

**Studio clinico collaborativo prospettico LAL 09/2000:**

**TERAPIA DELLA LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA  
DELL'ADULTO CON PROGRAMMA POSTREMISSIONALE AD  
INTENSITA' VARIABILE PER CLASSE DI RISCHIO DEFINITA  
DA "MALATTIA RESIDUA MINIMA"**

Divisione di Ematologia, Ospedali Riuniti, Bergamo (Prof. T. Barbui)

Ospedali Riuniti, Largo Barozzi 24100 Bergamo

tel. 035 269492

fax 035 266147

e-mail: [ematologia@cyberg.it](mailto:ematologia@cyberg.it)

[basbas@virgilio.it](mailto:basbas@virgilio.it)

(preparato in data 23 agosto 2000; versione attuale 5 Gennaio 2001)

Coordinamento: Dott. R. Bassan

Approvazione Comitato Bioetica OO. RR. Bergamo: 5 Dicembre 2000

## **INDICE E CONTENUTO**

Sezione \_\_\_\_\_ pag. / cfr.

### **1 PROGRAMMI E RISULTATI DI TRATTAMENTO**

1.1	Programmi del Gruppo Collaborativo 1991-1999	<b>6</b>
1.2	Induzione della remissione: IVAP vs programmi storici	<b>6</b>
1.3	Consolidamento della remissione: protocollo IVAP	<b>7</b>
1.4	Consolidamento della remissione: protocollo 07/93	<b>7</b>
1.5	Antracicline e categoria di rischio	<b>8</b>
1.6	Analisi prognostica pre-08/96: altri dati	<b>9</b>
1.7	Esperienza internazionale recente	<b>9</b>

### **2 TRATTAMENTO RISCHIO-SPECIFICO: STUDIO CLINICO 08/96**

2.1	Programma 08/96: classe di rischio	<b>10</b>
2.2	Programma 08/96: disegno dello studio	<b>10</b>
2.3	Programma 08/96: risultati	<b>11</b>

### **3 CLASSE DI RISCHIO: NUOVI CONCETTI**

3.1	Ridefinire la classe di rischio	<b>12</b>
3.2	La malattia residua minima	<b>12</b>

### **4 MRD E PROGRAMMA 09/2000: RAZIONALE**

4.1	MRD e strategia di trattamento postremissionale	14 / <b>Figg. 1-3</b>
4.2	Fase A	14 / <b>Fig. 4</b>
4.3	MRD: punto critico e reinduzione intermedia a fine Fase A	15 / <b>Figg. 1, 2</b>
4.4	Casi RST MRD-: Fase B con mantenimento	15 / <b>Fig. 5</b>
4.5	Casi RAL MRD+ con donatore HLA identico: Fase B con allotrapianto di cellule staminali emopoietiche	15 / <b>Fig. 6</b>
4.6	Casi RAL MRD+ senza donatore HLA identico : Fase B con trattamento sperimentale	16 / <b>Fig. 7</b>
4.7	Casi RAL MRD+: Fase B con trattamento sperimentale aggiuntivo nei soggetti con LAL di linea B CD20+	17 / <b>Fig. 7</b>
<b>5</b>	<b>PROTOCOLLO 09/2000</b>	
5.1	Pazienti/eleggibilità	19
5.2	Diagnosi	19
5.3	Terapia di supporto	19
5.4	Somministrazione/riduzione farmaci/età >59 anni	20 / <b>Figg. 4,6,7bis</b>
<b>6</b>	<b>MALATTIA RESIDUA MINIMA</b>	
6.1	Determinazione MRD	22
6.2	Attribuzione alla Fase B secondo rischio MRD	24 / <b>Figg. 1-3</b>
<b>7</b>	<b>PROTOCOLLO LAL 09/2000 Fase A</b>	
7.1	Induzione RC	26 / <b>Figg. 4/4bis</b>
7.2	Fase A: Cicli 2-3, 5-6 (inclusa cranioprofilassi)	27

7.3	Fase A: Cicli 4,7 (sequenza HD-MTX/HD-ara-C)	<b>28 / app. 1, 2</b>
7.4	Ciclo 8 (reinduzione ad interim, valutazione MRD)	<b>29</b>
7.5	Interessamento SNC precoce	<b>29</b>
7.6	LAL-T e linfoma T-linfoblastico con mediastino residuo	<b>30</b>

## **8      PROTOCOLLO 09/2000 Fase B**

8.1	Attivazione	<b>31 / Fig. 3</b>
8.2	RST MRD negativo: Fase B1	<b>31 / Figg. 5/5bis</b>
8.3	RAL MRD positivo con donatore familiare HLA identico: Fase B2	<b>32 / Fig. 6</b>
8.4	RAL Ph+, NO donatore HLA/DR identico familiare, SI donatore MUD: Fase B3	<b>33 / Fig. 6</b>
8.5	RAL MRD positivo, ogni altra categoria: Fase B4	<b>33 / Figg. 7/7bis</b>
8.6	Terapia resistenze e recidive	<b>36 / app. 3</b>

## **9      OBIETTIVI, ARRUOLAMENTO, ANALISI STATISTICA, CENTRI PARTECIPANTI, ORGANIZZAZIONE**

9.1	Obiettivi	<b>37</b>
9.2	Arruolamento	<b>37</b>
9.3	Svolgimento dello studio, monitoraggio	<b>38</b>
9.4	Analisi statistica	<b>38</b>
9.5	Raccolta dati e software per analisi	<b>39 / app. 4, 5</b>
9.6	Centri partecipanti	<b>40</b>
9.7	Coordinamento	<b>41</b>

<b>10. ASPETTI ETICI</b>	
10.1 Aspetti etici	<b>42</b>
10.2 Consenso informato	<b>42 / app. 6</b>
10.3 Aderenza al protocollo 09/2000	<b>42</b>
10.4 Comitato etico	<b>43</b>
<b>11. REFERENZE BIBLIOGRAFICHE</b>	<b>44</b>

## **1 PROGRAMMI E RISULTATI DI TRATTAMENTO**

### **1.1 Programmi del Gruppo Collaborativo 1991-1999**

L' esperienza di trattamento di pazienti adulti e anziani con leucemia acuta linfoblastica

(LAL) riguarda i protocolli *IVAP* per adulti e anziani, *07/93*, e *08/96*<sup>1-9</sup>. Questi studi condotti dal Gruppo Collaborativo (**GC**: costituito, a seconda dei programmi, dai centri di ematologia/oncologia di Bergamo, Vicenza, Bolzano, Venezia, Brescia, Monza, Cremona, Milano, Cagliari, e dall'unità di oncologia medica del St. Bartholomew's Hospital, Londra) hanno rappresentato un notevole cambiamento rispetto ai precedenti programmi del **GC** (fondamentalmente del nucleo storico **LBV** Londra, Bergamo, Vicenza: 1972-1990)<sup>10-14</sup>, per l'adozione di idarubicina (IDA) in sostituzione di adriamicina (ADR), l'introduzione di una "dose escalation" tale da richiedere un supporto autotrapiantologico (*IVAP*, *07/93*), fase questa ulteriormente potenziata con il protocollo *08/96* nel quale è stato introdotto l'uso delle cellule emopoietiche periferiche CD34+ in associazione ad un metodo immunomagnetico di "purificazione" antileucemica in vitro<sup>15,16</sup>.

## **1.2 Induzione della remissione: IVAP vs programmi storici**

I dati ottenuti su di una popolazione complessiva di 297 pazienti arruolati nel nuovo schema di induzione *IVAP* (con IDA) sono stati confrontati con i dati precedenti su 379 pazienti trattati con protocollo analogo comprendente ADR<sup>17-19</sup>. La frequenza di remissione completa (RC) nei due gruppi consecutivi appare tendenzialmente più alta con IDA (80% vs 73%,  $p=0.031$ ), con una minore incidenza di refrattarietà iniziale (8.4% vs 15%,  $p=0.012$ ) ed un più rapido ottenimento della RC (mediana 27 vs 35 giorni,  $p<0.0001$ ). Per tale motivo il programma *IVAP* è stato conservato dal **GC** come schema di riferimento per la terapia di induzione. Una successiva modifica (studio *08/96*) ha visto l'introduzione della ciclofosfamide frazionata (f-CY) quale farmaco aggiuntivo, nel tentativo di ridurre ulteriormente l'incidenza della refrattarietà primaria. I risultati iniziali indicano un possibile

effetto positivo nella LAL ad alto rischio di tipo T (LAL-T)<sup>7,9</sup>. Pertanto è stato deciso di continuare il programma *f-CY-IVAP* limitatamente a questo sottotipo di malattia.

### **1.3 Consolidamento della remissione: protocollo IVAP**

Allo stato attuale la durata di remissione completa (RC) dei pazienti trattati con protocollo *IVAP* non si discosta significativamente da quanto ottenuto negli studi precedenti (RC a 5 anni 31%)<sup>5</sup>. Analogamente all'esperienza precedente con protocolli a forte componente antraciclinica (ADR 360-405 mg/mq entro 34 mesi da RC) la prognosi è migliore per i sottotipi pre-B senza traslocazione t(9;22)/cromosoma Philadelphia (Ph) o t(4;11) e con conta assoluta di blasti inferiore a 25.000/mmc. Inoltre, la durata di RC è stata significativamente migliorata da una adeguata adesione al piano di trattamento teorico, senza omissioni o ritardi maggiori nell'applicazione dei cicli di consolidamento<sup>20,21</sup>.

### **1.4 Consolidamento della remissione: protocollo 07/93**

Nel programma a breve termine *07/93* si prospettava un possibile miglioramento della durata di RC nei gruppi non pre-B/non CD10+, da ottenersi con l'impiego di dosi più elevate di farmaci non antraciclinici (ciclofosfamide, etoposide, ara-C, melphalan). In realtà l'andamento della curva di RC è risultato inizialmente sovrapponibile ad *IVAP* mentre a lungo termine si osservava un peggioramento della prognosi dei casi pre-B indipendentemente dal tipo della classe di rischio, mentre veniva notevolmente migliorata la prognosi del sottogruppo LAL-B tipo L3<sup>22-24</sup>.

