

*Università degli Studi di Genova*

**SCUOLA DI MEDICINA E SCIENZE  
FARMACEUTICHE**

**IL TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO ALLOGENICO DA DONATORE  
APLOIDENTICO NEI PAZIENTI CON LINFOMA DI HODGKIN  
RICADUTO/REFRATTARIO**

**Tesi di Dottorato in Ematologia**

**Presentata da:**

**Dott.**

Carlo Marani

**Relatore:**

**Chiar.mo Prof.**

Roberto M. Lemoli

**Ciclo XXX**

**Anno 2019**

*[...] ma non precipitare il tuo viaggio  
meglio che duri molti anni, che vecchio  
tu finalmente attracchi all' isoletta,  
ricco di quanto guadagnasti in via,  
senza aspettare che ti dia ricchezze.*

*Itaca t' ha donato il bel viaggio:  
senza di lei mai saresti partito [...]*

*Itaca, Costantino Kavafis*

## **INDICE**

<b>Sommario</b>	<b>4</b>
<b>Introduzione</b>	<b>6</b>
<b>Pazienti e Metodi</b>	<b>10</b>
<b>Risultati</b>	<b>15</b>
<b>Discussione</b>	<b>19</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>22</b>
<b>Tabelle e Figure</b>	<b>26</b>

## SOMMARIO

Razionale. La principale causa di prognosi infausta nei pazienti con Linfoma Hodgkin (HL) che ricevono un trapianto di cellule ematopoietiche allogeniche (HCT) è rappresentata dalla recidiva di malattia. In questo scenario, l'identificazione precoce di pazienti ad alto rischio di recidiva è il primo passo da compiere per concepire strategie terapeutiche diversificate secondo il grado di rischio di recidiva, al fine di ridurre la recidiva di malattia e ad aumentare la sopravvivenza. Metodi. Con l'obiettivo di identificare i pazienti ad alto rischio di recidiva post-trapianto, abbiamo esaminato retrospettivamente 41 pazienti con HL che avevano ricevuto un HCT aploidentico (aplo) non mieloablativo (NMA) con alte dosi di ciclofosfamide post-trapianto (PT-CY) per la profilassi della malattia da trapianto contro l'ospite (GvHD). In base ai dati presenti in letteratura, sono state analizzate le seguenti variabili come possibili fattori di rischio per l'evento recidiva: la malattia refrattaria alla prima linea di terapia (primary refractory), la recidiva di malattia entro 6 mesi da una precedente procedura di trapianto di cellule staminali autologhe (autoSCT), l'età, il numero di linee di terapia eseguite prima di ricevere il trapianto allogenico (chemotherapy burden), l'indice di comorbidità per il trapianto di cellule ematopoietiche (HCT-CI), il mismatch tra il sesso del donatore e del ricevente, lo stadio di malattia alla diagnosi e lo stato di malattia residua al pre-trapianto che emergeva dallo studio funzionale eseguito attraverso la tomografia ad emissione di positroni (FDG-PET), analizzato secondo i criteri di Deauville. Risultati. L'attecchimento delle cellule infuse è stato osservato in tutti i pazienti tranne uno: il tempo mediano per il recupero dei neutrofili e delle piastrine è stato di 15 (intervallo 13-23) e 19 (12-28) giorni, rispettivamente. Incidenza cumulativa di GvHD acuta severa (grado III-IV) e di GvHD cronica moderata-severa a 3 anni erano rispettivamente del 2,4% e dell'11,8%. La stima inferenziale a 3 anni della sopravvivenza globale (OS), della sopravvivenza libera da progressione di malattia (PFS) e della sopravvivenza libera sia da recidiva che da GvHD (GRFS) erano 75,6%, 43,9% e 39%, rispettivamente. Nell'analisi multivariata, l'OS a 3 anni era significativamente peggiore in pazienti con HCT-CI  $\geq 3$  (HR 5.0 95% CI 1.1-21.8 p = 0.03). Il tasso di recidive a 3 anni, la PFS a 3 anni e GRFS a 3 anni erano significativamente peggiori nei pazienti con HCT-CI  $\geq 3$  (HR = 3.5 95% CI

1.3-9.3  $p = 0,01$ , HR = 3,3 95% CI 1,2-9,0  $p = 0,02$  e HR = 4,2 95% CI 1,7-9,9  $p = 0,001$ , rispettivamente) e nei pazienti con punteggio Deauville  $\geq 4$  su pre-trapianto FDG-PET (HR = 4,4 95% CI 1,6-12,4  $p = 0,005$ , HR = 3,8 95% CI 1,5-9,7  $p = 0,005$  e 3,2 95% CI 1,3-7,9  $p = 0,01$ , rispettivamente). Nell' analisi univariata, la mortalità non associata al trapianto (NRM) a 3 anni era significativamente peggiore solo in pazienti con HCT-CI  $\geq 3$  (HR = 17.6 95% CI 1,4-221,0). Conclusioni. Tra i pazienti con HL ricaduto / refrattario sottoposti a trapianto allogenico NMA haplo con PT-Cy, un Deauville  $\geq 4$  alla FDG-PET del pre-trapianto e un HCT-CI  $\geq 3$  hanno identificato i pazienti ad alto rischio di recidiva. Inoltre, un HCT-CI  $\geq 3$  era associato a una NRM più elevata e a un OS inferiore.

## Introduzione

La maggior parte dei pazienti affetti da Linfoma di Hodgkin (*Hodgkin lymphoma*, HL) di nuova diagnosi vengono oggi guariti attraverso l'uso di poli-chemioterapia associata o meno a radioterapia. [1, 2] Tuttavia, circa il 10-20% dei pazienti con HL in stadio avanzato al momento della diagnosi (stadio IIB/IV) non otterranno la remissione completa in seguito alla somministrazione della terapia di prima linea, mentre un 20-30% dei pazienti ricadranno dopo aver raggiunto la remissione completa. [3] Diversamente dai pazienti con HL di nuova diagnosi, la prognosi dei pazienti con malattia refrattaria o ricaduta dopo terapia di prima-linea rimane tutt'oggi infausta. In molti di questi casi, la chemioterapia di salvataggio seguita dal consolidamento con chemioterapia ad alte dosi (*high dose chemotherapy*, HDC) e re-infusione di cellule staminali autologhe (*autologous Stem Cell Transplantation*, autoSCT) è considerato il trattamento di prima scelta [4], con la capacità di indurre remissioni durevoli di malattia in circa il 40-50% dei pazienti con malattia in ricaduta [5-7] e fino al 25-30% in quei pazienti con malattia refrattaria. [8-9] Quei pazienti che andranno incontro a ripresa o progressione di malattia dopo autoSCT, così come i pazienti con malattia refrattaria alla prima linea terapeutica ("*truly refractory*"), sono considerati candidati per approcci terapeutici sperimentali come il trapianto di cellule staminali allogeniche (*allogenic Stem Cell Transplantation*, alloSCT). [10] Il razionale terapeutico nell'uso alloSCT deriva non solo dalla citoreduzione conseguente alla somministrazione della chemio- e/o radio-terapia di condizionamento, ma anche dal potenziale beneficio di un effetto graft-versus-Hodgkin mediato dal sistema immunitario del donatore. [11-13] Tuttavia, il ruolo del alloSCT nei pazienti con HL ricaduto/refrattario è stato per molto tempo dibattuto e controverso. I primi reports sul ruolo dell'alloSCT preceduto da condizionamento mieloablativo (MA) apparsi in letteratura nel 1996 e basati sui dati di due ampi registri internazionali delle società di trapiantologia mostrarono risultati molto deludenti. Nel primo studio, basato sui dati dell'International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR), e riguardante 100 pazienti affetti da HL andati in contro ad alloSCT da fratello HLA-identico, l'overall survival (OS), la disease free survival (DFS) e la probabilità di relapse a 3 anni dal trapianto erano rispettivamente 21, 15 e

