

Basi scientifiche  
per la definizione di *linee-guida*  
in ambito clinico  
per i **Tumori dell'Età Pediatrica**

Settembre 2008



## *Al professor Guido Paolucci*

Perché dedicare queste Basi Scientifiche Linee Guida per l'Oncologia Pediatrica a Guido Paolucci? Innanzitutto perché Guido Paolucci è stato uno dei padri fondatori dell'oncologia pediatrica italiana. Ha cominciato ad occuparsene in un'epoca in cui bambini ed adolescenti colpiti dal tumore non avevano quasi speranze di sopravvivere ed ha lasciato una rete di Centri organizzati a livello nazionale ed internazionale, che oggi riesce a guarire oltre la metà dei 1600 bambini colpiti ogni anno, in Italia, da un cancro. Questi successi sono essenzialmente dovuti ad un approccio multidisciplinare ed a cure sempre più mirate, che si muovono per un approccio olistico, centrato sulla qualità della vita del piccolo paziente e della sua famiglia, cercando di ridurre sofferenze e disagi, anche di tipo psicologico e sociale.

Il professor Paolucci si è distinto per aver creduto in questa strategia e per aver fatto tutto il possibile per garantire sempre e comunque, al di là di tutto e tutti, il lavoro di gruppo. Chi ha avuto la fortuna di conoscerlo, lavorare con lui o anche solo incontrarlo, potrà testimoniare quanto credesse nella *mission* e nella *vision* dell'Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica e quanto per essa abbia fatto fin alla fine quando, tutt'altro che infaticabile, ci chiedeva se ne fosse valsa la pena, non già rassegnato, ma provocatoriamente stimolante rispetto ad una realtà aziendalizzata e competitiva, della quale voleva prendessimo coscienza per continuare sulla strada maestra del lavoro per e con il paziente e la sua famiglia.

Chi non lo ha potuto incontrare sappia che il professor Paolucci ha saputo anche fare dei passi indietro, perché più e prima di altri ha creduto nei giovani, allievi e collaboratori, a cui ha dato spazio senza mai far mancare un attento e paterno sostegno.

Nato a Parma, cresciuto nella sua Cattolica, bolognese d'adozione, laureato in medicina e chirurgia presso la Facoltà Medica dell'Università degli Studi di Bologna, Ordinario di Pediatria sempre all'Università di Bologna, Direttore della Clinica Pediatrica dell'Università degli Studi di Bologna e del Centro Interdipartimentale

di Ricerca sul Cancro “Giorgio Prodi”, è stato autore di oltre 800 pubblicazioni scientifiche.

Nessuno come lui è stato dotato di visione strategica, proiettata nel futuro ed in grado di vedere con largo anticipo quali fossero le sfide cruciali, sulle quali ricerca ed assistenza dovevano concentrare sforzi e risorse. Lavorando per anni al suo fianco, di lui ho potuto apprezzare non solo il profilo scientifico e professionale, ma anche quello umano e, come suo allievo, voglio dire che di quel uomo giusto sento un'enorme incolmabile mancanza.

Grato ai curatori di queste Basi Scientifiche Linee Guida per i tumori dell'età pediatrica sia per aver pensato di dedicarle al professor Guido Paolucci che per aver voluto che fossi io a dedicargliele.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Andrea Pession', written in a cursive style.

**Prof. Andrea Pession**

## PREFAZIONE

La diminuzione della mortalità nei pazienti pediatrici affetti da cancro è uno dei maggiori successi della medicina di questi ultimi 30 anni. Il grande miglioramento registrato nella guarigione di leucemie, linfomi e tumori in genere ha profondamente cambiato la prognosi di questi pazienti. Questo successo è dovuto a molteplici fattori che hanno giocato un ruolo fondamentale, tra i quali protocolli di terapia più aggressiva, maggiori conoscenze della biologia e sull'eterogeneità dei tumori e terapie innovative, come il trapianto di midollo. Tutto questo, però, non sarebbe stato possibile senza la realizzazione di studi cooperativi.

In Italia, la capacità di sviluppare studi cooperativi nazionali nasce fin dai primi anni '70, con un'iniziativa destinata a svilupparsi in modo straordinario nei successivi decenni.

Da un iniziale programma comune tra Luisa Massimo (Genova), Guido Paolucci (Bologna) e Giuseppe Masera (Milano) nasce l'Associazione Italiana di Ematologia Pediatrica, AIEOP, che si propone, a partire dalla Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA), di realizzare programmi di cura estesi ad una rete di Centri distribuiti a livello nazionale. E' da attribuire a Guido Paolucci il gran merito di aver guidato per oltre 20 anni con forte determinazione ed entusiasmo lo sviluppo dell'AIEOP, in particolare, ma non solo, relativamente alla LLA, attivando e coordinando una serie di protocolli di ricerca biologico-clinici, adottati progressivamente da un numero crescente di Centri nazionali.

A partire dalla fine degli anni '90, le attività di ricerca clinico-biologiche si sono allargate anche ad altri Paesi europei, tra i quali Germania, Austria, Olanda, Svizzera, Repubblica Ceca, con i quali si sono programmati protocolli di ricerca clinica congiunti.

Oggi, possiamo sicuramente affermare che i risultati ottenuti dall'Oncologia Pediatrica Italiana hanno raggiunto livelli di eccellenza rispetto ai Paesi dove l'investimento pubblico per la ricerca è a livelli almeno doppi di quelli in Italia. Si sono così resi inutili i "viaggi della speranza", tanto frequenti negli anni '80.

Gran merito di questi risultati va riconosciuto a strutture pubbliche come il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), attraverso i Progetti Finalizzati e Strategici, ed al volontariato, particolarmente vivace in ambito pediatrico, che hanno reso possibile, attraverso

Associazioni locali e Fondazioni, il reperimento delle risorse fondamentali per poter sviluppare la ricerca clinica e preclinica.

In questo contesto, Alleanza Contro il Cancro (ACC), proseguendo nell'iniziativa portata avanti per molti anni dal CNR, relativamente alla formulazione e pubblicazione delle "Basi Scientifiche per la definizione di Linee Guida (BSLG) in ambito clinico per le diverse patologie oncologiche" ha sentito l'esigenza di raccogliere in questo volume, in forma sinottica, le principali evidenze scientifiche emerse in questo ultimo periodo.

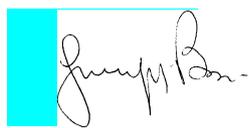
L'opera che presentiamo è una rivisitazione aggiornata di quella pubblicata nel 1996, di cui era già stata proposta una revisione parziale nel 2003, relativamente agli Osteosarcomi.

Alcuni capitoli sono corredati di *flow chart* diagnostico-terapeutica, di immediata consultazione e propedeutica alla formulazione di Linee Guida Operative.

Oggi, si può affermare che oltre il 90% dei bambini affetti da tumore viene trattato attraverso percorsi diagnostico-terapeutici prestabiliti, secondo protocolli AIEOP. Questa associazione si è dotata di un'organizzazione con un Centro Raccolta Dati ed un Registro Nazionale (Mod. 101 Bologna) e di laboratori centralizzati dove per tutti i pazienti italiani viene eseguita la diagnosi ai livelli internazionali più aggiornati. Il riconoscimento della qualità del lavoro svolto è che il modello organizzativo AIEOP è stato preso ad esempio dai più importanti Gruppi Cooperativi Internazionali.

La grande sfida di oggi è quella di applicare i Protocolli Terapeutici Pediatrici anche ai giovani adulti, estendendo l'età Pediatrica ai 18 anni, per la maggior efficacia che questi Protocolli Pediatrici hanno dimostrato rispetto a quelli utilizzati per i pazienti adulti nel trattamento di alcune patologie, quali le Leucemie Acute.

I Coordinatori



**Prof. Giuseppe Basso**



**Prof.ssa Rosella Silvestrini**

Basi scientifiche per la definizione di *linee-guida*  
in ambito clinico per i **Tumori dell'Età Pediatrica**

<i>Coordinatori</i>	<b>Giuseppe Rosella</b>	<b>BASSO</b> , Padova <b>SILVESTRINI</b> , Milano
<i>Gruppo di Studio</i>	<b>Maurizio Gianni Andrea Franca Alberto Franco Giuseppe Maura Andrea Angelo</b>	<b>ARICO'</b> , Firenze <b>BISOGNO</b> , Padova <b>FERRARI</b> , Milano <b>FOSSATI BELLANI</b> , Milano <b>GARAVENTA</b> , Genova <b>LOCATELLI</b> , Pavia <b>MASERA</b> , Milano <b>MASSIMINO</b> , Milano <b>PESSION</b> , Bologna <b>ROSOLEN</b> , Padova

Hanno inoltre collaborato all'elaborazione del documento i dottori:  
Ettore **Biagi**, Gianni **Cazzaniga**, Pietro **Merli**, Filippo **Spreafico** e  
Gian Paolo **Tonini**.



<i>Gruppo di Consenso</i>	<b>Andrea</b>	<b>BIONDI</b> , Monza
	<b>Modesto</b>	<b>CARLI</b> , Padova
	<b>Luca</b>	<b>CORDERO DI</b> <b>MONTEZEMOLO</b> , Torino
	<b>Giorgio</b>	<b>DINI</b> , Genova
	<b>Alberto</b>	<b>DONFRANCESCO</b> , Roma
	<b>Franca</b>	<b>FAGIOLI</b> , Torino
	<b>Paolo</b>	<b>INDOLFI</b> , Napoli
	<b>Luca</b>	<b>LO NIGRO</b> , Catania
	<b>Enrico</b>	<b>MADON</b> , Torino
	<b>Bruno</b>	<b>NOBILI</b> , Napoli
	<b>Giorgio</b>	<b>PERILONGO</b> , Padova
	<b>M.Caterina</b>	<b>PUTTI</b> , Padova
	<b>Ugo</b>	<b>RAMENGGI</b> , Torino
	<b>Riccardo</b>	<b>RICCARDI</b> , Roma
	<b>Carmelo</b>	<b>RIZZARI</b> , Monza
	<b>Nicola</b>	<b>SANTORO</b> , Bari
	<b>Marco</b>	<b>ZECCA</b> , Pavia

Si ringraziano le dott.sse Paola **Persici** e Francesca **Mazzetti** e la sig.ra Luciana **Rainaldi** della segreteria scientifica per l'importante contributo scientifico, editoriale ed organizzativo.

**Questo testo sarà accessibile nel sito [www.alleanzacontroilcancro.it](http://www.alleanzacontroilcancro.it)**



## INDICE

<b>1.0</b>	<b>Leucemia linfoblastica acuta</b>	<b>11</b>
1.1	Epidemiologia e fattori di rischio	12
1.2	Diagnostica di laboratorio e caratterizzazione molecolare	13
1.3	Classificazione in fasce di rischio	16
1.4	Trattamento	17
1.5	Follow-up	22
1.6	Direzioni future	24
<b>2.0</b>	<b>Leucemia mieloide acuta e sindromi mieloproliferative</b>	<b>29</b>
	<i>Leucemia mieloide acuta</i>	<b>29</b>
2.1	Epidemiologia e fattori di rischio	29
2.2	Classificazione e/o stadiazione	30
2.3	Diagnostica di laboratorio e strumentale	34
2.4	Caratterizzazione citogenetica e molecolare	35
2.5	Fattori prognostici	37
2.6	Trattamento	38
2.7	LAM in soggetti con Sindrome di Down	41
2.8	Trattamento delle LAM recidivate o refrattarie	42
	<i>Leucemia acuta promielocitica</i>	<b>42</b>
	<i>Leucemia mieloide cronica</i>	<b>44</b>
	<i>Sindromi mielodisplasiche</i>	<b>45</b>
2.9	Follow-up	47
2.10	Direzioni future	47
	Algoritmi diagnostico-terapeutici	48
<b>3.0</b>	<b>Linfomi</b>	<b>54</b>
3.1	Epidemiologia e fattori di rischio	54
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	
3.2	Diagnostica di laboratorio e strumentale	55
3.3	Anatomia patologica	57
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	

3.4	Caratterizzazione biologico-molecolare	59
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	
3.5	Stadiazione e classificazione	61
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	
3.6	Trattamento	63
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	
3.7	Follow-up	67
	Linfomi non-Hodgkin	
	Linfomi di Hodgkin	
3.8	Direzioni future	68
<b>4.0</b>	<b>Neuroblastoma</b>	<b>74</b>
4.1	Epidemiologia e fattori di rischio	74
4.2	Anatomia patologica	75
4.3	Caratterizzazione biologico-molecolare	76
4.4	Indagini diagnostiche, stadiazione e prognosi	76
4.5	Trattamento	79
4.6	Follow-up	83
4.7	Direzioni future	83
<b>5.0</b>	<b>Sarcomi</b>	<b>88</b>
	<b><i>Rabdo</i></b>	<b>88</b>
5.1	Epidemiologia e fattori di rischio	88
5.2	Diagnostica di laboratorio e strumentale	89
5.3	Anatomia patologica	90
5.4	Caratterizzazione biologico-molecolare	92
5.5	Stadiazione	93
5.6	Trattamento	96
5.7	Follow-up	103
5.8	Direzioni future	104
	Algoritmo diagnostico-terapeutico	106
	<b><i>Non-rabdo</i></b>	<b>111</b>
5.9	Epidemiologia e fattori di rischio	111
5.10	Diagnostica di laboratorio e strumentale	112
5.11	Anatomia patologica	113

5.12	Caratterizzazione biologico-molecolare	113
5.13	Classificazione e stadiazione	114
5.14	Trattamento	115
5.15	Follow-up	121
5.16	Direzioni future	122
	Algoritmo diagnostico-terapeutico	123
<b>6.0</b>	<b>Tumori cerebrali</b>	<b>127</b>
6.1	Epidemiologia e fattori di rischio	127
6.2	Diagnostica di laboratorio e strumentale	128
6.3	Anatomia patologica	129
6.4	Caratterizzazione biologico-molecolare	133
6.5	Stadiazione	134
6.6	Trattamento	135
6.7	Follow-up	141
6.8	Direzioni future	146
	Algoritmi diagnostico-terapeutici	149
<b>7.0</b>	<b>Tumore di Wilms e tumori renali</b>	<b>158</b>
7.1	Epidemiologia e fattori di rischio	158
7.2	Diagnostica di laboratorio e strumentale	158
7.3	Anatomia patologica	160
7.4	Caratterizzazione biologico-molecolare	162
7.5	Stadiazione	163
7.6	Trattamento	164
7.7	Follow-up	170
7.8	Direzioni future	171
	Algoritmo diagnostico-terapeutico	172
<b>8.0</b>	<b>Tumori rari ed istiocitosi</b>	<b>178</b>
	<i>Tumori rari</i>	<b>178</b>
8.1	Progetto TREP	178
	<i>Istiocitosi infantili</i>	<b>180</b>
8.2	Istiocitosi a cellule di Langerhans	181
8.3	Prognosi e terapia	184
8.4	Caratterizzazione biologico-molecolare	186
	Algoritmo diagnostico-terapeutico	188

<b>9.0</b>	<b>Trapianto di cellule staminali emopoietiche e terapie cellulari innovative</b>	<b>192</b>
9.1	Trapianto di cellule staminali emopoietiche	192
9.2	I progressi ed i cambiamenti del “regime di condizionamento”	196
9.3	Il donatore di cellule staminali emopoietiche: non solo un germano HLA-compatibile	197
9.4	Le cellule staminali emopoietiche	199
9.5	I miglioramenti delle terapie di supporto: una sfida continua	201
9.6	Le cellule staminali mesenchimali ed il TCSE: da spettatori indifferenti ad attori principali	204

## 1.0 LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

Tra i tumori dell'età pediatrica (0-18 anni), la leucemia linfoblastica acuta (LLA) è la patologia più frequente. Le leucemie acute costituiscono il 35% di tutte le forme tumorali e di queste, la LLA costituisce l'80%.

A partire dagli anni '60, si è passati da un atteggiamento di rassegnazione del mondo medico che considerava la LLA incurabile, alla realtà che stiamo vivendo da 20-30 anni, da quando, in Italia come nei paesi economicamente sviluppati, il trattamento è stato coronato da successo in un numero sempre maggiore di casi, con percentuali di sopravvivenza che oggi superano l'80 %.

Per meglio comprendere le basi scientifiche delle attuali strategie diagnostiche e terapeutiche, può essere utile ripercorrere in rapida sintesi la memoria di questi 40 anni, cogliendo gli elementi fondamentali biologici, organizzativi e strategici, che costituiscono la base del grande successo.

Fino alla metà degli anni '60, pur disponendo di molti degli antiblastici ancora oggi utilizzati nelle terapie *front-line*, era radicato il concetto che nella LLA, l'obiettivo non potesse essere la guarigione, ma solo una terapia palliativa, di contenimento, che si limitasse ad un prolungamento della sopravvivenza.

Si utilizzavano allora uno steroide ed un antiblastico (Vincristina o 6-Mercaptopurina o Ametopterina), riservando un secondo antiblastico alla comparsa della recidiva, ritenuta peraltro ineluttabile.

A metà degli anni '60, Donald Pinkel, del St. Jude Children's Research Hospital di Memphis, lancia un messaggio che rivoluziona la strategia della terapia: "La LLA si può, si deve guarire con l'uso associato di più antiblastici (polichemioterapia) e di terapia precoce sul sistema nervoso centrale" (1).

Altre due tappe fondamentali vanno attribuite a Hansjörg Riehm.

Nei primi anni '70, introduce la terapia di induzione con 8 farmaci, tutti quelli allora disponibili ed efficaci nella LLA.

Successivamente, nel 1976, introduce il "protocollo II" (intensificazione ritardata), che utilizza, con lievi modifiche, gli stessi farmaci usati nella induzione, ma 5-6 mesi dopo la loro prima somministrazione (2). Queste ultime due modalità di intervento sono ancora oggi alla base dei protocolli terapeutici applicati a livello

internazionale sia nei paesi occidentali che in quelli con risorse limitate.

Gli sviluppi successivi sono stati caratterizzati da un sempre maggior impegno nella ricerca, sia biologica, che clinica e farmacologica.

Gli studi sulla biologia della LLA hanno consentito di :

- definire sempre meglio la sua eterogeneità, sia sul piano clinico che, soprattutto, sul piano delle caratteristiche immunologiche e molecolari delle cellule leucemiche,
- individuare criteri prognostici sempre più accurati,
- impostare programmi di terapia con intensità modulata sulle fasce di rischio.

Grande merito va inoltre attribuito alla realizzazione di studi clinici randomizzati sia a livello nazionale che internazionale (3).

### **1.1 Epidemiologia e fattori di rischio**

L'incidenza della leucemia è valutata in 30-45 nuovi casi per milione di individui di età compresa tra 0 e 18 anni. Tale incidenza è abbastanza omogenea nei paesi occidentali, mentre è ritenuta inferiore nei Paesi meno sviluppati, per i quali però si dispone di scarse informazioni (4).

In Italia, sono stati registrati negli ultimi anni, presso il Centro Raccolta Dati AIEOP in collaborazione con il CINECA (Bologna) circa 500 casi/anno di leucemia in età pediatrica; di questi, circa 400 sono LLA.

Negli ultimi anni è stato segnalato, sia in Europa che negli USA, un incremento annuo di incidenza di LLA di circa l'1% (5).

Questo andamento sembrerebbe riferibile al ruolo di molteplici fattori ambientali: mancano peraltro dati sufficienti per definirne, con precisione, la causa.