### **1.5 Antracicline e categoria di rischio**

Gli studi sinora citati hanno fornito lo spunto per una dettagliata analisi mirata a chiarire il

ruolo delle antracicline nel trattamento della LAL dell'adulto. Il risultato ha permesso di documentare un impatto globalmente positivo sulla prognosi in relazione ad un uso intensivo di questi farmaci<sup>18,19,25-29</sup>. L'analisi generale di tutti i dati **LBV/GC** a partire dal 1972 ha riguardato un'ampia casistica di oltre 700 pazienti<sup>18,19</sup>. L'analisi, di tipo retrospettivo ha compreso una valutazione prognostica di tipo multivariato ed ha confermato che l'uso di un consolidamento con antracicline a dosaggio relativamente elevato (ADR >20 mg/mq/settimana oppure IDA >7 mg/mq/settimana durante le prime 12 settimane di consolidamento) conferiva un vantaggio nella durata di RC ai pazienti con LAL pre-B Ph negativa e con meno di 25.000 blasti/mmc. (54% a 5 anni), mentre non si documentava alcun effetto positivo nella LAL-T, LAL-B, e LAL pre-B a profilo di rischio intermedio-alto (blasti >25.000/mmc., età >35 anni, presenza di t(9;22) oppure corrispettivo riarrangiamento BCR-ABL<sup>30</sup>). I pazienti a rischio standard (**RST**, primo gruppo) venivano pertanto definiti sia sulla base di caratteristiche diagnostiche invariante che per un variabile legata al trattamento ("dose intensity" antraciclinica). Un successivo aggiornamento con rianalisi degli stessi dati, limitatamente ai casi di LAL pre-B, confermava il risultato precedente (RC dei casi **RST** 57% a 5 anni) ma documentava anche un modesto vantaggio prognostico nei casi tradizionalmente ad alto rischio (**RAL**), come la LAL Ph positiva (solo in presenza di blasti inferiori a 25.000/mmc. ed età inferiore a 50 anni)<sup>19,31</sup>. Infine, l'analisi retrospettiva riguardante solo i protocolli **GC** più recenti *IVAP* e *07/93* (anni 1991-1995), riconfermava l'impatto prognostico positivo da antracicline nei casi di LAL pre-B CD10+ e Ph negativa con meno di 10.000 blasti (RC 52% a 5 anni). Questo gruppo, corrispondente alla definizione originale di **RST** (derivata dai protocolli *OPAL*, *HEAVD* e modifiche, antecedenti al 1991), è stato scelto come categoria di riferimento prognostico **RST** per il nuovo programma *08/96*.



## **1.6 Analisi prognostica pre-08/96: altri dati**

I risultati degli studi *IVAP*, 07/93, e precedenti, molto simili nel gruppo di età 15-60 anni, sono stati analizzati globalmente. Ciò mostra una probabilità di RC a lungo termine per T-LAL intorno a 0.30, indipendentemente da protocollo e blasti circolanti, 0.25 per LAL pre-B **RAL**, ed un miglioramento nella LAL-B con 07/93.

## **1.7 Esperienza internazionale recente**

I risultati raggiunti dal **GC** nel periodo 1991-1995 si situano nell'ambito degli studi storici di riferimento come GMALL 81 e GMALL 84<sup>32</sup>. Studi più recenti (CALGB, MD Anderson)<sup>33,34</sup> caratterizzati da una particolare intensificazione della fase di consolidamento precoce hanno mostrato, in via preliminare, una tendenza a mantenere a 3 anni una probabilità di RC intorno a 0.50 (contro 0.38 in *IVAP*). E' possibile che questi programmi rappresentino un miglioramento significativo rispetto a trattamenti più convenzionali. Per quanto riguarda in generale i trattamenti con autotrapianto o allotrapianto di midollo osseo<sup>35</sup>, visti i risultati (allotrapianto: RC a 5 anni 50-60%), non vi sono al momento indicazioni diverse rispetto ad un uso in prima remissione solo nei casi a rischio intermedio-alto (cioè con probabilità di RC a 5 anni inferiore al 50%), tenendo presente il valore della metodica alla eventuale recidiva. L'autotrapianto resta un trattamento sperimentale con potenzialità terapeutiche da definire meglio ma inferiori all'allotrapianto. In un singolo report viene proposto l'uso della combinazione etoposide-irradiazione corporea totale con dosaggio incrementato come condizionamento ottimale per trapianto midollare allogenico in casi ad altissimo rischio Ph positivi<sup>36</sup>.

## **2 TRATTAMENTO RISCHIO-SPECIFICO: STUDIO CLINICO 08/96**

### **2.1 Programma 08/96: classe di rischio**

Con gli studi *IVAP* e *07/93* il gruppo **RST** è stato definito retrospettivamente come LAL pre-B CD10+ Ph/BCR-ABL- con blasti alla diagnosi <10.000/mm<sup>3</sup>. Tale risultato è stato ovviamente subordinato alla applicazione in fase di consolidamento precoce di un programma antraciclino intensivo. Viceversa, in tutte le altre situazioni, dove la probabilità di RC prolungata è stata inferiore al 50%, è stata applicata la definizione di **RAL**.

### **2.2 Programma 08/96: disegno dello studio**

Nello studio prospettico *08/96* il trattamento postremissionale è stato differenziato a seconda della classe di rischio<sup>8,29</sup>. Il gruppo **RST** è stato avviato ad uno schema di consolidamento non trapiantologico a forte componente antraciclino iniziale (protocollo *08-SR*), allo scopo di confermare prospettivamente l'esperienza retrospettiva. Per i casi **RAL** è stato invece scelto il seguente approccio, al fine di ottenere una proporzione di RC del 40% a 5 anni: allotrapianto di midollo osseo (se disponibile donatore HLA identico nei familiari); protocollo *08-T* per LAL-T (derivato da *08-SR* con citarabina ad alto dosaggio e con aumento dose di methotrexate); e infine sequenza ad alte dosi per tutti gli altri casi, con ciclofosfamide-citarabina-methotrexate e trattamento mieloablativo finale con melfalan/irradiazione corporea totale e reinfusione di cellule staminali circolanti CD34+ purificate. Lo studio *08/96* pilota per LAL **RAL** è stato impostato secondo il criterio a due stadi di Simon per gli studi clinici di fase II (fattibilità e attività), ed è stato approvato dal Comitato Tecnico-Scientifico della Regione Lombardia il 2 aprile 1996.

### **2.3 Programma 08/96: risultati**

Il programma *08/96* ha superato la prova di fattibilità<sup>8</sup>. Per quanto riguarda l'attività, dopo l'arruolamento di 119 pazienti (età 15-74 anni, mediana 35 anni, 101 in RC) con follow-up teorico massimo di 3.8 anni (analisi a gennaio 2000) sono possibili le seguenti conclusioni<sup>29</sup>:

1. Per la classe **RST** (26/28 casi effettivamente trattati con protocollo *08-SR*, 2 violazioni con allotrapianto di midollo osseo) la proporzione in RC a 3 anni era del 69% (71% analizzando i 26 casi effettivamente trattati con *08-SR*), e quindi ancora compatibile con una conferma prospettica del dato precedentemente citato.

2. Per la classe **RAL** la frequenza di RC globale a 3 anni era del 35%, pertanto già inferiore al dato teorico previsto a 5 anni (40%), e ancora significativamente inferiore a quanto ottenuto nella categoria **RST** ( $p=0.027$ ). Pertanto, la nuova strategia di trattamento diversificato per classe di rischio non ha modificato le differenze prognostiche preesistenti tra **RST** e **RAL**.

3. L'analisi dei sottogruppi nella classe **RAL** ha fornito utili informazioni aggiuntive: tendenza a miglioramento prognostico nella LAL-T (RC 53% a 3 anni come dato globale); possibile miglioramento nella LAL pre-B Ph negativa con indice prognostico intermedio (CD10- oppure CD10+ con blasti 10.000-25.000/mmc.), se trattata con protocollo *08-SR* ("shift" terapeutico eseguito in 10 casi, con RC a 3 anni 49%); nessuna sostanziale modifica della prognosi per LAL Ph positiva; infine, nessuna sostanziale differenza prognostica tra protocollo *08* allotrapianto, *08* sequenziale ad alte dosi con autotrapianto, e "shift" forzato per ragioni varie a *08-SR*

## **3 CLASSE DI RISCHIO: NUOVI CONCETTI**

### **3.1 Ridefinire la classe di rischio**

Tutti i modelli di rischio attualmente disponibili per LAL dell'adulto, pur con ovvie differenze relative alla strutturazione dei protocolli ed ai criteri di arruolamento/selezione dei pazienti, identificano le classi **RST** e **RAL**, generalmente in modo retrospettivo<sup>37</sup>. Un fatto determinante è che anche nella classe **RST** una quota notevole di casi (almeno il 40%, assumendo ottimisticamente una RC del 60% a 5 anni) manifesterà una recidiva di malattia. Questo dato ci dimostra che l'insieme dei parametri prognostici tradizionali è inadeguato nel predire con accuratezza l'esito del trattamento, anche quando non vi sono apparenti fattori prognostici sfavorevoli. Certamente, nel caso della categoria **RAL**, ove tali fattori sono presenti isolatamente o in gruppo, si osserva una maggiore adesione ai modelli prognostici classici (in senso naturalmente sfavorevole), ma anche in questo caso una quota pari al 20-30% dei pazienti, escludendo i pazienti a rischio elevatissimo (LAL Ph+), si comporta in modo prognosticamente paradossale (no recidiva). Una delle maggiori sfide interpretative e terapeutiche attuali, pertanto, è quella di ottenere una definizione prognostica globalmente più accurata.

### **3.2 La malattia residua minima**

Un numero crescente di esperienze di studio nella LAL pediatrica e dell'adulto identifica la cosiddetta malattia residua minima (**MRD**) come il principale (o uno dei principali) fattore prognostico indipendente per la durata di RC<sup>38,39</sup>. La **MRD** può essere valutata con metodo immunofluorimetrico o biologico (sonda molecolare specifica generata alla diagnosi), e consiste nella determinazione a tempi prefissati del livello di **MRD** midollare durante il trattamento di consolidamento della remissione. In altre parole questo test analizza la rapidità con cui il segnale biologico dovuto a persistenza di malattia submicroscopica varia in rapporto alla continua esposizione ai farmaci. In caso di rapida riduzione e scomparsa del

segnale, che quindi corrisponde ad una evidenza di chemiosensibilità, si osserva una forte associazione positiva con la durata della RC, mentre nei casi con persistenza di segnale **MRD** (sia pure in remissione ematologica e morfologica) si verifica quasi sempre una successiva recidiva<sup>40-48</sup>. A differenza che nella LAL pediatrica, nella quale assume valore prognostico il dato precoce postremissionale, nell'adulto il segnale **MRD** tende a variare durante il consolidamento e pertanto sembra necessaria una valutazione tardiva. Nella LAL dell'adulto, lo studio della **MRD** valutata nei primi 4-12 mesi di RC, durante la terapia di consolidamento, ha fornito una accuratezza prognostica dell' 80% per una successiva recidiva (con **MRD+**) e del 90% per una RC continua (con **MRD-**). Questi dati, globalmente, identificano la **MRD** quale parametro prognostico unitario da adottare per identificare i casi **RST/RAL** indipendentemente dal tipo di presentazione clinica. Sarebbe così possibile identificare precocemente circa l'80% dei casi realmente **RAL** (inclusi circa il 40% dei pazienti con caratteristiche cliniche iniziali **RST**) ed il 90% dei casi realmente **RST** (incluso un 20-30% dei pazienti con caratteristiche cliniche iniziali **RAL**). Di conseguenza, il trattamento postremissionale può essere rimodellato sul rischio definito dalla **MRD** ad un punto critico prefissato del trattamento stesso.

