

Leucemia linfatica cronica: dalla chemioterapia convenzionale ai nuovi farmaci

C. Bernasconi e G. Pagnucco

Istituto di Ematologia, Università di Pavia, IRCCS Policlinico S. Matteo

La leucemia linfatica cronica (LLC) è una malattia linfoproliferativa clonale caratterizzata dall'accumulo nel midollo, nel sangue e negli organi linfoidei periferici, di linfociti B piccoli, morfologicamente maturi, scarsamente proliferanti e in vario grado funzionalmente incompetenti. Tali cellule esprimono alti livelli delle proteine anti-apoptotiche BCL-2 e BCL-XL e bassi livelli della proteina pro-apoptotica BAX (1). Nonostante ciò la LLC è una malattia estremamente eterogenea, sia per la varietà, alla diagnosi e durante le fasi evolutive, delle espressioni citologiche e immunofenotipiche sia per l'estrema variabilità del decorso clinico, da forme praticamente asintomatiche, in cui la sopravvivenza senza trattamento è simile a quella della popolazione sana di pari età, a forme particolarmente aggressive, in cui l'evolutivezza e la scarsa risposta terapeutica determinano un andamento ingravescente e infausto a breve termine.

Tale eterogeneità ha spinto vari studiosi a ricercare criteri utili nell'orientare le scelte terapeutiche e volti ad individuare gruppi omogenei di pazienti sui quali l'effetto della terapia possa essere giudicato, utilizzando criteri oggettivi per la valutazione delle risposte. Le importanti implicazioni di questo approccio sono la disponibilità fin dall'esordio di criteri diagnostici e di una serie di fattori prognostici di sicura importanza e la necessità, durante il decorso clinico, di definire con precisione che cosa si intenda per malattia attiva o in progressione. Il *National Cancer Institute-Sponsored Working Group on CLL* ha recentemente pubblicato delle linee guida per la diagnosi e il trattamento della LLC estremamente utili a tale riguardo (2). È poi da sottolineare che la prima decisione terapeutica nella LLC non riguarda le modalità di trattamento, ma se i pazienti debbano essere trattati fin dal momento della diagnosi.

Diagnosi, fattori di prognosi e indicazioni per iniziare la terapia

I requisiti minimi per la diagnosi di LLC sono stati individuati in una linfocitosi nel sangue periferico (conta linfocitaria assoluta di 5000 per mm^3 o superiore) con linfociti di aspetto maturo e immunofenotipo caratterizzato dall'espressione di SIg a bassa intensità monoclonali (più frequentemente IgM o IgM e IgD) e degli antigeni pan-B CD19 e CD20, dell'antigene CD23 e dalla coespressione dell'antigene CD5 (2). Tale impostazione restrittiva nella diagnosi immunofenotipica, oltre a permettere la diagnosi differenziale della LLC rispetto alle altre malattie linfoproliferative croniche in fase leucemica, consente l'inclusione nei *trials* clinici e negli studi biologici di gruppi di pazienti omogenei, con i conseguenti indiscutibili vantaggi nella interpretazione dei risultati ottenuti.

Oltre allo stadio clinico, definito secondo Rai (3,4) e Binet (5), i fattori prognostici più utili sono i seguenti: 1) il tempo di raddoppiamento linfocitario (<12 mesi, cattiva prognosi); 2) il *pattern* diffuso di infiltrazione linfocitaria del midollo nella biopsia ossea (cattiva prognosi); 3) il livello sierico di β -2microglobulina (livello elevato, cattiva prognosi); 4) il livello sierico di CD23 solubile (livello elevato, cattiva prognosi).

Dighiero e coll. (6) hanno recentemente pubblicato i risultati di due studi randomizzati condotti tra il 1980 e il 1990, dimostrando che iniziare precocemente la terapia con chlorambucil, da solo o in associazione al prednisone, in pazienti affetti da LLC con malattia indolente (stadio A), non prolunga la sopravvivenza. Per tale motivo l'inizio della terapia citotossica va procrastinato fino a quando non compaia almeno una delle seguenti evidenze di malattia attiva o in fase di progressione: 1) presenza di sintomi generali correlati alla malattia (sintomi B, grave astenia); 2) linfadenomegalie ed epatosplenomegalia in rapida progressione o massive; 3) tempo di raddoppiamento linfocitario inferiore a 12 mesi; 4) stadio III o IV di Rai; 5) anemia o trombocitopenia autoimmuni.

Chlorambucil: dall'impiego convenzionale alle alte dosi

Il chlorambucil (CLB) è l'agente più frequentemente utilizzato, singolarmente o in associazione al prednisone (PD), nel trattamento della LLC, e resta tuttora il farmaco di riferimento in questa patologia. Impiegato in associazione con PD, al dosaggio convenzionale di 0,08-0,16 mg/kg/die negli schemi di somministrazione continua e di 0,4-1,2 mg/kg/die ogni 2/4 sett. negli schemi intermittenti, consente di ottenere percentuali di risposta globale del 38-75% e di RC del 10% circa, senza significative differenze di sopravvivenza (7-14).