65%. [14]. Nel secondo lavoro, una case-matched analysis che includeva 45 alloSCT e 45 autoSCT presentato all' European Bone Marrow Transplantation (EBMT), *Milpied et al.* non individuarono nessuna differenza significativa nelle probabilità attuariali di OS, PFS e relapse-rate tra alloSCT e autoSCT (25%, 15%, 61% vs 37%, 24%, 61%, rispettivamente). [14] In particolar modo, l' alto tasso di mortalità legato alla procedura (4-year non-relapse-mortality, alloSCT vs autoSCT 48% vs 27%,  $p = 0.04$ ) ha precluso il diffondersi dell' alloSCT nei pazienti con HL ricaduto/refrattario. Nel tentativo di ridurre la tossicità e la mortalità legata alla procedura, diversi gruppi hanno quindi tentato di sviluppare regimi di condizionamento alternativi al condizionamento mieloablativo. Da quando le prime esperienze cliniche hanno iniziato a suggerire che il trapianto allogenico preceduto da condizionamento non-mieloablativo (NMA alloSCT) o ad intensità ridotta (reduced-intensity conditioning, RIC alloSCT) poteva rappresentare una valida alternativa al condizionamento convenzionale con schema mieloablativo, diversi gruppi hanno iniziato a sperimentare alloSCT preceduto da NMA o RIC anche nei pazienti con HL in stadio avanzato. [16, 17] Nel 2008 *Sureda et al.* hanno pubblicato un' analisi degli outcomes di 168 pazienti con HL ricaduto o refrattario che avevano eseguito un trapianto allogenico da donatore familiare HLA identico o da MUD (Matched Unrelated Donor, ovvero donatore non consanguineo HLA compatibile). [10] Settantanove pazienti avevano eseguito un condizionamento mieloablativo (MA); 89 un regime di condizionamento ad intensità ridotta (RIC). La mortalità legata alla procedura (non-relapse mortality, NRM) è stata notevolmente e significativamente ridotta nei pazienti sottoposti a RIC-alloSCT rispetto a MA-alloSCT (3-year NRM 24% vs 48%,  $p = 0.003$ ), mentre la ricaduta è stata più frequente nel braccio ad intensità ridotta (3-year relapse rate, RIC vs MA ,57.3% vs 30.4%,  $p = 0.04$ ). Nonostante il più elevato tasso di ricadute nel braccio ad intensità ridotta, la riduzione della NRM ha fatto sì che l' OS fosse tendenzialmente migliore per i pazienti sottoposti a RIC-alloSCT (3-year OS 35% vs 24%,  $p = 0.06$ ). Sulla scia di precedenti evidenze [13, 18] sull' associazione di graft-vs-Hodgkin e sviluppo di graft-vs host disease (GVHD), un dato interessante che è emerso dalla studio è stato l' analisi dell' impatto della cGVHD (chronic graft versus host disease) rispetto agli outcomes. Una land-mark analysis su tutto il gruppo dei pazienti a rischio di cGVHD ( $n = 120$ ) ha dimostrato che i pazienti

che avevano sviluppato cGVHD avevano una significativa riduzione del rischio di relapse (no cGVHD, RR 1.94, 95% CI 1.02-3.86,  $p = 0.05$ ). Tra tutte le potenziali sorgenti di cellule staminali utilizzabili a fini allo-trapiantologici, quelle ottenute da fratello HLA-identico hanno generalmente prodotto i risultati migliori in termini di OS e PFS. [19] Tuttavia, appena un terzo dei pazienti candidati ad alloSCT hanno un fratello HLA-identico [20], mentre non più del 50% dei pazienti, per quali viene attivata la ricerca del donatore non consanguineo (*unrelated donor*, UD) o del sangue cordonale (*cord blood*, CB) attraverso i registri internazionali, riesce poi ad effettuare il trapianto, [21] o per l' indisponibilità di una sorgente di cellule staminali compatibile, o per progressione di malattia prima dell' individuazione del donatore HLA-compatibile. Per superare la scarsità di donatori di cellule staminali, diversi gruppi hanno cercato di sviluppare procedure trapiantologiche che permettessero l' utilizzo di cellule staminali provenienti da donatori familiari solo parzialmente HLA-compatibili, ovvero aploidentici. Difatti, siccome qualunque paziente condivide esattamente un aplotipo con ciascuno dei genitori biologici, dei figli e con la metà dei fratelli, un donatore HLA-aploidentico eleggibile può essere individuato rapidamente in quasi la totalità dei casi. Tuttavia, le prime esperienze con questo tipo di trapianto evidenziarono come l' elevato livello di HLA-incompatibilità presente nell' alloSCT aploidentico fosse associato ad elevati tassi di mancato attecchimento (*graft failure*) e da gravi reazioni del trapianto contro l' ospite (GVHD), [22-24] manifestazioni, rispettivamente, di un'eccessiva allo-reattività delle cellule T del ricevente [25] e del donatore. [26] La manipolazione *ex vivo* del midollo del donatore al fine di rimuovere le cellule T mature/allo-reattive rappresenta una delle modalità per ridurre la tossicità del trapianto aploidentico. [27, 28] Sebbene questa procedura si associ a un ridotto rischio di GVHD, il trapianto aploidentico T-depleto è gravato da un rischio infettivo molto alto dovuto all' importante e prolungata immunodepressione conseguente alla rimozione delle cellule T. Recentemente, risultati incoraggianti sono stati ottenuti dai gruppi di Baltimora e Seattle utilizzando cellule staminali midollari aploidentiche non manipolate dopo condizionamento non-mieloablativo e con somministrazione di ciclofosfamide dopo il trapianto. [20, 29] La ciclofosfamide è un agente anti-neoplastico di uso consolidato nel regime di condizionamento per alloSCT con spiccate proprietà linfocitolitiche e immunosoppressive, selettivamente

attivo durante la fase-S del ciclo cellulare. La somministrazione di alte dosi (50mg/Kg) del farmaco, precocemente dopo il trapianto (48-72 ore dopo l'infusione) viene utilizzata per uccidere selettivamente i linfociti T allo-reattivi, sia del donatore che del ricevente, che hanno iniziato a replicare in seguito all'esposizione ad allo-antigeni incompatibili. Le cellule T non-alloreattive, e quindi non-replicanti, verrebbero in questo modo risparmiate. [30] Inoltre, la particolare modalità di somministrazione del farmaco nel post-trapianto non sembra pregiudicare l'*engraftment* delle cellule staminali, risultato sia della relativa quiescenza dei precursori linfo-emo-poietici, sia degli alti livelli di espressione intra-cellulare di aldeide-deidrogenasi, enzima capace di proteggere le cellule dai danni indotti dalla ciclofosfamide. [31] Recentemente *Burroughs et al.* hanno confrontato i risultati ottenuti con il trapianto allogenico non-mieloablativo in 90 pazienti affetti da Linfoma di Hodgkin ricaduto/refrattario. [29] Trentotto pazienti erano stati trapiantati con cellule staminali da donatore familiare HLA-identico; 24 da donatore non-consanguineo HLA-compatibile; 28 da donatore familiare aploidentico con alte dosi di ciclofosfamide dopo il trapianto. Sebbene l'analisi multivariata non ha dimostrato differenze significative in termini di sopravvivenza globale a 2 anni, la PFS a 2 anni è stata significativamente migliore nei riceventi aplo (51%) rispetto ai riceventi HLA-id (23%) e ai UD (29%),  $p = 0.03$ . Ciò nonostante la ricaduta o la progressione di malattia è stata molto elevata (40-56%) e ha rappresentato la principale causa di decesso. Lo scopo del lavoro presentato di seguito è stato quello di individuare le variabili predittive di ricaduta nei pazienti con Linfoma di Hodgkin che hanno ricevuto un trapianto di midollo osseo da donatore consanguineo aploidentico presso il centro trapianti di Genova.

## PAZIENTI E METODI

### Pazienti

Quarantaquattro pazienti consecutivi con HL hanno ricevuto un allotrapianto NMA da donatori familiari HLA-aploidentici tra settembre 2009 e giugno 2015 presso la nostra istituzione. Tre pazienti per cui non è stato possibile recuperare l' esito della tomografia a emissione di positroni (FDG-PET) al momento del HCT sono stati esclusi dall' analisi dei dati. Nel complesso, sono stati analizzati i risultati di 41 pazienti con HL che hanno ricevuto un HCT aplo. Tutti i pazienti sono stati trattati secondo un protocollo approvato dal Comitato Etico del Policlinico S. Martino di Genova. Non sono stati utilizzati criteri di esclusione per lo stato della malattia o chemio-sensibilità. In base ai dati presenti in letteratura, sono state analizzate le seguenti variabili come possibili fattori di rischio per l' evento recidiva: la malattia refrattaria alla prima linea di terapia (*primary refractory HL*), la recidiva di malattia entro 6 mesi da una precedente procedura di trapianto di cellule staminali autologhe (autoSCT) [30], l' età, il numero di linee di terapia eseguite prima di ricevere il trapianto allogenico (*chemotherapy burden*), l' indice di comorbidità per il trapianto di cellule ematopoietiche (HCT-CI) [31], il mismatch tra il sesso del donatore e del ricevente, lo stadio di malattia alla diagnosi (I-IIA vs IIB-IV) e lo stato di malattia residua al pre-trapianto che emergeva dallo studio funzionale eseguito attraverso la tomografia ad emissione di positroni (FDG-PET), analizzato secondo i criteri di Deauville [32 - 35]. Nel follow-up dei pazienti sopravvissuti i dati sono stati censorizzati al momento dell'analisi di follow-up, cioè il 4 ottobre 2016 e alla diagnosi di "*engraftment failure*" nei pazienti che hanno fallito l'HCT.

### Regime di condizionamento e profilassi della GVHD

Tutti i pazienti hanno ricevuto un regime non mieloablato costituito da ciclofosfamide (Cy) 14,5 mg / kg nei giorni - 6 e - 5, fludarabina 30 mg / mq / giorno dal giorno - 6 al giorno -2 e basse dosi (2 Gy) di radioterapia (TBI) il giorno - 1 [7]. La

profilassi della GVHD consisteva in alte dosi post-trapianto di Cy (50mg / kg) nei giorni +3 e +4; ciclosporina 1,5 mg / kg / die (e quindi rimodulata, in funzione di raggiungere un livello ematico compreso tra 200 e 400 microg / L) a partire dal giorno + 5 in infusione continua, quindi in somministrazione orale due volte / die alla dimissione del paziente, e poi ridotta gradualmente dal giorno + 100 o su parere del medico in caso di GVHD, progressione della malattia e mixed-chimera; micofenolato mofetile 15 mg / kg bid dal giorno +5 al giorno + 30. Peg-filgrastim 6 mg (Neulasta, Amgen, Mille Oaks, CA) una singola dose è stata somministrata per via sottocutanea il giorno +6.