#### **4 MRD E PROGRAMMA 09/2000: RAZIONALE**

##### **4.1 MRD e strategia di trattamento postremissionale**

Se la **MRD** è il più forte fattore di rischio noto e se la determinazione della **MRD** diviene prognosticamente rilevante ad un punto critico del trattamento, è necessario che il programma

terapeutico ne tenga conto e comprenda due fasi distinte: una prima fase generale applicabile alla totalità dei pazienti (Fase **A**), che ha lo scopo di eradicare la malattia nella maggior quota possibile di casi (impiegando un protocollo standard di consolidamento intensificato) e contemporaneamente di permettere lo studio e la definizione dello stato **MRD**; ed una seconda fase sperimentale (Fase **B**) il cui disegno è naturalmente variabile in rapporto allo stato **MRD** ed alla disponibilità di alternative terapeutiche presumibilmente efficaci (**Figure 1-3**).

#### **4.2 Fase A**

Il trattamento postremissionale comune proposto per la Fase **A** rappresenta una sintesi aggiornata degli schemi *08-SR* e *08-T*. In particolare viene mantenuta l'ossatura generale dei cicli a forte contenuto antraciclinico (IDA) con inserimento di un doppio ciclo con methotrexate e citarabina sequenziali ad alte dosi. Ciò allo scopo di ottenere un migliore controllo di malattia nelle LAL di linea B sensibili agli antimetaboliti ed anche nella LAL-T sensibile ad entrambi i farmaci ad alto dosaggio. La sequenza methotrexate-citarabina ad alte dosi appare sinergica ed è stata un elemento chiave del programma M.D. Anderson hyper-CVAD<sup>34</sup> (**Figura 4**).

#### **4.3 MRD: punto critico e reinduzione intermedia a fine Fase A**

Durante ed alla fine della Fase **A** (**Figure 1,2**) viene eseguito un campionamento seriale (3 volte, v. dettagli successivi) per la determinazione dello stato **MRD** midollare. Il punto critico per l'attribuzione del rischio **MRD** (**RST** o **RAL**) coincide con un protocollo di reinduzione

semplificata dopo circa 5 mesi dalla data presunta di RC. Lo schema di reinduzione, della durata di 3 settimane, corrisponde al tempo necessario allo sviluppo ed alla lettura e interpretazione dei test **MRD** di laboratorio, prima dell'attribuzione definitiva di ogni paziente alla Fase **B** (**MRD** specifica). I protocolli di reinduzione, simili a quello prospettato, sono una nota componente di altri efficaci programmi terapeutici (BFM e GMALL).

#### **4.4 Casi RST MRD-: Fase B con mantenimento**

Per i casi risultati **MRD-** al punto critico il programma di consolidamento intensivo si ritiene concluso (**Figura 5**). Il paziente inizia programma di mantenimento continuo della durata di 2 anni con methotrexate e mercaptopurina a basso dosaggio, come nei protocolli precedenti, con in più le ultime punture lombari profilattiche. Nel primo anno lo schema viene rinforzato da una alternanza mensile di coppie di farmaci (vincristina-prednisone, citarabina-ciclofosfamida), che rappresenta una rivisitazione della fase a coppie alternate settimanali sperimentata nei programmi *R-HEAVD*, *IVAP* e *08-SR/T*.

#### **4.5 Casi RAL MRD+ con donatore HLA identico: Fase B con allotrapianto di cellule staminali emopoietiche**

Per tutti i pazienti **RAL** (**MRD+**) con disponibilità di donatore familiare HLA identico è previsto l'avvio alla procedura di allotrapianto con cellule staminali emopoietiche, nell'ipotesi che la malattia possa essere meglio dominata dall'effetto allogenico piuttosto che da ogni altra terapia attualmente ipotizzabile (**Figura 6**). Lo studio potrà fornire dei dati riguardanti questa ipotesi. Nella categoria definibile come super **RAL** (LAL Ph+) viene proposta la ricerca e l'esecuzione di allotrapianto da donatore volontario non correlato (MUD), procedura che date le speciali caratteristiche di rischio di questi pazienti potrà essere avviata subito dopo la RC

nei casi eleggibili. Prima dell'allograft è prevista (possibile) una fase di mantenimento della durata massima di 3 mesi per organizzare la procedura.

#### **4.6 Casi RAL MRD+ senza donatore HLA identico : Fase B con trattamento sperimentale**

Per i pazienti **RAL MRD+** non eleggibili a procedura di allograft viene proposto un trattamento di intensificazione sperimentale, con supporto autotrapiantologico purificato, il cui scopo è l'ottenimento (con verifica) di una riduzione/negativizzazione del segnale **MRD**, seguito da programma di mantenimento come al punto **4.4 (Figura 7)**. Il razionale che sottende questa scelta è un aumento della intensità di dose per taluni farmaci attivi non usati ai massimi dosaggi cumulativi nella Fase **A** (methotrexate, citarabina), nonché l'introduzione di farmaci non ancora usati ed impiegati sempre a dosi intermedio-alte (melphalan, etoposide, mercaptopurina), da applicare con bassa tossicità ematologica e accettabile tossicità extraematologica, vista la necessità di procedere a successiva fase di mantenimento. Lo schema preso in considerazione comprende quattro ipercicli alternati (2 derivati dallo schema methotrexate-citarabina e 2 derivati dal noto schema *BEAM* per terapia ad alte dosi nei linfomi, questi ultimi senza BCNU/citarabina e con ridotto melphalan ma integrati con mercaptopurina 900 mg/mq in 4 giorni), ognuno supportato da reinfusione di cellule emopoietiche staminali autologhe preventivamente sottoposte a procedura di "purificazione" in vitro per ridurre il rischio di ricontaminazione leucemica<sup>15,16</sup> (la corrispondenza tra **MRD** midollare e periferica è già stata osservata nella LAL in RC)<sup>49,50</sup>. Schemi megadose multipli con supporto autotrapiantologico periferico sono attualmente usati in ambito oncologico per ottenere il raggiungimento di una elevata intensità di dose<sup>51-55</sup>. Il quantitativo previsto per



iperciclo (non mieloablativo) di cellule staminali autologhe purificate CD34+ (non oltre  $2 \times 10^6/\text{kg}$ , minimo  $1 \times 10^6/\text{kg}$ ) garantisce un rapido recupero granulocitario dopo cicli ablativi, con una ridotta incidenza di infezioni correlate alla procedura<sup>56</sup>.

#### **4.7 Casi RAL MRD+: Fase B con trattamento sperimentale aggiuntivo nei soggetti con LAL di linea B CD20+**

L'antigene di membrana CD20 è generalmente espresso dalle leucemie a B cellule. Nel caso della LAL, una parte consistente dei casi con immunofenotipo pre-B (che rappresenta il fenotipo numericamente prevalente, circa 70% di tutti i casi) può esprimere livelli significativi di antigene CD20 (>25% dei blasti CD20+). Nella nostra esperienza (analisi dei dati in possesso del reparto di Ematologia, Ospedali Riuniti di Bergamo), su 68 casi esaminati di LAL pre-B, 35 (51%) presentavano alla diagnosi una positività per CD20 del 25%-100%. Queste considerazioni possono avere un risvolto terapeutico. Recentemente si è reso commercialmente disponibile l'anticorpo monoclonale umanizzato anti CD20 (aCD20, MAB-THERA, Roche), in grado di legare e successivamente lisare in vivo cellule tumorali CD20+. Questo tipo di intervento viene ora usato con successo in numerosi protocolli investigativi per linfomi non-Hodgkin follicolari e mantellari resistenti e recidivati, a B-cellule CD20+<sup>57,58</sup>. Uno studio molto recente condotto nella leucemia linfatica cronica a B cellule, malattia nella quale le cellule B sono variabilmente CD20+ (come nella LAL pre-B), ha dimostrato elevati tassi di risposta clinica con aCD20<sup>59</sup>. È quindi molto verosimile che aCD20 possa esercitare un utile effetto citotossico collaterale al trattamento chemioterapico anche in casi di LAL pre-B CD20+. Visto il meccanismo d'azione di aCD20, che non

comporta induzione di ulteriore mielotossicità, ed il buon profilo di tollerabilità, si propone l'adozione di questo trattamento ad integrazione degli ipercicli nei casi **RAL MRD+** con fenotipo di linea B ed espressione di CD20 >25% (**Figura 7**). Per l'attivazione di questa parte del programma è stata richiesta ed ottenuta l'approvazione di uno specifico atto di notorietà riguardante il farmaco aCD20.

## **5 PROTOCOLLO 09/2000**

### **5.1 Pazienti/eleggibilità**

Eleggibilità: LAL e linfoma linfoblastico (ogni tipo, stadio) precedentemente non trattati.

Età: 15-65 anni.

### **5.2 Diagnosi**

#### FAB

Fenotipo: v. note EGIL *Leukemia 1995, 9, 1783*; per differenziazione "B-lineage" in 4 stadi (pro-B, "common", pre-B, B-mature) e T-lineage" in 4 stadi (pro-T, pre-T, cortical T, mature T); inoltre segnalare espressione (%) CD13, CD33, CD34.

#### Cariotipo

Biologia molecolare: Almeno per BCR-ABL (P190 e P210 nella LAL "B-lineage").

Profilo HLA/DR: Paziente/famigliari.

### **5.3 Terapia di supporto**

Dato il disegno del protocollo, è prevedibile un forte effetto immunosoppressivo, maggiore che nei protocolli precedenti; si raccomanda pertanto una attenta sorveglianza particolarmente nelle fasi ambulatoriali; l'inserimento dei pazienti in altri studi formalizzati di terapia/profilassi

anti-infettiva è attualmente libero.

Profilassi anti-infettiva: Dal g. 1 di ogni ciclo e fino a recupero neutrofili >1500 somministrare

**Ciproxin** 500 mg x2/die po. o **Levoxacin** 500 mg/die po.;

**Fluconazolo** 200 mg/die po.;

**Acyclovir/Valacyclovir** come profilassi secondaria dopo episodio infezione da HSV/VZV;

**Bactrim** come profilassi secondaria dopo episodio p. interstiziale/P. carinii;

**Itraconazolo** come profilassi secondaria dopo episodio micosi invasiva;

**Ig umane** 400 mg/kg se accertata ipogammaglobulinemia (<0.5 g% gammaglobuline totali) durante/dopo un ciclo.

Terapia anti-infettiva: Secondo specifiche istituzionali se infezione presunta/accertata.

Trasfusioni:

**GRF** se Hb <8.1 g%;

**CPF** se P <11000, oppure <20000 in presenza di febbre >38, infezione accertata, emorragia in atto (di qualsiasi tipo/entità inclusa microematuria ed emorragie del fundus) o esecuzione di PL imminente.