Recentemente, pur confermando l'indicazione alla terapia corticosteroidica per il trattamento delle complicanze, è stata dimostrata l'assenza di significativi vantaggi dell'impiego di PD in associazione con CLB da studi che hanno specificatamente affrontato questo problema (15) e da una recente metanalisi (16). L'impiego di *routine* del PD non ha quindi motivazioni vista la scarsa attività antineoplastica e le frequenti controindicazioni in una popolazione di età avanzata.

Nella LLC in fase avanzata l'uso del CLB a dosi elevate (12-15 mg/die) e con somministrazione giornaliera continua per periodi di 3-4 sett. (8) o fino al raggiungimento della RC o di tossicità di grado 3 o per un periodo massimo di 6 mesi (11) consente di ottenere una *dose intensity* molto superiore a quella degli schemi convenzionali. Con tale modalità innovativa di impiego del CLB (HD-CLB), seguita da mantenimento con basse dosi per prolungati periodi, Jaksic e coll. hanno riportato in studi multicentrici randomizzati percentuali di risposta e mediane di sopravvivenza significativamente superiori a quelle ottenute sia con CLB+PD a dosi standard secondo lo schema di Sawitsky (11) sia con la polichemioterapia CHOP a basse dosi secondo lo schema del Gruppo Cooperatore Francese (17). Inoltre, nello studio randomizzato di fase II condotto dall'EORTC in pazienti con LLC in fase avanzata non pretrattata attualmente in corso, le percentuali di risposta e la sopravvivenza a 2,5 anni ottenute con HD-CLB non sono risultate inferiori a quelle della fludarabina (18).

Nella LLC indolente i risultati di due studi randomizzati condotti dal Gruppo Cooperatore Francese dimostrano che l'inizio precoce di un trattamento con CLB da solo o in combinazione con PD, anche se può ritardare la progressione della malattia, non determina alcun vantaggio in termini di sopravvivenza, rispetto a differire il trattamento al momento della progressione in stadio B o C (6).

Polichemioterapia

La polichemioterapia è stata impiegata nelle forme avanzate di LLC sia come terapia di salvataggio che come terapia primaria, nel tentativo di dimostrare una superiorità rispetto al CLB, con risultati deludenti (Tab.1).

L'associazione COP o CVP (ciclofosfamide, vincristina, prednisone) ha consentito di ottenere un tasso di risposta del 52% in pazienti non pretrattati e del 31% in pazienti pretrattati (19). La superiorità di questa combinazione rispetto all'associazione CLB+PD non è stata dimostrata, nonostante le migliori percentuali di risposta ottenute, in nessuno degli studi prospettici randomizzati condotti in pazienti in stadio avanzato (9,14,15,20).

Uno dei risultati più importanti dello studio francese CLL 80 riguardante il confronto tra regime CHOP modificato (mini-CHOP) e regime COP è stata la dimostrazione che l'aggiunta dell'adriamicina a basse dosi (25 mg/m²) porta un effettivo vantaggio terapeutico nello stadio C, con tassi di sopravvivenza a 3 anni di 71% vs 28% e sopravvivenze mediane di 62 vs 22 mesi rispettivamente (21). Va tuttavia ricordato che nello studio ECOG è stata ottenuta negli stadi III e IV di Rai una sopravvivenza mediana di 49 mesi con un regime COP intensificato (20). Recentemente il regime CHOP è stato confrontato in studi randomizzati dai Gruppi Cooperatori Danese (22), Francese (23) e Svedese (24) con l'associazione CLB+PD in pazienti di stadio B e C, ottenendo percentuali di risposta più elevate, ma non vantaggi in termini di sopravvivenza. Il confronto tra HD-CLB e mini-CHOP in 228 pazienti con malattia avanzata o in progressione non pretrattata ha evidenziato percentuali di risposta significativamente migliori (89,5% vs 75%) e una più lunga sopravvivenza mediana (68 mesi vs 47 mesi) con l'HD-CLB (17).

Negli studi condotti all'MDACC per verificare l'efficacia delle antracicline le risposte sono state valutate utilizzando sia i parametri clinici e ematologici periferici che la biopsia ossea. Le percentuali di RC ottenute nei pazienti non pretrattati sono state migliori con il CAP (25) rispetto al POACH (26) (ciclofosfamide, adriamicina, vincristina, citosinarabioside, prednisone) (43% vs 21%) ma la sopravvivenza mediana è risultata identica (5 anni). Con il regime POACH soltanto il 6% dei pazienti pretrattati ha conseguito la RC.

Con il protocollo M-2 utilizzato all'MSKCC nella LLC in fase avanzata e basato sull'impiego combinato di più agenti alchilanti (ciclofosfamide, BCNU, melphalan, vincristina, prednisone) sono state per la prima volta dimostrate delle RC midollari immunofenotipiche (27). Le percentuali di RC ottenute nei pazienti non pretrattati e pretrattati sono state 32% e 0% rispettivamente. In uno studio simile condotto in Italia (MINA) basato sul protocollo M-2 ed utilizzante il peptichemio al posto del BCNU è stato riportato il 35% di RC (28).