### **Sorgente di cellule staminali**

Il midollo osseo non manipolato era la fonte di cellule staminali in tutti i pazienti al giorno 0. La raccolta di midollo osseo è stata eseguita in anestesia generale, con l'obiettivo ideale di raccogliere  $4 \times 10^8$  / kg cellule mononucleate [21].

### **Donatore**

I donatori familiari, 24 maschi e 20 femmine, erano tutti genotipicamente HLA aploidentici, tipizzati su A, B, C e DRB1. Il sesso donatore / ricevente era abbinato nel 50% dei casi [36].

### **Terapia di supporto**

La profilassi antimicrobica / fungina e il trattamento sono stati somministrati come descritto in precedenza [21] così come il monitoraggio e l'eventuale trattamento di CMV, EBV, HHV-6 ed delle infezioni virali frequenti (e.g. virus influenzali, respiratorio-sinciziale) [21].

### **18F-FDG PET/CT Scan**

Tutti i pazienti sono stati sottoposti alla preparazione con fluoro-desossi-glucosio ed alla tomografia ad emissione di positroni (FDG PET / CT) secondo le linee guida

europee [37] e i dati sono stati acquisiti usando un sistema ibrido PET / CT a 16 sezioni (Biograph 16, Siemens Medical Solutions, Knoxville TN, USA).

### **Analisi delle immagini**

L'attività metabolica residua prima del trapianto è stata valutata mediante FDG-PET. Quando disponibili, le scansioni FDG-PET del pre-trapianto sono state riviste presso l'Unità di Medicina Nucleare del nostro Ospedale, in linea con le raccomandazioni di consenso, secondo la scala a 5 punti di Deauville [37 - 40]; ovvero i siti di captazione residua prima dell'allogtrapianto sono stati confrontati con la captazione nel normale pool ematico mediastinico e fegato come segue: punteggio 1, assenza di assorbimento; punteggio 2, assorbimento  $\leq$  mediastino; punteggio 3, assorbimento  $>$  mediastino e  $\leq$  fegato; punteggio 4, assorbimento moderatamente aumentato rispetto al fegato in qualsiasi sito; punteggio 5, aumento marcatamente aumentato rispetto al fegato e / o nuovi siti di malattia. Un punteggio di Deauville pari o superiore a 4 è stato considerato positivo per FDG-PET. Quando le immagini FDG-PET non erano disponibili per la revisione centrale, lo stato FDG-PET pre-trapianto è stato stabilito sulla base del referto radiologico locale (vedere la sezione dei risultati per ulteriori dettagli).

### **FDG-PET status prima del trapianto allogenico NMA**

Tutti i 41 pazienti sono stati stratificati in base ai risultati FDG-PET pre-trapianto. In 32 (78%) su 41 pazienti, le scansioni FDG-PET pre-trapianto sono state esaminate a livello centrale; mentre nei rimanenti 9 pazienti, lo stato FDG-PET al pre-trapianto è stato desunto dalla lettura dei referti radiologici locali: pazienti con attività metabolica residua e la malattia clinicamente progressiva (5/9 pazienti) sono state identificate come FDG-PET positivo; pazienti asintomatici con referto FDG-PET negativo (4/9 pazienti) sono stati considerati FDG-PET negativi. Diciannove (46%) su 41 pazienti hanno ricevuto il trapianto con una scansione FDG-PET status negativa (Deauville  $<4$ ); 22 su 41 (54%) con scansione positiva FDG-PET (Deauville  $\geq 4$ ).

## **Terapia di allotrapianto di follow-up e post NMA per malattia recidivante / progressiva**

La rivalutazione dello stato di malattia nel post-trapianto prevedeva un esame FDG-PET a circa 2 mesi dal trapianto; le successive scansioni sono state decise a discrezione del medico. Lo sviluppo di nuove lesioni avidi di FDG in assenza di altre potenziali patologie causali o un aumento "significativo" dello *standardized uptake value* (SUV) di oltre il 25% nelle lesioni precedentemente positive è stato considerato compatibile con ricaduta / progressione di malattia. La ricaduta è stata confermata dallo studio istologico se la biopsia era possibile; altrimenti gli studi FDG-PET / CT sono stati ripetuti a 6-8 settimane per confermare la progressione.

I pazienti con recidiva di malattia potevano ricevere chemioterapia secondo la valutazione del medico di riferimento (principalmente rituximab 375 mg / mq giorno 1 e bendamustina 90 mg / mq giorni 1 -2; in casi selezionati, sono stati utilizzati gemcitabina, brentuximab vedotin, nivolumab, radioterapia *involved-field* (RT) e infusione dei linfociti del donatore (DLI). Le dosi iniziali di DLI erano di  $1 \times 10^3$  / kg di cellule CD3 + ; con aumenti di mezzo logaritmo ogni 1-2 mesi, fino alla dose massima di  $1 \times 10^7$  / kg. Pazienti con chimera mista, valutati mediante analisi PCR dei loci genici delle brevi sequenze tandem (*short tandem-repeat loci*), sono stati trattati con riduzione/sospensione di ciclosporina o DLI.

### **Analisi Statistica**

I pazienti con HL in progressione o senza remissione completa di malattia dopo la prima linea trattamento sono stati definiti *primary refractory* . La chemioterapia di salvataggio con successivo autoSCT è stata considerata, nel suo complesso, come una singola linea di terapia. La radioterapia era considerata come linea di terapia se usata come trattamento di una recidiva malattia localizzata di malattia; è stata considerata parte della stessa linea terapeutica se usata come consolidamento di una chemioterapia effettuata per massa *bulky*. Il recupero dei neutrofili è stato considerato una conta dei neutrofili  $\geq 0,5 \times 10^9$  / L per più di 2 giorni consecutivi senza supporto di G-CSF; il recupero piastrinico è stato considerato una conta

piastrinica  $\geq 20 \times 10^9 / L$  per più di 2 giorni consecutivi senza trasfusioni. La diagnosi GVHD e la valutazione clinica sono state eseguite come descritto in letteratura [41, 42]. La *non-relapse mortality* (NRM) è stata definita come la morte senza ricorrenza o persistenza di malattia. Nella stima dell'incidenza cumulativa, la recidiva di malattia è stata considerata un rischio competitivo per la mortalità senza ricaduta (e viceversa). La Graft Relapse Free Survival (GRFS) è un nuovo endpoint composito recentemente proposto in letteratura [43, 44] per la valutazione delle piattaforme di trapianto sia standard che innovative. Gli eventi significativi per la definizione della GRFS sono stati la GVHD acuta di grado 3-4, GVHD cronica-severa, ovvero con l'indicazione a ricevere terapia immunosoppressiva sistemica, la recidiva della malattia o la morte per qualsiasi causa. Il modello di stima secondo il metodo proposto da Kaplan-Meier è stato utilizzato per determinare la probabilità non-aggiustata di sopravvivenza globale (OS), sopravvivenza libera da progressione (PFS) e GRFS. Le eventuali differenze tra le curve di sopravvivenza sono state analizzate attraverso il log-rank test.

Le variabili continue sono presentate come mediana (1° - 3° quartile), mentre le variabili categoriali sono presentate come frequenze. Confronti statistici tra i fattori categoriali, non inclusi i dati time-to-event, sono stati completati con il test  $\chi$ -square. Le variabili continue sono state analizzate con il test U-Mann-Whitney per dati non parametrici. L'analisi univariata e multivariata per identificare le eventuali variabili al pre-trapianto capaci di influenzare la prognosi dei pazienti è stata eseguita utilizzando il modello di regressione di Cox. Solo i fattori significativamente associati all'esito nell'analisi univariata sono stati inclusi nell'analisi multivariata seguendo una procedura graduale.

Il modello di Fine and Gray per rischi concorrenti [45, 46] è stato utilizzato per valutare l'impatto di FDG-PET su i risultati dello studio. Sub-distribution hazard ratio (SHR) e relativi intervalli di confidenza al 95% (CI) sono stati mostrati per il modello Fine and Gray. L'incidenza cumulativa con analisi dei rischi concorrenti [47] sono stati calcolati per gli eventi recidiva, NRM, GVHD acuta e cronica. Graft-failure, recidiva, e la morte sono stati considerati eventi concorrenti nella stima dell'incidenza cumulativa di GVHD. I valori di  $P < 0,05$  sono stati considerati statisticamente

significativi. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando SAS versione 9.3 (SAS Institute, Cary, NC) e R.

## **RISULTATI**

Le caratteristiche dei pazienti sono riportate nella Tabella 1. Tutti i pazienti analizzati in questo avevano ricevuto almeno 3 linee di chemioterapia convenzionali prima del trapianto. La maggior parte di loro (30 su 41; 73%) erano refrattari alla chemioterapia di prima linea. La terapia di prima linea è stata l' ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina) in quasi tutti i casi. La chemioterapia di salvataggio per la malattia recidivante / refrattaria è stata IGEV (ifosfamide, gemcitabina, vinorelbina e prednisolone) DHAP / DHAOX (desametasone, cisplatino / oxaliplatino e citarabina) o BEACOPP / BEACOPPescalizzato (bleomicina, etoposide, adriamicina, ciclofosfamide, vincristina, prednisone) nella maggior parte dei casi. Ventisei su 41 (63%) pazienti hanno ricevuto radioterapia, sia come consolidamento di malattia bulky o come trattamento di una recidiva locale. Ventidue dei 41 (54%) avevano ricevuto brentuximab vedotin e 40 su 41 (97%) avevano ricevuto un autoSCT. Cinque pazienti avevano ricevuto un trapianto con modalità tandem, ovvero un trapianto di aploidentico eseguito dopo un tempo mediano di 96 giorni (range 78-166) da un precedente autoSCT. Nessun paziente aveva ricevuto terapia con inibitori del checkpoint prima della procedura allotrapiantologica.