Altro: Inserzione CVC alla diagnosi; allopurinolo 300-600 (uricemia >6-9 mg) idratazione-

alcalinizzazione come schema 08/96.

#### 5.4 Somministrazione/riduzione farmaci

Intervalli interciclo: Come indicato sullo schema/figure, con intervallo teorico di 21-28 gg., attendere *sempre* leucociti  $\geq 3000$  e piastrine  $\geq 75000$ .

Riduzione farmaci. Sono obbligatorie le segg. riduzioni

<u>se</u> età >59 anni*	<b>f-CY (T-LAL)</b> 150	-> <b>75 mg/m<sup>2</sup></b>	(prefase ciclo 1)
<b>(Figg. 4,5,7bis)</b>	<b>Prednisone</b> 60	-> <b>40 mg/m<sup>2</sup></b>	(ciclo 1)
	<b>Desametasone</b> si	-> <b>no</b>	(cicli 2,3,5,6)
	<b>Vincristina</b> 2	-> <b>1 mg/m<sup>2</sup></b>	
	<b>Asparaginasi</b> U/m <sup>2</sup>	-> <b>U totali</b>	(ciclo 1)
	<b>Idarubicina</b> 10/12	-> <b>8 mg/m<sup>2</sup></b>	(cicli 1 -3)
	“	-> <b>6 mg/m<sup>2</sup></b>	(cicli 5,6)
	<b>Ciclofosfamide</b> 750	-> <b>500 mg/m<sup>2</sup></b>	(cicli 2,3,5,6)
	<b>Ipercicli</b> 4	-> <b>2</b>	
	<b>Etoposide</b> 100	-> <b>75 mg/m<sup>2</sup></b>	(Ipercicli)
	<b>Mercaptopurina</b> 225	-> <b>150 mg/m<sup>2</sup></b>	(Ipercicli)
	<b>Melphalan</b> 100	-> <b>70 mg/m<sup>2</sup></b>	(Ipercicli)
	<b>HD-MTX</b> 1.5	-> <b>1 g/m<sup>2</sup></b>	
	<b>HD-ara-C</b> 2/3	-> <b>1.2 g/m<sup>2</sup></b>	
	<b>Methotrexate it.</b> 12.5	-> <b>10 mg</b>	(PL)
<b>Ara-C it.</b> 50	-> <b>40 mg</b>	(PL)	
	<b>Mantenimento</b>	-> no PL, no fasi alternate, dosi (v. <b>Fig 7bis</b> )	
<u>se</u> bilirubina >2:	<b>Vincristina</b> 2	-> <b>1 mg</b>	
	“ <b>HD-ara-C</b> 2	-> <b>1.2 g/m<sup>2</sup></b>	
>2-3:	<b>Idarubicina</b> 10/12	-> <b>8 mg/m<sup>2</sup></b>	
>3-5:	“ 8	-> <b>5 mg/m<sup>2</sup></b>	

se interciclo 5-6 >28 giorni per citopenia:

	<b>Idarubicina</b> 10	-> <b>8</b> mg/m <sup>2</sup>	(ciclo 6)
<u>se</u> creatinina >1.5:	<b>HD-MTX</b> 1.5	-> <b>1</b> g/m <sup>2</sup>	(cicli 4,7)
<u>se</u> MTX-emia fine infusione >25 micromoli/l:	<b>HD-ara-C</b> 3	-> <b>1.2</b> g/m <sup>2</sup>	(cicli 4,7)
	“ 3	-> <b>2</b> g/m <sup>2</sup>	(Ipercicli)
<u>se</u> neuropatia (CTC):			
	>1 <b>Vincristina</b> si	-> <b>no</b> (50% dose al ciclo successivo)	
	1 “ si	-> <b>si</b> (50% dose)	

## 6 MALATTIA RESIDUA MINIMA

### 6.1 Determinazione “MRD”

La valutazione e lo studio della **MRD** molecolare è centralizzata a Bergamo Ematologia. Il responsabile del protocollo di laboratorio **MRD** è il dott. A. Rambaldi. La responsabile tecnica dello studio **MRD**, cui andranno spediti i campioni per le determinazioni, è la:

Dott.ssa **Orietta Spinelli**, Laboratorio “Paolo Belli”, Reparto di Ematologia, Ospedali Riuniti, Largo Barozzi 1, 24100 Bergamo

tel: 035 269491 fax: 035 266147 e-mail: [dotti.ematologia@cyberg.it](mailto:dotti.ematologia@cyberg.it)

Campionamento: L’ottenimento del materiale in tempi e quantità adeguati assume un significato decisivo nello studio. Tutti i campioni dovranno essere sottoposti presso il centro partecipante a separazione su gradiente di Ficoll per recuperare almeno 25x10<sup>6</sup> (25 milioni) di cellule mononucleate. Tali cellule, dopo lavaggio in sol. fisiologica dovranno essere aliquotate (12.5x10<sup>6</sup>) in due differenti provette (tipo eppendorf) e congelate (-70 °C) come

pellet secco. Per i pazienti con marcatori studiabili mediante RT-PCR delle traslocazioni t(9;22), t(4;11) e t(1;19) la stessa quantità di cellule dovrà essere dispensata anche in provette contenenti soluzione di guanidio (che verranno fornite dal laboratorio P. Belli). Dopo disaggregazione mediante agitazione su Vortex, il contenuto di tali provette dovrà essere trasferito (usando sempre pipette monouso e la massima attenzione per evitare cross-contaminazioni!) in provette eppendorf, e successivamente criocongelato (-70).

Spedizione: Campione della diagnosi: campione 1 entro 48 ore. La tempestività dell'invio del campione della diagnosi (*campione 1*) è cruciale per avere il tempo necessario alla sintesi delle sonde paziente specifiche per la successiva fase di determinazione **MRD**.

Campioni di valutazione **MRD** durante trattamento:

*campione 2* al g. **70 = pre ciclo 4;**

*campione 3* al g. **105 = pre ciclo 6;**

*campione 4* al g. **140 = pre ciclo 8;**

I campioni 2-4 verranno inviati tutti insieme immediatamente dopo la raccolta del campione 4. Anche qui il rispetto dei tempi è cruciale per la valutazione tempestiva dei risultati e per l'assegnazione della categoria di rischio.

Campioni di valutazione **MRD** durante follow-up:

*campione 5* **6 mesi dopo campione 4**

*campione 6* **6 mesi dopo campione 5**

*camp. successivi* ad intervalli di **1 anno**

**N.B. 1** Anche i campioni delle raccolte aferetiche di PBSC (prima e dopo

procedure di “purging”) verranno processati come descritto sopra e verranno inviati insieme ai campioni **MRD** 2-4.

**N.B. 2** L’invio dei *campioni 2-4* utili per la determinazione della “MRD” e l’attribuzione alla fase B, va segnalato con alcuni giorni di anticipo al laboratorio, indicando la data presunta di spedizione e/o, successivamente, ogni eventuale disguido o ritardo. Il tempo di “lavoro” sui campioni è di circa 15 giorni lavorativi, pertanto questo corrisponde perfettamente, in linea teorica, alle tre settimane del ciclo 8 (reinduzione); questa sincronizzazione, assieme al rispetto dei tempi indicati, è necessaria perchè vi sono dei reattivi (fosforo rad.) da ordinare al momento dell’esame.

*Per ogni problema o richiesta speciale contattare immediatamente dott.ssa O. Spinelli, dott. A. Rambaldi.*

**N.B. 3** Per evitare valutazioni errate (**MRD** submicroscopica vs malattia microscopica, eseguire anche controllo morfologia midollare ad ogni campionamento **MRD**)

## **6.2 Attribuzione alla Fase B secondo rischio “MRD”**

Determinazione classe **MRD** e attribuzione indice di rischio: Una volta noto il livello di rischio **MRD** nel singolo paziente (**Figure 1,2**), dopo protocollo Fase **A**, i responsabili clinici e di laboratorio **MRD** del centro coordinatore Bergamo (dott. R. Bassan, dott. A. Rambaldi, dott. O. Spinelli) invieranno via FAX ai centri interessati i risultati dell’esame e l’attribuzione del livello di rischio, con le implicazioni relative alla successiva Fase **B**:

*rischio alto (RAL) = qualifica “MRD” positivo (+)*

*rischio standard (RST) = qualifica “MRD” negativo (-)*

La qualifica definitiva terrà conto dei risultati di tutti e tre i campioni, e particolarmente degli ultimi due; l'attribuzione finale sarà a cura del centro coordinatore secondo un modello in via di sviluppo.

Attivazione trattamento Fase B secondo classe MRD: Il centro di trattamento, una volta ricevuti i risultati e la qualifica **MRD**, attiva per ciascun paziente la Fase **B** del trattamento (**Figura 3**):

**RST = "MRD" (-) --> MANTENIMENTO (Fase B1)**

**RAL = "MRD" (+),**

**a) SI donatore HLA --> MANTENIMENTO (ad interim) -->ALLOTRAPIANTO (Fase B2)**

**b) LAL Ph+, NO donatore HLA/SI donatore MUD --> MANTENIMENTO (ad interim) --> ALLOTRAPIANTO MUD\*(entro 3 mesi) (Fase B3)**

*\*ricerca/programmazione/esecuzione dopo RC*

**c) NO donatore HLA/MUD --> IPERCICLI --> MANTENIMENTO (Fase B4 --> Fase B1)**

Fase B per casi con incerta classe MRD: E' possibile che in alcuni casi, per motivi tecnici o altro, non sia possibile determinare la classe di rischio **MRD**. Per questi casi si adotteranno le stesse specifiche di rischio date nel programma precedente 08/96, tenendo comunque presente che i dati globali attualmente disponibili (studio 08/96, revisione globale della casistica **LBV** 1972-1999) identificano come **RST** i pazienti con LAL pre-B Ph- CD10+ e CD10- con blasti fino a 25.000/mmc (criteri **RST** "allargati").



## 7 PROTOCOLLO LAL 09/2000 Fase A

(Figura 4, 4bis)

### 7.1 Induzione RC

Rispetto a versione protocollo 08/96 vi sono variazioni riguardanti i casi con LAL T (Nota 1), i dosaggi per casi con età >59 anni (**Figura 4bis**) e la definizione di resistenza (Nota 2) per “shift” terapeutico, che viene spostata dopo il ciclo 2.

Nota 1: f-CY solo nei casi LAL-T e LAL-B (fenotipo EGIL B-IV con SIg+).

#### f-CY

---

**Ciclofosfamide** 150 mg/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. -3, -2, -1, 0.

**Prednisone** 20 mg/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. -3, -2, -1, 0.

#### Ciclo 1

**Idarubicina** 10 mg/m<sup>2</sup> ev. gg. 1, 2.

**Vincristina** 2 mg ev. gg. 1, 8, 15.

**Asparaginasi** 6000 U/m<sup>2</sup> ev. gg. 8,10,12,14,16,18.

**Prednisone** 30 mg/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. 1-7,

20 mg/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. 8-14, poi riduzione in 7 gg.