Ancora oggi, la patogenesi della LLA non è ben definita e viene attribuita ad un'interazione tra suscettibilità genetica ed esposizione a fattori ambientali. Tra questi, sono state particolarmente studiate, seppur con conclusioni controverse, le radiazioni ionizzanti, le radiazioni cosmiche (raggi- $\gamma$ ) e di origine terrestre ed i campi elettromagnetici non-ionizzanti.

Per quanto riguarda la patogenesi molecolare, è stata dimostrata l'origine prenatale delle leucemie che si verificano nei gemelli monozigoti, nelle leucemie nei bambini di età inferiore ai dodici mesi (*infant leukemia*) (6) e nelle forme sporadiche di LLA del bambino

più grande. Un'ipotesi che ha ottenuto credito è quella formulata da Greaves (7), nel contesto del modello di "due lesioni", con una lesione pre-natale che genera un clone pre-leucemico ed un evento che si verifica dopo la nascita. Un'anomala risposta immune a comuni infezioni post-natali potrebbe costituire la causa di un secondo danno genetico e quindi, dell'avvio della leucemogenesi. Questa ipotesi sembra essere supportata dalla variazione nell'incidenza stagionale e dalla maggiore incidenza di leucemia, così come ipotizzato per alcune malattie autoimmuni, nelle popolazioni infantili esposte più tardivamente ad infezioni comuni.

In sintesi, ad eccezione del ruolo ben noto dell'esposizione pre-natale a raggi-X e di specifiche sindromi genetiche, mancano ancora oggi dati certi di evidenza sui fattori di rischio per lo sviluppo della LLA.

## **1.2 Diagnostica di laboratorio e caratterizzazione molecolare**

Ormai da diversi anni, la diagnosi di leucemia prevede, oltre all'esame citomorfologico e citochimico, la tipizzazione immunofenotipica e lo studio citogenetico e molecolare dei blasti leucemici. È stato così possibile definire con buona precisione vari sottotipi di LLA biologicamente determinati, consentendo di applicare modalità terapeutiche più appropriate anche in supporto alla differente prognosi dei vari sottotipi.

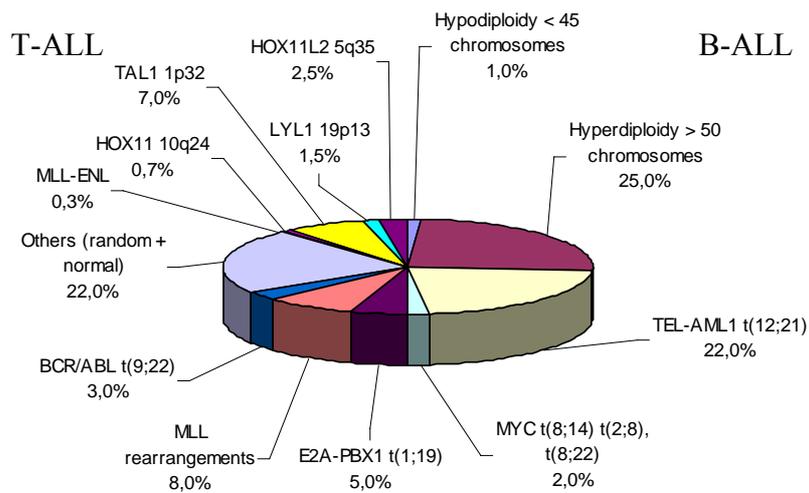
Inoltre, si è reso possibile attuare, con notevole sensibilità, il monitoraggio della malattia residua minima.

**Tipizzazione immunofenotipica.** È guidata dall'analisi morfologica, deve essere eseguita su prelievo di sangue midollare e permette di distinguere l'appartenenza alla linea B o T, oltre che lo specifico sottogruppo immunologico di ciascuna linea. È indispensabile l'analisi dei seguenti marcatori: cyCD3, mieloperossidasi, cyCD79a, CD19, CD10, cyIg, CD20, smIg, CD7, CD5, CD1a, sCD3, CD13, CD33, CD34, TdT, CD45, HLA-DR e NG2 (8,9).

**Anomalie genetiche.** Circa l'80% di pazienti con LLA presenta anomalie genetiche, soprattutto aneuploidie, traslocazioni e delezioni cromosomiche, ma anche mutazioni geniche puntiformi (10-12) (Figura 1). Solo il 30% circa di queste anomalie sono ricorrenti; le più frequenti sono le traslocazioni cromosomiche t(12;21) riscontrate in circa il 20-25% dei casi, t(1;19) in circa 5%, t(4;11) nel 2%

e t(9;22) 2%. La t(4;11) e la t(9;22) sono le alterazioni più rilevanti da un punto di vista prognostico, in quanto il loro riscontro è associato ad una prognosi meno favorevole. La t(12;21) è l'anomalia cromosomica più frequente ed è tipicamente correlata a LLA pediatrica; è tendenzialmente associata ad una prognosi favorevole, anche se dipendente dal contesto terapeutico e quindi, non sempre utilizzata come fattore prognostico. La t(1;19) è tipica del sottotipo pre-B e non sembra invece avere un impatto prognostico. Per quanto riguarda i riarrangiamenti che coinvolgono il gene MLL, presenti nell'80% dei casi *infant*, questi predispongono ad una prognosi peggiore nonostante si utilizzino protocolli disegnati specificatamente per questo sottogruppo di bambini (13).

**Figura 1 Anomalie genetiche nella Leucemia Linfoblastica Acuta pediatrica.**



da: Pui C-H et al., *N Engl J Med* 2004;350:1535-48

L'analisi citogenetica classica può essere utilizzata per identificare anomalie cromosomiche numeriche e strutturali clonali, altrimenti non identificabili mediante tecniche di PCR. La metodica della *Fluorescent in situ hybridization* (FISH) può essere impiegata per identificare lesioni cromosomiche non visibili con metodica citogenetica convenzionale. Inoltre, la FISH può essere eseguita su

cellule in interfase, superando l'ostacolo metodologico della frequente difficoltà ad ottenere metafasi analizzabili da blasti di LLA.

Anomalie cromosomiche numeriche sono frequenti nella LLA pediatrica. Un contenuto cromosomico di oltre 50 cromosomi nei blasti leucemici (iperdiploidia) è considerato un fattore prognostico favorevole. Al contrario, l'elevato grado di ipodiploidia è associata ad una prognosi sfavorevole. Le anomalie cromosomiche strutturali possono essere individuate mediante analisi citogenetica convenzionale o FISH, oppure mediante analisi citofluorimetrica del contenuto medio di DNA (*DNA index*).

Recentemente, si sono rese disponibili metodiche avanzate di analisi del genoma, che consentono di evidenziare da un lato, aberrazioni strumentali e polimorfismi genici (SNP-arrays) (11) e dall'altro, il profilo di espressione di tutti i geni del genoma umano (*gene expression arrays*) (12).

Da queste metodiche, è ragionevole attendersi per il prossimo futuro nuove conoscenze sulle caratteristiche biologiche e sulla prognosi anche della LLA.

**Malattia Residua Minima.** La LLA è il prototipo di malattia in cui si è potuta valutare *in vivo* l'efficacia della risposta alla terapia come fattore prognostico e criterio per la scelta del regime terapeutico più appropriato, in funzione della probabilità di rischio di ricaduta.

Mentre la definizione di remissione ematologica corrisponde alla presenza di un numero di blasti leucemici midollari < 5% in un aspirato midollare di controllo, la disponibilità di metodiche molecolari ed immunofenotipiche altamente sensibili ha permesso di modificare la definizione di remissione (14).

Metodiche di PCR quantitativa che valutano la presenza di specifici riarrangiamenti clonali dei geni per T-cell Receptor (TcR) e per le Immunoglobuline (Ig) o la valutazione citofluorimetrica multiparametrica di fenotipi aberranti, hanno permesso di introdurre il concetto di Malattia Residua Minima (MRM), cioè il riscontro di poche cellule leucemiche nel contesto di decine di migliaia di cellule normali di midollo osseo, quindi in fase di remissione ematologica convenzionale, durante la terapia (15-17).

La valutazione molecolare della MRM richiede l'analisi di clonalità all'esordio di malattia, la sequenza del riarrangiamento Ig/TcR clonale ed il monitoraggio di tale sequenza mediante PCR-quantitativa, utilizzando oligonucleotidi *primer* sequenza-specifici e sonde

fluorescenti. La tecnica citofluorimetrica si basa, invece, sulla valutazione alla diagnosi dell'espressione di antigeni inusuali, aberranti od ectopici, utilizzando combinazioni multiple di anticorpi monoclonali, che verranno poi impiegati come sonde per individuare la quota di cellule leucemiche residue durante la terapia (18).

Sulla base di uno studio retrospettivo che ha dimostrato l'impatto prognostico della valutazione della MRM dopo 1 e 3 mesi di terapia (17), la stratificazione dei pazienti pediatrici con LLA arruolati in Italia nei centri AIEOP dal Settembre 2000 per lo studio AIEOP-BFM ALL 2000 (protocollo comune ad Italia, Germania, Austria e Svizzera) si è avvalsa della valutazione molecolare della MRM agli stessi intervalli (16).

### 1.3 Classificazione in fasce di rischio

Il rischio di ricaduta di LLA è strettamente associato ad alcune caratteristiche biologiche riscontrate all'esordio di malattia e nelle prime fasi di terapia, che vengono pertanto utilizzate per stratificare i pazienti in diversi gruppi di rischio, che sono contraddistinti da diverse opzioni terapeutiche (10).

Sono associate ad elevato rischio di ricaduta (*high risk*, HR) le seguenti caratteristiche:

- *mancata risposta al Prednisone*: presenza di più di 1.000 blasti/ $\mu$ l nel sangue periferico (*Prednisone Poor Response*, PPR) dopo 7 giorni di prefase con Prednisone ed una dose di MTX intratecale al giorno +1;
- *presenza di una quota di blasti superiore al 25% (M3) nell'aspirato midollare del 15° giorno*;
- *mancata remissione midollare completa* dopo 33 giorni di terapia di induzione: presenza di più del 5% di blasti al giorno +33 del protocollo chemioterapico di induzione;
- *traslocazioni t(9;22) o t(4;11)*, all'esordio di malattia.

Significato prognostico della MRM: nello studio AIEOP-BFM ALL 2000, i pazienti sono stati inclusi nel gruppo a rischio standard (SR) se con MRM negativa al giorno +33 (punto 1) e al giorno+78 (punto 2), valutata con almeno due marcatori molecolari di clonalità con una sensibilità di almeno  $10^{-4}$  (1 blasto leucemico ogni 10.000 cellule normali nel midollo osseo). Il gruppo a rischio alto (HR) ha compreso,

oltre ai pazienti con le caratteristiche già descritte, anche i casi con valori di MRM  $\geq 1.10^{-3}$  al punto 2; mentre il gruppo a rischio intermedio (MR) i casi con MRM positiva, ma  $< 1.10^{-3}$  ( $< 1$  blasto leucemico ogni 1.000 cellule midollari normali) al punto 2 (g +78).

Il protocollo clinico è stato condotto a partire dal Settembre 2000 nel contesto dell'Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP), cui aderiscono 40 centri italiani di emato-oncologia pediatrica.

Lo studio multicentrico garantisce un trattamento univoco e di eccellenza in tutto il territorio nazionale. Lo schema organizzativo si è consolidato nel tempo, raggiungendo un elevato livello di efficienza, che consente ai centri di cura di inviare i campioni alla diagnosi e il *follow-up* presso un unico laboratorio di riferimento (Padova), dove vengono eseguite le conferme diagnostiche e le analisi immunofenotipiche ed un laboratorio per le analisi molecolari (Monza). Tale strategia di grande valore per la qualità di dati provenienti da laboratori altamente specializzati e per l'opportunità offerta a tutti i bambini italiani affetti da LLA di giovare di tale elevato standard diagnostico, pone da alcuni anni il problema della loro sostenibilità. Fino ad ora, infatti, i costi elevati di tali indagini sono stati sostenuti dal generoso contributo economico della Fondazione "Città della Speranza" di Padova, della Fondazione "M. Tettamanti" e del Comitato Genitori "M. Letizia Verga" di Monza.

Sulla base dei positivi risultati di sopravvivenza dello studio AIEOP-BFM ALL 2000, la stratificazione dei pazienti in gruppi di rischio nel prossimo protocollo cooperativo AIEOP-BFM ALL 2008 continuerà ad utilizzare la MRM come principale fattore prognostico. La stratificazione nel nuovo protocollo sarà ancora più avanzata, poiché si avvarrà dell'integrazione dei dati molecolari ai giorni +33 e +78 dall'inizio della terapia e dei dati di immunofenotipo al giorno +15, alla luce dei recenti risultati di un ampio studio retrospettivo (prospettico di coorte) italiano, che ha dimostrato la predittività prognostica di tale informazione.

#### **1.4 Trattamento**

In Italia, a partire dalla seconda metà degli anni '70, la terapia della LLA è stata realizzata attraverso l'uso di protocolli nazionali che hanno applicato studi randomizzati per rispondere a quesiti specifici (3).

A partire dalla fine degli anni '80, è stata adottata una strategia terapeutica simile a quella dei protocolli del gruppo cooperativo BFM (che, ancora oggi, include Germania, Austria e Svizzera); il coordinamento dei protocolli attivati in Italia (denominati nell'ordine AIEOP LLA 88, 91, 95, 2000 ed R2006) è stato da allora affidato al centro di Monza.

Gli elementi fondamentali di tali protocolli possono essere così sintetizzati:

- *Prefase steroidea*: Prednisone (PDN) per 7 giorni ed una dose di Methotrexate intratecale (MTX-IT); valutazione dei blasti periferici al giorno 8 per definire i casi PPR (*Prednisone Poor Response* > 1.000 blasti/mm<sup>3</sup>) con prognosi meno favorevole.
- Induzione della remissione con “*Protocollo Ia*”: steroide, Vincristina (VCR), Daunoblastina/Daunomicina (DNM), Asparaginasi (ASP). A seguire, “*Protocollo Ib*”: Ciclofosfamide (CPM), Citarabina (ARA-C), 6-Mercaptopurina (6-MP).
- Consolidamento con 6-MP e Methotrexate (2-5 gr/m<sup>2</sup>) ogni 2 settimane per 4 dosi. “*Protocollo M*”: Methotrexate ad alte dosi (in generale a 5 gr/m<sup>2</sup>, più di recente anche a 2 gr/m<sup>2</sup>) somministrato ogni 2 settimane per 4 volte.
- Reinduzione o “*Protocollo II*”: con i farmaci utilizzati nel Protocollo Ia e Ib, sostituendo il PDN con il Desametasone (DXM), e la DNM con l'Adriablastina (ADM).
- Segue *terapia di mantenimento* con 6-MP e MTX, per un totale di 24 mesi.
- *Profilassi al Sistema Nervoso Centrale (SNC)* con MTX-IT ripetuto durante tutto l'arco del trattamento. La radioterapia sul SNC è stata prevista quasi esclusivamente nei casi ad alto rischio (circa il 10% dei casi) e/o con coinvolgimento SNC all'esordio.

A partire dagli anni '70 ad oggi, in particolare, sono stati realizzati i seguenti studi randomizzati ®:

AIEOP-LLA 91

Rischio Standard. Terapia di mantenimento: ® 6-MP+MTX ± ASP ad alte dosi (19).

Rischio Intermedio. ® Protocollo II ± ASP ad alte dosi (20).

AIEOP-LLA 95

Rischio Intermedio. Terapia di mantenimento: ® 6-MP+MTX ± pulses con VCR/DXM ogni 10 settimane. È questo, uno studio condotto anche in ambito cooperativo internazionale che ha utilizzato la meta-analisi prospettica (21) e che ha visto la partecipazione, oltre che dell'Italia, di Argentina, Austria, Belgio, Cile, Repubblica Ceca, Germania ed Ungheria (22).

#### AIEOP-LLA 2000

Questo protocollo internazionale è stato applicato congiuntamente con il gruppo BFM, comprendente i gruppi cooperativi di Germania, Austria e Svizzera.

Induzione. ® PDN vs DXM.

Rischio Standard. ® Protocollo II vs Protocollo III (simile al Protocollo II, ma di intensità ridotta).

Rischio Intermedio. ® Protocollo III ripetuto 2 volte vs Protocollo II.

Rischio Alto. ® Protocollo III ripetuto 3 volte vs Protocollo II ripetuto 2 volte.

Nel 2008, sempre congiuntamente con il gruppo BFM, verrà avviato un nuovo protocollo, impostato sulla base di quello precedente, ma con l'obiettivo di rispondere ad alcuni quesiti applicando vari studi randomizzati.

#### AIEOP-LLA 2008

Rischio standard. Protocollo Ia: ® 4 dosi di Daunorubicina (DNR) vs 2 dosi

Rischio intermedio. ® Protocollo II ± PEG-ASP protratta

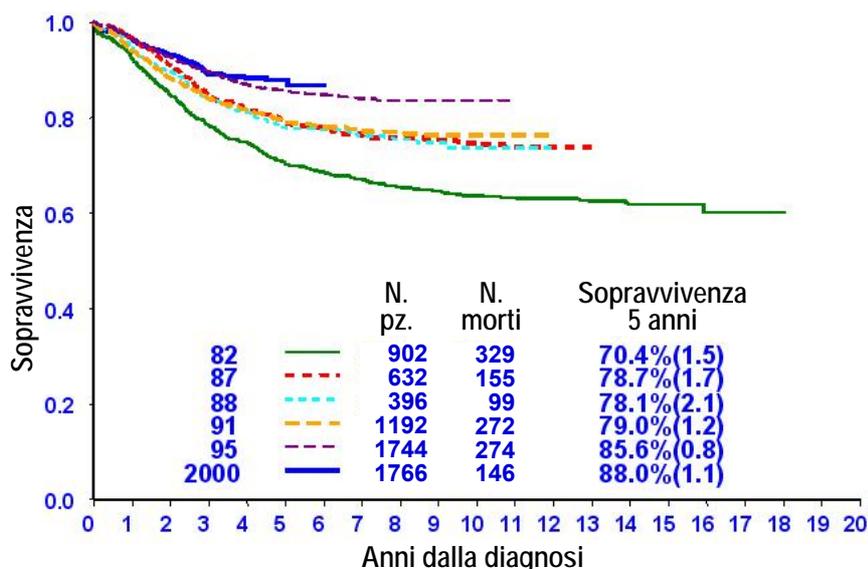
Rischio alto. ® Protocollo Ib ± ASP da E.coli

Inoltre, si segnala che:

- il MTX ad alte dosi nella fase M verrà somministrato a  $5 \text{ gr/m}^2$
- la radioterapia sul SNC sarà limitata al 10% dei casi, in particolare ai pazienti ad alto rischio, alle forme T-LLA con globuli bianchi all'esordio superiori a  $100.000/\text{mm}^3$  ed ai pazienti con interessamento del SNC alla diagnosi.

La Figura 2 illustra i risultati ottenuti nei protocolli AIEOP LLA 82-2000. Dati non pubblicati con il protocollo LLA 2000 documentano il lento, ma progressivo miglioramento con una sopravvivenza a 5 anni che ha raggiunto l'88%.

**Figura 2 Sopravvivenza in bambini affetti da LLA trattati con i protocolli AIEOP LLA 82-2000**



Negli ultimi 20 anni, un contributo importante è venuto dal trapianto di cellule staminali, nelle forme di LLA resistenti alla terapia di induzione o dopo recidiva di malattia (vedi cap. 9). I risultati sono in continuo miglioramento ed evidenziano la possibilità di trattare con successo una discreta percentuale di casi a prognosi particolarmente severa.