### **Attecchimento**

Tutti i pazienti tranne 1 hanno attecchito al trapianto; il paziente che ha fallito il trapianto allogenico ha avuto recupero autologo di neutrofili e piastrine dopo la re-infusione di cellule staminali autologhe crioconservate. La mediana di recupero dei neutrofili e delle piastrine erano rispettivamente di 15 giorni (range 13-23) e 19 (12-28).

Tutti i pazienti sono stati valutati per il chimerismo dal giorno +30 dopo il trapianto su campione di midollo osseo non frazionato, così come sul sangue periferico CD3 +

cellule selezionate. Quattro (10%) su 41 pazienti erano chimere miste (7-21% del destinatario). Tutti hanno convertito in stato di donatore completo (ricevente 0%) nelle successive valutazioni del chimerismo. In 1 paziente su 4 con chimera mista (21% ricevente) la ciclosporina è stata dimezzata il giorno 53 dal trapianto. Negli altri 3 pazienti con chimera mista (7- 10% del destinatario) non sono stati adottati interventi.

## **GVHD**

L'incidenza cumulativa a 100 giorni di GVHD acuta di grado II-IV è stata del 20,7% (IC al 95%: 19,9% -21,6%). La GVHD acuta grave di grado III-IV è stata diagnosticata in un solo paziente (l'evento si è verificato dopo 27 giorni). L'incidenza cumulativa di 100 giorni di GVHD acuta di grado III-IV è stata del 2,4% (IC 95%: 2,3% -2,6%).

Complessivamente, 5 pazienti hanno sviluppato una GVHD cronica (cGVHD) di grado moderato-grave, con un'incidenza cumulativa a 3 anni dell'11,8% (95% IC: 11,1% - 12,5%). I siti di cGVHD erano la cute (2 pazienti), il polmone (2pazienti) e sia cute che polmone nell'altro paziente. Tutti e cinque i pazienti sono stati trattati con steroidi 1mg / kg; due pazienti hanno ricevuto anche micofenolato mofetile; una ciclosporina; e uno fotoafesi extracorporea. Nessuno dei cinque pazienti è stato esposto a un inibitore del checkpoint prima della diagnosi di cGVHD

## **NRM, PFS, GRFS e OS**

La mediana di follow-up per i pazienti sopravvissuti è stata di 3,25 anni (range 1,29 - 7,06); l'incidenza cumulativa a 3 anni di NRM è stata del 7,5% (IC 95%: 7,0% -8,1%) (Figura 1c). Le cause di NRM sono state cGVHD, miocardite e polmonite e si sono verificati rispettivamente a 8, 16 e 51 mesi dal trapianto allogenico.

Complessivamente, la ricaduta o la progressione di malattia sono state diagnosticate in 20 pazienti, con un'incidenza cumulativa di recidiva/progressione a 3 anni del 55,4% (IC 95%: 53,8% -57,0%) (Figura 1d). La mediana dell'evento ricaduta è stata di 9 mesi (5 - 14). Sette recidive sono state documentate istologicamente mentre in 13 pazienti, la diagnosi di recidiva è stata effettuata come precedentemente descritto

nella sezione metodi. Sette pazienti (35%) sono morti per progressione di malattia; 7 (35%) sono attualmente fuori terapia in remissione clinica e radiologica e 6 (30%) erano in corso di terapia al momento dell'analisi dei dati. La terapia più comunemente utilizzata per la ricaduta post trapianto è stata a combinazione di immuno-chemioterapia e DLI. Tredici pazienti hanno ricevuto R-Bendamustine e DLI; tra questi 5 pazienti hanno ricevuto anche brentuximab vedotin, 2 pazienti radioterapia e 1 paziente nivolumab. I restanti 6 pazienti sono stati trattati con chemioterapia e / o radioterapia senza l'uso di DLI. Diciotto su 41 pazienti (43%) sono in remissione completa dopo il trapianto.

Complessivamente, le stime di Kaplan-Meier per OS a 3 anni, PFS e GRFS erano del 75,6%, 43,9% e 39%, rispettivamente (figura 2). Nelle tabella n. 3 e 4 e nelle figure 3 e 4 sono rappresentate le analisi dei risultati in base alle variabili pre-trapianto.

### **Analisi univariata**

Nell'analisi univariata, la NRM a 3 anni è risultata significativamente peggiore solo nei pazienti con HCT-CI di 3 o maggiore (HR = 17.6 95% CI 1.4-221.0). L'FDG-PET pre-trapianto non ha avuto alcun impatto sull'acuto GVHD (HR = 0,9; IC 95%: 0,5-1,8; p = 0,86), GVHD cronica (HR = 1,3; IC 95%: 0,2-7,0; p = 0,79) e sulla sopravvivenza globale a 3 anni (HR = 2,0; IC 95%: 0,5-7,8; p = 0,31).

### **Analisi multivariata di Cox**

Nell'analisi multivariata di Cox, la sopravvivenza globale a 3 anni è risultata significativamente peggiore nei pazienti con HCT-CI  $\geq 3$  (HR 5.0 95% CI 1.1-21.8 p = 0.03). Tasso di recidiva a tre anni, PFS a 3 anni e la GRFS a 3 anni sono state significativamente peggiori nei pazienti con HCT-CI  $\geq 3$  (HR = 3.5 95% CI 1.3-9,3 p = 0,01, HR = 3,3 95% CI 1,2-9,0 p = 0,02 e HR = 4,2 95% CI 1,7-9,9 p = 0,001, rispettivamente) e nei pazienti con punteggio Deauville  $\geq 4$  alla FDG-PET del pre-trapianto (HR = 4,4 95% CI 1,6-12,4 p = 0,005, HR = 3,8 95% CI 1,5-9,7 p = 0,005 e 3,2 95% CI 1,3-7,9 p = 0,01, rispettivamente). Tutti e 5 i pazienti trattati secondo la strategia tandem hanno ottenuto una remissione completa dopo autoSCT e sono

stati sottoposti a HCT con una scansione FDG-PET negativa (punteggio di Deaville  $\leq$  3). Tuttavia, 2/5 pazienti hanno recidivato a 5 e 12 mesi dopo il trapianto.

### **Significato clinico della prima FDG-PET del post-trapianto**

Trentatré scansioni FDG-PET post-trapianto erano disponibili per la revisione centrale. La mediana della prima valutazione FDG-PET post-trapianto è stata di 66 giorni (51-76). La scansione FDG-PET era negativa in 35 su 38 (92%) e positiva in 3 su 38 (8%) pazienti. In questi pazienti, l'FDG-PET era già positivo al pre-trapianto in due soggetti, che sono successivamente deceduti per progressione malattia. Il terzo paziente, che presentava una FDG-PET negativo pre-trapianto, è stato curato per malattia ricaduta, ed è ancora vivo dopo 364 giorni dal trapianto.

Tra 35 pazienti con PET FDG post-trapianto negativo, 14 (40%) recidivati. Per quanto riguarda il valore predittivo dell'imaging post-trapianto, il valore predittivo negativo calcolato di una scansione FDG-PET negativa era solo del 60% (IC 95% 54,6% - 65,1%).

## DISCUSSIONE

L'analisi dei dati ha confermato la fattibilità e l'efficacia del trapianto aploidentico preceduto da condizionamento NMA nei pazienti con Linfoma di Hodgkin ricaduto/refrattario. La procedura di trapianto è stata ben tollerata con un alto tasso di attecchimento, bassa incidenza di GVHD e NRM come mostrato in lavori precedenti [21, 29, 48]. L'effetto trapianto-linfoma può aver permesso di superare la chemio-refrattarietà della malattia permettendo di raggiungere OS e PFS a 3 anni del 75,6% e del 43,9%, rispettivamente, supportando il ruolo trapianto allogenico nei pazienti con HL in fase avanzata di malattia [21, 29, 48, 49]. Nella nostra analisi eseguita presso un unico centro clinico, un HCT-CI  $\geq 3$  è stato l'unico fattore associato ad una peggiore OS dei pazienti trapiantati. Nel nostro studio, la maggior parte delle comorbilità associate ad un valore di HCT-CI  $\geq 3$  erano il risultato della tossicità dei precedenti trattamenti, così come evidenziato nell'analisi univariata, dove il numero di linee di chemioterapia eseguite prima del trapianto era l'unico altro fattore significativo associato ad una peggiore OS. Questo risultato, sebbene necessiti di essere confermato in altri studi, dovrebbe sollevare una riflessione sulla tempistica della procedura allogenica e sostenere un approccio più globale e collegiale tra reparti di chemioterapia e il centro trapianti. Inoltre, un HCT-CI  $\geq 3$  e un punteggio di Deauville  $\geq 4$  alla FDG-PET del pre-trapianto erano associati a un più alto tasso di recidive, una riduzione della PFS e GRFS. Mentre nell'autotrapianto il ruolo della FDG-PET pre-ASCT è ben consolidato [50 - 54], pochi lavori e con risultati discordanti sono stati pubblicati sulla valutazione FDG-PET prima dell'allogotrapianto [32 - 35].