Puntura lombare (PL): it. gg. 2, 16.

**Methotrexate** 12.5 mg

**Ara-C** 50 mg

**Prednisone** 40 mg

*G-CSF* 5 mcg/kg/die sc. da g. 4 a neutrofili >1500

Nota 2: Per i casi NO RC dopo ciclo 1, dare ciclo 2 come previsto (g. 28);

passaggio a programma alternativo se NO RC dopo ciclo 2 (opzioni: “ABC” oppure ciclo “*SPLIT*” modificato per LAL (v. oltre)).

Valutazione RC: Come in studio precedente 08/96 (midollo normocellulare o in rigenerazione con emopoiesi multilinea presente, blasti <5%; no malattia SNC/altra sede extramidollare se precedentemente definita; paziente dimissibile, no fabbisogno trasfusionale, neutrofilo >1000, piastrine >75000).

## 7.2 Cicli 2,3,5,6

Dosi: Come in 08/96 SR, notare aumento dose ciclofosfamide come per 08-T (650 → 750 mg/m<sup>2</sup>), mentre i dosaggi sono ridotti se l'età è >59 anni (**Figura 4bis**).

### Cicli 2,3\*,5,6 \*include cranioprofilassi

<b>Idarubicina</b>	12 (cicli 2,3), 10* (cicli 5,6) mg/m <sup>2</sup> ev. gg. 1, 2. *8 mg/m <sup>2</sup> (ciclo 6) se intervallo cicli 5-6 >28 gg per citopenia	
<b>Vincristina</b>	2 mg ev.	g. 1.
<b>Ciclofosfamide</b>	750 mg/m <sup>2</sup> ev.	g. 2.
<b>Desametasone</b>	4 mg x2 po.	gg. 1-4.
PL	v. induzione IVAP	g. 2.
<i>G-CSF</i>	5 mcg/kg/die sc.	da g. 4 a neutrofilo >1500.

\*Ciclo 3: più cranioprofilassi radioterapica 18 Gy, con inizio al giorno 1 (o successivi, entro giorno 5), più una seconda TIT al giorno 9 (una settimana dopo la prima TIT del ciclo 3)

## 7.3 Cicli 4,7 (sequenza HD-MTX/HD-ara-C) e raccolta cellule CD34+

Raccolta/purificazione cellule periferiche CD34+: Per eventuale Fase **B** con ipercicli (**B4**), la mobilizzazione/raccolta dei progenitori emopoietici circolanti si effettua dopo il ciclo 4, con un target teorico di cellule CD34+ purificate di  $2 \times 10^6/\text{kg}$  per ogni iperciclo (minimo  $1 \times 10^6/\text{kg}$ , x4 ipercicli, più possibilmente una dose di riserva). La tecnica di purificazione è la stessa raccomandata e adottata nel protocollo precedente 08/96; per i centri che non adottano questa procedura vale quanto specificato nello studio 08/96.

**N.B. 2** Per i casi in cui queste raccolte aferetiche purificate non verranno utilizzate, si raccomanda di conservare le sacche criocongelate per 5 anni dalla data di RC. In caso di recidiva, infatti, le cellule staminali CD34+ purificate possono essere utilmente impiegate per supportare la citopenia da protocollo di ritrattamento (*SPLIT*).

Schema preparazione-idratazione: **appendice 1**; se età >59 anni cfr. **Figura 4bis**

#### **Ciclo 4.7**

---

**HD-MTX** 1.5 g/m<sup>2</sup> ev. g. 1

(20% dose ev. in 1 ora, 80% dose ev. in 23 ore)

**HD-ara-C** 2 g/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. 2-3

(infusione 3 h, con inizio a fine MTX)

**Prednisone** 40 mg x2 ev. gg. 1-3

(collirio con steroide x4) gg. 2-4

*G-CSF*\* 5 mcg/kg/die sc. da g. 5 a neutrofili >1500 (ciclo 7)

\*10 mcg/kg/d dopo ciclo 4 per raccolta cellule CD34+

-rescue con **acido folinico** 15 mg/m<sup>2</sup> ogni 6 ore a

*partire da 24 ore da fine infusione MTX*  
*-somministrare sempre le prime 4 dosi di ac. folinico (prime*  
*4x6h = 24 ore), e successivamente monitorando*  
*MTX-emia fino a valore MTX<0.10 micromoli/l*  
cfr. **appendice 2**

**N.B. 1** Il limite di rescue con ac. folinico, rispetto a 08/96, viene spostato da MTX-emia 0.50 a MTX-emia 0.10 per ridurre la tossicità sistemica e mucosa dell'associazione MTX/HD-ara-C.

**N.B. 2** Nel ciclo 4, che prevede raccolta aferetica di progenitori emopoietici circolanti CD34+, dare G-CSF al dosaggio di 10 mcg/kg/die.

#### **7.4 Ciclo 8 (reinduzione)**

##### **Ciclo 8**

---

<b>Idarubicina</b>	6 mg/m <sup>2</sup> ev.	gg. 1, 8.
<b>Vincristina</b>	1 mg/m <sup>2</sup> ev.	gg. 1, 8.
<b>Prednisone</b>	20 mg/m <sup>2</sup> x2 po.	gg. 1-15.
PL	v. induzione IVAP	g. 2.
G-CSF	se leucopenia dopo	g. 8.

#### **7.5 Interessamento SNC precoce**

Nei pazienti con interessamento precoce SNC (alla diagnosi: blasti nel liquor; segni clinici; localizzazione TAC/RMN) si adottano le seguenti variazioni:

**Dosaggio farmaci it.** **MTX** 15 mg, **Ara-C** 75 mg, **Prednisone** 60 mg

**Frequenza farmaci it.**

1. PL tripla bisettimanale fino a regressione sintomi/scomparsa blasti;
2. quindi PL tripla settimanale x4;
3. quindi PL tripla mensile x8 (può coincidere con PL di alcuni cicli di Fase **A**).

**Radioterapia** Anticipare RTR encefalo dopo ciclo 2 (dose 24 Gy).

## **7.6 LAL-T e linfoma linfoblastico con mediastino residuo**

Nei pazienti con linfoma linfoblastico oppure LAL T con massa mediastinica alla presentazione, si propone **radioterapia mediastinica** in caso di massa residua dopo il ciclo 2 (*dosaggio 24 Gy*). Questa variazione è dettata dall'analisi della casistica protocollo 08/96, in cui per alcuni casi si documentava una lenta regressione o persistenza di massa mediastinica dopo chemioterapia iniziale, ed è confortata dalla esperienza GMALL in casi analoghi (miglioramento prognosi LAL-T).

## **8 PROTOCOLLO 09/2000 Fase B**

**(Figura 3)**

### **8.1 Attivazione**

Il protocollo 09/2000 Fase **B**, rischio-specifico e “**MRD-oriented**”, viene attivato alla fine del

ciclo 8 (reinduzione) secondo la qualifica di rischio del singolo caso.

Inizio fase B: a circa 1-2 settimane da fine ciclo 8, con leucociti >3000, piastrine >75000, no infezioni, performace status adeguato (ECOG 0-1).

## **8.2 RST “MRD” negativo: Fase B1 (Figure 5, 5bis)**

Sequenze alternate: Il protocollo **B1** è costituito da una alternanza di periodi di mantenimento tradizionale a basso dosaggio intercalato con “mini-fasi” comprendenti ciclofosfamide oppure vincristina-prednisone. Contemporaneamente, nei mesi 1, 3, 5 e 7, vengono somministrate le ultime punture lombari triple (TIT, v. **Figura 5**). La durata di questa fase è di 12 mesi; successivamente viene dato solo mantenimento standard, per altri 12 mesi. I pazienti con età >59 anni ricevono solo mantenimento a basso dosaggio con Purinethol/Methotrexate senza “mini-fasi” alternate e senza TIT addizionali (cfr. **Figura 5bis**). I casi con B-LAL (B-IV) ricevono mantenimento solo per i primi 6 mesi.

### **Sequenza Ciclofosfamide** *Mesi 1, 3, 5, 7, 9, 11*

**Ciclofosfamide** 100 mg/m<sup>2</sup>/die po. gg. 1-4 (ore 8).

Se segue citopenia severa, ridurre dosi del 50% al ciclo successivo

PL (MTX 12.5 mg, ara-C 50 mg, PDN 40 mg)

mesi 1, 3, 5, 7: g. 1.

### **Sequenza Vincristina-Prednisone** *Mesi 2, 4, 6, 8, 10, 12*

**Vincristina** 1 mg/m<sup>2</sup> ev. g. 1.

**Prednisone** 40 mg/m<sup>2</sup> po. gg. 1-5.

*(in 3 dosi)*

**Sequenza mantenimento standard** \_\_\_\_\_ Mesi 1-12 (gg. 8-28) e 13-24 (continuativo)

<b>Purinethol</b>	75 mg/m <sup>2</sup> /die po.
<b>Methotrexate</b>	30 mg/settimana po./im.

Per saggiare la tolleranza ematologica (leucociti stabili circa 3000/mmc) si consiglia di iniziare con Purinethol 50-75 mg/die totali e Methotrexate 10 mg/settimana totali; controllo emocromo al giorno 1 e 15 di ogni ciclo mensile (il secondo controllo coincide con le ultime 4 TTT).

**8.3 RAL “MRD” positivo con donatore famigliare HLA identico: Fase B**

**(Figura 6)**

Allotrapianto cellule staminali emopoietiche: I casi **RAL MRD** positivi sono eleggibili ad allotrapianto se disponibile donatore famigliare HLA e DR identico. La procedura di allotrapianto è quella adottata presso il centro di trattamento; la terapia “ad interim” pre-allotrapianto è tipo Fase **A** più eventuale Fase **B1**; si raccomanda di eseguire allotrapianto entro tre mesi dalla avvenuta definizione di **RAL MRD+** (massimo entro 3 mesi).

Allotrapianto nei casi Ph+: I pazienti con LAL Ph+ in RC, con donatore HLA identico, possono essere allotrapiantati quanto prima (durante Fase A). Come opzione per condizionamento dei casi Ph+ si raccomanda di considerare anche il regime “City of Hope”<sup>36</sup>.

**8.4 RAL Ph+, NO donatore HLA/DR identico famigliare, SI donatore MUD: Fase**

### **B3 (Figura 6)**

Ricerca/trapianto da donatore non correlato (“MUD”): I pazienti con LAL Ph+ (traslocazione t(9;22) in citogenetica standard e/o con riarrangiamento molecolare BCR-ABL (P190 o P210), in remissione ma senza disponibilità di donatore familiare HLA/DR identico, sono eleggibili (indipendentemente dallo stato **MRD**) alla ricerca di donatore “MUD” ed alla successiva esecuzione di allotrapianto da “MUD” (marrow unrelated donor)<sup>60,61</sup>. Per modalità di esecuzione vale quanto stabilito al punto precedente, ma i casi Ph+ devono essere allotrapiantati quanto prima possibile indipendentemente dal dato **MRD**. In questi casi, la ricerca donatore “MUD” va attivata alla RC se non vi sono altre controindicazioni.