Negli ultimi anni, sono stati attivati studi internazionali su 2 sottogruppi rari di LLA.

*Protocolli Interfant 99 e 06:* si riferiscono alla popolazione pediatrica di età < 12 mesi, caratterizzata da LLA con riarrangiamenti del gene MLL, presenti in circa l'80% dei casi. L'incidenza è del 4% di tutte le LLA e la prognosi è meno favorevole rispetto alle età successive. Questa popolazione è stata trattata omogeneamente da quasi tutti i gruppi cooperativi mondiali ottenendo un incremento della curva di sopravvivenza (13).

*Protocollo EsPhALL - European Study on Ph+ ALL:* si riferisce a casi di LLA Ph+ che, nell'età 0-14 anni, hanno un'incidenza del 3-5%. Si tratta di uno studio randomizzato sull'uso di Imatinib, uno dei primi

farmaci “intelligenti”, che inibisce le proteine di fusione, BCR-ABL. A questo studio partecipano 9 gruppi cooperativi europei. La raccolta dei dati effettuata nell’ambito dei protocolli AIEOP LLA è stata affidata al Centro Raccolta Dati AIEOP ed al CINECA di Bologna; l’analisi statistica di questi protocolli AIEOP, inclusi gli studi internazionali *Interfant* ed *EsPhALL*, è stata condotta dal Centro Operativo e di Ricerca Statistica (CORS) di Monza.

***Trattamenti immuno-biologici innovativi nella leucemia linfoblastica acuta in età pediatrica***

Già verso la fine degli anni '60, l’immunoterapia ha richiamato l’interesse di molti ematologi ed immunologi; tra questi in particolare, George Mathé. Purtroppo i risultati sul piano clinico sono stati deludenti. Negli ultimi anni, la ricerca ha conseguito risultati preliminari promettenti che lasciano ben sperare per il prossimo futuro.

Il contributo del sistema immunitario nell’eradicazione della malattia leucemica è stato dimostrato dall’evidenza che meccanismi effettori immunologici contribuiscono all’eliminazione delle cellule tumorali dopo il trapianto di midollo osseo allogenico. Linfociti non manipolati isolati dal donatore possono essere infusi nel trattamento delle ricadute post-trapianto sotto forma di DLI (*donor lymphocytes infusions*). Mentre tale approccio si è dimostrato efficace nel trattamento della leucemia mieloide cronica, la sua efficacia è notevolmente inferiore nel contesto della LLA. Evidenze sperimentali *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che sia la cellula leucemica che i linfociti del donatore possono essere sottoposti a manipolazioni di varia natura, tali da indurre l’espansione di linfociti citotossici (CTL, *cytotoxic T-lymphocytes*) con aumentata attività di riconoscimento e *killing* delle cellule leucemiche (23). Un primo approccio è rappresentato dalla manipolazione delle cellule leucemiche tramite molecole immunostimolatorie (quali Interleuchina-2 e CD40-ligando) così da aumentarne le proprietà antigeniche e facilitarne il riconoscimento da parte delle cellule dendritiche (24). Altre strategie includono l’espressione di antigeni leucemia-associati, quali la proteinasi PR-3 o il fattore trascrizionale WT-1 (*Wilms tumour-1*), al fine di stimolare risposte linfocitarie citotossiche specifiche. Altre metodiche mirano a sfruttare le differenze di espressione, tra donatore e ricevente, di antigeni minori di istocompatibilità (*minor histocompatibility antigen*), quali gli antigeni HLA-1 e HLA-2,

esclusivamente espressi dal tessuto emopoietico (23). Una delle più recenti e promettenti strategie immunoterapeutiche è rappresentata dalla possibilità di modificare la funzionalità di cellule immuno-effettrici, per orientarne l'attività in modo selettivo verso bersagli antigenici leucemia-associati, quali CD19 e CD20, abbondantemente espressi sulla superficie di, quasi tutte le cellule di LLA. In particolare, la specificità del sistema immunitario può essere "riorientata" mediante l'utilizzo di recettori ibridi (o "chimerici", ChTCR) (25). I componenti chiave di questi recettori sono costituiti dalla regione variabile anticorpale, in grado di riconoscere il CD19 o il CD20 ed una porzione che, a seguito dell'interazione ligando-recettore, media il segnale intracellulare. Dopo tale attivazione, la cellula esprimente il ChTCR produce citochine e lisa la cellula bersaglio (25,26).

Scopo ultimo di tali strategie è, nel complesso, quello di sviluppare approcci alternativi di terapia cellulare per il trattamento di pazienti pediatrici affetti da forme di leucemia ad alto rischio non responsivi alle terapie tradizionali, soprattutto nel contesto delle ricadute post-trapianto di midollo osseo. Questi bambini hanno attualmente prospettive di guarigione inferiori al 20% e sono quindi fortemente candidabili a studi di terapia innovativa, al fine di offrire un miglioramento nelle possibilità di remissione di malattia.

### **1.5 *Follow-up***

Considerato che l'obiettivo globale della terapia della LLA (come del resto di tutte le forme di tumore) è la "guarigione globale" medica, psicologica, educativa e sociale, fin dai primi mesi della diagnosi l'impegno è volto ad assicurare al bambino ed alla famiglia un forte sostegno per superare nel modo migliore il trauma della malattia.

Già dopo i primi 5-6 mesi, il ritmo di vita tende a tornare quello precedente la diagnosi. Grande importanza assumono tutti gli interventi orientati a promuovere lo sviluppo psicologico, educativo e l'acquisizione di consapevolezza e di autostima.

Importante è la strategia successiva all'interruzione della terapia e agli interventi previsti per assicurare al bambino lo sviluppo migliore per raggiungere l'età adulta e l'inserimento nella vita sociale nelle condizioni migliori. È questo un problema di ampie dimensioni considerando che il numero dei bambini affetti dalla leucemia curati con successo è in continuo aumento. Nel registro italiano "fuori

terapia” (ROT) dopo leucemia-tumore insorto in età pediatrica, i “lungo sopravvissuti” (o meglio, guariti) hanno raggiunto, al censimento del 2003, il numero di 14.531, con un aumento annuo compreso tra 900 e 1.000 casi.

Recentemente, un ampio numero di esperti provenienti da 13 Paesi europei e dagli Stati Uniti, comprendente pediatri oncologi, psicologi, epidemiologi, genitori e giovani adulti-guariti, ha elaborato il “Documento di Erice”, che fa il punto sul problema definendo alcuni aspetti fondamentali (27).

In sintesi:

- È opportuno utilizzare il termine “guarigione” quando la proiezione della sopravvivenza è analoga a quella dei coetanei; nella LLA si ritiene ragionevole utilizzare il termine “guarigione” a 5 anni dalla remissione completa.
- Il termine di guarigione si riferisce alla malattia tumorale originale, indipendentemente da possibili disabilità od effetti collaterali delle terapie ricevute per le quali deve essere adottata una modalità di monitoraggio che consenta un controllo adeguato (prevenzione, terapia).
- Il Centro di Oncologia Pediatrica ha il compito di fornire alla famiglia, al momento dell’interruzione delle cure, una documentazione sulla storia clinica e terapeutica, chiare indicazioni sul programma di monitoraggio futuro, riducendo i controlli non strettamente necessari ed attivando interventi di prevenzione ed eventuale terapia di effetti tardivi.
- È importante realizzare un accurato e personalizzato programma di monitoraggio, prevenzione e cura degli effetti collaterali a lunga distanza. Tale programma dovrebbe essere personalizzato in base alla terapia ricevuta, alle eventuali complicanze durante la terapia ed ai rischi specifici a medio-lungo termine con l’indispensabile ausilio del pediatra di base che dovrà affiancare l’opera svolta dai sanitari del Centro di Oncologia Pediatrica di riferimento.
- È importante promuovere e monitorare il fenomeno di “crescita post-traumatica” (resilienza) (28), uno degli aspetti emergenti e di maggior interesse dell’oncologia pediatrica.

Inoltre, viene richiamata l’attenzione al diritto dei “guariti” ad un pieno inserimento nella vita sociale, rimuovendo possibili discriminazioni (ad esempio, lavoro, assicurazioni) per il fatto di essere stato curato per tumore in età pediatrica.

## 1.6 Direzioni future

I risultati ottenuti nella LLA consentono un'osservazione interessante: pur utilizzando ancor oggi molti degli stessi antitumorali disponibili tra gli anni '60 ed i primi anni '70, si è raggiunta una sopravvivenza a 5 anni superiore all'80%. Questo risultato è stato ottenuto essenzialmente grazie a studi randomizzati condotti prima a livello nazionale e, dai primi anni '80, nel contesto di una collaborazione internazionale.

È auspicabile che il progresso nell'analisi molecolare della LLA con l'impiego di nuove tecnologie (DNA *micro-arrays* per lo studio delle funzioni di geni di nuova identificazione) possa condurre alla disponibilità di nuovi farmaci ad azione mirata a livello molecolare.

Un altro aspetto meritevole di attenzione si riferisce alla tendenza ad applicare cure di maggiore intensità secondo il concetto *more is better*. Negli ultimi anni, è stato rilevato da parte di vari gruppi cooperativi un incremento, seppur lieve, della mortalità da infezioni per eccessiva tossicità della terapia. Un obiettivo è quello di migliorare la capacità di applicare i protocolli di terapia, riducendo, ove possibile, la tossicità a breve e lungo termine.

Altro obiettivo molto importante, è saper promuovere una terapia veramente globale, tale da consentire ai bambini leucemici di superare la malattia e di avviarsi verso l'età adulta avendo acquisito dalla difficile esperienza, valori e filosofia di vita positiva: crescita post-traumatica, resilienza.

## BIBLIOGRAFIA

1. Pinkel D. History and development of total therapy for acute lymphocytic leukemia. In: *Murphy SB, Gilbert JR, eds. Leukemia Research: Advances in Cell Biology and Treatment. New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc., 1983; 189-201*
2. Riehm H, Gadner H, Henze G, Kornhuber B, Langermann H-J, Müller-Wehrich S, Schellong G. Acute lymphoblastic leukemia: treatment results in three BFM studies (1970-1981). In: *Murphy SB, Gilbert JR (eds). Leukemia Research: Advances*

*in Cell Biology and Treatment. Elsevier Science: Amsterdam, 1983; 251-263*

3. Conter V, Aricò M, Valsecchi MG, Basso G, Biondi A, Madon E, Mandelli F, Paolucci G, Pession A, Rizzari C, Rondelli R, Zanesco L, Masera G. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) acute lymphoblastic leukemia studies, 1982-1995. *Leukemia* 2000; 14(12):2196-204
4. Greaves MF, Colman SM, Beard ME, Bradstock K, Cabrera ME, Chen PM, Jacobs P, Lam-Po-Tang PR, MacDougall LG, Williams CK et al. Geographical distribution of acute lymphoblastic leukaemia subtypes: second report of the collaborative group study. *Leukemia* 1993; 7(1):27-34
5. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Coebergh JW, Lacour B, Parkin M. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCIS project): an epidemiological study. *Lancet* 2004; 364(9451):2097-105
6. Greaves MF, Wiemels J. Origins of chromosome translocations in childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(9):639-49 Review
7. Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, Eden OB, Addison GM, Masera G, Saha V, Biondi A, Greaves MF. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *Lancet* 1999; 354(9189):1499-503
8. Henderson ES, McArthur J. Diagnosis, classification, and assessment of response to treatment. In: *Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. Leukemia, 7th Edition. Philadelphia, PA: Saunders; 2002:227-48*
9. van der Does-van den Berg A, Bartram CR, Basso G, Benoit YC, Biondi A, Debatin KM, Haas OA, Harbott J, Kamps WA, Köller U et al. Minimal requirements for the diagnosis, classification and evaluation of the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia in the "BFM family" Cooperative Group. *Med Pediatr Oncol* 1992; 20(6):497-505
10. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004; 350(15):1535-48
11. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-Smith E, Dalton JD, Girtman K, Mathew S, Ma J, Pounds SB, Su X, Pui CH, Relling MV, Evans WE, Shurtleff SA, Downing JR.

Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007; 446(7137):758-64

12. Yeoh EJ, Ross ME, Shurtleff SA, Williams WK, Patel D, Mahfouz R, Behm FG, Raimondi SC, Relling MV, Patel A, Cheng C, Campana D, Wilkins D, Zhou X, Li J, Liu H, Pui CH, Evans WE, Naeve C, Wong L, Downing JR. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002; 1(2):133-43
13. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P, Hann I, De Rossi G, Felice M, Hovi L, LeBlanc T, Szczepanski T, Ferster A, Janka G, Rubnitz J, Silverman L, Stary J, Campbell M, Li CK, Mann G, Suppiah R, Biondi A, Vora A, Valsecchi MG. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007; 370(9583):240-50
14. Pui CH, Campana D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000; 14(5):783-5
15. Flohr T, Schrauder A, Cazzaniga G, Panzer-Grümayer R, van der Velden V, Fischer S, Stanulla M, Basso G, Niggli FK, Schäfer BW, Sutton R, Koehler R, Zimmermann M, Valsecchi MG, Gadner H, Masera G, Schrappe M, van Dongen JJ, Biondi A, Bartram CR. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2008; [Epub ahead of print]
16. Cazzaniga G, Biondi A. Molecular monitoring of childhood acute lymphoblastic leukemia using antigen receptor gene rearrangements and quantitative polymerase chain reaction technology. *Haematologica* 2005; 90(3):382-90
17. van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grümayer ER, Biondi A, Pongers-Willems MJ, Corral L, Stolz F, Schrappe M, Masera G, Kamps WA, Gadner H, van Wering ER, Ludwig WD, Basso G, de Bruijn MA, Cazzaniga G, Hettinger K, van der Does-van den Berg A, Hop WC, Riehm H, Bartram CR. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet* 1998; 352(9142):1731-8

18. Wering ERv, Beushuizen A, Roeffen ETJM et al. Immunophenotypic changes between diagnosis and relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1995; 9:1523-1533
19. Pession A, Valsecchi MG, Masera G, Kamps WA, Magyarosy E, Rizzari C, van Wering ER, Lo Nigro L, van der Does A, Locatelli F, Basso G, Aricò M. Long-term results of a randomized trial on extended use of high dose L-asparaginase for standard risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23(28):7161-7
20. Rizzari C, Valsecchi MG, Aricò M, Conter V, Testi A, Barisone E, Casale F, Lo Nigro L, Rondelli R, Basso G, Santoro N, Masera G; Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica. Effect of protracted high-dose L-asparaginase given as a second exposure in a Berlin-Frankfurt-Münster-based treatment: results of the randomized 9102 intermediate-risk childhood acute lymphoblastic leukemia study--a report from the Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica. *J Clin Oncol* 2001; 19(5):1297-303
21. Valsecchi MG, Masera G. A new challenge in clinical research in childhood ALL: the prospective meta-analysis strategy for intergroup collaboration. *Ann Oncol* 1996; 7(10):1005-8
22. Conter V, Valsecchi MG, Silvestri D, Campbell M, Dibar E, Magyarosy E, Gardner H, Stary J, Benoit Y, Zimmermann M, Reiter A, Riehm H, Masera G, Schrappe M. Pulses of vincristine and dexamethasone in addition to intensive chemotherapy for children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007; 369(9556):123-31
23. Blair A, Goulden NJ, Libri NA et al. Immunotherapeutic strategies in acute lymphoblastic leukaemia relapsing after stem cell transplantation. *Blood Rev* 2005; 19:289-300
24. Rousseau RF, Biagi E, Dutour A et al. Immunotherapy of high-risk acute leukemia with a recipient (autologous) vaccine expressing transgenic human CD40L and IL-2 after chemotherapy and allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006; 107:1332-41
25. Pule M, Finney H, Lawson A. Artificial T-cell receptors. *Cytotherapy* 2003; 5:211-26
26. Biagi E, Marin V, Giordano Attianese GM et al. Chimeric T-cell receptors: new challenges for targeted immunotherapy in hematologic malignancies. *Haematologica* 2007; 92:381-8

27. Haupt R, Spinetta JJ, Ban I, Barr RD, Beck JD, Byrne J, Calaminus G, Coenen E, Chesler M, D'Angio GJ, Eiser C, Feldges A, Gibson F, Lackner H, Masera G, Massimo L, Magyarosy E, Otten J, Reaman G, Valsecchi MG, Veerman AJ, Penn A, Thorvildsen A, van den Bos C, Jankovic M; International Berlin-Frankfurt-Münster Study Group Early and Late Toxicity Educational Committee (I-BFM-SG ELTEC). Long term survivors of childhood cancer: cure and care. The Erice statement. *Eur J Cancer* 2007; 43(12):1778-80
28. Parry C, Chesler MA. Thematic evidence of psychosocial thriving in childhood cancer survivors. *Qual Health Res* 2005; 15(8):1055-73

## **2.0 LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA E SINDROMI MIELOPROLIFERATIVE**

Le Leucemie Mieloidi rappresentano uno spettro di disordini mieloproliferativi maligni, di cui oltre il 90% è rappresentato dalla Leucemia Acuta Mieloide (LAM), mentre il restante 10% da disordini mieloproliferativi cronici e/o subacuti quali la Leucemia Mieloide Cronica (LMC), la Leucemia Mielo-Monocitica Giovanile (*juvenile myelomonocytic leucemia*; JMML) ed altre Sindromi Mielodisplastiche (*myelodysplastic syndrome*; MDS). Altra patologia pediatrica è il disordine mieloproliferativo transitorio (*transient myeloproliferative disorder*; TMD), un'entità clinica osservabile alla nascita, nei bambini affetti da Sindrome di Down (SD). Altre sindromi mieloproliferative croniche quali la trombocitemia essenziale e la policitemia vera sono estremamente rare nell'età pediatrica.

### ***Leucemia mieloide acuta***

La LAM è definita come un disordine mieloproliferativo clonale secondario a trasformazione maligna di un progenitore emopoietico o di una cellula staminale di derivazione midollare, capace di auto-mantenimento e caratterizzata da un'alterata capacità di differenziazione e ridotta possibilità di autodistruzione. L'insieme di questi eventi determina l'accumulo di elementi cellulari maligni di origine mieloide (mieloblasti) nel midollo osseo, in circolo ed in altri organi. Per essere definita acuta, la leucemia deve presentare un'infiltrazione del parenchima midollare almeno pari al 20%.

### **2.1 Epidemiologia e fattori di rischio**

Le LAM rappresentano il 10% delle leucemie acute del bambino. In Italia, ogni anno si ammalano circa 60 individui d'età compresa tra 0 e 15 anni. Lo sviluppo della LAM è associato ad una grande varietà di sindromi predisponenti genetiche ereditarie od acquisite determinate da instabilità o sbilanciamenti cromosomici, difetti dei meccanismi di riparazione del DNA, alterata attivazione dei *pathway* di trasduzione del segnale od attivazione del recettore citochinico, o da alterata sintesi proteica (Tabella 1).