Inoltre, studi precedenti hanno affrontato questo problema sia su una popolazione eterogenea di pazienti [32] o su neoplasie ematologiche diverse dal linfoma di Hodgkin [33 - 35]. Recentemente, Reyal et al., hanno pubblicato i risultati di un ampio studio multicentrico e retrospettivo sui pazienti con HL sottoposti a un trapianto allogenico mieloablativo T-depleto [55]. Nel loro lavoro, il ruolo della FDG-PET nel pre-trapianto è stato messo in discussione. Tuttavia, la piattaforma utilizzata per eseguire HCT era significativamente differente da quella analizzata nel nostro studio (e.g. basata sia sulla deplezione delle cellule T che su un regime di condizionamento più intenso). D'altra parte, se i nostri risultati saranno confermati in altri lavori simili,

lo stato FDG-PET prima di un allotrapianto NMA potrebbe essere uno dei criteri da considerare per l'adattamento dell'immuno-modulazione post-trapianto, come il tailoring della terapia immunosoppressiva con ciclosporina, o l' utilizzo profilattico nel post-trapianto di DLI e inibitori del checkpoint. Inoltre, il nostro studio ha evidenziato che i pazienti recidivanti dopo un allotrapianto NMA potrebbero ancora ottenere una lunga durata remissione in seguito alla somministrazione di immuno-chemioterapia, IF-RT, inibitore del checkpoint e DLI [56]. Nel nostro lavoro è inoltre emerso un basso valore predittivo negativo della prima rivalutazione FDG-PET nel post-trapianto. L' attuale standard di eseguire il follow-up FDG-PET a 2 mesi dal trapianto, soprattutto per quei pazienti in completa remissione metabolica prima del trapianto potrebbe quindi essere messa in discussione.

Il limite principale del nostro studio è nella natura retrospettiva dell'analisi e nella variabilità delle strategie di chemioterapia utilizzate prima del trapianto. La variabilità delle terapia di salvataggio e il riferimento, su base nazionale, di pazienti provenienti da altri centri oltre il nostro, non ci ha permesso di valutare correttamente la qualità della risposta alla chemioterapia di salvataggio. Data il valore prognostico significativo delle categorie "chemosensitive" e "chemorefractory" [57] nella popolazione con HL, speriamo che le future sperimentazioni cliniche saranno in grado di correlare la qualità della risposta dopo la chemioterapia di salvataggio con l' esito della FDG-PET al pre-trapianto, al fine di gettare le basi per strategie precoci di immuno-modulazione nel post-trapianto.

In conclusione, suggeriamo il potenziale ruolo di PET e HCT-CI prima di una procedura trapiantologica aploidentica con piattaforma NMA al fine di identificare una popolazione di pazienti ad alto rischio di recidiva precoce e / o fallimento del trapianto. Questa ipotesi dovrebbe essere studiata in uno studio prospettico multicentrico che contempli l' utilizzo di nuove strategie terapeutiche per la prevenzione delle ricadute.

## **RINGRAZIAMENTI**

Il Dott. Marani desidera ringraziare tutti i coautori che hanno collaborato alla revisione del manoscritto

Un ringraziamento particolare a Barbara Bruno, Segreteria Nazionale GITMO, per il supporto nella raccolta e nell'analisi dei dati

## Bibliografia

1. Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M, Lathan B, Paulus U, et al. German Hodgkin's Lymphoma Study Group. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 2003 Jun 12;348(24):2386-95
2. Eich HT, Diehl V, Gorgen H, Pabst T, Markova J, Debus J et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved-field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD11 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4199–4206.
3. Avivi I, Goldstone AH. Autologous stem cell transplantation in Hodgkin's disease (review). *Ann Oncol*. 2002;13(Suppl. 1): 122-127.
4. Ljungman P, Bregni M, Brune M, Cornelissen J, de Witte T et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant*. 2010 Feb;45(2):219-34
5. Linch DC, Winfield D, Goldstone AH, Moir D, Hancock B, McMillan A et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993; 341:1051–1054.
6. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M, Sieber M, Carella AM, Haenel M et al. on behalf of the German Hodgkin's Lymphoma Study Group, and the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2065–2071.
7. Gopal AK, Metcalfe TL, Gooley TA, Pagel JM, Petersdorf SH, Bensinger WI et al. High-dose therapy and autologous stem cell transplantation for chemoresistant Hodgkin lymphoma: the Seattle experience. *Cancer* 2008; 113: 1344–1350.
8. Lazarus HM, Rowlings PA, Zhang MJ, Vose JM, Armitage JO, Bierman PJ et al. Autotransplants for Hodgkin's disease in patients never achieving remission: a report from the Autologous Blood and Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol* 1999; 17: 534–545.
9. Robinson SP, Goldstone AH, Mackinnon S, Carella A, Russell N, de Elvira CR et al. Chemoresistant or aggressive lymphoma predicts for a poor outcome following reduced-intensity allogeneic progenitor cell transplantation: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation. *Blood* 2002; 100: 4310–4316.
10. Sureda A, Robinson S, Canals C, Carella AM, Boogaerts MA, Caballero D et al. Reduced-intensity conditioning compared with conventional allogeneic stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 2008 Jan 20;26(3):455-62.
11. Jones RJ, Ambinder RF, Piantadosi S, et al: Evidence of a graft versus lymphoma effect associated with allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 77:649-653, 1991
12. Anderson JE, Litzow MR, Appelbaum FR, et al: Allogeneic, syngeneic, and autologous marrow transplantation for Hodgkin's disease: The 21-year Seattle experience. *J Clin Oncol* 11:2342-2350, 1993
13. Akpek G, Ambinder RF, Piantadosi S, et al: Long-term results of blood and marrow transplantation for Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* 19:4314-4321, 2001
14. Gajewski JL, Phillips GL, Sobocinski KA, Armitage JO, Gale RP et al. Bone marrow transplants from HLA-identical siblings in advanced Hodgkin's disease. *J Clin Oncol*. 1996 Feb;14(2):572-8.
15. Milpied N, Fielding AK, Pearce RM, Ernst P, Goldstone AH. Allogeneic bone marrow transplant is not better than autologous transplant for patients with relapsed Hodgkin's disease. European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 1996 Apr;14(4):1291-6.
16. Alvarez I, Sureda A, Caballero MD, Urbano-Ispizua A, Ribera JM et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation is an effective therapy for refractory or relapsed Hodgkin lymphoma: results of a Spanish prospective cooperative protocol. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Feb;12(2):172-83.

17. Peggs KS, Hunter A, Chopra R, Parker A, Mahendra P, Milligan D et al. Clinical evidence of a graft-versus-Hodgkin's-lymphoma effect after reduced-intensity allogeneic transplantation. *Lancet* 2005; 365: 1934–1941.
18. Peniket AJ, Ruiz de Elvira C, Taghipour G, et al: An EBMT matched study of allogeneic stem cell transplantation for lymphoma: Allogeneic stem cell transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher-procedure related mortality rather than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant* 31:667-678, 2003
19. Szydlo R, Goldman JM, Klein JP, et al. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol.* 1997;15:1767-1777.
20. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, Chen AR, Leffell MS et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008 Jun;14(6):641-50.
21. Raiola A, Dominietto A, Varaldo R, Ghiso A, Galaverna F et al. Unmanipulated haploidentical BMT following non-myeloablative conditioning and post-transplantation CY for advanced Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2014 Feb;49(2):190-4
22. Anasetti C, Amos D, Beatty PG, et al. Effect ofHLAcompatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med.* 1989;320:197-204.
23. Anasetti C, Beatty PG, Storb R, et al. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma. *Hum Immunol.* 1990;29:79-91.
24. Kanda Y, Chiba S, Hirai H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood.* 2003;102: 1541-1547.
25. Kernan NA, Flomenberg N, Dupont B, O'Reilly RJ. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor alloctotoxic T lymphocytes. *Transplantation.* 1987;43: 842-847.
26. Kernan NA, Collins NH, Juliano L, Cartagena T, Dupont B, O'Reilly RJ. Clonable T lymphocytes in T cell-depleted bone marrow transplants correlate with development of graft-v-host disease. *Blood.* 1986;68:770-773.
27. Aversa F, Tabilio A, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med.* 1998;339:1186-1193.
28. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol.* 2005;23:3447-3454.
29. Burroughs LM, O'Donnell PV, Sandmaier BM, Storer BE, Luznik L et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008 Nov;14(11):1279-87.
30. Reddy NM, Perales MA. Stem cell transplantation in Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014 Dec;28(6):1097-112.
31. Sorrow ML, Maris MB, Storb R et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2015 Oct; 106 (8): 2912-2919
32. Doderio A, Crocchiolo R, Patriarca F, et al. Pretransplantation [18-F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography scan predicts outcome in patients with recurrent Hodgkin lymphoma or aggressive non-Hodgkin lymphoma undergoing reduced-intensity conditioning followed by allogeneic stem cell transplantation. *Cancer.* 2010 Nov 1;116(21):5001-11
33. Sauter CS, Lechner L, Scordo M, et al. Pretransplantation fluorine-18-deoxyglucose--positron emission tomography scan lacks prognostic value in chemosensitive B cell non-hodgkin