Analoghi delle purine

Gli analoghi purinici sono stati introdotti a metà degli anni '80 nei protocolli di ricerca clinica per la dimostrata attività nella LLC e nei disordini linfoproliferativi indolenti. La fludarabina (FAMP) è stato quello più estensivamente utilizzato. La 2-clorodeossadenosina (2-CDA) solo più recentemente è stata studiata nelle varie modalità di somministrazione, intravenosa, sottocutanea e orale. La 2'-deossicoformicina (DCF o pentostatina) è risultata fin dall'inizio di limitata efficacia nella LLC.

L'efficacia della FAMP impiegata come singolo agente nel trattamento della LLC in pazienti in recidiva di malattia e/o refrattari a precedenti terapie con agenti alchilanti è risultata evidente sin dalla prima esperienza terapeutica riportata da Grever e coll. (29) ed è stata confermata dagli studi di fase II condotti su un ampio numero di pazienti all'MDACC (30,31,32), presso altre Istituzioni (33,34,35,36) e da uno studio multicentrico prospettico randomizzato di fase III confrontante FAMP e CAP (14). Nella maggior parte di questi studi la FAMP, alla dose di 20-30 mg/m²/die per 5 gg. ogni 3/4 sett., ha consentito di ottenere risposte globali superiori al 45%. Negli studi più rappresentativi sono state inoltre riportate percentuali di RC (30,31,32,41) del 10-14% e di RC nodulari (30,31,32) del 15-25%, verificate con analisi immunofenotipica in citometria a flusso e del riarrangiamento dei geni delle Ig (37). L'aggiunta di PD non ha migliorato le risposte nè ha modificato la sopravvivenza e ha comportato una maggior incidenza di infezioni opportuniste (31). Con l'impiego di uno schema terapeutico a minor *dose intensity* (30 mg/m²/die per 3 gg. ogni 4 sett.) sono state ottenute percentuali di RC (10%) e di risposta globale (46%) paragonabili, una sopravvivenza tendenzialmente migliore, una minore incidenza di infezioni e una inferiore riduzione dei linfociti CD4+ nei primi 3 mesi di terapia (32). I fattori prognostici condizionanti sfavorevolmente la risposta e la sopravvivenza sono stati: entità del pretrattamento, refrattarietà a precedente terapia con alchilanti, stadio e età avanzati (38). Il tempo mediano di progressione dei pazienti pretrattati rispondenti è risultato di 21 mesi. La tossicità più importante nei pazienti pretrattati è stata la mielotossicità, più frequente nei pazienti pesantemente trattati o con malattia di stadio avanzato o di età avanzata, e l'immunodepressione, osservata in tutte le categorie di pazienti, con aumentato rischio di anemia emolitica autoimmune grave (39).

L'impiego a dosi standard della FAMP nel trattamento iniziale della LLC sintomatica o in progressione come singolo agente (40) o in associazione con PD (31) ha consentito di ottenere, presso l'MDACC in 174 pazienti, percentuali di RC e di risposta globale del 29% e del 78%, rispettivamente, con un tempo mediano di progressione di 33 mesi (41). Tali risultati hanno aperto la strada a studi comparativi di fase III della FAMP vs terapia convenzionale (CLB o polichemioterapia) con l'intento di rispondere al quesito della terapia di prima linea di elezione nella LLC. I risultati dei due studi prospettici randomizzati recentemente conclusi sono riportati nella Tab. 2. Nello studio del Gruppo Cooperatore Francese 100 pazienti non pretrattati in stadio avanzato hanno ricevuto terapia con FAMP a dosi standard o secondo lo schema CAP per 6 cicli (42); lo studio Intergruppo Nordamericano è stato condotto su 385 pazienti con malattia attiva impiegando la FAMP a dosi standard o il CLB alla dose di 40 mg/m² ogni 4 sett. (43). In entrambi gli studi sono state ottenute migliori percentuali e durate di risposta con la FAMP rispetto al CLB o al CAP, ma non è stato osservato un prolungamento della sopravvivenza. Lo studio randomizzato FAMP a dosi standard vs CAP vs CHOP del Gruppo Cooperatore Francese condotto su pazienti in stadio B e C non è ancora concluso; all'ultima analisi *ad interim* sono stati per ora osservati risultati significativamente migliori della FAMP in termini di risposta e di sopravvivenza soprattutto nei confronti del CAP (44).

La 2-CDA impiegata in infusione continua alla dose di 0,1 mg/kg/die per 7 gg. in 90 pazienti con malattia in progressione e resistenti al trattamento di prima linea ha consentito di ottenere una risposta globale del 44% con il 4% di RC e una durata mediana di risposta di 4 mesi (45). In uno studio europeo condotto su 52 pazienti, utilizzando criteri per definire la RC diversi da quelli specificati nelle linee guida del NCI (2), sono state riportate una risposta globale del 58% con 31% di RC e una durata mediana attuariale della risposta di 20 mesi (46). In pazienti non pretrattati utilizzando varie modalità di somministrazione, infusione continua (47) o infusione di 2 ore alla dose di 0,12 mg/kg/die per 5 gg. (48,49) o orale alla dose di 10 mg/m²

per 5 gg. ogni 4 sett. (50), sono state ottenute risposte globali del 75-80% con 25-47% di RC e effetti a lungo termine sulla progressione e sulla sopravvivenza ancora da determinare. Le principali tossicità riscontrate sono state la mielodepressione e l'immunodeficienza T-cellulare con il relativo spettro di infezioni.