**Tabella 1 Sindromi genetiche associate ad aumentato rischio di sviluppare Leucemie Mieloidi**

Sindromi ereditarie	Sbilanci Cromosomici	Sindrome di Down
		Sindrome Familiare da Monosomia 7
	Sindromi da Instabilità Cromosomica	Anemia di Fanconi
		Discheratosi Congenita
		Sindrome di Bloom
	Sindromi da difetti dei <i>pathway</i> di crescita o sopravvivenza cellulare	Neurofibromatosi Tipo I
		Sindrome di Noonan
		Sindrome di Kostman
		Anemia di Diamond-Blackfan
		Trombocitopenia Amegacariocitica Congenita
	Disordini Piastrinici Familiari associate a aumentato rischio di LAM (FPD/AML)	
Sindromi Acquisite	Anemia Aplastica Severa	
	Trombocitopenia Amegacariocitica (AAMT)	
	Monosomia 7 Acquisita	
	Emoglobinuria Parossistica Notturna	

## 2.2 Classificazione e/o stadiazione

Il più completo sistema di classificazione istochimico-morfologico per la LAM è stato sviluppato dal Gruppo Cooperativo Franco-Americano-Britannico (FAB) ed è riportato in Tabella 2. Altri sottotipi di LAM estremamente rari, non compresi nelle classificazione FAB, sono rappresentati dalla leucemia eosinofila acuta (LEA) e dalla leucemia basofila acuta (LBA) (1).

Recentemente, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha proposto un sistema classificativo dei disordini mieloproliferativi che incorpora criteri clinici, morfologici (FAB), immunofenotipici, citogenetici e biologico-molecolari (Tabella 3). Nel 50-60% dei casi di bambini affetti da LAM, la malattia può essere classificata come forma M1, M2, M3, M6 o M7; approssimativamente nel 40% dei casi, mostra i sottotipi M4 o M5. In circa l'80% dei bambini affetti da LAM d'età < 2 anni, il sottotipo è M4 o M5 ed è talora associato a riarrangiamenti

della banda 11q23 e più specificatamente del gene MLL (Tabelle 3 e 5).

La risposta alla chemioterapia citotossica è relativamente simile per i diversi sottotipi di LAM. L'unica eccezione è rappresentata dal sottotipo FAB M3 (APL, *Acute Promyelocytic Leukemia*), per il quale l'acido *all-trans* retinoico (ATRA) combinato con un'opportuna chemioterapia è in grado di assicurare l'ottenimento della remissione e la guarigione alla quasi totalità dei casi.

Forma non frequente, ma da ricordare, è il Sarcoma Granulocitico (SG), altrimenti denominato cloroma. Descrive una raccolta delimitata di cellule leucemiche, che può verificarsi nel 10% a livello cutaneo o dei tessuti molli e seppur raramente (< 1%), può rappresentare l'unica sede di malattia. I pazienti con SG isolato con malattia unicamente cutanea, sono talvolta CBF positivi (*core-binding factor*) e hanno una buona prognosi, mentre quelli con localizzazioni in altre sedi (orbita) hanno una prognosi non altrettanto favorevole.

**Tabella 2 Classificazione istochimico-morfologica FAB**

SIGLA	CATEGORIA	CRITERI MORFOLOGICI
M0 *	INDIFFERENZIATA	MPO <3% ma mostra granulazioni caratteristiche al microscopio elettronico; NAE negativa
M1	MIELOBLASTICA SENZA MATURAZIONE	Blasti >90% nel midollo esclusi eritroblasti; <10% componente monocitaria; <10% granulociti, MPO >3%
M2	MIELOBLASTICA CON MATURAZIONE	Blasti 30<90%; granulociti >10%; monociti <20% (NE), MPO >3%
M3 **	PROMIELOCITICA (APL)	>20% promielociti anomali ipergranulari (corpi di Auer), MPO>3%;
M3V**	PROMIELOCITICA VARIANTE IPOGRANULARE (APLv)	Nuclei reniformi, granulazioni fini nel citoplasma, poco visibili al MO, ma MPO +++ , MPO >3%

*segue*

M4	MIELOMONOCITICA	Blasti >30%, NE componente granulocitaria 20<80%, componente monocitaria 20<80%, >5x10 <sup>9</sup> /l monociti nel sangue periferico o lisozima elevato, MPO >3%
M4 eo	MIELOMONOCITICA CON IPEREOSINOFILIA	Criteri per M4 associati a eosinofili anormali con granuli eosinofili e basofili, MPO >3%
M5	MONOCITICA	>80% NE componente monocitaria; NAE positiva
M5a	MONOCITICA SENZA DIFFERENZIAZIONE (MONOBLASTICA)	>80% NE componente monocitaria; monoblasti >80% della componente monocitaria, NAE positiva
M5b	MONOCITICA CON DIFFERENZIAZIONE	>80% NE componente monocitaria; monoblasti <80% della componente monocitaria NAE positiva
M6	ERITROLEUCEMIA	Cellule eritroidi >50% delle cellule midollari; blasti >30% NE
M7***	MEGACARIOBLASTICA	Blasti >30% NE; megacarioblasti, <i>blebs</i> , (mielofibrosi)

\* M0:

- MPO e SBB < del 3% in citochimica;
- Markers B e T-lineage negativi (ivi compresi CD3 e CD22 intracitoplasmatici)
- CD13 e CD33 positivi in circa il 60% e 80% rispettivamente dei pazienti; co-espressione di CD13 e CD33 in circa il 40% dei casi; almeno uno dei due antigeni deve essere espresso per la diagnosi
- CD13 più sensibilmente dimostrato da tecniche immunocitochimiche (immunoperossidasi e APAAP) che dalla citometria a flusso
- CD117, CD7 e TdT riscontrati nel 55, 41 e 46% dei casi rispettivamente.

\*\* M3:

L'identificazione di questo sottotipo è critica per il rischio emorragico potenzialmente fatale che può comparire prima o durante la terapia di induzione.

\*\*\* M7:

- Megacarioblasti > 30% MO; blebs citoplasmatici e fibrosi midollare
- Positività per CD61, CD42, CD41 e antigene fattore VIII-relato
- Possono inoltre essere utili:
  - Dimostrazione ultrastrutturale di perossidasi piastrinica
  - Dimostrazione che il subset di cellule CD34+ è CD38+
  - Biopsia ossea

NE: Neuroendocrini

NAE: Esterasi non specifica

**Tabella 3 Classificazione WHO**

LAM con anomalie genetiche ricorrenti	LAM con t(8;21)(q22;q22); (AML1 [CBFA]/ETO)	
	LAM con anomalie eosinofile midollari con	inv(16)(p13q22)
		t(16;16)(p13;q22) (CBFB/MYH11)
	LAP = LAM t(15;17)(q22;q12) (PML/RARA) e relative varianti	
	LAM con anomalie 11q23 (MLL)	
LAM con displasia multipla (de novo o secondarie a MDS specie AREB o AREBt)		
LAM, correlate alla terapia	da agenti alchilanti.	
	da inibitori della topoisomerasi II	
LAM di derivazione ambigua	LAM indifferenziata	
	LA bilineare (presenza contemporanea di più cloni trasformati)	
	LA bifenotipica (singola popolazione di cellule leucemiche con simultanea espressione di differenti origine emopoietica)	
LAM non altrimenti caratterizzata	LAM con minima differenziazione (FAB M0)	
	LAM senza maturazione (FAB M1)	
	LAM con maturazione (FAB M2)	
	AMML (FAB M4)	
	FAB M5a and M5b	
	LAM eritrocitaria (FAB M6)	Eritroleucemia (FAB M6a)
		Leucemia Eritroide Pura (FAB M6b)
	Leucemia Acuta Megacariocitica (FAB M7)	
	Leucemia Acuta Basofila	
	Panmielosi acuta con mielofibrosi	
	Sarcoma mieloide (granulocitico)	

### 2.3 Diagnostica di laboratorio e strumentale

Una valutazione accurata è fondamentale per poter instaurare la terapia più adeguata; la citochimica (Tabella 4) deve essere eseguita su strisci di sangue midollare di tutti i bambini con LA per poter assicurare una corretta distinzione non solo tra LA mieloidi e linfoidi, ma anche tra diversi sottotipi di LAM (ad esempio, identificare linea monocitaria o i promielociti).

**Tabella 4 Profilo citochimico delle Leucemie Acute**

	M0	AML,LAP (M1-M3)	AMML (M4)	AMOL (M5)	AEL (M6)	AMKL (M7)	LAL
Mieloperossidasi	-	+	+	+/-	-	-	-
Esterasi Non Specifica							
- Cloro-acetato	-	+	+	-	-	-	-
- $\alpha$ -naftol-acetato	-	-	+*	+*	+	-/+*	-
Sudan Black B	-	+	+	+/-	-	-	-
PAS	-	-	-/+	-/+	+	-	+

\* queste reazioni sono inibite dal fluoride.

Lo studio dell'immunofenotipo con analisi citofluorimetrica mira a determinare gli antigeni di superficie della cellula leucemica ed ha un ruolo complementare rispetto alla diagnosi morfologica e citochimica. Vari anticorpi monoclonali (MoAbs) linea-specifici, capaci di riconoscere antigeni delle cellule mieloidi dovrebbero essere usati per il completamento della diagnosi, in associazione con MoAbs *lineage* specifici per i linfociti di T e B, essenziali per la diagnosi differenziale tra LAM e LAL e per valutare le forme miste ovvero leucemie bifenotipiche o biclonali. Tra i vari CD (designazioni del *cluster*), quelli attualmente ritenuti essere relativamente linea-specifico per la LAM sono: CD11B, CD15, CD33, CD13 (pan-mielo), CDw41 e CD61 (megacariociti), CD14, CD64 (monociti), CD36 ed antiglicoforina A (eritroblasti). L'espressione di antigeni linfoidi associati è relativamente comune, ma non riveste alcun significato prognostico. Antigeni associati ad un immunofenotipo B (CD10, CD19, CD20, CD22, CD24) possono essere presenti nel 10-20% delle LAM, ma le immunoglobuline di superficie e le catene pesanti dell'immunoglobuline citoplasmatiche sono di solito assenti; allo stesso modo, antigeni T linfocitario o NK (CD2, CD3, CD5, CD7,

CD56) possono essere presenti nel 20-40% dei casi di LAM (2). L'immunofenotipo può identificare alcuni sottotipi di LAM indipendentemente dalla morfologia. Valutare CD19 e CD56 può identificare una t(8;21): CD33 con un CD13 eterogeneo può identificare una M3, e HLA-DR una M3v. La presenza di CD41 e CD61 sono fondamentali per porre la diagnosi di M7. L'espressione di glicoforina, infine, è importante per il riconoscimento delle forme M6 (2).

## 2.4 Caratterizzazione citogenetica e molecolare

L'analisi genetica dovrebbe essere condotta in tutti i casi di LAM, in quanto alcune anomalie cromosomiche rappresentano importanti marcatori diagnostici con notevole rilevanza prognostica.

Anomalie cromosomiche clonali sono state identificate nei blasti del 70-80% dei bambini con LAM e si sono dimostrate utili nel definire i sottotipi per particolari associazioni pressoché costanti quali: t(8;21) e M2, t(15;17) e M3, inv16 e M4Eo, anomalità 11q23 con M4 e M5, t(1;22) e M7. Le leucemie con t(8;21) e inv(16) sono anche definite *core-binding factor (CBF) leukemias* ovvero leucemie con coinvolgimento del CBF, fattore di trascrizione coinvolto nella differenziazione staminale emopoietica. Anomalie citogenetiche ricorrenti sono riportate in Tabella 5 (3).

**Tabella 5 Anomalie citogenetiche ricorrenti**

<i>Tipo</i>	<i>Sottotipo</i>	<i>Cromosoma-Gene</i>		<i>Note</i>
APL	LAM t(15;17)	15-PML	17-RAR $\alpha$	Ottima risposta all'ATRA
	LAM t(11;17)	11-PLZF	17-RAR $\alpha$	Ridotta sensibilità all'ATRA
LAM t(8;21)		21 - AML1 (RUNX1, CBFA2)	8 - ETO	Associate con il sarcoma granulocitico. Prognosi migliore rispetto alle restanti forme negative
<i>core-binding factor (CBF) leukemias</i>	LAM inv(16)	cr.16q22 - CBF $\beta$	16p13 - MYH11	Prognosi favorevole
	LAM t(16;16)	16q22 - CBF $\beta$	16p13 - MYH11	Prognosi favorevole

*segue*

LAM MLL	LAM 11q23	>50 geni partner descritti	11q23 - MLL	Prognosi sfavorevole. Caratteristiche delle LAM secondarie a terapie antitumorali (epidodofillotossine)
	t(9;11)	9 - AF9	11q23 - MLL	Prognosi favorevole
LAM t(1;22)		1p13 - OTT (RBM15)	1q13 - MAL (MLK1)	Prognosi severa
Altre anomalie cromosomiche	- 7 del(7q)	7q22 -		Rare. Prognosi sfavorevole
	- 5 del(5q)	13 bande da 5q11 a 5q35		
	inv(3)	3 q21 - ?	3 q26 - EVI1	
	t(3;3)			

Nuove tecniche citogenetiche, quali ad esempio la FISH (*fluorescence in situ hybridization*), soprattutto nei nuclei interfascici, possono rilevare le anomalie non sempre ottenibili con tecniche di coltura e bandeggio standard. Questo dato è clinicamente importante, quando alla diagnosi di sottotipo FAB corrisponde una scelta terapeutica particolare e diversa, come nel caso della APL o delle CBF. L'utilizzo di queste tecniche è infatti rilevante per identificare i casi di APL in tempi molto più rapidi rispetto alla citogenetica convenzionale ed allorché la diagnosi sia sospetta, ma la t(15;17) non sia identificabile attraverso la valutazione citogenetica di routine.

La presenza del cromosoma Philadelphia o del suo corrispettivo molecolare corrispondente al gene di fusione BCR/ABL rappresenta, molto probabilmente, la trasformazione leucemica di una LMC (p210), piuttosto che una LAM *de novo* (p190).

Altre anomalie molecolari ricorrenti (4) di interesse non solo per il monitoraggio della malattia residua minima, ma anche per il loro potenziale ruolo di bersagli terapeutici specifici, sono rappresentate da:

- **mutazioni FLT3:** la presenza di una mutazione FLT3 a tipo *internal-tandem duplication* (ITD) si associa a prognosi severa anche se nell'età pediatrica è molto meno frequente (5-10%) che non nell'adulto. Oggi sono disponibili inibitori di FLT3, a cui si può pensare in presenza di simili mutazioni bersaglio;

- **mutazioni ras e del recettore per c-KIT:** mutazioni dell'oncogene ras sono documentabili in circa il 25% dei casi di LAM, ma il loro significato prognostico non è noto. Mutazioni di c-KIT interessano meno del 5% delle LAM e frequentemente si associano ad anomalie CBF e prognosi severa;
- **mutazioni di GATA1:** le mutazioni di GATA1 sono caratteristiche dei casi di LAM M7 o TMD in SD. Le mutazioni del gene GATA1 conferiscono ai mieloblasti un'aumentata sensibilità alla citarabina attraverso la *down*-regolazione dell'enzima citidina deaminasi. Questo meccanismo è alla base della buona risposta delle forme di LAM M7 in soggetti Down a regimi chemioterapici contenenti ARA-C;
- **mutazioni della Nucleofosmina (NPM1):** NPM1 è una proteina essenziale per l'assemblaggio delle unità ribosomiali con importanti funzioni di trasporto trans-membrana ed aggregazione proteica a livello nucleolare (*shuttle*). Mutazioni di NPM1, peraltro rare in età pediatrica, riducono la localizzazione nucleare della proteina e si associano a forme CD34 negative.

## 2.5 Fattori prognostici

Poiché anche per la LAM è possibile riconoscere criteri e standard atti a stratificare la popolazione affetta in fasce di rischio per le quali sono previsti trattamenti diversificati, è opportuno illustrare i fattori prognostici noti (15). Numerosi parametri a potenziale valenza prognostica sono stati valutati per la LAM del bambino e dell'adolescente e possono essere distinti in diverse categorie.

### ***Caratteristiche del paziente:***

- *età:* influenza negativamente la prognosi per le forme che compaiono sotto l'anno di vita;
- *razza:* quella caucasica ha un decorso migliore rispetto a quella africana.

### ***Caratteristiche della cellula blastica:***

- *morfologia FAB:* va innanzitutto ribadito il valore prognostico positivo del sottotipo M3 o M3v ovvero delle APL, in rapporto alla prognosi estremamente favorevole di queste forme trattate

con protocolli chemioterapici che prevedono l'utilizzo intenso e protratto di acido *all-trans* retinoico (ATRA). Oltre a ciò, è nota una prognosi maggiormente severa per le forme M7 in soggetti non SD. I pazienti no SD affetti da M7 presentano una prognosi particolarmente sfavorevole se trattati senza un consolidamento che preveda l'impiego del TCSE allogenico;

- *anomalie citogenetiche e molecolari*: esiste un consenso internazionale nel definire come favorevoli le forme con anomalie citogenetiche isolate quali: traslocazione (8;21)(q22;q22) [AML1-ETO] e/o anomalie CBF $\beta$  [inv16(p13;q22) o t(16,16)(p13;q22)];
- *conta dei GB*: il numero dei GB all'esordio appare essere inversamente correlato alla probabilità di sopravvivenza. Sono definite iperleucocitotiche la forma con GB > 200.000/ $\mu$ l.

***Risposta alla terapia:***

- indipendentemente dal criterio di definizione sia morfologico che citofluorimetrico o biologico-molecolare per la definizione della RC, questo parametro sembra essere un fattore prognostico, non si sa quanto indipendente, necessario per la definizione di un rischio standard.

## **2.6 Trattamento**

Il cardine della terapia della LAM è rappresentato dalla sistematica somministrazione di una polichemioterapia eventualmente integrata, in rapporto alla fascia di rischio, dal trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) allogenico od autologo (vedi cap. 9) (5-14). Il trattamento ottimale di questa patologia mira essenzialmente al controllo della malattia midollare e sistemica, mentre la profilassi della localizzazione al SNC, pur essendo una componente prevista dai vari protocolli attraverso iniezioni intratecali ripetute, non si è mai dimostrata un fattore essenziale per il miglioramento della sopravvivenza. La radioterapia craniale non è necessaria né come profilassi né come trattamento della meningosi leucemica che, qualora presente, è controllata dalla sola terapia intratecale oltre che sistemica. La terapia consta essenzialmente di due fasi: induzione (IND) con lo scopo di ottenere una remissione completa (RC) ovvero una scomparsa della malattia, consolidamento/intensificazione post-remissione, con lo scopo di consolidare e rendere permanente lo

stato di RC di malattia. La terapia di mantenimento non sembra essere necessaria, se non forse per le APL.

Il trattamento è severamente tossico soprattutto in rapporto alle complicanze di ordine settico, che si associano frequentemente ad una severa e protratta mielosoppressione.

Il ricorso alla somministrazione di fattori di crescita emopoietici quali il *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF) per ridurre la tossicità associata alla severa immunosoppressione non si è dimostrato in grado di incidere favorevolmente sul destino finale della malattia.

In considerazione dell'intensità prevista dai protocolli di trattamento dei bambini con LAM, questi pazienti dovrebbero essere seguiti solo da centri onco-ematologici attivi presso policlinici od ospedali di III livello ovvero COPRRe/COPR secondo quanto previsto dalle Linee Guida per l'Oncologia Pediatrica del nostro Paese (Ministero della Sanità. Dipartimento della Prevenzione - Commissione Oncologica Nazionale - LINEE GUIDA PER L'ONCOLOGIA PEDIATRICA. GU 7-10-1999 Serie Generale n.236, pp.13-16). È previsto infatti, che questi centri siano in grado di garantire il massimo delle prestazioni soprattutto in termini di terapia di supporto metabolica, trasfusionale, microbiologica, antinfettiva e rianimatoria.