### **8.5 “MRD” positivo, ogni altra categoria: Fase B4 (Figure 7, 7 bis)**

Considerazioni generali: I pazienti eleggibili alla Fase **B4** sono tutti quelli esclusi dalle Fasi **B1-B3**, e quindi comprendono tutti i pazienti **RAL MRD+** senza donatore HLA/DR familiare oppure, se Ph+, senza possibilità di eseguire allotrapianto “MUD”; sono ovviamente inclusi anche tutti i casi con donatore per i quali tuttavia, per ragioni mediche, non si ritenga indicata l’esecuzione di allotrapianto. La Fase **B4** consiste in quattro (due nei pazienti con età >59 anni) “ipercicli” supportati da mini-reinfusioni di cellule staminali emopoietiche autologhe, precedentemente raccolte da sangue periferico (cicli 3 e/o 4) e sottoposte a procedura di “purgino” di linea B oppure T-specifica, a seconda del fenotipo B o T della malattia. L’impiego aggiuntivo di aCD20 è ristretto a casi selezionati con caratteristiche clinico-prognostiche dichiaratamente avverse e positività per antigene CD20.

**N.B.** Nei pazienti appartenenti a questa classe MRD nei quali non sia stato possibile



raccogliere un quantitativo adeguato di cellule periferiche CD34+ per almeno 2 ipercicli durante il ciclo 4 (minimo-massimo 1-2x10<sup>6</sup>/kg), verrà preso in considerazione dopo il ciclo 8 espianto di midollo osseo, con analogha separazione, purificazione e ripartizione delle cellule midollari CD34+.

Ipercicli 1 & 3: Preparazione-idratazione come per terapia intensiva per 24 ore pre-chemioterapia.

### **Iperciclo 1.3**

---

**Etoposide** 100 mg/m<sup>2</sup> x2 ev. gg. 1, 2, 3, 4.

**Mercaptopurina** 225 mg/m<sup>2</sup> po. gg. 1, 2, 3, 4.  
(in 3 dosi)

**Melphalan** 100 mg/m<sup>2</sup> ev. g. 5.

Reinfusione cellule periferiche CD34+ autologhe “purificate”, 1-2 x10<sup>6</sup>/kg  
g. 6.

*G-CSF* 5 mcg/kg sc. da g. 7 a neutrofili >1500.

Dopo la reinfusione, si consiglia nutrizione parenterale totale.

*Riduzione* **Purinethol** dose 50% se bilirubina >2 mg%

Ipercicli 2 & 4: Preparazione come schema HD-MTX/HD-ara-C ( **appendice 1**)

### **Iperciclo 2.4**

---

**HD-MTX** 1.5 g/m<sup>2</sup> ev. g 1.  
(20% in 30', 80% in 23 ore 30')

**HD-ara-C** 3 g/m<sup>2</sup> x2/die (3h) ev. gg. 2, 3, 4.

Reinfusione cellule periferiche CD34+ autologhe “purificate”, 1-2 x10<sup>6</sup>/kg

g. 6.

*G-CSF* 5 mcg/kg/die sc. da g. 7 a neutrofili >1500.

-rescue con **acido folinico** v. cicli 4, 7 Fase **A**

Riduzione **HD-ara-C** 2 g/m<sup>2</sup>/dose se MTX-emia a fine infusione MTX  
(ora 24) >25 micromoli/l.

aCD20 durante ipercicli 1-4: Nei casi eleggibili (v. sopra) somministrare aCD20 durante ipercicli 1-4 con il seguente schema:

**aCD20**

---

**aCD20** 375 mg/m<sup>2</sup> ev. g. 10

premedicare (1 h) con paracetamolo 1000 mg po. e Trimeton 1 fl ev.

Sospendere aCD20 se reazione allergica/tossicità/intolleranza durante iperciclo 1 o successivi.

Intervalli tra ipercicli: 4-6 settimane secondo tolleranza clinica (no febbre/infezione, buona performance, leucociti >3000, piastrine >75000, bilirubina <2 mg%, AST/ALT <Nx3, creatinina <1.5)

No/stop ipercicli se:

1. infezione grave (primo episodio)/non risolta;
2. intervallo >8 settimane (passare a Fase **B1**);
3. non adeguato recupero ematologico (leucociti <3000, piastrine <75000);
4. altra tossicità grave.

Mantenimento: Alla conclusione della Fase **B4**, i pazienti in RC continuano con programma

di mantenimento Fase **B1** (per 6 mesi se fenotipo B-LAL/EGIL B-IV).

**N.B.** Data l'elevata concentrazione dei farmaci attivi nel sistema nervoso centrale

(methotrexate e ara-C ad alte dosi) raggiunta con gli ipercicli, si raccomanda di scalare una puntura lombare TIT di inizio Fase **B1** per ogni iperciclo effettivamente somministrato; pertanto, dopo tutti e 4 gli ipercicli non verrà effettuata alcuna TIT (*Figura 7*), etc.

## **8.6 Terapia resistenze e recidive**

Protocollo: Sono disponibili, per il trattamento delle resistenze primarie (dopo ciclo 2) e delle recidive, due protocolli GC (fino a definizione di eventuale nuovo protocollo):

“**ABC**”, usato negli studi precedenti<sup>62</sup>

“**SPLIT**” versione modificata per LAL (**appendice 3**)<sup>63</sup>

*Si consiglia di usare questo secondo protocollo.*

## **9 OBIETTIVI, ARRUOLAMENTO, ANALISI STATISTICA, CENTRI PARTECIPANTI, ORGANIZZAZIONE**

### **9.1 Obiettivi**

Obiettivo primario dello studio *09/2000* è il miglioramento della prognosi dei pazienti adulti con LAL rispetto ai risultati degli studi precedenti del **GC** (*IVAP, 07/93, 08/96*). In particolare, rimanendo prevedibilmente costante il tasso di RC iniziale (compreso tra 80% e 90%), l'obiettivo principale è il miglioramento del risultato di DFS (“disease-free survival” ovvero sopravvivenza libera da malattia in prima RC) a 3-5 anni rispetto al programma *08/96*, che rappresenta, per il **GC**, sia il primo tentativo formale di approccio “risk-oriented” al

trattamento di questa malattia che il miglior risultato terapeutico sinora ottenuto. Gli obiettivi secondari correlati riguardano l'analisi di sopravvivenza globale, dei risultati conseguiti in fase di recidiva/resistenza, e della tossicità acuta e cronica del trattamento.

## **9.2 Arruolamento**

Gli studi precedenti del **GC** hanno fornito informazioni prognostiche e terapeutiche ben precise dopo un arruolamento di circa 100-120 pazienti totali nell'arco di 3-4 anni. Questi numeri e la lunghezza media del follow-up permettono una valutazione degli eventi avversi a breve-medio termine (entro i primi 3 anni dalla data di RC), che qualificano la gran parte dei diversi sottogruppi prognostici e permettono con una buona approssimazione di prevedere il risultato di DFS a 5 anni. Data l'attuale strutturazione del **GC** (v. di seguito la lista dei centri partecipanti) e l'ulteriore differenziazione terapeutico-prognostica del piano di trattamento, è prevedibile che informazioni di questo tipo possano essere raccolte nell'arco di 5 anni in una popolazione iniziale minima di circa 150 pazienti (minimo 30 pazienti/anno), dei quali circa 130 otterranno la RC iniziale.

## **9.3 Svolgimento dello studio, monitoraggio**

Analogamente agli studi **GC** precedenti, lo studio *09/2000* prevede per il primo anno uno stretto monitoraggio trimestrale/semestrale dei risultati e della tossicità, al fine di correggere rapidamente eventuali imperfezioni del piano di trattamento. Successivamente, a fine arruolamento è previsto un aggiornamento/incontro con analisi semestrale/annuale dei dati fino alla conclusione dello studio.

## **9.4 Analisi statistica**

L'obiettivo primario dello studio *09/2000* è di consentire un miglioramento statisticamente significativo (test log-rank con  $p < 0.05$ ) del DFS a 3-5 anni rispetto al protocollo immediatamente precedente *08/96*, in una popolazione di pazienti in RC, non selezionata e consecutiva, quantitativamente e qualitativamente molto simile (102 pazienti in *08/96* vs circa 130 pazienti in *09/2000*). Per verificare questo assunto la differenza di DFS attesa dovrà essere dell'ordine del 20% globalmente. Vengono considerati, relativamente alla ridefinizione prognostico-terapeutica collegate alla redistribuzione **MRD** del rischio e dei trattamenti postremissionali, diversi aspetti distinti:

1. Conferma (o meno) della superiore predittività prognostica, rispetto ai tradizionali criteri clinici **RST** vs **RAL** di *08/96*, del metodo **MRD**. Il confronto si avvarrà sia del confronto retrospettivo che della comparazione incrociata dei dati di DFS a 3-5 anni del solo protocollo *09/2000* secondo i modelli:

-DFS **RST** clinico vs **RST MRD**: composizione quantitativa e qualitativa della casistica e risultati (anche vs *08/96*)

-DFS **RAL** clinico vs **RAL MRD**: composizione quantitativa e qualitativa della casistica e risultati (anche vs *08/96*)

Quindi il possibile miglioramento di DFS ( $p < 0.05$ ) nella classe **RST**, verrà valutato rispetto al protocollo *08/96* tenendo conto del duplice effetto dovuto alla selezione **MRD** nella classe **RST** clinico ed alla intensificazione del trattamento iniziale e di mantenimento (DFS atteso a 3-5 anni circa 70%). Il possibile miglioramento dei risultati ( $p < 0.05$ ) nelle classe **RAL** di tipo intermedio alto, identificata da stato **MRD** positivo e da malattia T oppure B Ph negativa (DFS atteso a 3-5 anni almeno 50%), oppure **RAL** Ph positiva (nel qual caso l'incremento di

DFS atteso non è realisticamente valutabile a priori), verrà valutato rispetto al protocollo 08/96 tenendo conto degli effetti combinati degli ipercicli addizionali/terapia con aCD20 a seconda del fenotipo di malattia, e dei trapianti di cellule staminali emopoietiche da donatore correlato o MUD (nella LAL Ph positiva).

Si definiscono infine i seguenti end-points clinici e statistici:

- Durata sopravvivenza globale (OS) = intervallo data diagnosi a data morte (da qualsiasi causa);
- DFS = intervallo data RC a data recidiva di LAL (in qualsiasi sede) o data morte in RC (da complicanze: infezioni, emorragie, trapianto, GVH etc.);
- “Censoring” = i pazienti deceduti per cause non attinenti alla terapia della LAL ed alle sue complicanze (leggi cause del tutto accidentali) potranno essere censurati dalle curve di DFS alla data della morte ma non saranno censurati dalle curve di OS. Nessun tipo di “censoring” è previsto per gli altri casi.