- lymphoma patients undergoing nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Jun;20(6):881-4
34. Bachanova V, Cao Q, Ustun C et al. Pretransplantation fluorine-18-deoxyglucose-positron emission tomography scan has no influence on relapse and survival in non-Hodgkin lymphoma patients undergoing allo-SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Jan; 50(1):142-4.
  35. Ulaner GA, Goldman DA, Sauter CS, et al. Prognostic Value of FDG PET/CT before Allogeneic and Autologous Stem Cell Transplantation for Aggressive Lymphoma. *Radiology*. 2015 Nov;277(2):518-26.
  36. Raiola AM, Risitano A, Sacchi N et al. Impact of HLA Disparity in Haploidentical Bone Marrow Transplantation Followed by High-Dose Cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Jan;24(1):119-126
  37. Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJ, et al. European Association of Nuclear Medicine (EANM). FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumor imaging: version 2.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015 Feb;42(2):328-54
  38. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol*. 2014 Sep 20;32(27):3048-58.
  39. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014 Sep 20;32(27):3059-68.
  40. Johnson SA, Kumar A, Matasar MJ et al. Imaging for Staging and Response Assessment in Lymphoma *Radiology*. 2015 Aug;276(2):323-38. doi: 10.1148/radiol.2015142088.
  41. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Mar;21(3):389-401
  42. Harris AC, Young R, Devine S, et al. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jan;22(1):4-10.
  43. Holtan SG, DeFor TE, Lazaryan A, et al. Composite end point of graft-versus-host disease-free, relapse-free survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2015 Feb 19;125(8):1333-8.
  44. McCurdy SR1, Kasamon YL1, Kanakry CG1, et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica*. 2017 Feb;102(2):391-400
  45. Fine JP, Gray RJ. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 2011; 94: 496 – 509
  46. Kalbfleisch JD, Prentice HM. *The Statistical Analysis of Failure Time Data*. New York: Wiley, 1980
  47. Putter H, Fiocco M, Geskus RB. Tutorial in biostatistics: competing risks and multistate models. *Stat Med* 2007; 26: 2389 – 2430
  48. Castagna L, Bramanti S, Devillier R, et al. Haploidentical transplantation with post-infusion cyclophosphamide in advanced Hodgkin lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2017 May;52(5):683-688.
  49. Thomson KJ, Kayani I, Ardeshtna K et al. A response-adjusted PET-based transplantation strategy in primary resistant and relapsed Hodgkin Lymphoma. *Leukemia*. 2013 Jun;27(6):1419-22

50. Jabbour E, Hosing C, Ayers G, et al. Pretransplant positive positron emission tomography/gallium scans predict poor outcome in patients with recurrent/refractory Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2007 Jun 15;109(12):2481-9
51. Moskowitz CH1, Matasar MJ, Zelenetz AD, et al. Normalization of pre-ASCT, FDG-PET imaging with second-line, non-cross-resistant, chemotherapy programs improves event-free survival in patients with Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2012 Feb 16;119(7):1665-70.
52. Moskowitz AJ1, Yahalom J, Kewalramani T, et al. Pretransplantation functional imaging predicts outcome following autologous stem cell transplantation for relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2010 Dec 2;116(23):4934-7.
53. Poulou LS1, Thanos L, Ziakas PD. Unifying the predictive value of pretransplant FDG PET in patients with lymphoma: a review and meta-analysis of published trials. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010
54. Adams HJ, Kwee TC. Prognostic value of pretransplant FDG-PET in refractory/relapsed Hodgkin lymphoma treated with autologous stem cell transplantation: systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2016 Apr;95(5):695-706
55. Reyat Y, Kayani I, Bloor AJ, et al. Impact of Pretransplantation (18)F-Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography on Survival Outcomes after T Cell-Depleted Allogeneic Transplantation for Hodgkin Lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jul;22(7):1234-41.
56. Ghiso A, Raiola AM, Gualandi F. DLI after haploidentical BMT with post-transplant CY. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Jan;50(1):56-61.
57. Sureda A, Canals C, Arranz R. 8. Allogeneic stem cell transplantation after reduced intensity conditioning in patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. Results of the HDR-ALLO study - a prospective clinical trial by the Grupo Español de Linfomas/Trasplante de Médula Osea (GEL/TAMO) and the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2012 Feb;97(2):310-7

**Tabella 1. Caratteristiche cliniche, demografiche e terapie effettuate dei 41 pazienti che hanno ricevuto un NMA haplo alloSCT. I dati sono espressi come mediane (1<sup>st</sup>-3<sup>rd</sup> quartile) o frequenze assolute (percentuali)**

	Tutti i pazienti
N.	41
Età, anni	34 (25.7-37.0)
Genere, maschile	25 (60.9)
Compatibilità di genere donatore/ricevente	19 (46.0)
Incompatibilità con donatore femminile	12 (29.2)
Risposta alla prima linea di terapia	
Refrattario	30 (73.1)
Ricaduto	11 (27.9)
autoSCT	40 (97.5)
Eseguito come "bridge" per l' allogenico	5/40 (12.5)
Eseguito come parte di una terapia di salvataggio	35/40 (87.5)
Durata della remissione dopo autoSCT, mesi	4.5 (0-8.8)
Brentuximab	22 (53.6)
Precedente radioterapia	26 (63.4)
Numero di line terapeutiche	4 (4-6)
Tempo intercorso tra la diagnosi di HL e l' alloSCT, mesi	34.6 (22.8-60.8)
CMV, sierologia	
pos/pos	22 (53.7)
neg/pos	7 (17.1)
neg/neg	4 (9.7)
pos/neg	8 (19.5)
Totale cellule infuse *10 <sup>8</sup>	3.6 (2.6-4.1)
CD34+*10 <sup>6</sup>	3.9 (3.2-5.7)
CD3+*10 <sup>6</sup>	35.3 (25.1-46.9)
HCT-CI ≥ 3	8 (19.5)
Pazienti con FDG-PET positive al pre-alloSCT (Deauville score ≥4)	22 (53.7)
Attecchimento	40 (97.5)

autoSCT: trapianto di cellule staminali autologhe; alloSCT: trapianto di cellule staminali allogeniche HCT-CI: Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index; FDG-PET: tomografia ad emissione di positroni

**Tabella 2.. Caratteristiche cliniche, demografiche e terapie effettuate nei 41 pazienti in base ai risultati della tomografia ad emissione di positroni (FDG-PET). La FDG-PET è stata considerata positiva quando il punteggio attribuito all' interpretazione dell' immagine era  $\geq 4$ , secondo la scala a 5-punti di Deauville. I dati sono espressi come mediane (1<sup>st</sup>-3<sup>rd</sup> quartile) o frequenze assolute (percentuali)**

	<b>FDG-PET positivi</b>	<b>FDG-PET negativi</b>	p-value
N	22	19	
Età, anni	31.1 (26.1-36.2)	30.5 (25.8-39.5)	0.948
Genere, maschile	14 (63.6)	11 (36.4)	0.707
Compatibilità di genere donatore/ricevente	8 (36.4)	13 (68.4)	0.04
Risposta alla prima linea di terapia			0.138
Refrattario	14 (63.6)	16 (84.2)	
Ricaduto	8 (36.4)	3 (15.8)	
autoSCT			1.0 <sup>§</sup>
Eseguito come "bridge" per l' alloigenico	1 (4.8)	1 (5.3)	
Eseguito come parte di una terapia di salvataggio	20 (95.2)	18 (94.7)	
Durata della remissione dopo autoSCT, mesi	5.0 (0-10.2)	0.0 (0.0-8.2)	0.237
Brentuximab	9 (40.9)	13 (68.4)	0.078
Precedente radioterapia	15 (68.2)	11 (57.9)	0.495
Numero di line terapeutiche	4 (3-5)	4 (4-6)	0.484
Tempo intercorso tra la diagnosi di HL e l' alloSCT	33.9 (23.4-62.6)	33.1 (21.0-54.4)	0.509
Totale cellule infuse*10 <sup>8</sup>	3.6 (3.0-4.2)	3.3 (2.2-4.1)	0.216
CD34+*10 <sup>6</sup>	4.2 (3.2-5.7)	3.5 (3.0-5.9)	0.938
CD3+*10 <sup>6</sup>	35.3 (26.8-49.3)	33.9 (24.5-49.0)	0.650

<sup>§</sup> Fisher 's Exact Test;

autoSCT: trapianto di cellule staminali autologhe; FDG-PET: tomografia ad emissione di positroni

**Tabella 3. Analisi univariate e multivariata secondo il modello di Cox della sopravvivenza globale (OS), della mortalità non-dipendente dalla ricaduta (NRM), del tasso di ricadute (Relapse Rate), della sopravvivenza libera da progressione di malattia (PFS) e della sopravvivenza libera da graft e da ricaduta (GRFS) rispetto alle variabili individuate nel pre-trapianto.**