La 2-DCF appare meno efficace. Nella metanalisi relativa a quattro studi di fase II, in 113 pazienti affetti da LLC in stadio avanzato nella grande maggioranza pretrattati, viene riportato un tasso di risposta globale del 25% (*range* 18-35%), con risposte quasi esclusivamente rappresentate da RP anche nei pazienti non pretrattati (51).

Terapie innovative emergenti

Associazioni tra analoghi purinici e alchilanti

Nonostante l'elevata efficacia della FAMP come agente singolo, la recidiva resta un evento costante. Per tale motivo e per la mancanza di una significativa tossicità extraematologica, vengono attualmente sperimentate combinazioni con altri farmaci, sulla base di evidenze di effetti additivi o sinergici, con l'intento di migliorare le percentuali di risposta, ottenendo un maggior numero di RC. In particolare la potente inibizione esercitata dalla FAMP sui meccanismi di DNA *repair* costituisce il razionale per la sua associazione con farmaci il cui meccanismo di azione è quello di alterare la struttura del DNA. Questo tipo di approccio comporta tuttavia una maggiore mielotossicità e una riduzione della dose totale degli agenti utilizzati nella combinazione.

All'MDACC, in 24 pazienti resistenti sia agli alchilanti che alla FAMP, l'impiego della combinazione di FAMP, alla dose di 30 mg/m²/die per 3 gg., e di ciclofosfamide, alla dose di 300 mg/m²/die per 3 gg., ha consentito di ottenere una risposta globale del 38% con il 4% di RC (53). Un risultato di grande interesse considerato il fatto che, prima dell'introduzione di tale associazione nessun trattamento si era dimostrato efficace in tale categoria di pazienti.

Il terzo braccio dello studio Intergruppo Nordamericano, contemplante la combinazione CLB+FAMP in pazienti non pretrattati, è stato chiuso per l'eccessiva mielotossicità e in quanto la percentuale di risposta osservata era risultata sovrapponibile a quella ottenuta con la sola FAMP (52). Il potenziale terapeutico dell'associazione di ciclofosfamide e FAMP in pazienti con LLC non trattata è stato valutato da una serie di studi di fase II prevedenti o l'impiego della ciclofosfamide a dosi ridotte senza (53) e con il supporto di G-CSF (53,54) in combinazione con la FAMP o l'uso sequenziale dei due singoli agenti impiegando la ciclofosfamide ad alte dosi come terapia di consolidamento con l'intento di incrementare le risposte ottenute con la FAMP (55). Con l'impiego in combinazione si è osservata una rapida e importante riduzione della massa tumorale accompagnata da citopenie e infezioni, limitate dall'impiego del G-CSF e dalla profilassi antibatterica e antivirale. Il problema delle infezioni opportuniste si è rivelato particolarmente importante con l'associazione di pentostatina, CLB e PD (56), probabilmente in relazione all'uso del cortisone e alla mancata profilassi antibatterica e antivirale. I risultati preliminari di tali associazioni (Tab. 3) sono promettenti e richiedono di essere verificati in studi di fase III per trarre conclusioni definitive sul loro impiego in prima linea.

Anticorpi monoclonali

Un nuovo approccio biologico nel trattamento della LLC è costituito dall'impiego di anticorpi monoclonali chimerici diretti verso antigeni espressi dalle cellule leucemiche. Tali anticorpi sono realizzati mediante ingegneria genetica in modo tale da presentare la porzione variabile di origine murina e quella costante di origine umana, hanno una emivita prolungata e sono in grado di determinare la distruzione delle cellule a cui si legano attraverso l'attivazione

del complemento, delle cellule citotossiche e dei meccanismi molecolari dell'apoptosi. Due di tali anticorpi, il CAMPATH-1H e l'IDEC-C2B8 (*rituximab*), sono attualmente attivamente studiati nella LLC.

Il CAMPATH-1H si lega in modo specifico all'antigene CD52, espresso da più del 95% dei linfociti T e B, cellule della LLC-B comprese. I risultati degli studi in cui il CAMPATH-1H è stato impiegato in pazienti non precedentemente trattati o pesantemente pretrattati affetti da LLC sono riassunti nella Tab. 4 (57-62). Nello studio multicentrico europeo condotto su 29 pazienti pretrattati è stata ottenuta una risposta globale del 42% (57). Dai primi studi effettuati è emerso che tale anticorpo agisce preferenzialmente su sangue periferico, midollo osseo e milza, e che è meno efficace nei linfonodi. Le tossicità osservate comprendono, oltre a quella autolimitante correlata all'infusione, neutropenia e immunosoppressione T-cellulare, che può essere particolarmente severa soprattutto in caso di impiego per periodi prolungati, determinando l'insorgenza di infezioni opportuniste. L'impiego del CAMPATH-1H dopo FAMP per un periodo di tempo limitato a 4-6 sett. con lo scopo di eliminare la malattia residua è risultato altamente efficace e privo di complicazioni (58).