## **9.5 Raccolta dati e software per analisi**

Viene approntata una scheda paziente per raccolta dati (**appendice 4**), da compilarsi accuratamente in stampatello da ogni centro partecipante e da inoltrare al completamento di ognuna delle seguenti fasi al centro coordinatore (Bergamo):

- Arruolamento e diagnosi iniziale
- Fine ciclo 2 (per RC)
- Fine ciclo 7
- Fine Fase **B2/3** (allotrapianto/MUD) e **B4** (ipercicli)
- Semestralmente per 5 anni durante/dopo Fase **B1**

-Ad ogni evento avverso: recidiva/morte

-Successivamente quando richiesto

La scheda prevede l'analisi di tossicità da trattamento mediante impiego dei Common Toxicity Criteria (CTC, **appendice 5**) I dati verranno controllati ed immagazzinati in un apposito archivio elettronico File-Maker Pro per schedatura e analisi dati in modalità univariata e multivariata mediante software/hardware IBM compatibile.

L'aggiornamento della scheda dati va inviato al coordinatore dello studio *09/2000*, via fax (allo 035 266147, Dr R. Bassan, Div. Ematologia Ospedali Riuniti, Bergamo).

#### **9.6 Centri partecipanti**

Hanno dato adesione allo studio collaborativo LAL dell'adulto *09/2000* i seguenti centri:

Prof. G. Broccia, Dott. P. Casula: Osp. Onc. Businco *CAGLIARI*

Dott. T. Chisesi, M. Vespignani: Ematologia Osp. *VENEZIA*

Dott. P. Corradini: Unità BMT, Ospedale San Raffaele *MILANO*

Prof. P. Coser, Dott. P. Fabris: Ematologia Osp. *BOLZANO*

Dott. E. Di Bona, F. Rodeghiero: Ematologia Osp. *VICENZA*

Prof. G. Lambertenghi-Delilieri: Osp. Maggiore Univ. *MILANO*

Dott. S. Morandi, Div. Med II-Ematologia: Osp. *CREMONA*

Dott. M. Musso: Osp. Onc. La Maddalena *PALERMO*

Prof. E. Pogliani, G. Corneo: Ematologia Osp. *MONZA*

Dott. A. Porcellini: Onc. Med. Ematol. Osp. *NOALE (VE)*

Dott. G. Rossi, T. Izzi: Ematologia Osp. *BRESCIA*

## **9.7 Coordinamento**

Il centro coordinatore-organizzatore è costituito presso la Div. di Ematologia, Ospedali Riuniti, *BERGAMO*:

Responsabile Prof. T. Barbui,

Coordinatore protocollo *09/2000* Dott. R. Bassan,

Biologia molecolare e **MRD** Dott. A. Rambaldi e Dott. A. Spinelli,

Gestione dati e analisi statistica Dott. E. Oldani.

## **10. ASPETTI ETICI**

### **10.1 Aspetti etici**

Lo studio **GC** LAL *09/2000* dovrà essere condotto secondo le specifiche del protocollo, approvate dagli aderenti al **GC**, e in accordo con le regole per la buona pratica clinica (ICH Harmonized Tripartite Guidelines for Good Clinical Practice 1996; Direttiva 91/507/EEC, The Rules Governing Medicinal Products in the European Community; Dichiarazione di Helsinki riguardante la ricerca clinica sull'uomo, Recommendations Guiding Physicians in biomedical research Involving Human Subjects, Helsinki 1964, emendamenti Tokyo 1975-Venice 1983-Hong Kong 1989-Somerset west 1996).

### **10.2 Consenso informato**

Data la struttura innovativa orientata al rischio "molecolare residuo", con ottimizzazione **MRD**-specifico del programma postremissionale, viene richiesto al paziente un consenso



informato scritto (**appendice 6**). Al paziente andrà spiegata la formulazione generale del programma nell'ambito della propria classe di rischio, inizialmente clinica ed infine **MRD**, come pure le ragioni per la scelta del tipo consolidamento finale (Fase **B**). Ovviamente, in caso di mancata accettazione, il paziente verrà trattato con il programma tipo **B1**, corrispondente al concetto di mantenimento standard post-consolidamento intensivo secondo i canoni di trattamento tradizionali.

### **10.3 Aderenza al protocollo 09/2000**

Scelte terapeutiche diverse da quanto previsto dal piano di definizione prognostica del protocollo *09/2000* non sono eticamente accettabili in questo ambito, ed eventuali casi di violazione delle linee guida prognostico-terapeutiche verranno esclusi da ogni valutazione.

### **10.4 Comitato etico**

Prima dell'inizio dello studio il protocollo completo di tutte le sue parti, incluso l'atto di notorietà per aCD20, è stato presentato per approvazione al Comitato Etico degli Ospedali Riuniti di Bergamo. Il Comitato di Bioetica ha approvato il protocollo *09/2000* in data 5 Dicembre 2000.

## **11. REFERENZE BIBLIOGRAFICHE**

1. Bassan R, Battista R, Corneo G. et al. Idarubicin in the initial treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia: the effect of drug schedule on outcome. *Leuk Lymphoma* 1993, 11: 105.
2. Bassan R, Battista R, Viero P et al. Intensive therapy for adult acute lymphocytic leukemia: preliminary results of the idarubicin/vincristine/L-asparaginase/prednisolone regimen. *Semin Oncol* 1993, 20 (suppl 8): 39.
3. Bassan R., Di Bona E., Lerede T., et al. Age-adapted moderate-dose induction and flexible outpatient postremission therapy for elderly patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1996, 22: 295.
4. Bassan R., Lerede T., Di Bona E., et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF,

filgrastim) after or during an intensive remission induction therapy for adult acute lymphoblastic leukaemia: effects, role of patient pretreatment characteristics, and costs. *Leuk Lymphoma* 1997, 26: 153.

5. Bassan R, Lerede T, Di Bona E et al. Induction-consolidation with an idarubicin-containing regimen, unpurged marrow autograft, and post-graft chemotherapy in adult acute lymphoblastic leukemia. *Br J Haematol* 1999, 104: 755.

6. Bassan R, Rambaldi A, Lerede T et al. Possible prognostic benefit from ABMT in first remission adult acute lymphoblastic leukemia. In: *Transplantation in Hematology and Oncology* (eds: T. Buchner et al.), Springer Verlag, 2000: 217.

7. Bassan R, Pogliani E, Lerede T et al. Fractionated cyclophosphamide plus 'IVAP' as five drug regimen for acute lymphoblastic leukemia). *Haematologica*, 1999, 84 (EHA-4 abstract book): 121.

8. Bassan R, Rambaldi A, Pogliani E et al. Preliminary results of a risk-oriented program for B-lineage adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): the collaborative italian study 08/96. *Ann Hematol* 1999, 78 (suppl 2): S38.

9. Bassan R, Pogliani E, Lerede T et al. Fractionated cyclophosphamide added to IVAP regimen (idarubicin-vincristine-L-asparaginase-prednisone) could lower the risk of primary refractory disease in T-lineage but not B-lineage acute lymphoblastic leukemia: first results from a phase II clinical study. *Haematologica* 1999, 84: 1088.

10. Barbui T, Bassan R, Chisesi T et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Hematol Oncol* 1985, 3: 49.
11. Rohatiner AZS, Bassan R, Battista R et al. High dose cytosine arabinoside in the initial treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Br J Cancer* 1990, 62: 454.
12. Bassan R, Battista R, D'Emilio A et al. Long-term results of the HEAVD protocol for adult acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer* 1991, 27: 441.
13. Bassan R, Battista R, Rohatiner AZS et al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukaemia over a 16 year period. *Leukemia* 1992, 6 (suppl 2): 186.
14. Bassan R, Battista R, Montaldi A et al. Reinforced HEAV'D therapy for adult acute lymphoblastic leukemia: improved results and revised prognostic criteria. *Hematol Oncol* 1993, 11: 169.
15. Rambaldi A, Borleri G, Dotti P et al. Innovative two-step negative selection of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized circulating progenitor cells: adequacy for autologous and allogeneic transplantation. *Blood* 1998, 91: 2189.
16. Rambaldi A, Bassan R, Dotti GP et al. Autologous transplantation of leukemia-free circulating progenitor cells (CPC) in adult B-precursor ALL. *Blood* 1998, 92 (suppl 1): 1838.

17. Bassan R, Chiodini B, Lerede T et al. The role of idarubicin in adult acute lymphoblastic leukaemia: from drug resistance studies to clinical application. *Leuk Lymphoma* 1997, 26 (suppl 1): 89.
18. Bassan R, Rohatiner AZS, Lerede T et al. Early application of anthracyclines in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Ann Hematol* 1999, 78 (suppl 2): S9.
19. Bassan R, Rohatiner AZS, Lerede T et al. Role of early anthracycline dose-intensity according to expression of Philadelphia chromosome/BCR-ABL rearrangements in B-precursor adult acute lymphoblastic leukemia. *Hematol J* 2000, 1: in press.
20. Bassan R., Lerede T., Barbui T.: Institutional performance and dose intensity as prognostic factors in adult ALL. *Leukemia* 1995, 9: 933.
21. Bassan R, Lerede T, Di Bona E et al. An index of treatment intensity highly correlated with outcome in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 1998, 92 (suppl 1), 401a.
22. Bassan R, Battista R, Rossi G et al. The use of intensive chemotherapy regimens in the treatment of adult acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Satellite symposium: Idarubicin in the current treatment strategies for haematological malignancies. 20th Annual Meeting of the EGBMT, Harrogate (UK), 1994: 7.
23. Lerede T., Bassan R., Rossi A., et al. Therapeutic impact of adult-type lymphoblastic leukemia regimens in Bcell/L3 acute leukemia and advanced-stage Burkitt's lymphoma.

Haematologica 1996, 81: 442.

24. Lerede T, Bassan R, Viero P et al. Prolonged remission in adult B-ALL (L3) and advanced Burkitt's lymphoma using acute leukaemia regimens: study of 34 patients. In: Acute Leukemias VII (eds: W Hiddemann et al), Springer Verlag, 1998: 783.

25. Bassan R., Lerede T., Rambaldi A., et al. The use of anthracyclines in adult acute lymphoblastic leukemia. Haematologica 1995, 80: 280.

26. Bassan R., Lerede T., Rambaldi A., et al. The role of anthracyclines in adult acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 1996, 9 (suppl 2): S58.

27. Bassan R., Lerede T., Rambaldi A., et al. Role of anthracyclines in the treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. Acta Haematol 1996, 95: 188.