Variabili	OS a 3 anni HR (95%CI)		NRM a 3 anni HR (95%CI)		Relapse Rate a 3 anni HR (95%CI)		PFS a 3 anni HR (95%CI)		GRFS a 3 anni HR (95%CI)	
	Univ.	Cox	Univ.	Cox	Univ.	Cox	Univ.	Cox	Univ.	Cox
FDG –PET al pre-trapianto (Deauville ≥ 4 vs < 4)	2.0 (0.5-7.8) p=0.31		0.6 (0.1-7.0) p=0.70		3.9 (1.4-10.7) <b>p=0.01</b>	4.4 (1.6-12.4) <b>p=0.005</b>	2.7 (1.1-6.7) <b>p=0.03</b>	3.8 (1.5-9.7) <b>p=0.005</b>	3.2 (1.3-7.7) p=0.01	3.2 (1.3-7.9) <b>p=0.01</b>
Risposta alla prima linea di terapia (refrattari vs ricaduti)	0.9 (0.2-3.5) p=0.89		0.8 (0.1-9.3) p=0.89		1.2 (0.4-3.2) p=0.75		1.2 (0.5-3.1) p=0.67		1.5 (0.6-3.8) p=0.37	
Tempo di remissione dopo autoSCT (≤ 6 months vs > 6 months)	0.6 (0.2-2.2) p=0.42		0.4 (0.04-4.8) p=0.49		1.1 (0.4-2.8) p=0.84		1.0 (0.4-2.4) p=0.99		1.2 (0.5-2.8) p=0.68	
Numero di linee terapeutiche (continuous)	1.7 (1.1-2.4) <b>p=0.01</b>	1.3 (0.8-2.0) p=0.23	2.7 (0.9-7.8) p=0.07		1.3 (1.0-1.8) p=0.09		1.4 (1.0-1.9) <b>p=0.03</b>	1.3 (1.0-1.8) p=0.06	1.2 (0.9-1.7) p=0.12	
Età (continuous)	1.0 (0.9-1.1) p=0.98		1.0 (0.9-1.1) p=0.59		1.0 (1.0-1.0) p=0.85		1.4 (1.0-1.9) <b>p=0.03</b>	1.0 (1.0-1.1) p=0.60	1.0 (1.0-1.0) p=0.55	
HCT-CI (≥ 3 vs < 3)	7.7 (2.2- 27.2) <b>p=0.002</b>	5.0 (1.1-21.8) <b>p=0.03</b>	17.6 (1.4-221.0) <b>p=0.03</b>		2.8 (1.1-7.3) <b>p=0.04</b>	3.5 (1.3-9.3) <b>p=0.01</b>	4.0 (1.7-9.7) <b>p=0.002</b>	3.3 (1.2-9.0) <b>p=0.02</b>	4.2 (1.8-9.8) <b>p=0.001</b>	4.2 (1.7-9.9) <b>p=0.001</b>
Compatibilità di genere donator-ricevente (F/M vs altre combinazioni)	1.3 (0.3-6.3) p=0.72		4.3 (0.3-69.8) P=0.31		0.7 (0.2-2.4) p=0.57		1.0 (0.3-3.0) p=0.99		0.8 (0.3-2.5) p=0.77	
<i>Tumor burden</i> alla diagnosi (stadio IIB-IV vs I-IIA)	1.9 (0.2-15.1) p=0.55		1.1 (0.1-16.7) p=0.94		17.2 (0.9- 328.9) p=0.99		6.5 (0.9- 49.4) p=0.07		7.8 (1.0-59.0) p=0.05	

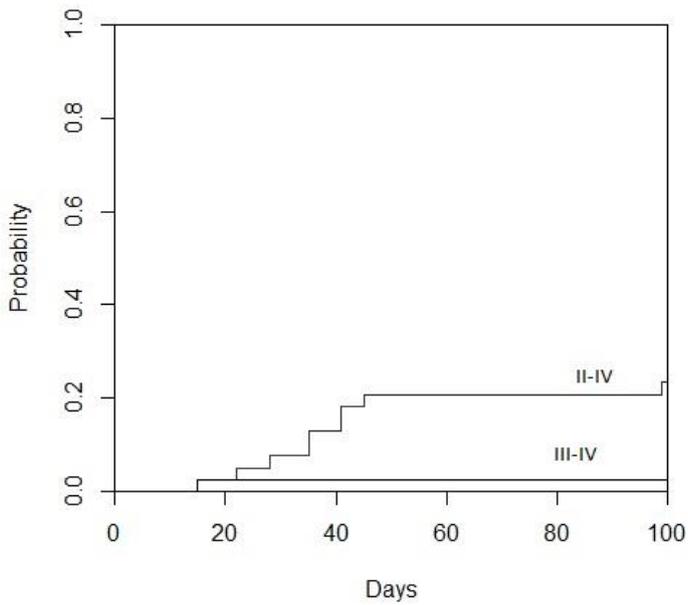
**Tabella 4. Esiti clinici in accordo al risultato della FDG-PET del pre-trapianto (positiva se Deauville  $\geq$  4)**

Pazienti con FDG-PET status al pre-trapianto (n di pts)	n di pts ricaduti (%)	Relapse Rate a 3 anni	aGvHD di grado II-IV	cGvHD a 3 anni	PFS a 3 anni	OS a 3 anni	GRFS a 3 anni
<b>Positivi</b> (22)	15/22 (68)	72.7%	0.0%	12.3%	27.3%	68.2%	18.2%
<b>Negativi</b> (19)	5/19 (26)	33.9%	5.3%	10.5%	63.2%	84.2%	63.2%
p-value		<b>0.01</b>	0.86	0.79	<b>0.02</b>	0.31	<b>0.01</b>

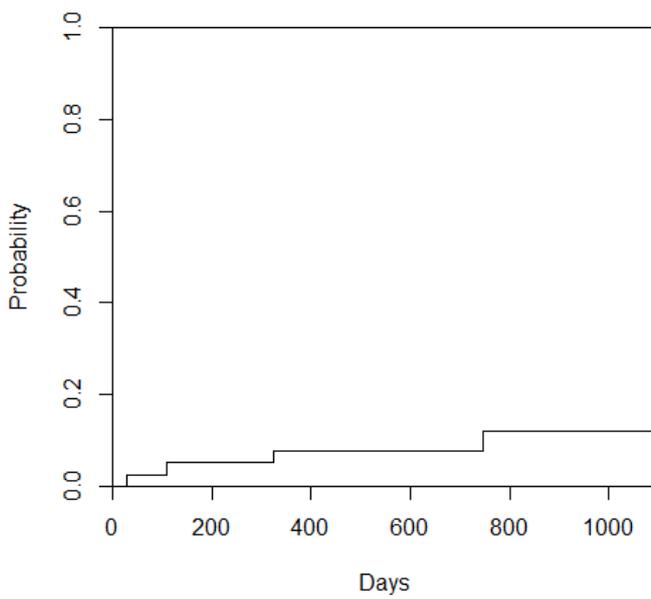
FDG-PET: tomografia ad emission di positroni

Figura 1. Incidenza cumulativa dei risultati clinici in tutti i 41 pazienti. A) GVHD acuta; B) GVHD cronica; C) non-relapse mortality (NRM); D) relapse rate

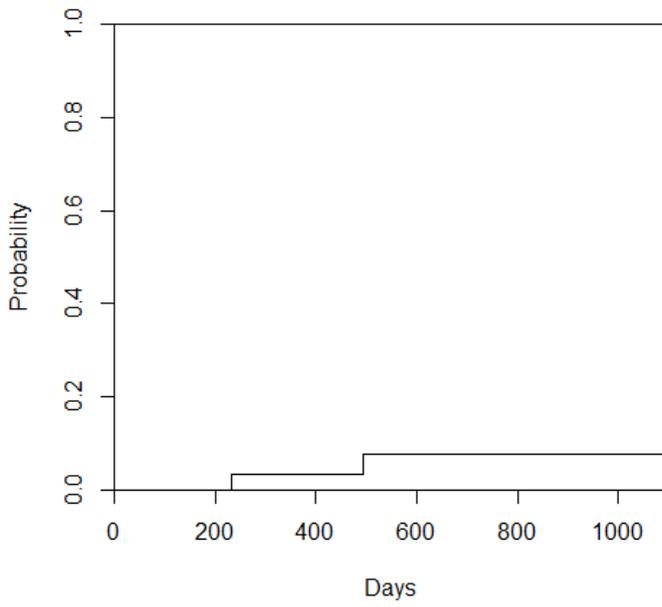
A) GVHD acuta



B) GVHD cronica



### C) NRM



### D) relapse rate

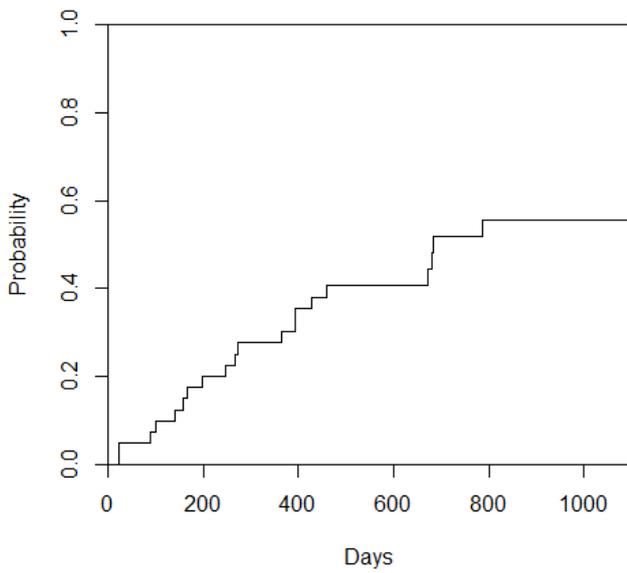


Figura 2. Stime secondo il modello di Kaplan-Meier della sopravvivenza globale (OS), sopravvivenza libera da progressione (PFS) e della sopravvivenza libera da graft e da ricadute (GRFS) in tutti i 41 pazienti