#### ***Chemioterapia di induzione (IND)***

Diversi e contemporanei protocolli di IND hanno ottenuto percentuali di RC tra il 75% e il 90%. Dei casi che non raggiungono uno stato di RC, la metà circa è resistente, mentre l'altra metà muore per complicanze infettive, emorragiche o metaboliche correlate al trattamento.

I farmaci più efficaci nella terapia di induzione della LAM sono rappresentati dalla citosina arabinoside (ARA-C) e dalle antracicline (daunorubicina, idarubicina), in combinazione con altri agenti chemioterapici, quali etoposide (VP-16) e/o tioguanina (6-TG) e talora corticosteroidi (desametasone).

L'intensità della terapia di induzione influenza senza dubbio il decorso della malattia. Questa istanza è stata testata e dimostrata da diversi studi clinici controllati.

#### ***Profilassi SNC***

Sebbene la presenza di localizzazione al SNC alla diagnosi sia più comune nei bambini con LAM che non in quelli con LAL, un impatto

prognosticamente rilevabile della meningosi leucemica in corso di LAM non è mai stato dimostrato.

La profilassi della meningosi leucemica si attua essenzialmente attraverso la somministrazione intratecale di ARA-C.

### ***Terapia post-remissionale***

L'obiettivo prioritario della terapia post-remissionale è il prolungamento e la stabilizzazione della RC con la terapia di induzione, che può realizzarsi attraverso una chemioterapia addizionale a cicli ripetuti oppure una chemioterapia ad alte dosi seguita da TCSE allogenico od autologo.

La CT post-remissionale è basata sulla somministrazione di ARA-C variamente combinata a farmaci già utilizzati in induzione. Studi clinici controllati condotti nell'adulto e confermati con controlli storici su popolazioni pediatriche hanno dimostrato come alte dosi di ARA-C siano maggiormente efficaci rispetto a dosi standard, specie in pazienti con t(8;21) o inv(16), anche se resta da definire quale sia il numero ottimale dei cicli da somministrare.

L'utilizzo del TCSE nella fase di terapia post-remissionale della LAM in I RC è stato oggetto di studio fin dagli anni '70. Il TCSE, sia autologo che allogenico, è stato largamente impiegato per il consolidamento dello stato di I RC nei pazienti pediatrici affetti da LAM.

Tutti gli studi clinici controllati fino ad ora pubblicati hanno documentato che il TCSE allogenico fornisce risultati superiori, in termini di probabilità di DFS, rispetto ad un consolidamento chemioterapico o basato su procedure di trapianto autologo. Tuttavia, molti gruppi cooperativi pediatrici tendono ad utilizzare il TCSE allogenico come terapia post-remissionale, solo nei casi ad alto rischio, per ridurre i rischi delle complicazioni a breve e lungo termine legate alle procedure trapiantologiche da donatore allogenico.

Per quel che riguarda, invece, la comparazione tra TCSE autologo e CT, in letteratura sono stati riportati dati contrastanti. Infatti, mentre alcuni studi hanno dimostrato un vantaggio, in termini di DFS, per i pazienti sottoposti a TCSE autologo, altri hanno dimostrato una sostanziale equivalenza delle due strategie di consolidamento, facendo preferire quella non trapiantologica per la fascia di rischio standard. Inoltre, deve essere menzionato che anche studi, in cui la probabilità di DFS risultava comparabile dopo consolidamento chemioterapico o trapiantologico, hanno dimostrato che la probabilità di ricaduta, dopo

l'applicazione di entrambe le strategie terapeutiche, era inferiore per i pazienti sottoposti a TMO autologo. Di converso, la possibilità di salvataggio con un trattamento di seconda linea dopo ricaduta è stata dimostrata, in alcuni studi, essere superiore nei pazienti sottoposti a consolidamento chemioterapico rispetto a quelli in cui è stata eseguita una procedura di trapianto.

In considerazione della limitata disponibilità, non più del 25% dei casi può essere sottoposto a TCSE allogenico da donatore familiare HLA compatibile. Il 60-70% dei casi con donatore familiare HLA compatibile 6/6 o 5/6 va incontro a stabile e duratura remissione in misura superiore a quella ottenibile con la sola chemioterapia o con il ricorso al TCSE autologo. La differenza tra TCSE autologo e CT post-remissionale intensa, non è invece tale da far preferire la procedura trapiantologica ad una chemioterapia, nei casi a rischio standard. Un ruolo favorente il decorso post-TCSE autologo potrebbe giocare il *purging* midollare che parrebbe in grado di ridurre la probabilità di recidiva almeno nel breve termine.

Nei pazienti a rischio standard, allo stato attuale delle conoscenze, è consigliabile il ricorso al TCSE allogenico da donatore familiare solo dopo una prima ricaduta in seconda RC. Per i pazienti ad alto rischio, il ricorso al TCSE in prima RC offre una maggiore probabilità di guarigione.

### ***Terapia di mantenimento***

La terapia di mantenimento non pare indicata nel trattamento della LAM non APL.

## **2.7 LAM in soggetti con Sindrome di Down**

Gli individui con SD presentano un aumentato rischio di ammalare di leucemia con una prevalenza nei primi 3 anni di vita di forme mieloidi caratterizzate da peculiarità biologiche (16).

I neonati con SD possono inoltre sviluppare un TMD, altrimenti denominato leucemia transitoria, che simula una LAM congenita, ma che tende ad una evoluzione favorevole e spontanea entro i primi 3, massimo 20, mesi di vita. Sebbene sia un disordine tendenzialmente autolimitante, il 10-30% dei casi dopo una remissione spontanea, sviluppa in seguito una “vera” LMA entro i 4 anni. I neonati con organomegalia progressiva, effusione viscerale e disfunzione epatica ingravescente presentano un rischio maggiore di morte precoce e

possono richiedere, oltre ad un attento monitoraggio, sangue *exchange*, leucoaferesi e ARA-C a basse dosi.

L'andamento della LAM nei bambini con SD è generalmente favorevole. Per questi casi è comunque appropriata una terapia meno intensa, con uso relativamente maggiore dell'ARA-C, a cui questi pazienti sono particolarmente sensibili, mentre non trova alcuna indicazione il TCSE.

## **2.8 Trattamento delle LAM recidivate o refrattarie**

Nonostante una seconda RC si raggiunga in oltre la metà dei casi recidivati facendo ricorso a schemi di polichemioterapia simili a quelli utilizzati in prima linea, il mantenimento di questo stato è il più delle volte assai insoddisfacente. Circa la metà delle recidive avviene nel primo anno dalla diagnosi e quasi tutte entro il 5 anno. La sede di gran lunga più frequente è quella midollare, il più delle volte isolata. La durata della prima RC è un fattore che influenza il decorso delle forme recidivate con probabilità di sopravvivenza che arriva al 40% per le recidive tardive (dopo l'anno) e al 10% per quelle precoci (entro l'anno).

La scelta della terapia di consolidamento di una possibile seconda RC è ovviamente in rapporto alla strategia terapeutica scelta nel trattamento di prima linea. Una CT di consolidamento seguita da un TCSE è la scelta che dà la migliore garanzia di successo, non solo per i pazienti che per una forma a rischio standard sono recidivati dopo un trattamento unicamente polichemioterapico, ma anche per coloro che, avendo ricevuto un TCSE autologo per una forma ad alto rischio in mancanza di un donatore familiare HLA-compatibile, possono avvantaggiarsi per la prima volta di una immunoterapia, quale quella possibile con un TCSE allogenico.

### ***Leucemia acuta promielocitica (Acute Promyelocytic Leucemia; APL)***

La APL rappresenta un sottotipo di LAM con peculiari caratteristiche morfologiche (FAB M3 o M3v) e molecolari per la presenza di un patognomonico riarrangiamento cromosomico 17q21, che interessa il gene che codifica per il recettore per l'acido retinoico (*Retinoic Acid Receptor Alpha; RAR $\alpha$* ), generalmente fuso con il gene della leucemia promielocitica (*ProMyelocytic Leukemia; PML*) come risultato della t(15;17)(q22;q21). In < 5% dei casi, RAR $\alpha$  è fuso con

*partner* alternativi, quali NPM1 nelle forme t(5;17)(q35;q21) o NuMA in quelle t(11;17)(q13;q21), comunque sensibili all'acido all-trans-retinoico (ATRA); mentre altre APL con interessamento di PLZF o STAT5b quali risultati della t(11;17)(q23;q21) che si associa ad alta espressione citofluorimetrica del CD56, fine granulazione e prognosi severa o delezione interstiziale del cromosoma 17, sono resistenti all'ATRA.

Le APL rappresentano il 4-8% delle LAM, con un'incidenza più alta nella razza ispanica e nei soggetti di origine mediterranea, dove raggiunge il 20% di tutte le LAM. L'età media di insorgenza è attorno ai 7-9 anni.

Clinicamente, la APL si caratterizza per un esordio drammatico caratterizzato solitamente da una coagulopatia talora fatale, se non prontamente trattata.

La APL del bambino è simile a quella dell'adulto, sebbene nell'età pediatrica prevalga la variante microgranulare. I soggetti in età pediatrica con GB < 10 x 10<sup>9</sup>/L rappresentano circa il 60% dei casi e presentano una prognosi significativamente migliore rispetto a quelli con iperleucocitosi, che inoltre si associano più frequentemente ad un FAB M3v o a mutazioni di FLT3.

La APL con PML-RAR $\alpha$  trattata il più rapidamente possibile con ATRA a cicli ripetuti ed in combinazione con una CT comprendente antraciclinici ha una prognosi favorevole per una riduzione rilevante delle morti da complicità emorragica e per la riduzione delle recidive di malattia che non superano il 10% nelle forme con GB < 10 x 10<sup>9</sup>/L (rischio standard) e sono intorno al 20% in quelle con GB  $\geq$  10 x 10<sup>9</sup>/L (alto rischio) (17).

Recenti studi hanno dimostrato come la scomparsa del trascritto chimerico PML/RAR $\alpha$  al termine della terapia, valutato attraverso il monitoraggio della RT PCR, identifichi uno stato di remissione molecolare e predica un buon risultato. Di converso, è ipotizzabile come la ripresa di malattia, anche solo a livello molecolare, meriti di essere considerata criterio necessario e sufficiente per riprendere un trattamento.

Attualmente, si è raggiunto un ampio consenso sulla stadiazione della APL pediatrica secondo quello che è il primo protocollo internazionale proposto per la diagnosi ed il trattamento (*International Consortium for Childhood Acute Promyelocytic Leukemia, ICCAPL Study I*). Secondo questo protocollo, i pazienti sono stratificati in due fasce di rischio: standard ed alto, in rapporto al numero di GB alla

diagnosi minore o maggiore di  $10 \times 10^9/L$  e vengono trattati, con diversa intensità terapeutica, con ATRA ed idarubicina (IDA) in induzione, seguita da cicli ripetuti di ATRA in combinazione con alte dosi di ARA-C e mitoxantrome ed ancora IDA in consolidamento, per poi passare ad una terapia di mantenimento, che include ATRA più 6-mercaptopurina e metotrexate, per le forme che raggiungono la remissione anche molecolare. Grazie agli ottimi risultati raggiunti con l'utilizzo protratto di ATRA associata a CT, il TCSE non trova indicazioni in prima RC e rappresenta una possibile opzione solo per le forme recidivate in seconda remissione.

Il triossido d'arsenico, un agente ad azione differenziante e pro-apoptotica, si è dimostrato attivo in oltre l'80% delle LAP recidivate. A causa della sua tossicità (aritmia cardiaca da prolungamento del tratto Q-T, alterazione elettrolitiche, in particolare di potassio e magnesio), questo nuovo farmaco va somministrato con cautela anche se appare talmente promettente da far pensare a studi clinici controllati atti a valutarne l'efficacia in prima linea.

### ***Leucemia mieloide cronica***

Rappresenta non più del 5% delle leucemie del bambino e dell'adolescente. L'anomalia citogenetica/molecolare caratteristica della LMC è il cromosoma Philadelphia (Ph), che rappresenta il risultato della  $t(9;22)$  [BCR-ABL]. La LMC è caratterizzata da marcata iperleucocitosi e spesso trombocitosi, talora associata ad alterata funzionalità piastrinica. L'aspirato midollare mostra generalmente un midollo ipercellulato con maturazione granulocitaria relativamente mantenuta ed incremento non significativo della quota blastica.

L'evoluzione clinica è tipicamente caratterizzata da tre fasi: cronica, accelerata e crisi blastica. La fase cronica si configura con un quadro sostanzialmente riferibile alla iperleucocitosi, che combina variamente sintomi quali astenia, febbre, sudorazione notturna, dolore osseo, di stress respiratorio, dolore addominale in presenza di splenomegalia, e raramente, priapismo, perdita di udito e disturbi visivi. La fase accelerata si caratterizza per splenomegalia progressiva, trombocitopenia e comparsa di blastosi midollare e periferica con comparsa di anomalie cromosomiche complesse in associazione alla presenza del cromosoma Ph. La crisi blastica, che corrisponde ad una leucocitosi acuta e si configura per la presenza di blasti midollari

> 30%, è una forma mieloide per i 2/3 dei casi e linfoide per 1/3, solitamente ad immunofenotipo B immaturo.

La prognosi della LMC è estremamente severa ed il solo trattamento efficace, in grado di assicurare la guarigione, è rappresentato dal TCSE preferibilmente da donatore familiare HLA compatibile in prima fase cronica o, in alternativa, da MUD (*matched unrelated donor*) (vedi cap. 9). L'imatinib mesilato (Gleevec), inibitore della proteina tirosin-chinasi prodotta dalla fusione bcr-abl, è in grado di indurre una remissione clinica, citogenetica e molecolare nella maggior parte dei pazienti trattati in fase cronica, ma non ancora di garantire la guarigione, che resta appannaggio dei casi sottoposti a TCSE da donatore (18). Gli inibitori di seconda e terza generazione sembrano ancora più promettenti per superare la possibile resistenza ed appaiono come il futuro per il trattamento di questa forma.

### ***Sindromi mielodisplastiche***

Le sindromi mielodisplastiche (MDS) sono un gruppo eterogeneo di disordini clonali della cellula staminale emopoietica, caratterizzati da un vantaggio di crescita del clone neoplastico rispetto alle cellule sane, da una difettosa differenziazione e maturazione delle tre linee cellulari emopoietiche e da un'aumentata apoptosi midollare, con conseguente emopoiesi inefficace e citopenia nel sangue periferico.

La Tabella 6 riassume l'attuale classificazione delle sindromi mielodisplastiche del bambino (19,20).

**Tabella 6 Classificazione delle sindromi mielodisplastiche**

1) Sindromi mielodisplastiche / mieloproliferative:		
a) Leucemia mielomonocitica giovanile (JMML)		
	% di blasti nel	% di blasti nel
2) Sindromi mielodisplastiche:	sangue periferico	midollo osseo
a) Citopenia refrattaria (CR)	< 2%	< 5%
b) Anemia refrattaria con eccesso di blasti (AREB)	2 – 19%	5 – 19%
c) Anemia refrattaria con eccesso di blasti in trasformazione (AREB-T)	20 – 29%	20 – 29%
d) Leucemia mieloide acuta secondaria a progressa MDS (MDR-AML)	≥ 30%	≥ 30%

Nel corso dell'evoluzione clinica della malattia, le MDS meno aggressive ed a più bassa percentuale di blasti (citopenia refrattaria) progrediscono frequentemente, anche se con varia tempistica, verso forme con percentuale di blasti più elevata (anemia refrattaria con eccesso di blasti ed anemia refrattaria con eccesso di blasti in trasformazione), fino ad evolvere in una leucemia mieloide acuta secondaria a precedente MDS (*myelodysplasia-related AML*, MDR-AML). I dettagli molecolari di questo processo di evoluzione e progressione *multistep* sono, a tutt'oggi, in larga parte oscuri, anche se si ritiene che oncogeni come RAS, geni soppressori come p53 e geni regolatori la trascrizione, come i geni HOX, possano svolgere un ruolo importante nella progressione di questa malattia.

Nell'ambito delle MDS del bambino, il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche rappresenta il trattamento di scelta e costituisce l'unica strategia terapeutica potenzialmente curativa. In particolare, per quanto riguarda la forma definita leucemia mielomonocitica giovanile, il TCSE allogenico riesce a condurre a guarigione circa il 55% dei soggetti sottoposti a questa procedura. Un trattamento chemioterapico intensivo pre-trapianto non incrementa le probabilità di guarigione dopo il TCSE. Allo stesso modo, un intervento di splenectomia non modifica il decorso clinico dei pazienti trapiantati.

Anche per le MDS con quota blastica compresa fra il 5% ed il 29% (anemia refrattaria con eccesso di blasti ed anemia refrattaria con eccesso di blasti in trasformazione), così come per le MDR-AML, il TCSE allogenico è la strategia terapeutica di scelta. La chemioterapia convenzionale non si è dimostrata in grado di indurre remissioni di malattia prolungate e si è associata ad aplasia di lunga durata ed elevato rischio di complicanze. Il TCSE allogenico è in grado di guarire circa il 50-60% dei pazienti trapiantati. Anche in questo caso, come per la JMML, una chemioterapia ad alte dosi prima del trapianto non migliora le probabilità di guarigione dei pazienti trapiantati.

Considerando infine, le forme di MDS con minore percentuale di blasti (citopenia refrattaria), la probabilità di cura dopo TCSE allogenico è di circa l'80%. Nel contesto di questo sottogruppo di MDS, è in fase di valutazione l'impiego di un regime di condizionamento ad intensità ridotta, al fine di ridurre il rischio di mortalità trapianto-correlata. Sempre per la citopenia refrattaria, in particolare per il sottogruppo di pazienti con midollo osseo ipocellulare ed assenza di alterazioni citogenetiche (sottogruppo dove

si ritiene che, almeno nelle fasi iniziali della malattia, intervenga un meccanismo immunomediato T-dipendente di soppressione dell'emopoiesi), esiste l'opzione di un trattamento immunosoppressivo basato sull'associazione di siero antilinfocitario, ciclosporina-a, prednisone e fattori di crescita emopoietici (G-CSF), in analogia a quanto avviene per il trattamento dell'anemia aplastica grave.