28. Bassan R., Rambaldi A., Lerede T., et al. Correlation between early anthracycline dose intensity and clinical outcome identifies specific chemo-resistance patterns in adult acute lymphoblastic leukemia. In: Drug resistance in Leukemia and Lymphoma II (eds.: R Pieters et al), Harwood Academic Publishers, 1997: 395.

29. Bassan R, Pogliani E, Casula P et al. Prospective confirmation of the value of anthracyclines in standard risk (SR) adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): update of risk-oriented study 08-96. Hematol J 2000, 1 (suppl 1): 114.

30. Rambaldi A, Attuati V, Bassan R et al. Molecular diagnosis and clinical relevance of

t(9;22), t(4;11) and t(1;19) chromosome abnormalities in a consecutive group of 141 adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk lymphoma* 1996, 21: 457.

31. Bassan R, Rohatiner AZS, Rambaldi A et al. Clinical sensitivity to anthracyclines in Ph/BCR+ acute lymphoblastic leukemia. In: *Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma III* (eds.: GJl Kaspers et al), Kluwer Academic, 1999: 489.

32. Hoelzer D, Ludwig WD, Loeffler H et al. Follow-up of the first two successive German multicentre trials for adult ALL. *Leukemia* 1992, 7 (suppl 2): S130.

33. Larson R, Dodge RK, Burns CP et al. A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: Cancer and Leukemia Group B study 8811. *Blood* 1995, 85: 2025.

34. Kantarjian HM, O'Brien S, Smith TL et al. Results of treatment with hyper-CVAD, a dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2000, 18: 547.

35. Barbui T, Bassan R. Terapia di prima linea ad alte dosi nella leucemia acuta linfoblastica dell'adulto. *Atti 37° Congresso Società Italiana di Ematologia, Torino, 1999: 149.*

36. Snyder DS, Nademanee AP, O'Donnell MR et al. Long-term follow-up of 23 patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with allogeneic bone marrow transplant in first complete remission. *Leukemia* 1999, 13: 2053.

37. Hoelzer D. Therapy of acute lymphoblastic leukemia. In: *Medical Management of*

hematological malignant Diseases (eds.: HM Kantarjian et al), Marcel Dekker, 1999: 19.

38. Campana D, Pui C-H. Detection of minimal residual disease in acute leukemia: methodological advances and clinical significance. *Blood* 1995, 85: 1416.

39. Foroni L, Harrison CJ, Hoffbrand AV et al. Investigation of minimal residual disease in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia by molecular analysis. *Br J Haematol* 1999, 105:7.

40. van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grumayer ER et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *The Lancet* 1998, 352: 1731.

41. Coustan-Smith E, Behm FG, Sanchez J et al. Immunological detection of minimal residual disease in children with acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet* 1998, 351: 550.

42. Cavé H, van der Werff ten Bosch J, Sociu S et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998, 339: 591.

43. Brisco MJ, Hughes E, Neoh SH et al. Relationship between minimal residual disease and outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996, 12: 5251.

44. Goulden NJ, Knechtli CJC, Garland RJ et al. Minimal residual disease analysis for the prediction of relapse in children with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1998, 100: 235.



45. Jacquy C, Delepaut B, Van Daele S et al. A prospective study of minimal residual disease in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukaemia: MRD level at the end of induction is a strong predictive factor of relapse. *Br J Haematol* 1997, 98: 140.
46. Brisco MJ, Condon J, Hughes E et al. Outcome prediction in childhood acute lymphoblastic leukaemia by molecular quantification of residual disease at the end of induction. *The Lancet* 1994, 343: 196.
47. Roberts WM, Estrov Z, Ouspenskaia MV et al. Measurement of residual leukemia during remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1997, 336: 317.
48. Foroni L, Coyle LA, Papaioannou M et al. Molecular detection of minimal residual disease in adult and childhood acute lymphoblastic leukaemia reveals differences in treatment response. *Leukemia* 1997, 11: 1732.
49. Nagafuji K, Harada M, Takamatsu Y et al. Evaluation of leukaemic contamination in peripheral blood stem cell harvests by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Br J Haematol* 1993, 85: 578.
50. Seriu T, Yokota S, Nakao M et al. Prospective monitoring of minimal residual disease during the course of chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukemia, and detection of contaminating tumor cells in peripheral blood stem cells for autotransplantation. *Leukemia* 1995, 9: 615.

51. Stoppa AM, Bouabdallah R, Chabannon C et al. Intensive sequential chemotherapy with repeated blood stem-cell support for untreated poor-prognosis non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997, 15: 1722.
52. Shea T, Mason JR, Storniolo AM et al. Sequential cycles of high-dose carboplatin administered with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and repeated infusions of autologous peripheral-blood progenitor cells: a novel and effective method for delivering multiple courses of dose-intensive therapy. *J Clin Oncol* 1992, 10: 464.
53. Schilder RJ, Johnson S, Gallo J et al. Phase I trial of multiple cycles of high-dose chemotherapy supported by autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol* 1999, 17: 2198.
54. Wandt H, Birkman J, Denzel T et al. Sequential cycles of high-dose chemotherapy with dose escalation of carboplatin with or without paclitaxel supported by G-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells: a phase I/II study in advanced ovarian cancer. *Bone Marrow Transplant* 1999, 23: 763.
55. Pettengell R, Woll PJ, Thatcher N et al. Multicyclic, dose-intensive chemotherapy supported by sequential reinfusion of hematopoietic progenitors in whole blood. *J Clin Oncol* 1995, 13: 148.
56. Weaver CH, Potz J, Redmond J et al. Engraftment and outcomes of patients receiving myeloablative therapy followed by autologous peripheral blood stem cells with a low CD34+ cell content. *Bone Marrow Transplant* 1997, 19: 1103.

57. Maloney DG, Grillo-Lopez A, White CA et al. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997, 90: 2188.

58. Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White Ca et al. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999, 17: 268.

59. O'Brien SM, Thomas DA, Freireich EJ et al. Rituxan has significant activity in patients with CLL. *Blood* 1999, 94 (suppl 1): 601a.

60. Marks DI, Bird JM, Cornish JM et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for children and adolescents with philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1998, 16: 931.

61. Sierra J, Radich J, Hansen JA et al. Marrow transplants from unrelated donors for treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1997, 90: 1410.

62. Bassan R, Lerede T, Barbui T. strategies for the retreatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 1996, 81: 20.

63. Bassan R, Lerede T, Chiodini B et al. Split-course high-dose ara-C plus idarubicin and multidrug blockade by short cyclosporin-A infusion (HiDAC-Ida-CsA) for refractory acute

myeloid leukemia (AML). *Ann Hematol* 1999, 78 (suppl 2): S41.

## **appendice 6**

## **Consenso informato allo studio clinico 09/2000** (preparato il 07/11/2000)

### **Luogo e data:**

Egregio Sig./Sig.a,

1. La Sua malattia del sangue rientra nel gruppo delle malattie neoplastiche potenzialmente curabili con chemioterapia. Fortunatamente, nel Suo come in molti altri casi, la terapia iniziale ha prodotto una remissione completa, ma la chemioterapia deve proseguire per ridurre il rischio di una ricaduta.

2. In questa malattia le possibilità di cura offerte dalla chemioterapia somministrata dopo la remissione dipendono, oltrechè dal tipo e dalla intensità della chemioterapia stessa, anche della presenza o meno di determinati fattori prognostici.

3. Nel Suo caso, la prognosi verrà studiata durante la prima parte del trattamento (Fase **A**), determinando la persistenza nel midollo osseo, a tempi prefissati (è previsto un esame di midollo ogni 2 cicli di consolidamento, per 3 volte totali) della cosiddetta malattia residua minima (**MRD**), che è il principale fattore di prognosi. Ciò significa che la possibilità di cura con chemioterapia dipende principalmente dalla evoluzione dello stato **MRD** nei primi mesi del trattamento. Per cura si intende attualmente il restare in prima remissione completa a 5 anni dalla diagnosi.

4. Per questo motivo riteniamo giustificato proporle un programma finale di trattamento (Fase **B**) che tiene conto della valutazione **MRD** del suo caso specifico, secondo uno schema che identifica quattro possibilità diverse:

#### **4.1 Stato MRD negativo**

Terapia finale a basso dosaggio (tipo tradizionale)

#### **4.2 Stato MRD positivo, disponibile donatore compatibile per trapianto di midollo osseo**

Trapianto di midollo osseo da familiare compatibile

#### **4.3 Malattia di tipo Ph+**

Poichè è accertata l'utilità del trapianto di midollo allogenico anche da donatore volontario non correlato (cosiddetto MUD), verrà attivata ricerca per trapianto di midollo osseo da MUD.

#### **4.4 Stato MRD positivo, altri casi (no donatore/no donatore MUD se Ph+)**

Attivazione di un protocollo chemioterapico di intensificazione. Si tratta di quattro cicli

supplementari in regime di ricovero, sostenuti da trapianto autologo di cellule emopoietiche da sangue periferico, decontaminate dalla malattia, allo scopo di ridurre la tossicità del trattamento. In caso di positività per proteina CD20 della Sua malattia, è previsto anche un trattamento contemporaneo con un nuovo farmaco (anticorpo monoclonale umanizzato anti-CD20) che, agendo in modo diverso dai chemioterapici classici, contribuisce ad eliminare cellule CD20 positive. Il trattamento con CD20 è già di uso comune in altre malattie affini alla Sua. Successivamente a questa fase verrà somministrata terapia di mantenimento a basse dosi.

Alla fine di questi trattamenti eseguiremo, durante i periodici controlli, altri esami del midollo osseo per **MRD** (ogni sei mesi). L'esito e le implicazioni prognostiche e terapeutiche di ogni esame Le saranno resi noti.

5. La somministrazione di questa terapia orientata al rischio **MRD** richiede il Suo consenso. I medici responsabili del Suo caso possono su richiesta fornirLe ogni altra informazione riguardante la Sua malattia e la terapia. Nel caso Lei non desideri aderire a questo progetto per qualsiasi ragione Le verrà somministrata una chemioterapia di mantenimento della remissione di tipo standard come al punto **4.1** e le verrà consigliato un eventuale trapianto di midollo osseo secondo le correnti indicazioni di rischio clinico (malattia Ph+, altro).

NB. IL PROTOCOLLO 09/2000 E' STATO APPROVATO DAL COMITATO DI BIOETICA DEGLI OSPEDALI RIUNITI DI BERGAMO IL 5 DICEMBRE 2000.

**Dichiarazione di consenso informato:**

Il/la sottoscritto/a Sig./Sig.a \_\_\_\_\_  
avendo letto, discusso e compreso i sovrastanti punti 1-5,

ACCONSENTE/NON ACCONSENTE ad essere sottoposto/a, nell'ambito dello studio clinico 09/2000, al trattamento di Fase **B** secondo classe di rischio **MRD**.

Firma del paziente/genitore/tutore

---

Firma/timbro del medico

---