L'IDEC-C2B8 si lega in modo specifico all'antigene CD20, espresso in modo variabile, ma più frequentemente a bassa intensità, da oltre il 95% dei pazienti affetti da LLC. Si ritiene che, in analogia a quanto riportato nel linfoma linfocitico, l'alto *tumor burden* e l'espressione *dim* del CD20 possano avere nella LLC un impatto sfavorevole sulla risposta. I dati disponibili relativi al suo impiego nella LLC sono comunque per ora molto limitati. Nello studio di fase I-II con *dose escalation* condotto all'MDACC in pazienti recidivati o refrattari è stata ottenuta una risposta globale del 38% (63).

Trapianto di cellule staminali emopoietiche

La possibilità di ottenere RC con l'impiego della FAMP da sola o in combinazione con altri agenti ha portato a prendere in considerazione anche nella LLC l'approccio trapiantologico, soprattutto nei pazienti giovani con indici prognostici sfavorevoli in cui sia stata ottenuta una buona risposta alla terapia di salvataggio e, più recentemente, come consolidamento della RC dopo terapia di prima linea, con lo scopo di migliorarne l'aspettativa di vita. Diversi studi di fase II hanno dimostrato la fattibilità sia del trapianto allogenico che del trapianto autologo nei pazienti con LLC (64).

Le esperienze di trapianto allogenico finora riportate sono ancora limitate e non del tutto incoraggianti, sebbene siano state ottenute RC prolungate verificate anche a livello molecolare in pazienti con LLC recidivata e refrattaria, per l'alta morbilità e mortalità correlate al trapianto. Nella casistica retrospettiva policentrica di 135 pazienti raccolta dall'*International and European Bone Marrow Transplantation Registry* la mortalità da trapianto è stata del 47% e a 3 anni sono risultate una sopravvivenza del 48% e una sopravvivenza libera da leucemia del 44% (65). Esperienze monoistituzionali hanno tuttavia riportato mortalità da trapianto nettamente inferiori, ipotizzando un possibile effetto del pretrattamento con FAMP nel diminuire la severità della GVHD acuta (66). Più recentemente è stata dimostrata la fattibilità di allotrapianti con l'impiego di regimi non mieloablativi (*transplants-lite* o minitrapianti) anche nella LLC (67); se l'inferiore tossicità e l'efficacia di tali procedure fosse corroborata da ulteriori studi, le indicazioni al trapianto allogenico potrebbero essere estese ad una più ampia fascia di pazienti.

L'introduzione delle tecniche di mobilizzazione di cellule staminali periferiche unitamente alla diffusione di nuove metodiche di *purging* e di selezione delle cellule CD34+ ha dato un particolare impulso all'impiego del trapianto autologo nella LLC. Inoltre la possibilità che le RC ottenute con terapia ad alte dosi e dimostrate a livello molecolare con tecniche particolarmente sensibili, quali la PCR con oligonucleotidi paziente-specifici, siano correlate ad un miglior

andamento clinico, sta creando grandi attese sul possibile effetto di queste procedure nel modificare la storia naturale della LLC (68). Nella casistica retrospettiva policentrica di 97 pazienti raccolta dall'*International and European Bone Marrow Transplantation Registry* le cellule staminali periferiche sono state utilizzate nel 53% dei pazienti, la mortalità da trapianto è stata del 12% e a 3 anni sono risultate una sopravvivenza dell'80% e una sopravvivenza libera da leucemia del 56% (65). Nonostante oltre 170 pazienti affetti da LLC siano stati sottoposti ad autotrapianto, il suo ruolo nella strategia terapeutica deve essere ancora stabilito (64). Inoltre sono emerse diverse problematiche, quali l'identificazione della soglia minima di contaminazione del trapianto clinicamente significativa, il ruolo del *purging* e il significato clinico della leucemia minima residua prima e dopo il trapianto, che potranno avere una risposta solo nel contesto di studi clinici randomizzati.

Nuovi farmaci

Diversi nuovi farmaci potenzialmente utili nel trattamento futuro della LLC stanno entrando in *trials* clinici di fase I e II (69):

- UCN-01: derivato idrossilato della staurosporina, potente inibitore della protein-chinasi C.
- Briostatina: prodotto naturale, attivatore della protein-chinasi C.
- Flavopiridolo: flavone sintetico, potente inibitore delle chinasi ciclina-dipendenti.
- GW 506-U78: profarmaco dell'ara-G.