## **2.9 Follow-up**

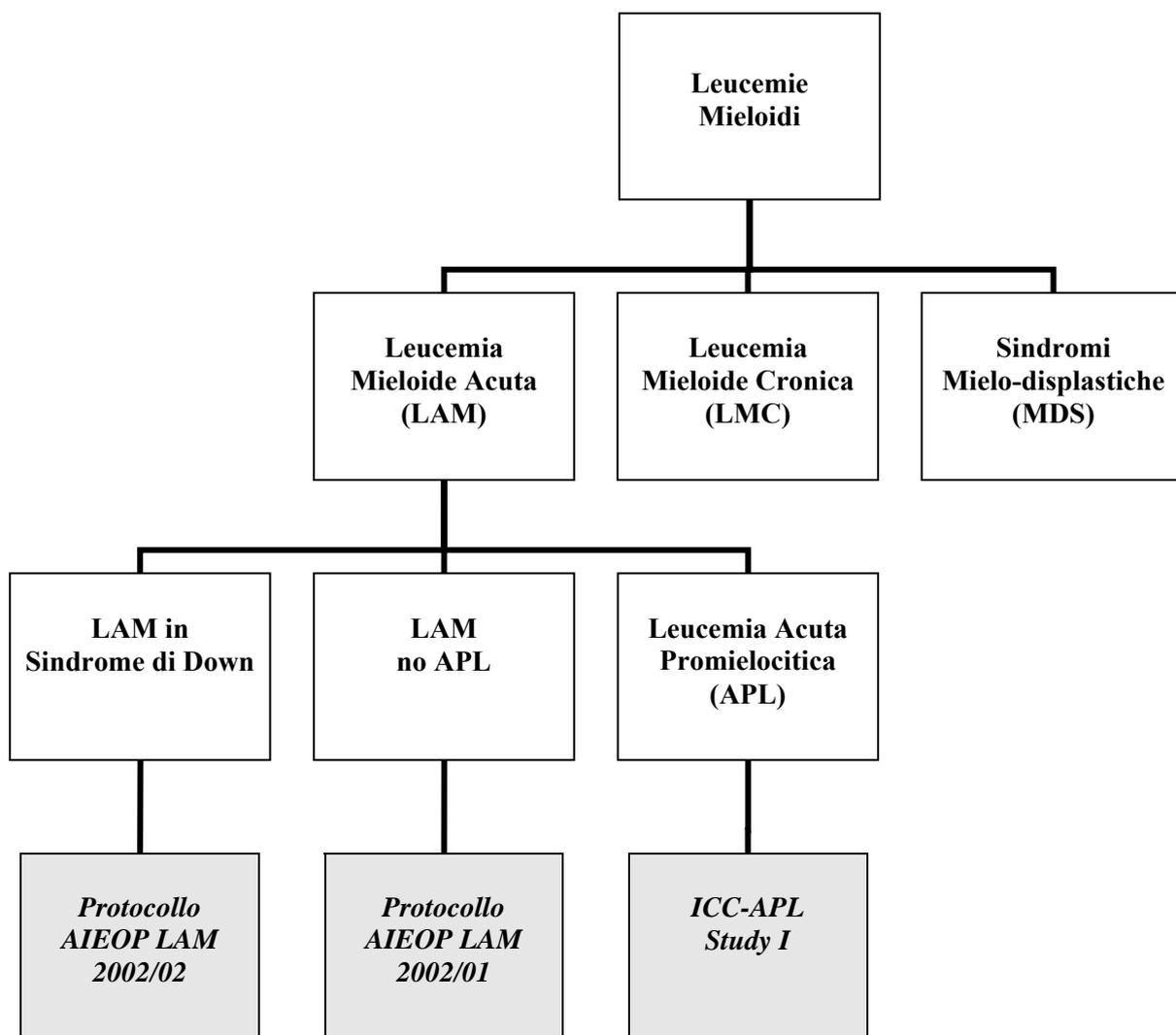
La popolazione lungosopravvivenza dopo diagnosi di LAM o di altre sindromi mieloproliferative presenta, in conseguenza del trattamento ricevuto, una serie di effetti collaterali a lungo termine che possono variamente combinarsi, che interessano dal 10 al 50% dei casi e che comprendono, nell'ordine di frequenza, anomalie dell'accrescimento, neurocognitive, endocrinopatie, infertilità, *graft-versus-host disease* cronica, seconde neoplasie maligne ed anomalie cardiache (21).

Nuovi approcci terapeutici trapiantologici e chemioterapici in grado di ridurre gli effetti collaterali a lungo termine devono essere pianificati, anche se non deve essere persa di vista l'assoluta necessità di mantenere come obiettivo primario il controllo della crescita leucemica, poiché la malattia recidivata/refrattaria resta la causa di morte principale nei bambini con LAM.

## **2.10 Direzioni future**

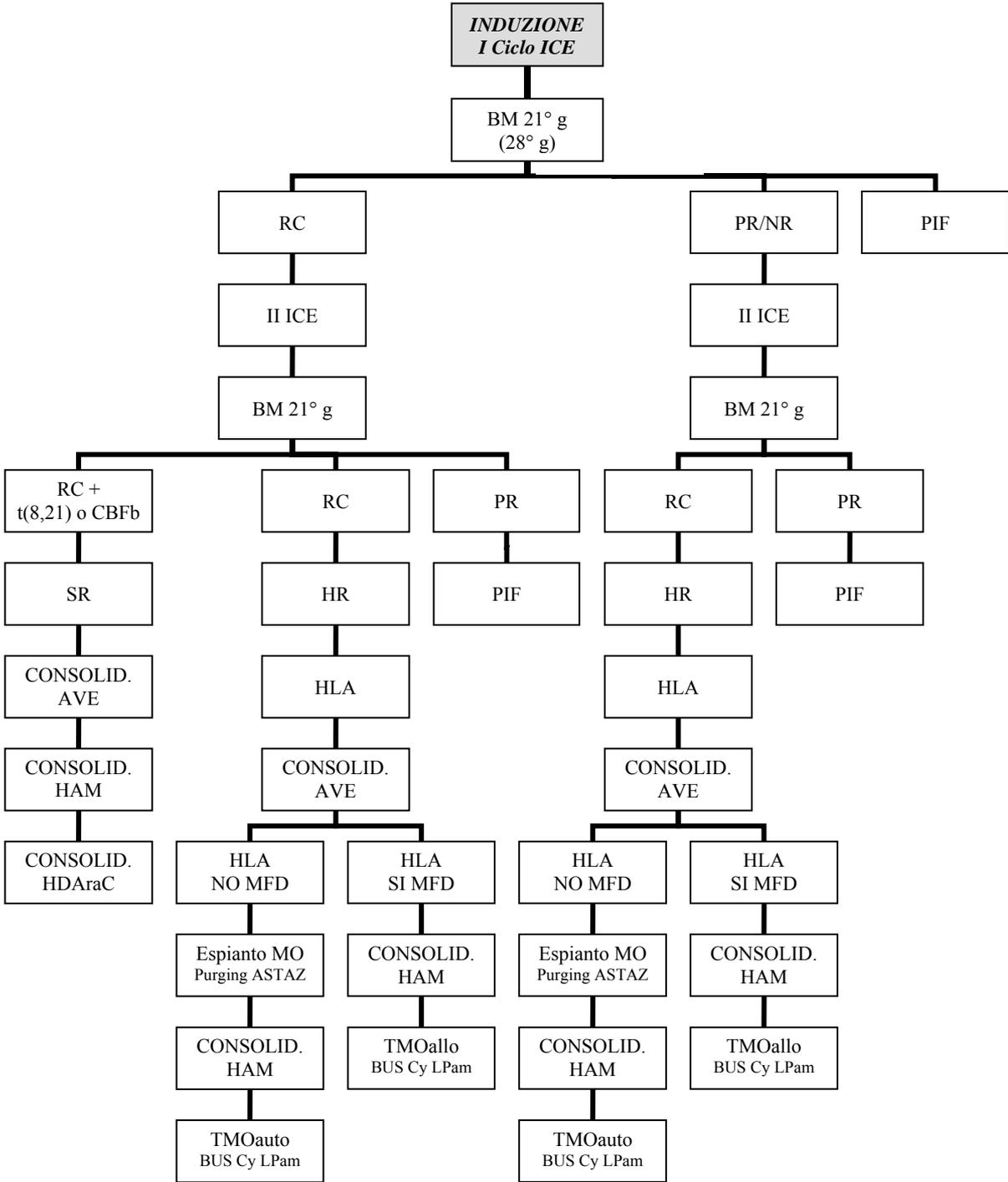
Sperimentazioni cliniche controllate sono in atto in molti Paesi nell'ambito di attività di ricerca condotte da molti gruppi cooperatori, per definire il possibile ruolo di nuovi farmaci quali clofarabina, antraciclinici liposomiali, 2-chlorodeoxyadenosine (cladribina), o l'immunoconiugato anti-CD33-calicheamicin (gemtuzumab ozogamicin) variamente combinati a schemi classici di terapia di dimostrata efficacia (3).

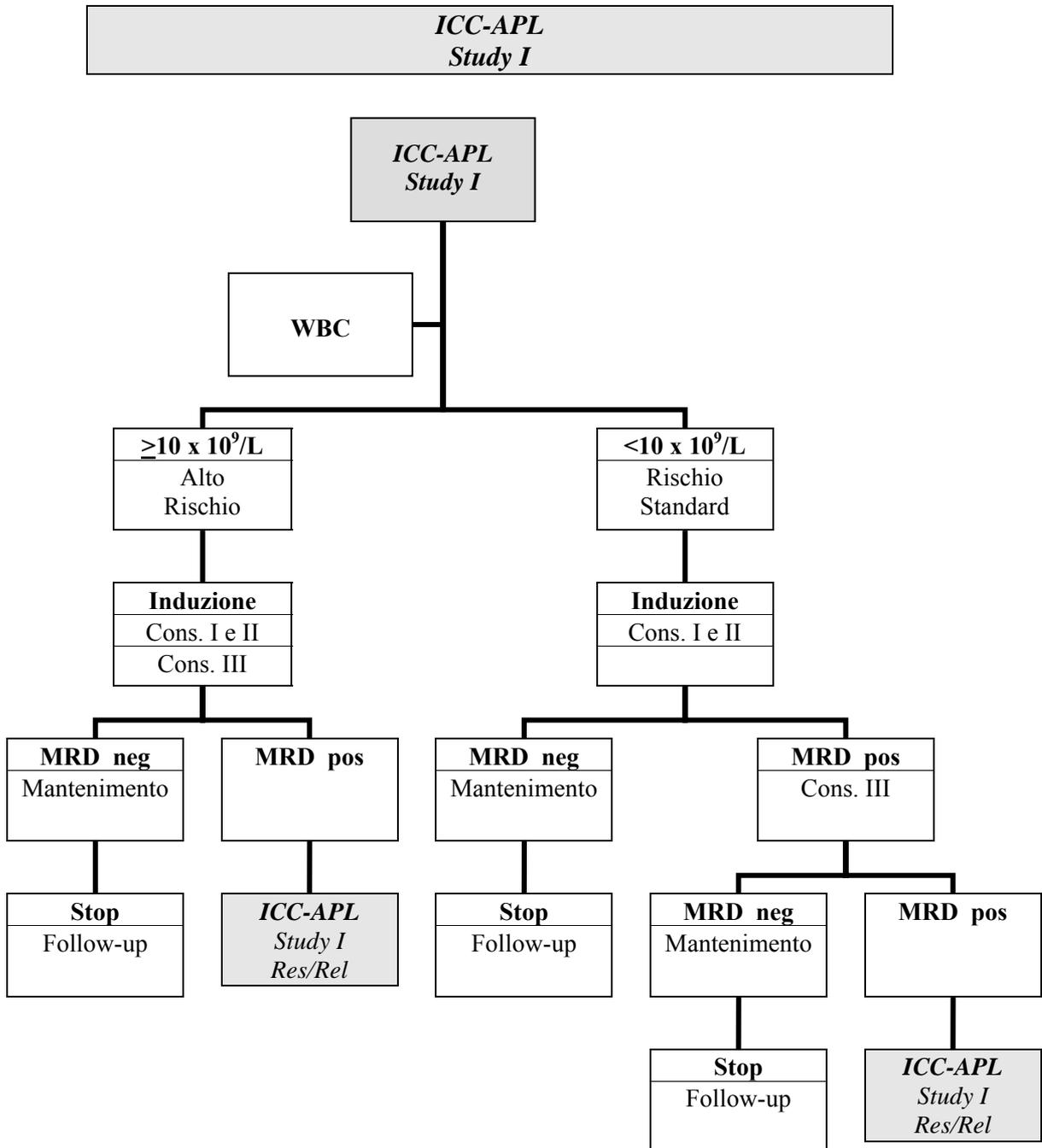
**LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA E  
SINDROMI MIELOPROLIFERATIVE**



- ICC-APL, International Childhood Consortium - Leucemia Acuta Promielocitica

**Protocollo AIEOP LAM 2002/01**





- *ICC-APL*, International Childhood Consortium - Leucemia Acuta Promielocitica
- *Cons.*, Consolidamento
- *MRD*, Malattia Residua Minima
- *Res/Rel.*, resistenza/ripresa

## BIBLIOGRAFIA

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103(4):620-5
2. Zangrado A, Luchini A, Buldini B, Rondelli R, Pession A, Bicciato S, te Kronnie G, Basso G. Immunophenotype signature as a tool to define prognostic subgroups in childhood acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2006; 20(5):888-91
3. Kaspers GJ, Zwaan CM. Pediatric acute myeloid leukemia: towards high-quality cure of all patients. *Haematologica* 2007; 92(11):1519-32
4. Frascella E, Rondelli R, Pigazzi M, Zampieron C, Fagioli F, Favre C, Lippi AA, Locatelli F, Luciani M, Menna G, Micalizzi C, Rizzari C, Testi AM, Pession A, Basso G. Clinical features of childhood acute myeloid leukaemia with specific gene rearrangements. *Leukemia* 2004; 18(8):1427-9
5. Arceci RJ. Progress and controversies in the treatment of pediatric acute myelogenous leukemia. *Curr Opin Hematol* 2002; 9(4):353-60
6. Creutzig U, Zimmermann M, Ritter J et al. Definition of a standard-risk group in children with AML. *Br J Haematol* 1999; 104(3) 630-9
7. Stevens RF, Hann IM, Wheatley K et al. Marked improvements in outcome with chemotherapy alone in paediatric acute myeloid leukemia: results of the United Kingdom Medical Research Council's 10th AML trial. MRC Childhood Leukaemia Working Party. *Br J Haematol* 1998; 101(1):130-40
8. Creutzig U, Ritter J, Zimmermann M et al. Improved treatment results in high-risk pediatric acute myeloid leukemia patients after intensification with high-dose cytarabine and mitoxantrone: results of Study Acute Myeloid Leukemia-Berlin-Frankfurt-Münster 93. *J Clin Oncol* 2001; 19(10):2705-13
9. Woods WG, Kobrinsky N, Buckley JD et al. Timed-sequential induction therapy improves postremission outcome in acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood* 1996; 87(12):4979-89
10. Lange BJ, Dinndorf P, Smith FO et al.: Pilot study of idarubicin-based intensive-timing induction therapy for children with

previously untreated acute myeloid leukemia: Children's Cancer Group Study 2941. *J Clin Oncol* 2004; 22(1):150-6

11. Creutzig U, Ritter J, Zimmermann M et al. Idarubicin improves blast cell clearance during induction therapy in children with AML: results of study AML-BFM 93. AML-BFM Study Group. *Leukemia* 2001; 15(3):348-54
12. Hann IM, Stevens RF, Goldstone AH et al. Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10th AML trial (MRC AML10). Adult and Childhood Leukaemia Working Parties of the Medical Research Council. *Blood* 1997; 89(7):2311-8
13. Locatelli F, Labopin M, Ortega J, Meloni G, Dini G, Messina C, Yaniv I, Fagioli F, Castel V, Shaw PJ, Ferrant A, Pession A, Sociè G, Frassoni F. European Blood and Marrow Transplantation Acute Leukemia Working Party. Factors influencing outcome and incidence of long-term complications in children who underwent autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *Blood* 2003; 101(4):1611-9
14. Pession A, Rondelli R, Basso G, Rizzari C, Testi AM, Fagioli F, De Stefano P, Locatelli F; AML Strategy & Study Committee of the Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP). Treatment and long-term results in children with acute myeloid leukaemia treated according to the AIEOP AML protocols. *Leukemia* 2005; 19(12):2043-53
15. Avivi I, Rowe JM. Prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol* 2005; 12(1):62-7
16. Forestier E, Izraeli S, Beverloo B, Haas O, Pession A, Michalová K, Stark B, Harrison CJ, Teigler-Schlegel A, Johansson B. Cytogenetic features of acute lymphoblastic and myeloid leukemias in pediatric patients with Down syndrome: an iBFM-SG study. *Blood* 2008; 111(3):1575-83
17. Testi AM, Biondi A, Lo Coco F, Moleti ML, Giona F, Vignetti M, Menna G, Locatelli F, Pession A, Barisone E, De Rossi G, Diverio D, Micalizzi C, Aricò M, Basso G, Foa R, Mandelli F. GIMEMA-AIEOPAIDA protocol for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) in children. *Blood* 2005; 106(2):447-53

18. Pulsipher MA: Treatment of CML in pediatric patients: should imatinib mesylate (STI-571, Gleevec) or allogeneic hematopoietic cell transplant be front-line therapy? *Pediatr Blood Cancer* 2004; 43(5):523-33
19. Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, Baumann I, Bennett JM, Kerndrup G, Head DR. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003; 17:277-82
20. Aricò M, Biondi A, Pui CH: Juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 1997; 90:479-488
21. Leung W, Hudson MM, Strickland DK et al. Late effects of treatment in survivors of childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2000; 18(18):3273-9

### 3.0 LINFOMI

I linfomi rappresentano un gruppo di neoplasie dell'età pediatrica che condividono segni e sintomi caratteristici della leucemia acuta e di un tumore solido. Infatti, segni e sintomi di accompagnamento sono spesso ascrivibili alla presenza di massa, ma la modalità di diffusione segue tipicamente la distribuzione e la fisiologica migrazione della cellula linfocitaria. I linfomi sono tra le neoplasie maligne che hanno registrato un più significativo miglioramento in termini di prognosi negli ultimi decenni, trasformando questa categoria di malattie da entità altamente e rapidamente letale, in una con le più alte probabilità di guarigione. Tra i linfomi si riconoscono due categorie di neoplasie distinte: i linfomi non-Hodgkin, in cui si distinguono 3 istotipi prevalenti ed alcune varianti rare ed il linfoma di Hodgkin.

#### 3.1 Epidemiologia e fattori di rischio

**Linfomi non-Hodgkin.** I linfomi non-Hodgkin (LNH) rappresentano circa il 10-15% di tutte le neoplasie maligne dell'età pediatrica, costituendo così il terzo gruppo più frequente nei Paesi occidentali. Secondo il SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results program*), l'incidenza di LNH nel gruppo di età compreso tra 0-19 anni è di 1.1 caso per 100.000 nel periodo 1999-2003 (1). I LNH mostrano un incremento costante con l'età. Alcuni dati indicano un aumento di incidenza di LNH in individui di età < 15 anni, in Europa ed USA negli ultimi decenni (2), mentre va sottolineato come incidenza e frequenza relativa varino significativamente in rapporto all'area geografica. L'incidenza è significativamente più elevata nell'età adulta, suggerendo l'importanza della diversa situazione del sistema immunologico e dell'esposizione ad agenti ambientali. Se si eccettua l'associazione significativa tra infezione da virus di Epstein-Barr e linfoma di Burkitt africano e la predisposizione di alcune sindromi congenite con immunodeficienza che predispongono all'insorgenza di LNH, l'eziologia dei LNH rimane per lo più ignota. Complessivamente, in Europa ed USA, i LNH pediatrici sono costituiti da Burkitt/Burkitt-like e LNH a grandi cellule B nel 50-60% dei casi; linfoma linfoblastico nel 30% e linfoma anaplastico a grandi

cellule (ALCL) nel 10-15%. Altre varianti, pur frequenti nell'adulto, sono rare nel bambino ed adolescente.

**Linfomi di Hodgkin.** Il linfoma di Hodgkin (LH) costituisce il 6% circa delle neoplasie pediatriche. Mostra una predilezione per il sesso maschile, soprattutto nell'età più giovane ed una distribuzione bimodale dell'incidenza, con un primo picco tra 15 e 30 anni di età ed un secondo dopo i 50 anni. Il LH è raro in individui di età < 10 anni. L'incidenza varia significativamente in aree geografiche e popolazioni diverse. Negli USA ed Europa, vi è un'augmentata incidenza in famiglie ad alto reddito ed elevato livello culturale, ma ciò riguarda soprattutto l'età adolescenziale/giovane adulto (3). Per l'età più giovane, l'incidenza sembra invece, aumentare tanto più numerosa è la famiglia ed in relazione alla diminuzione del livello di reddito (4). Anche per il LH, non vi sono certezze sull'eziologia. La diversa incidenza per gruppi di età ha però suggerito una possibile eziologia virale. In particolare, è frequente la presenza di elevati titoli anticorpali anti-EBV (*Epstein-Barr virus*) e frequente l'evidenza di genomi EBV nelle cellule di Hodgkin e Reed-Sternberg, in particolare in Paesi in via di sviluppo (5,6). Anche se si tratta di un'evenienza rara, sono stati descritti LH familiari.

