.
- [101] Aleman, B.M.P., Van Den Belt-Dusebout, A.W., et al. « Late cardiotoxicity after treatment for Hodgkin lymphoma» *Blood* , vol. 109, p. 1878, 2007.
- [102] Oliva, S., Puzzovivo, A., Gerardi, C., et al. «Late Cardiological Sequelae and Long-Term Monitoring in Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma Survivors: A Systematic Review by the Fondazione Italiana Linfomi» *Cancers (Basel)*, vol. 14, n. 1, p. 61, 2021.
- [103] Stone C.R., et al. «Treatment for lymphoma and late cardiovascular disease risk: A systematic review and meta-analysis» *Heal. Sci. Rep.*, vol. 2, p. e135, 2019.
- [104] Curigliano, G., Lenihan, D., Fradley, M., et al. «Management of cardiac disease in cancer patients throughout oncological treatment: ESMO consensus recommendations» *Ann Oncol*, 2020.
- [105] Franceschetti, S., Annunziata, M.A., et al. «Late Neurological and Cognitive Sequelae and Long-Term Monitoring of Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma Survivors: A Systematic Review by the Fondazione Italiana Linfomi» *Cancers (Basel)*, vol. 13, n. 14, p. 3401, 2021.
- [106] Denlinger, C.S., Sanft, T., Moslehi, J.J., et al. «NCCN Guidelines Insights: Survivorship» *J. Natl. Compr. Cancer Netw.*, 2020.
- [107] Nassi, J., De Santis, V., et al «Second Cancers in Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Systematic Review by the Fondazione Italiana Linfomi» *cancers*, vol. 14, n. 3, p. 519, 2022.
- [108] Betaia, S., «Therapy-related Myelodysplasia and acute myeloid leucemia» *Semin Oncol* , vol. 40, pp. 666-675, 2013.
- [109] Di Molfetta, S., Daniele, A., Gerardi, C., et al. «Late Endocrine and Metabolic Sequelae and Long-Term Monitoring of Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma Survivors: A Systematic Review by the Fondazione Italiana Linfomi» *Cancers basel*, vol. 14, n. 6, p. 1439, 2022.
- [110] J. Yahalom, T. Illidge, et al., «Modern Radiation Therapy for Extranodal Lymphomas: Field and Dose Guidelines from the International Lymphoma

- Radiation Oncology» *International Lymphoma Radiation Oncology*, vol. 92, pp. 11-31, 2015.
- [111] Silvestris, E., Cormio, G., et al. «Novel aspects on gonadotoxicity and fertility preservation in lymphoproliferative neoplasms» *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 151, 2020.
- [112] Viviani, S., Caccavari, V., Gerardi, C., et al. «Male and female fertility: Prevention and monitoring in classical Hodgkin lymphoma and diffuse large B cell Lymphoma survivors. A systematic review by the Fondazione ItalianaLINFOMI» *CANCERS*, vol. 13, p. 2881, 2021.
- [113] Gini, G., Annibali, O., Lupasco, D., et al. «Gonadal Function Recovery and Fertility in Women Treated with Chemo- and/o radiotherapy for Hodgkin's and non Hodgkin Lymphoma» *Chemotherapy*, pp. 1-6, 2019.
- [114] Hovart et al., *Oncology letters*, 2018 .
- [115] Hounsome, L., Eyre, T.A., et al. «Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) in patients older than 65 years: analysis of 3 year Real World data of practice patterns and outcomes in England» *British Journal of Cancer*, vol. 126, n. 134-143, 2022.
- [116] Dunleavy, K., Fanale, M. et al «Preliminary Report of a Multicenter Prospective Phase II Study of DA-EPOCH-R in MYC-Rearranged Aggressive B-Cell Lymphoma» *Blood*, vol. 124, n. 21, p. 395, 2014.
- [117] Gisselbrecht, C., Glass, B. et al. «Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era» *J Clin Oncol* , vol. 28, pp. 4184-4190, 2010.
- [118] Daneels, W., et al. «Real-World Estimation of First- and Second-Line Treatments for Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using Health Insurance Data: A Belgian Population-Based Study» *Front. Oncol.*, 2022.
- [119] Prantar P. Chakrabarti and Lalit S. Raut. «Management of relapsed-refractory diffuse large B cell lymphoma» *South Asian J Cancer*, vol. 3, n. 1, pp. 66-70, 2014.

8 Ringraziamenti

Giunta al termine di questo lavoro vorrei ringraziare chi lo ha permesso, il mio relatore di tesi, il Professor Attilio Olivieri, La ringrazio per aver accolto subito la mia richiesta di tesi e per avermi permesso di frequentare la SOD Clinica Ematologica così da conoscere meglio e da più vicino questa specialità.

Il secondo ringraziamento va al mio correlatore di tesi, il Dottor Guido Gini, La ringrazio per i consigli e indicazioni che hanno guidato la stesura di questo elaborato, per la grandissima disponibilità ma soprattutto per avermi spronata a seguire l'ambulatorio così da toccare con mano quella che è la realtà di questa disciplina.

Un sincero ringraziamento va al Dottor Lorenzo Brunetti per l'immenso aiuto datomi nella parte statistica dell'elaborato.

Infine, un grande ringraziamento va anche alla Dottoressa Giuseppina Urbano e al Dottor Mauro Petrini, per avermi accompagnata in questo anno durante la frequenza dell'ambulatorio, sostenendomi e donandomi preziosi consigli.