Prospettive di terapia genica

In uno studio di terapia genica di fase I (70) è stata utilizzata l'infezione *ex vivo* delle cellule leucemiche con il vettore adenovirale Ad-CD154 codificante *CD40-ligand* ricombinante (CD154), per rendere le cellule della LLC più efficienti nella presentazione dell'antigene, attraverso un'accresciuta espressione di CD54, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), CD54, CD70 e CD95, e indurre la generazione *in vitro* di linfociti T citotossici autologhi (CTL) anti cellule leucemiche, infette e non infette. La reinfusione di queste cellule nel paziente può pertanto determinare una risposta immune anti-leucemica con potenziale terapeutico. Tale strategia è già stata applicata in 3 pazienti ottenendo risposte cliniche significative e con tossicità accettabile.

Conclusioni

La fludarabina è l'agente singolo che ha consentito di ottenere il maggior numero di risposte globali e di RC documentate anche a livello molecolare nel trattamento della LLC.

Nella pratica clinica tali risultati, sebbene non vi siano ancora evidenze di un significativo miglioramento della durata di sopravvivenza rispetto ad altri tipi di terapia, hanno condizionato l'impiego sempre più indiscriminato della fludarabina come farmaco di prima scelta per il trattamento iniziale della LLC. È meglio tuttavia che la decisione di iniziare la terapia venga presa individualmente, paziente per paziente, scegliendo tra fludarabina e agenti alchilanti, in relazione agli *end-points* terapeutici e alla tossicità potenziale di ciascun trattamento, valutando la categoria di rischio definita secondo i criteri di Rai modificati (4) e le indicazioni per iniziare il trattamento stabilite dalle linee guida NCI (2).

Nella ricerca clinica tali risultati hanno contribuito in modo determinante al superamento del concetto radicato di "contenimento della malattia" rappresentato dall'impiego degli schemi a dosaggio standard di chlorambucil, aprendo la strada all'introduzione di nuovi farmaci e a nuove strategie terapeutiche per aumentare le RC, controllare ed eradicare la malattia residua e vincere i meccanismi intrinseci di resistenza farmacologica, con intenti curativi.

Bibliografia

1. Gottardi D., Alfarano A., DeLeo A.M., et al.: In leukaemic CD5+ B cells the expression of BCL-2 gene family is shifted toward protection for apoptosis. *Br. J. Haematol.* 94: 612, 1996.
2. Cheson B.D., Bennet J.M., Grever M., et al.: National Cancer Institute-Sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: Revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 87: 4990, 1996.
3. Rai K.R., Sawitsky A., Cronkite E.P., et al.: Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 46: 219, 1975.
4. Rai K.R.: A critical analysis of staging in CLL: 1987 UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology. *New Series* 59: 253, 1987.
5. Binet J.L., Augier A., Dighiero G., et al.: A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 48: 198, 1981.
6. Dighiero G., Maloum K., Desablens B., et al.: Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 338: 1506, 1998.
7. Sawitsky A., Rai K.R., Glidewell O., Silver R.T.: Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 50: 1049, 1977.
8. Michallet M., Sotto J.J., Moulin J.J., et al.: Management of CLL patients after chlorambucil therapy. Special value of a second Rai staging. *Eur. J. Cancer* 16: 511, 1980.
9. Montserrat E., Alcalá A., Parody R., et al.: Treatment of chronic lymphocytic leukemia in advanced stages. *Cancer* 56: 2369, 1985.
10. Keller J.W., Knospe W.H., Raney M., et al.: Treatment of chronic lymphocytic leukemia using chlorambucil and prednisone with or without cycle-active consolidation chemotherapy. *Cancer* 58: 1185, 1986.
11. Jaksic B., Brugiattelli M.: High dose continuous chlorambucil vs intermittent chlorambucil plus prednisone for treatment of B-CLL . IGCI CLL-01 trial. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 30: 437, 1988.
12. Montserrat E., Alcalá A., Alonso C., et al.: A randomized trial comparing chlorambucil plus prednisone vs cyclophosphamide, melphalan, and prednisone in the treatment of chronic lymphocytic leukemia stages B and C. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 30: 429, 1988.
13. Hansen M.M., Andersen E., Birgens H., et al.: CHOP versus chlorambucil + prednisone in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 97, 1991.
14. Raphael B., Andersen J.W., Silber R., et al.: Comparison of chlorambucil and prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone as initial treatment for chronic lymphocytic leukemia: Long-term follow-up of an Eastern Cooperative Oncology Group randomized clinical trial. *J. Clin. Oncol.* 9: 770, 1991.
15. Catovsky D., Richards S., Fooks J., Hamblin T.J.: CLL trials in the United Kingdom. The Medical Research Council CLL trials 1, 2, and 3. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 105, 1991.
16. Richards S., Clarke M.: Meta-analysis of results. *Hematol. Cell Ther.* 39 (Suppl. 1): S57, 1997.
17. Jaksic B., Brugiattelli M., Krc I., et al.: High dose chlorambucil versus Binet's modified cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone regimen in the treatment of patients with advanced B-cell chronic lymphocytic leukemia. Results of an international multicenter randomized trial. *Cancer* 79: 2107, 1997.