### **3.2 Diagnostica di laboratorio e strumentale**

La diagnosi di LNH ed di LH si basa principalmente sulla caratterizzazione istologica ed immunoistochimica della malattia.

Essa definisce non solo il tipo di linfoma, ma permette anche di acquisire delle informazioni su caratteristiche che possono avere valenza prognostica, come la presenza di un definito *pattern* morfologico, l'espressione di marcatori specifici, la coesistenza di indicatori di linea linfocitaria o di differenziazione peculiari. Allo stato attuale, una diagnosi accurata di LNH deve basarsi, oltre che sull'istologia, anche sullo studio di marcatori valutabili mediante fluorocitometria (FACS), sullo studio citogenetico e sulla caratterizzazione molecolare, dove possibile. Quest'ultima ha una crescente rilevanza anche per la possibilità di studio di malattia minima midollare o del sangue periferico che, di recente, ha assunto una rilevanza particolare in alcuni sottogruppi di LNH.

In sintesi, le indagini necessarie per la diagnosi e la stadiazione di LNH e LH, escludendo gli aspetti molecolari ed isto-patologici sono:

- emocromo e formula leucocitaria;
- chimica clinica: elettroliti, calcio, fosfato, acido urico, lattico-deidrogenasi, VES, funzione renale ed epatica, ferritina, sideremia, fibrinogeno, elettroforesi proteine, coagulazione;
- biopsia linfonodale e/o di altra sede di malattia (la citologia con ago sottile deve considerarsi non-adequata);
- aspirato midollare bilaterale e biopsie osteomidollari bilaterali;
- esame liquido cefalorachidiano (microscopia e citocentrifugato);
- Rx torace;
- ecografia addome per organi parenchimosi; ecografia collo ed eventuali altre lesioni superficiali;
- TAC collo, torace addome;
- RMN (o TAC) cerebrale nei LNH;
- scintigrafia ossea (<sup>99</sup>Tc) + Rx segmenti ossei positivi alla scintigrafia;
- scintigrafia con <sup>67</sup>Gallio citrato in pazienti con LH mediastinico;
- FDP-glucosio PET: tale esame dovrebbe sostituire la scintigrafia con gallio nel LH ed è eseguito ancora per studio nei LNH, in attesa di acquisire maggiori informazioni sul suo significato;
- Ecocardiogramma.

Altri esami di funzione d'organo tra cui spirometria, valutazione endocrinologica, auxologica ed immunologica sono previsti per il LH, in particolare per la valutazione degli effetti a distanza della terapia radiante, ma sono utili anche nel LNH.

Essendo parte integrante e fondamentale dell'approccio diagnostico, è opportuno sottolineare l'aspetto relativo alla biopsia di lesione rappresentativa della malattia. Poiché essa si attua solitamente in sedazione generale, l'approccio necessita di una particolare cautela. In caso di masse mediastiniche, è necessario tener presente il rischio di una manovra in anestesia generale. È assolutamente necessario esplorare qualsiasi approccio alternativo alla biopsia della massa, al fine di ottenere la diagnosi. Pertanto, si prenderà in considerazione la biopsia di un linfonodo in anestesia locale o, in caso di versamento pleurico, si potrà verosimilmente arrivare ad una diagnosi mediante studio morfologico ed analisi fluorocitometrica della sospensione cellulare da esso ottenuta. Anche l'aspirato midollare potrà essere utile in caso si tratti di malattia in stadio IV. In pazienti in cui la massa mediastinica sia di rilievo e costituisca la sola sede di malattia, si prenderà in considerazione una terapia d'urgenza (prevalentemente chemioterapia in LNH e radioterapia nel LH) per ridurre la massa ed

allo stesso tempo si programmerà un intervento biptico appena le condizioni di rischio saranno ridotte, ma prima che la terapia possa alterare in modo troppo rilevante la lesione linfomatosa.

### 3.3 Anatomia patologica

La diagnosi isto-patologica ed immunohistochimica è il cardine della diagnosi di LNH e di LH. Essa va tuttavia, completata con la caratterizzazione immunofenotipica mediante FACS ed indagini genetiche e genetico-molecolari. Le due categorie di malattia hanno aspetti che meritano una trattazione separata. L'attuale classificazione istopatologica si basa sulla recente versione della classificazione delle malattie linfoproliferative WHO (7).

**Linfomi non-Hodgkin.** I LNH dell'età pediatrica sono malattie neoplastiche, in cui non si ritrova la ricchezza e complessità degli istotipi riportati nell'adulto. Pur riconoscendo che vi sono rari casi con istologia diversa da quella sotto-riportata, le categorie di LNH pediatrici si possono riassumere in: LNH a cellule B-mature; LNH linfoblastico (LBL); linfoma anaplastico a grandi cellule (ALCL).

**LNH-B.** I LNH a cellule B comprendono linfoma di Burkitt e linfoma diffuso a grandi cellule B. Una terza entità, tipica dell'adolescente e a maggior incidenza nel sesso femminile, è il LNH a grandi cellule B del mediastino (PMLBCL, *primitive mediastinal large B-cell lymphoma*), noto precedentemente come variante con sclerosi.

Il linfoma di Burkitt a livello linfonodale è caratterizzato da un aspetto a cielo stellato, per la coesistenza di cellule istio-macrofagiche tra i blasti. Citologicamente, è costituito da cellule tipo L3 secondo la classificazione FAB (8) e presenta elevatissimo indice mitotico (>90%). Le cellule esprimono immunoglobuline (Ig) di superficie e sono positive per marcatori, inclusi CD19, CD20, CD22, CD79a e spesso CD10 (9). La TdT (*terminal deoxynucleotidiltransferase*) è negativa.

Il linfoma a grandi cellule B esprime un fenotipo simile, ma CD10 può essere negativo e circa 1/3 non esprime Ig di superficie. Il PMLBCL è un LNH a grandi cellule B, caratterizzato da frequente sclerosi e talora, positività per CD30.

*Linfoma linfoblastico (LBL).* Il LBL ha citologia sovrapponibile alla leucemia linfoblastica. Le cellule hanno elevato rapporto nucleocitoplasmatico e cromatina finemente dispersa. L'aspetto più rilevante per la diagnosi è l'espressione di TdT, essendo meno del 5% dei LBL TdT negativi. La maggior parte dei LBL è anche positiva per CD99. Circa l'80% dei LBL è di derivazione T ed esprime in diversa misura, marcatori riconducibili all'ontogenesi timica, inclusi CD7, CD2, CD5, CD1, CD3, CD4 e CD8. LBL a precursori B esprimono marcatori tra cui CD19, HLA-DR con CD10, ma non Ig di superficie.

*ALCL.* Il linfoma anaplastico a grandi cellule contiene alcune varianti morfologiche, anche se il "tipo comune" rappresenta circa il 70% dei casi. Istologicamente, si osserva propensione all'invasione di spazi sinusali del linfonodo ed un coinvolgimento spesso parcellare dello stesso. Talora è difficile la diagnosi differenziale con LH ed altre neoplasie solide. Segni di emofagocitosi sono spesso presenti nel midollo osseo. Si ritiene esista ALCL di linea T o *null*, mentre l'espressione di marcatori B deve orientare verso diagnosi diverse. Tra i marcatori da valutare obbligatoriamente per la diagnosi vi sono: CD30, EMA, CD15, marcatori T (CD3, CD43) e B (CD79a, CD20). Di notevole rilevanza, è la positività per ALK, presente in oltre il 90% dei casi pediatrici. Tipicamente, ALCL è positivo per CD30, EMA, marcatori T e, molto spesso, ALK ed è negativo per CD15. Marcatori citotossici (perforina, granzima) sono spesso presenti.

*Linfomi di Hodgkin.* Il LH può essere suddiviso in 2 classi istopatologiche (10,11):

- LH classico
- LH a prevalenza linfocitaria nodulare

Il LH classico si suddivide ulteriormente in:

- LH a sclerosi nodulare
- LH a cellularità mista
- LH a deplezione linfocitaria
- LH classico ricco in linfociti

La cellula tipica del LH è la cellula di Reed-Sternberg (RS) (12), binucleata o multinucleata con nucleoli evidenti, immersa in un contesto cellulare di tipo reattivo (linfociti, granulociti, eosinofili, macrofagi). Quando mononucleata, è nota come cellula di Hodgkin. Le cellule di Hodgkin sono CD30 positive nella quasi totalità dei casi

ed esprimono frequentemente CD15 e fascina. Sono invece negative per marcatori delle cellule T, ma positive, in circa il 20% dei casi, per CD20. La forma più frequente è LH sclero-nodulare, che si distingue per la presenza di bande collagene che dividono il linfonodo in noduli, all'interno dei quali può essere presente una variante di cellule di RS dette cellule lacunari.

Un aspetto di particolare interesse è la diagnosi differenziale tra LH a prevalenza linfocitaria nodulare e LH classico ricco in linfociti. Il primo ha una struttura nodulare generalmente meno accentuata del secondo, presenta cellule con nucleo grande, cromatina vescicolare ed a struttura convoluta (cellule a *popcorn*). Esse esprimono marcatori di linea B, sono in genere CD15 negative e possono esprimere CD30.

### 3.4 Caratterizzazione biologico-molecolare

**Linfomi non-Hodgkin.** La biologia e la caratterizzazione molecolare dei LNH ha visto significativi progressi negli ultimi anni, ma ancora poche delle informazioni biologiche sono state implementate nei protocolli di diagnosi e cura.

Tra i *LNH a cellule B*, va sottolineata nel Burkitt la presenza di traslocazioni cromosomiche che coinvolgono l'oncogene *c-myc* sul cromosoma 8p24, il quale viene a trovarsi in vicinanza del *locus* delle Ig (80% dei casi, il *locus* IgH) (13). Ne consegue una disregolazione della trascrizione di *c-myc*, che si ritiene una concausa del processo di linfomagenesi (14). Tale anomalia genetica è evidenziabile mediante LD-PCR (*long distance-polymerase chain reaction*) e costituisce un marcatore di malattia, che può essere utilizzato per complemento diagnostico, ma anche per studio di malattia minima (15). Un'altra alterazione degna di nota è la traslocazione o le mutazioni puntiformi a carico del gene *BCL6*, con conseguente alterazione delle sue funzioni di repressore trascrizionale (16). La reale prevalenza di tali anomalie nei LNH a cellule B pediatriche non è nota.

Caratteristica rilevante, più spiccata nel linfoma di Burkitt, ma che accomuna anche il LBL, è l'elevata percentuale di cellule in fase S del ciclo cellulare, ad indicare un'altissima frazione di proliferazione cellulare.

Il *LBL* è stato spesso accostato alla leucemia linfoblastica per gli aspetti biologici. Tuttavia, poche sono le informazioni specifiche su tale neoplasia. La maggior parte (> 80%) dei LBL riproducono

fenotipicamente gli stadi maturativi dei timociti normali, con espressione di antigeni T, in diverse associazioni. Oltre al riarrangiamento del *T-cell receptor* o dei geni delle immunoglobuline (nei LBL a precursori B), sono state descritte un numero rilevante di anomalie genetiche in cui spesso sono coinvolti proto-oncogeni (17). Recentemente, è stato riportato che la perdita di eterozigotà a carico del cromosoma 6q14-q24 è associata ad una prognosi severa nei T-LBL (18).

L'*ALCL* è tra i LNH pediatrici quello che più ha beneficiato degli studi biologici recenti. Caratteristica fondamentale, che lo differenzia rispetto all'analogo linfoma nell'adulto dove la frequenza è nettamente inferiore, è la presenza in circa il 90% dei casi della traslocazione cromosomica reciproca t(2;5), da cui origina il gene di fusione NPM-ALK. Tale gene codifica per una proteina con attività chinasi intrinseca che appare coinvolta nei fenomeni di linfomagenesi (19). La presenza del trascritto di fusione NPM-ALK è un marcatore di malattia utilizzabile nello studio di malattia minima. La sua positività, nel midollo e nel sangue periferico, ha un ruolo prognostico nell'*ALCL* ALK positivo (20,21). Sono note anche varianti della traslocazione, in cui il gene ALK è coinvolto: esse danno luogo ad altre proteine di fusione che, pur con localizzazione intracellulare diversa dalla canonica nucleo-citoplasmatica, fungono anche da marcatore diagnostico rilevabile con anticorpi anti-ALK in immunocistochimica (22). Inoltre, NPM-ALK è un antigene tumore associato che *in vivo* dà luogo alla presenza di anticorpi anti-NPM-ALK specifici ed ad attività citotossica, con evidenti implicazioni terapeutiche (23,24).

**Linfomi di Hodgkin.** Dopo lunga incertezza, negli anni '90 si è potuta stabilire che le cellule di RS nel LH sono monoclonali e derivano da cellule B del centro germinativo (25,26), anche se pochi sono i marcatori di linea B espressi. Rari sono i casi con dimostrata derivazione dalla linea linfocitaria T.

Un aspetto rilevante è l'attivazione costitutiva del fattore nucleare kappa B (NF- $\kappa$ B) nelle cellule RS (27), che a sua volta attiva una serie di proteine anti-apoptotiche (IAP, c-FLIP, Bcl2) ed inibisce fattori pro-apoptotici (28). Ciò, almeno in parte, spiegherebbe la natura neoplastica delle cellule RS.

La maggior parte di LH esprime anche recettori della famiglia del fattore di necrosi tissutale (TNFR), cui appartiene anche CD30, la cui stimolazione induce attivazione di NF-kB (29).

Studi recenti hanno dimostrato che la cellula RS produce numerose citochine e chemochine, che spiegherebbero l'abbondante presenza di cellule infiammatorie nel contesto della lesione neoplastica.

Il CD30, antigene di membrana caratteristicamente espresso nel LH, può essere rilevato nel plasma ed i suoi livelli hanno un impatto sulla prognosi (30). Un ultimo aspetto degno di nota è la presenza, pur variabile nella popolazione di LH, di sequenze genomiche monoclonali del virus EBV, con espressione nelle cellule neoplastiche di proteine codificate dal virus stesso. La sua presenza, per le note proprietà trasformanti, è da considerare uno dei meccanismi patogenetici del LH, almeno in una porzione di casi, particolarmente in Paesi a basso reddito.

### 3.5 Stadiazione e classificazione

Lo stadio, insieme ad altri parametri clinici e/o laboratoristici, permette di individuare gruppi di pazienti con prognosi diversa e quindi, passibili di trattamenti differenziati atti ad ottimizzare la prognosi. Di seguito sono riportati i sistemi di stadiazione per LNH e LH.

**Linfomi non-Hodgkin.** La stadiazione dei LNH pediatrici si basa sullo schema elaborato al *St. Jude Children Hospital, Memphis*, da Murphy (31):

**Tabella 1 Stadiazione secondo St. Jude Children Hospital**

Stadio	Estensione di malattia
I	Una singola lesione (extranodale) o una singola sede anatomica (linfonodale) con esclusione di mediastino ed addome
II	Una singola lesione (extranodale) con coinvolgimento linfonodale regionale Due o più regioni linfonodali dallo stesso lato del diaframma Due lesioni distinte (extranodali) con o senza coinvolgimento linfonodale regionale dallo stesso lato del diaframma Tumore primitivo gastrointestinale, solitamente ileo-cecale con o senza interessamento di linfonodi mesenterici, macroscopicamente completamente resecato

*segue*

III	Due lesioni distinte (extranodali) sopra e sottodiaframmatiche Due o più regioni linfonodali sopra e sottodiaframmatiche Qualsiasi tumore intra-toracico (mediastino, pleura, timo) Qualsiasi tumore intra-addominale esteso Qualsiasi tumore paraspinale o epidurale, indipendentemente da altre sedi di malattia
IV	Qualsiasi localizzazione con concomitante coinvolgimento del SNC e/o midollo osseo

Oltre allo stadio, nel caso dei linfomi a cellule B (Burkitt, grandi cellule B), viene utilizzato un “gruppo di rischio” nel quale si considera anche il valore di lattico-deidrogenasi (LDH) sierica, inteso come indicatore surrogato di “quantità di tumore”. Nel caso dei protocolli italiani AIEOP, è utilizzata la seguente classificazione in gruppi di rischio:

- R1: stadio I e II completamente resecato
- R2: stadio I e II non resecato; stadio III e LDH < 500 U/L
- R3: stadio III e LAD 500-1000 U/L; stadio IV o leucemia L3 e LDH 1000 U/L con SNC negativo
- R4: stadio III e LAD ≥ 1000 U/L; stadio IV o leucemia L3 e LDH ≥ 1000 U/L; SNC positivo

**Linfomi di Hodgkin.** La stadiazione del LH attuale è quella di Ann Arbor (1971), rivista nel 1989 (32) ed adottata dal protocollo AIEOP.

---

STADIO I: compromissione di una singola regione linfonodale (I) o di un singolo organo o di una sede extralinfatica (IE).\*

STADIO II: compromissione di due o più regioni linfonodali dallo stesso lato del diaframma (II) od interessamento localizzato di un organo o di una sede extralinfatica associata ad una o più regioni linfonodali dallo stesso lato del diaframma (IIE).\* Il numero delle regioni linfonodali interessato deve essere possibilmente segnalato (es. II<sub>3</sub>).

STADIO III: compromissione di una o più regioni linfonodali sopra e sotto diaframmatiche (III) che possono essere associate ad interessamento localizzato di un organo o di una sede extralinfatica (III<sub>E</sub>)\* o ad interessamento della milza (III<sub>S</sub>) o di entrambi (III<sub>ES</sub>)\*.

STADIO IV: compromissione diffusa o disseminata di uno o più organi o tessuti extralinfatici con o senza contemporaneo interessamento di stazioni linfonodali. La sede di compromissione extralinfatica deve essere ulteriormente definita da simboli \*.

Tutti i pazienti vengono sotto-classificati A o B in relazione rispettivamente alla assenza o alla presenza di: febbre inspiegata 38°C per più di 3 giorni; sudorazione notturna; perdita di peso > 10% nei 6 mesi precedenti senza cause note.

L'interessamento contiguo di un organo o sede extralinfatica non significa IV stadio, ma è contraddistinto dal suffisso E aggiunto allo stadio I, II, III. La definizione di "interessamento extranodale non contiguo" deve essere stabilita mediante opportune indagini strumentali e, dove opportuno, da conferma istologica.

---

\* L'interessamento degli organi extralinfatici è indicato con lettera: interessamento polmonare (L); interessamento pleurico (P); interessamento del fegato (H); interessamento del midollo osseo (M) (accertato mediante biopsia osteomidollare, non solo aspirato). Interessamento di altri organi: la localizzazione rara, isolata e non contigua di ossa, cute, reni o altre sedi necessita di biopsia positiva per la collocazione nello stadio IV.

Un altro aspetto da considerare nel LH, è il volume della massa mediastinica. Se il rapporto delle dimensioni della massa (M) rispetto al torace (T) in radiografia AP è > 0.33, la malattia si definisce "bulky" e tale condizione si associa ad una prognosi peggiore.