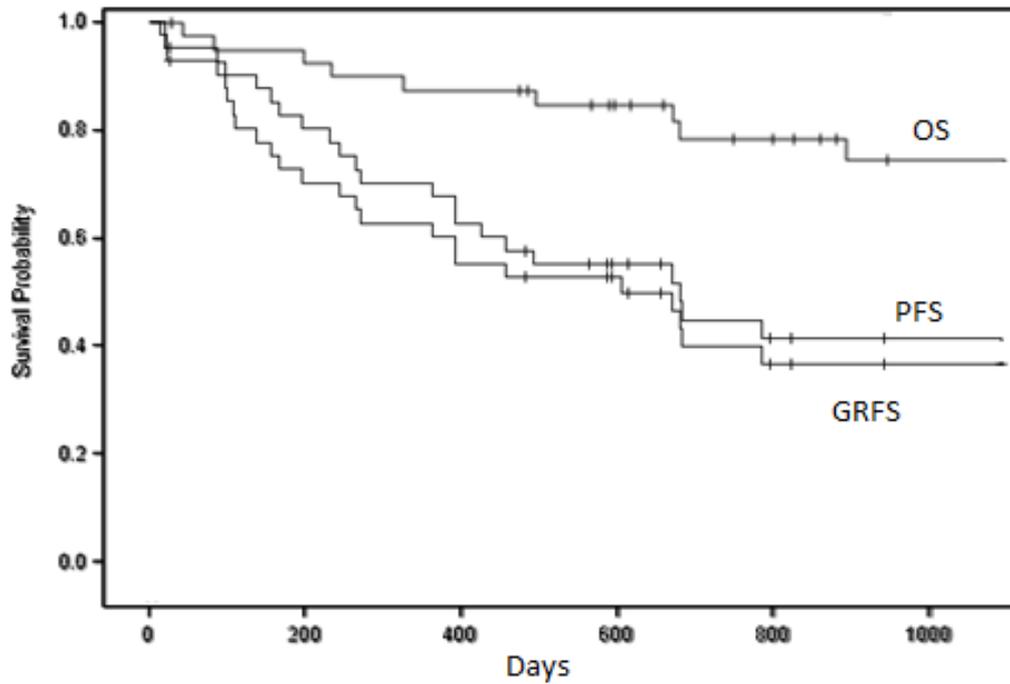


Figura 3. Incidenza cumulativa della ricaduta di malattia in accordo al risultato della FDG-PET del pre-trapianto (positiva se Deauville score  $\geq 4$ ).

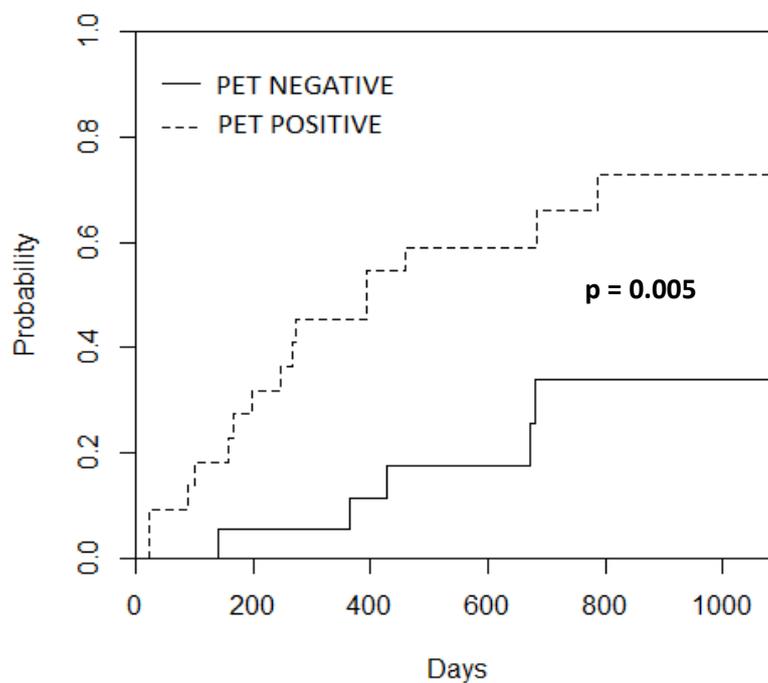
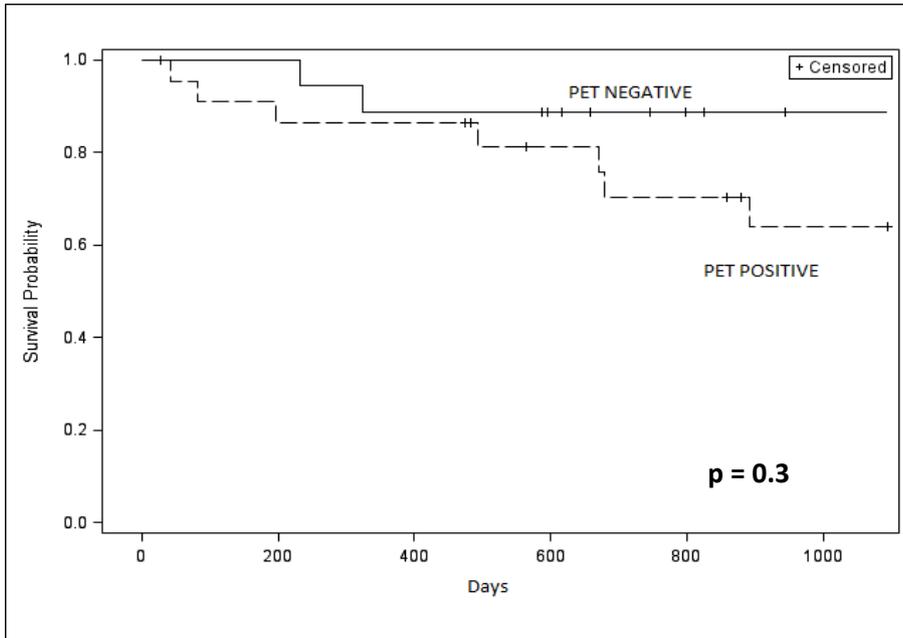
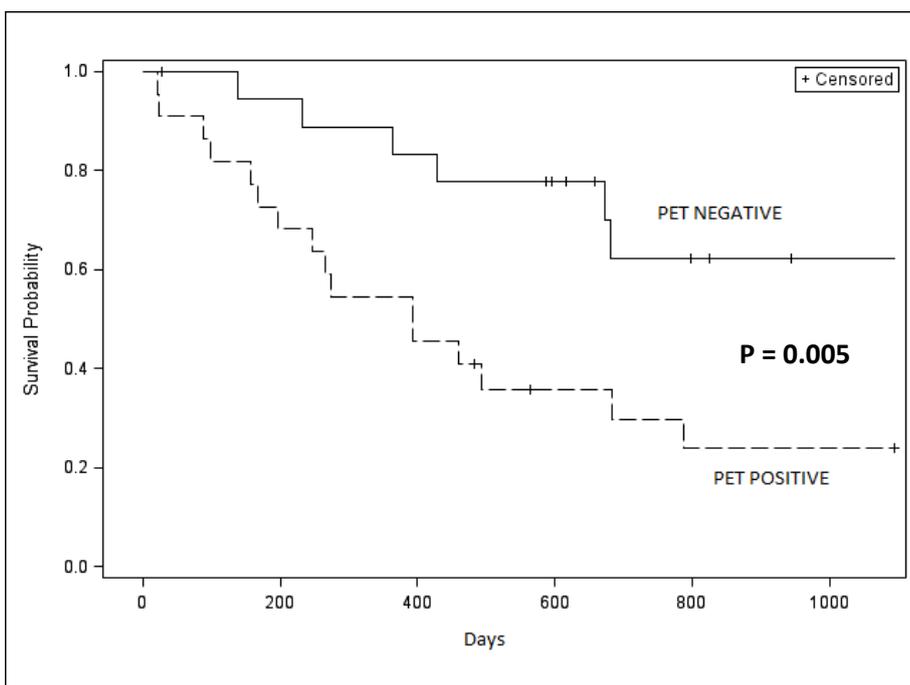


Figure 4. Stime di Kaplan-Meier di a) sopravvivenza globale (OS); b) sopravvivenza libera da progressione (PFS); c) sopravvivenza libera da *graft* e ricaduta (GRFS) in accordo con il risultato della FDG-PET del pre-trapianto (positiva se Deauville  $\geq 4$ )

a) sopravvivenza globale (OS)



b) sopravvivenza libera da progressione (PFS)



c) sopravvivenza libera da *graft* e ricaduta (GRFS)