18. Jaksik B., Brugiatelli M., Suciú S., et al.: Randomized phase II study in untreated B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) comparing fludarabine (FAMP) vs. high dose continuous chlorambucil (HD-CLB). *Blood* 92 (Suppl. 1): 103a, 1998.
19. Liepman M., Votaw M.L.: The treatment of chronic lymphocytic leukemia with COP chemotherapy. *Cancer* 41: 1664, 1978.
20. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia: A randomized clinical trial of chlorambucil versus COP in stage B Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 75: 1422, 1990.
21. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. Long term results of the CHOP regimen in stage C chronic lymphocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 73: 334, 1989.
22. Hansen M.M., Andersen E., Birgens H., et al.: CHOP versus chlorambucil + prednisolone in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 97, 1991.
23. The French Cooperative Group on CLL. Therapeutic results from the trials managed by the French Cooperative Group on Chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 83, 1991.
24. Kimby E., Mellstedt H.: Chlorambucil/prednisone versus CHOP in symptomatic chronic lymphocytic leukemias of B-cell type. A randomized trial. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 93, 1991.
25. Keating M.J., Hester J.P., McCredie K.B., et al.: Long-term results of CAP therapy in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 2: 391, 1990.
26. Keating M.J., Scouros M., Murphy S., et al.: Multiple agent chemotherapy (POACH) in previously treated and untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2: 157, 1988.
27. Kempin S., Lee III B.H., Thaler H.T., et al.: Combination chemotherapy of advanced chronic lymphocytic leukemia: The M-2 protocol (vincristine, BCNU, cyclophosphamide, melphalan and prednisone). *Blood* 60: 1110, 1982.
28. Ferrara F., Vecchio L.D., Mele G., et al.: A new combination chemotherapy for advanced chronic lymphocytic leukemia (vincristine, cyclophosphamide, melphalan, peptichemio, and prednisone protocol). *Cancer* 64: 789, 1989.
29. Grever M.R., Kopecky K.J., Coltman C.A., et al.: Fludarabine monophosphate: A potentially useful agent in chronic lymphocytic leukemia. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 30: 457, 1988.
30. Keating M.J., Kantarjian H., Talpaz M., et al.: Fludarabine: A new agent with major activity against chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 74: 19, 1989.
31. O'Brien S., Kantarjian H., Beran M., et al.: Results of fludarabine and prednisone therapy in 264 patients with chronic lymphocytic leukemia with multivariate analysis-derived prognostic model for response in treatment. *Blood* 82: 1695, 1993.
32. Robertson L.E., O'Brien S., Koller C., et al.: A phase II evaluation of a three day schedule of fludarabine in chronic lymphocytic leukemia with comparison to other schedules. *Leukemia* 9: 1444, 1995.
33. Hiddemann W., Rottmann R., Warmann B., et al.: Treatment of advanced chronic lymphocytic leukemia by fludarabine: results of clinical phase II study. *Ann. Hematol.* 63: 1, 1991.
34. Bergmann L., Fenchel K., Jahn B., et al.: Immunosuppressive effects and clinical response of fludarabine in refractory chronic lymphocytic leukemia. *Annals Oncol.* 4: 371, 1993.
35. Spriano M., Clavio M., Carrara P., et al.: Fludarabine in untreated and previously treated B-CLL patients: a report on efficacy and toxicity. *Haematologica* 79: 218, 1994.

36. Montserrat E., Lopez-Lorenzo J.L., Manso F., et al.: Fludarabine in resistant or relapsing B-cell chronic lymphocytic leukemia. The Spanish Group experience. *Leuk. Lymph.* 21: 467, 1996.
37. Robertson L.E., Huh Y.O., Butler J.J., et al.: response assessment in chronic lymphocytic leukemia after fludarabine plus prednisone: clinical, pathologic, immunophenotypic, and molecular analysis. *Blood* 80: 29, 1992.
38. Keating M.J., O'Brien S., Kantarjian H., et al.: Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine as single agent. *Blood* 81: 2878, 1993.
39. Cheson B.D.: Infectious and immunosuppressive complications of purine analog therapy. *J. Clin. Oncol.* 13: 2431, 1995.
40. Keating M.J., Kantarjian H., O'Brien S., et al.: Fludarabine: A new agent with marked cytoreductive activity in untreated chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 9: 44, 1991.
41. Keating M., Lerner S., O'Brien S., et al.: Long term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia receiving fludarabine regimens as initial therapy. *Proc. ASCO* 14: 337, 1995.
42. French Cooperative Group on CLL, Johnson S., Smith A.G., et al.: Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukemia. *Lancet* 347: 1432, 1996.
43. Rai K.R., Peterson B., Elias L., et al.: A randomized comparison of fludarabine and chlorambucil for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia. A CALGB, SWOG, CT/NCI-C and ECOG inter-group study. *Blood* 88 (Suppl. 1): 141a, 1996.
44. Lepage M., Chevret S., Cazin B., et al.: Randomized comparison of fludarabine, CAP and CHOP in 695 previously untreated stage B and C CLL. VII International Workshop on CLL 1997 (Abstract 17).
45. Saven A., Carrera C.J., Carson D.A., et al.: 2-Chlorodeoxyadenosine treatment of refractory chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 5 (Suppl.): 133, 1991.
46. Juliusson G., Liliemark J.: Long-term survival following cladribine (2-chlorodeoxyadenosine) therapy in previously treated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Ann. Oncol.* 7: 373, 1996.
47. Saven A., Lemon R.H., Kosty M., et al.: 2-Chlorodeoxyadenosine activity in patients with untreated chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 13: 1570, 1995.
48. Delannoy A., Martiat P., Gala J.L., et al.: 2-Chlorodeoxyadenosine (CdA) for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leukemia* 9: 1130, 1995.
49. Robak T., Blasinka-Morawiec M., Krykowski E., et al.: Intermittent 2-hour intravenous infusions of 2-chlorodeoxyadenosine in the treatment of 110 patients with refractory or previously untreated B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.* 22: 509, 1996.
50. Juliusson G., Christiansen I., Hansen M.M., et al.: Oral cladribine as primary therapy for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 14: 2160, 1996.
51. Dearden C., Catovsky D.: Deoxycoformycin in the treatment of mature B-cell malignancies. *Br. J. Cancer* 62: 4, 1990.
52. Rai K.R., Peterson B., Kolitz J., et al.: Fludarabine induces a high complete remission rate in previously untreated patients with active chronic lymphocytic leukemia (CLL). A randomized inter-group study. *Blood*: 86 (Suppl 1): 607a, 1995.
53. O'Brien S.: Clinical challenges in chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Hematol.* 35 (Suppl.3): 22, 1998.

54. Flinn I.W., Byrd J.C., Morrison C., et al.: Fludarabine and cyclophosphamide: A highly active and well tolerated regimen for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 92: 104a, 1998.
55. Weiss M., Glenn M., Maslak P., et al.: Consolidation therapy with high-dose cyclophosphamide reduces minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia receiving fludarabine as induction therapy. *Blood* 88: 481, 1996.
56. Oken M.M., Lee S., Cassileth P.A., et al.: Pentostatin, chlorambucil, and prednisone for the treatment of chronic lymphocytic leukemia: eastern Cooperative Oncology Group Protocol E1488. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 17: 6a, 1988.
57. Österborg A., Dyer M.J.S., Bunjes D., et al.: Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 15: 1567, 1997.
58. Dyer M.J.S., Kelsey S.M., Mackay H.J., et al.: *In vivo* 'purging' of residual disease in CLL with Campath-1H. *Br. J. Haematol.* 97: 669, 1997.
59. Rai K.R., Hoffman M., Janson D., et al.: Immunosuppression and opportunistic infections in patients with chronic lymphocytic leukemia following Campath-1H therapy. *Blood* 86: 526a, 1993.
60. Österborg A., Fassas A.S., Anagnostopoulos A., et al.: Humanized CD52 monoclonal antibody Campath-1H as first-line treatment in chronic lymphocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 93: 151, 1996.
61. Rawstron A.C., Davies F.E., Evans P., et al.: Campath-1H therapy for patients with refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 88: 529a, 1997.
62. Bowen A.L., Zowas A., Emmett E., et al.: Subcutaneous Campath-1H in fludarabine-resistance/relapsed chronic lymphocytic and B-prolymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 96: 617, 1997.
63. O'Brien S., Freireich E., Andreeff M., Lerner S., Keating M.: Phase I/II study of Rituxan in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 92: 105a, 1998.
64. Waselenko J.K., Flynn J., Byrd J.C.: Stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: The times for randomized trials has arrived. *Semin. Oncol.* 26: 48, 1999.
65. Michallet M., van Biezen A., Bandini G., et al.: Hematopoietic stem cell transplantations for chronic lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 21 (Suppl. 1): S77, 1998.
66. Khouri I.F., Przepiorka D., van Besien K., et al.: Allogeneic blood or marrow transplantation for chronic lymphocytic leukemia: Timing of transplantation and potential effect of fludarabine on acute graft-versus-host-disease. *Br. J. Haematol.* 97: 466, 1997.
67. Khouri I., Keating M.J., Korbling M., et al.: Transplant-lite: Induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J. Clin. Oncol.* 16: 2817, 1998.
68. Provan D., Bartlett-Pandite L., Zwicky C., et al.: Eradication of polymerase chain reaction-detectable chronic lymphocytic leukemia cells is associated with improved outcome after bone marrow transplantation. *Blood* 88: 2228, 1996.
69. Byrd J.C., Rai K.R., Sausville E.A., Grever M.R.: Old and new therapies in chronic lymphocytic leukemia: Now is the time for a reassessment of therapeutic goals. *Semin. Oncol.* 25: 65, 1998.
70. Wierda W.G., Cantwell M.J., Rassenti L.Z., et al.: CD154 (CD40-ligand) gene immunization of chronic lymphocytic leukemia: A phase I study. *Blood* 92 (Suppl. 1): 489a, 1998.