Analogamente ai LNH, nel LH si possono così individuare 3 gruppi terapeutici:

- Gruppo 1: stadio IA; IIA sopradiaframmatico con  $M/T < 0.33$ , linfonodi ilo polmonare negativi e con < 4 sedi di malattia; stadio IA, IIA sottodiaframmatico con < 4 sedi malattia
- Gruppo 2: pazienti che non rientrano nel gruppo 1 o 3
- Gruppo 3:  $M/T \geq 0.33$  e qualsiasi stadio; stadio IIIB e IV

### 3.6 Trattamento

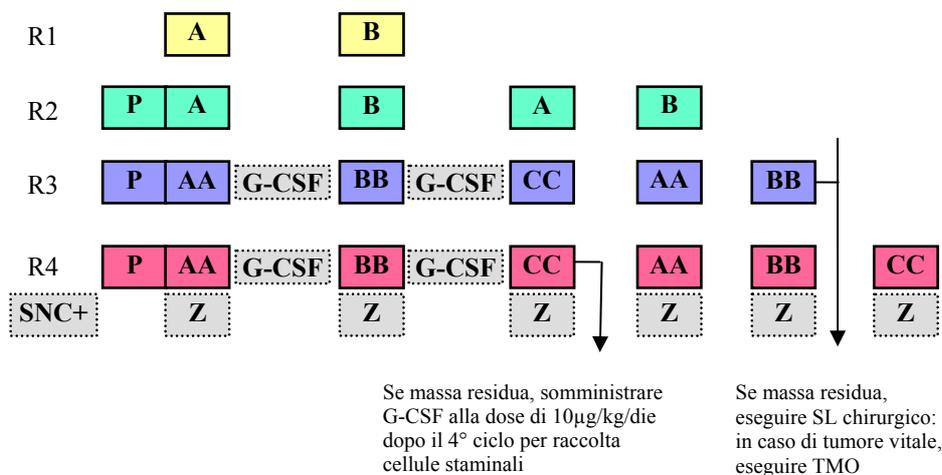
La terapia dei LNH si basa essenzialmente sulla somministrazione di chemioterapia. Il ruolo della chirurgia è per lo più limitato alla verifica diagnostica (biopsia) o alla valutazione del residuo tumorale.

La radioterapia (RT) non è utilizzata in terapia di prima linea, salvo pochi casi di PMLBCL. Anche l'irradiazione profilattica del SNC nel LBL è stata abbandonata.

Per il LH il trattamento si basa su combinazione di chemioterapia e RT, graduata in base al gruppo di rischio. Vi è attualmente il tentativo di ridurre la dose di RT per diminuire gli effetti negativi a distanza.

**Linfomi non-Hodgkin.** La terapia dei linfomi a cellule B (Burkitt e grandi cellule diffuso) prevede la somministrazione di 2-6 cicli di chemioterapia strutturati osservando un criterio di alta-dose-intensità. Il protocollo AIEOP-LNH97, derivato dal BFM95 (33), ha ottenuto dei risultati migliori rispetto al precedente LNH92 (34) ed è attualmente, in corso di valutazione definitiva.

#### AIEOP LNH 97 B: PIANO TERAPEUTICO



Uso facoltativo di G-CSF: l'uso è consigliato dopo il primo ciclo AA(z) e il primo ciclo BB(z)

I cicli di terapia hanno durata di 5 giorni, iniziano dopo una pre-fase in cui sono utilizzati farmaci a dosaggio contenuto (al fine di limitare il rischio di lisi tumorale massiva) ed utilizzano i seguenti farmaci:

- Ciclo AA: desametasone, metotrexate alte dosi, ifosfamide; etoposide, citosina arabinoside, vincristina;

- Ciclo BB: desametasone, metotrexate alte dosi, ciclofosfamide, adriamicina, vincristina;
- Ciclo CC: desametasone, etoposide, citosina arabinoside alte dosi, vindesina.

I cicli A e B si differenziano solo per una ridotta dose di metotrexate. Ogni ciclo prevede la terapia intra-tecale (IT) come profilassi del SNC. Di notevole importanza è tenere l'intervallo tra cicli successivi il più breve possibile, poiché ciò ha un impatto sulla prognosi. Data l'elevata tossicità acuta di questo protocollo è fondamentale la sua somministrazione in reparti con notevole esperienza di chemioterapia aggressiva e di terapia di supporto.

Il trattamento del *LBL* è attualmente simile a quello della leucemia linfoblastica. Il protocollo in uso in Italia deriva dal protocollo BFM 90 per il *LBL* (35) e si compone di:

- *Prefase steroidea*: prednisone per 7 giorni ed una dose di Metotrexate intratecale (MTX-IT)
- *Induzione della remissione* con: steroide, vincristina, daunoblastina, asparaginasi. A seguire: ciclofosfamide, citarabina, 6-Mercaptopurina
- *MTX* 5 gr/m<sup>2</sup> ogni 2 settimane per 4 dosi
- *Reinduzione* (solo stadi avanzati) con i farmaci utilizzati nella fase di *Induzione* della remissione, sostituendo il prednisone con il desametasone e la daunoblastina con adriablastina
- *Segue terapia di mantenimento* con 6-MP e MTX per un totale di 24 mesi
- *Profilassi al Sistema Nervoso Centrale (SNC)* con sola chemioterapia (MTX, corticosteroidi, citosina arabinoside). RT solo in pazienti SNC positivi

Dopo un primo protocollo nazionale in cui l'*ALCL* era trattato con uno schema di terapia derivato dal protocollo per la leucemia linfatica acuta LSA2-L2 (36), si ritiene attualmente che la terapia più efficace sia basata su uno schema simile al protocollo per i linfomi a cellule B, di intensità lievemente ridotta. L'AIEOP partecipa allo studio europeo in corso in cui lo schema di base è il protocollo BFM90, che comprende la somministrazione di 6 cicli di chemioterapia (37) con aggiunta (*random*) di vinblastina nel gruppo ad alto rischio (malattia coinvolgente il mediastino, polmone, fegato, milza o cute).

**Linfomi di Hodgkin.** I recenti miglioramenti nella prognosi del LH hanno permesso di aumentare la nostra attenzione sulla tossicità della combinazione di chemio-radioterapia (38-40). Gli obiettivi degli studi in corso infatti, specialmente nel *gruppo terapeutico 1*, hanno come obiettivo il mantenimento di un'elevata probabilità di sopravvivenza libera da evento (EFS), riducendo l'uso di farmaci alchilanti e la dose di RT. Nonostante la dimostrata efficacia dell'associazione chemioterapica MOPP, i più recenti protocolli AIEOP hanno privilegiato l'associazione ABVD, che nell'esperienza dell'Istituto Tumori di Milano si è dimostrato altrettanto efficace rispetto al MOPP, ma con tossicità ridotta. Inoltre, viene utilizzato già da alcuni anni lo schema ibrido COPP/ABV. Il ciclo COPP contiene ciclofosfamide anziché mecloretamina (presente nel MOPP). L'impostazione attuale nel protocollo AIEOP LH-2004 prevede la somministrazione di 3 cicli ABVD, senza RT, in tutti i bambini che ottengono la remissione completa. Coloro invece che ottengono una risposta insoddisfacente dopo i primi 2 cicli ABVD o presentano residuo dopo i 3 cicli, vengono avviati ad ulteriore chemio-RT o RT (con tecnica *local field*), rispettivamente (vedi Tabella 2).

Il *gruppo terapeutico 2* prevede la somministrazione di 4 cicli ibridi COPP/ABV, uno ogni 28 giorni, seguiti da RT. Coloro che avessero ottenuto una RC dopo 4 COPP/ABV ricevono RT alla dose di 14.4 Gy sulle aree interessate (*local field*). Pazienti che ottengono solo una remissione parziale dopo i 4 cicli di chemioterapia, proseguono con 2 cicli IEP e RT, a dose diversificata in base alla risposta complessiva (14.4 o 25.2 Gy) (vedi Tabella 2).

Bambini in *gruppo terapeutico 3*, ricevono come terapia di prima linea 6 cicli COPP/ABV. Se si ottiene la RC dopo il IV ciclo, vengono somministrati altri 2 cicli identici seguiti da RT 14.4 Gy. Coloro invece che ottengono una RP dopo il IV ciclo, sono trattati con 2 cicli IEP seguiti da RT (14.4 Gy) se in RC o da altri 2 cicli COPP/ABV e RT (14.4 o 25.2 Gy).

Il protocollo AIEOP LH-2004 prevede, in casi di risposta non adeguata e secondo direttive temporali precise, la possibile raccolta di cellule emopoietiche staminali da sangue periferico da utilizzare, in casi in cui sia indicata intensificazione di terapia con “*rescue* ematologico autologo”.

**Tabella 2 Composizione dei cicli di chemioterapia per il LH**

Ciclo	Farmaci
ABVD	adriamicina (giorno 0 e 14), bleomicina (giorno 0 e 14), vinblastina (giorno 0 e 14), dacarbazina (giorno 0 e 14)
COPP	ciclofosfamide (giorno 0 e 7), vincristina (giorno 0 e 7), procarbazine (giorni 0-14), prednisone (giorni 0-14)
IEP	ifosfamide (giorni 1-5), etoposide (giorni 1-5), prednisone (giorni 1-5)
COPP/ ABV	ciclofosfamide (giorno 0), vincristina (giorno 0), procarbazine (giorni 0-6), prednisone (giorni 0-13); adriamicina (giorno 7), bleomicina (giorno 7), vinblastina (giorno 7)
MOPP	mecloretamina (giorno 0 e 7), vincristina (giorno 0 e 7), procarbazine (giorni 0-13), prednisone (giorni 0-13)

### 3.7 Follow-up

**Linfomi non-Hodgkin.** Il *follow-up* per i LNH varia per i diversi sottogruppi di malattia, rispecchiando le caratteristiche biologiche e cliniche della stessa. Nel linfoma di Burkitt ad esempio, le recidive avvengono soprattutto nei primi 6-8 mesi dopo lo stop terapia e sono solo aneddotiche le riprese di malattia dopo 1 anno. Pertanto, eseguita la valutazione allo stop terapia, anche con studio di funzioni d'organo, un accurato esame obiettivo e selezionati esami ematochimici e strumentali vengono eseguiti ogni mese per i primi 3-4 mesi e poi dilazionati. Ulteriori accertamenti (ad esempio, aspirato midollare, ecc.) vengono attuati solo su indicazione clinica.

Nel caso del LBL, le recidive avvengono per lo più entro i primi 12-18 mesi per i LBL di linea T, ma fino a 36 mesi ed oltre per i LBL a precursori B. Questo implica un *follow-up* più lungo. L'utilizzo della TAC o RMN in caso di massa mediastinica all'esordio, va considerata ed attuata tenendo in debito conto il possibile *rebound* timico, da non confondere con una recidiva locale.

L'ALCL può mostrare recidive a distanza di 2-3 anni dallo stop, per cui il monitoraggio fuori terapia deve essere continuato per alcuni anni, con frequenza gradualmente decrescente. Il ruolo della malattia

minima nel sangue periferico nell'ALCL, come possibile indicatore precoce di recidiva, è in corso di valutazione prospettica.

In generale, oltre al monitoraggio specifico per ripresa di malattia, i pazienti con LNH meritano comunque un controllo periodico auxologico e di funzione d'organo fino ad almeno 5 anni dopo il completamento del trattamento, ma è utile fino 10 anni dopo terapia.

**Linfomi di Hodgkin.** Il *follow-up* prevede controlli ogni circa 3 mesi nei primi 2 anni fuori terapia. In tutti i pazienti, oltre ad accurata anamnesi ed esame obiettivo, sono indicati esami bio-umorali (inclusi emocromo, VES, LAD, ecc.). Inoltre, Rx torace per masse mediastiniche all'esordio ed ecografia, in caso di malattia sottodiaframmatica. In casi dubbi o in condizioni specifiche dovrà essere considerata la TAC.

La frequenza dei controlli scenderà ad una valutazione ogni 6 mesi nel 3° e 4° anno e sarà annuale successivamente.

Il monitoraggio degli effetti collaterali iatrogeni, oltre alla valutazione allo stop terapia, dovrà essere eseguito ogni 12 mesi, per almeno 5 anni, ma la durata potrebbe essere maggiore a seconda dell'età del paziente. Tra le valutazioni, importante sarà il monitoraggio della crescita, lo stato ormonale, la funzione d'organo (polmone, cuore, rene, fegato), particolarmente di quelli che sono stati indirettamente coinvolti nel trattamento radiante.

### **3.8 Direzioni future**

Molti sono gli studi in atto per poter implementare almeno parte delle conoscenze biologiche recenti nella diagnosi e nella terapia dei linfomi pediatrici.

Per i linfomi a cellule-B CD20 positivi, verosimilmente si introdurrà a breve la terapia con anti-CD20 nel PMLBCL, che ancora soffre di una prognosi modesta, ed in gruppi selezionati di linfomi di Burkitt. Dati gli ottimi risultati ottenuti nella terapia dei LNH a cellule B mature, uno studio randomizzato per stabilire l'efficacia dell'anti-CD20 non è attuabile.

I LBL, in particolare della linea T, potranno beneficiare della sperimentazione su larga scala di antimetaboliti analoghi delle purine, quali nelarabina e forodesina.

Nell'ambito dell'ALCL e del LH, ulteriori studi dovranno essere condotti per chiarire il ruolo terapeutico di anticorpi anti-CD30,

nonostante la delusione dei risultati preliminari. Vi è anche interesse per altre molecole, inclusi gli inibitori del proteasoma ed inibitori della chinasi NPM-ALK.

Tuttavia, lo sforzo principale dovrà concentrarsi sulla maggiore interazione a livello internazionale per ottimizzare la terapia riducendo gli effetti collaterali a lungo termine. Ciò sia nei LNH che nel LH. Nel LH, questa strada è stata già intrapresa e potrebbe rappresentare un modello ed un segno di ulteriore progresso nel curare pazienti affetti da neoplasie aggressive, con un costo ragionevole in termini di effetti indesiderati.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004. *Bethesda: National Cancer Institute; 2007*
2. Izarzugaza MI, Steliarova-Foucher E, Martos MC, Zivkovic S. Non-Hodgkin's lymphoma incidence and survival in European children and adolescents (1978-1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer 2006; 42(13):2050-63*
3. Macfarlane GJ, Evstifeeva T, Boyle P, Grufferman S. International patterns in the occurrence of Hodgkin's disease in children and young adult males. *Int J Cancer 1995; 61(2):165-9*
4. Westergaard T, Melbye M, Pedersen JB, Frisch M, Olsen JH, Andersen PK. Birth order, sibship size and risk of Hodgkin's disease in children and young adults: a population-based study of 31 million person-years. *Int J Cancer 1997; 72(6):977-81*
5. Hjalgrim H, Smedby KE, Rostgaard K, Molin D, Hamilton-Dutoit S, Chang ET et al. Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res 2007; 67(5):2382-8*
6. Armstrong AA, Alexander FE, Cartwright R, Angus B, Krajewski AS, Wright DH et al. Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: further evidence for the three disease hypothesis. *Leukemia. 1998; 12(8):1272-6*
7. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumors. *Pathology and Genetics of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues; 2001*

8. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33(4):451-8
9. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17(12):3835-49
10. Harris NL. Hodgkin's lymphomas: classification, diagnosis, and grading. *Semin Hematol* 1999; 36(3):220-32
11. Pileri SA, Ascani S, Leoncini L, Sabattini E, Zinzani PL, Piccaluga PP et al. Hodgkin's lymphoma: the pathologist's viewpoint. *J Clin Pathol* 2002; 55(3):162-76
12. Kuppers R, Schwering I, Brauningner A, Rajewsky K, Hansmann ML. Biology of Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2002; 13 Suppl 1:11-8
13. Dalla-Favera R, Martinotti S, Gallo RC, Erikson J, Croce CM. Translocation and rearrangements of the c-myc oncogene locus in human undifferentiated B-cell lymphomas. *Science* 1983; 219(4587):963-7
14. Dang CV. c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. *Mol Cell Biol* 1999; 19(1):1-11
15. Mussolin L, Basso K, Pillon M, D'Amore ES, Lombardi A, Luzzatto L et al. Prospective analysis of minimal bone marrow infiltration in pediatric Burkitt's lymphomas by long-distance polymerase chain reaction for t(8;14) (q24;q32). *Leukemia* 2003; 17(3):585-9
16. Pasqualucci L, Migliazza A, Basso K, Houldsworth J, Chaganti RS, Dalla-Favera R. Mutations of the BCL6 proto-oncogene disrupt its negative autoregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; 101(8):2914-23
17. Cairo MS, Raetz E, Lim MS, Davenport V, Perkins SL. Childhood and adolescent non-Hodgkin lymphoma: New insights in biology and critical challenges for the future. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45(6):753-69
18. Burkhardt B, Bruch J, Zimmermann M, Strauch K, Parwaresch R, Ludwig WD et al. Loss of heterozygosity on chromosome 6q14-q24 is associated with poor outcome in children and adolescents

- with T-cell lymphoblastic lymphoma. *Leukemia* 2006; 20(8):1422-9
19. Fujimoto J, Shiota M, Iwahara T, Seki N, Satoh H, Mori S, et al. Characterization of the transforming activity of p80, a hyperphosphorylated protein in a Ki-1 lymphoma cell line with chromosomal translocation t(2;5). *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(9):4181-6
  20. Mussolin L, Pillon M, d'Amore ES, Santoro N, Lombardi A, Fagioli F et al. Prevalence and clinical implications of bone marrow involvement in pediatric anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 2005; 19(9):1643-7
  21. Damm-Welk C, Busch K, Burkhardt B, Schieferstein J, Viehmann S, Oschlies I et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in bone marrow or peripheral blood as detected by qualitative and quantitative PCR in pediatric NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2007; 110(2):670-7
  22. Falini B. Anaplastic large cell lymphoma: pathological, molecular and clinical features. *Br J Haematol* 2001; 114(4):741-60
  23. Pulford K, Falini B, Banham AH, Codrington D, Robertson H, Hatton C et al. Immune response to the ALK oncogenic tyrosine kinase in patients with anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2000; 96(4):1605-7
  24. Ait-Tahar K, Cerundolo V, Banham AH, Hatton C, Blanchard T, Kusec R, et al. B and CTL responses to the ALK protein in patients with ALK-positive ALCL. *Int J Cancer* 2006; 118(3):688-95
  25. Inghirami G, Macri L, Rosati S, Zhu BY, Yee HT, Knowles DM. The Reed-Sternberg cells of Hodgkin disease are clonal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(21):9842-6
  26. Tamaru J, Hummel M, Zemlin M, Kalvelage B, Stein H. Hodgkin's disease with a B-cell phenotype often shows a VDJ rearrangement and somatic mutations in the VH genes. *Blood* 1994; 84(3):708-15
  27. Bargou RC, Leng C, Krappmann D, Emmerich F, Mapara MY, Bommert K, et al. High-level nuclear NF-kappa B and Oct-2 is a common feature of cultured Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Blood* 1996; 87(10):4340-7
  28. Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D, Bommert K, Mapara MY, Arnold W et al. Constitutive nuclear factor-kappaB-

- RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J Clin Invest* 1997; 100(12):2961-9
29. Skinnider BF, Mak TW. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002; 99(12):4283-97
  30. Nadali G, Tavecchia L, Zanolin E, Bonfante V, Viviani S, Camerini E et al. Serum level of the soluble form of the CD30 molecule identifies patients with Hodgkin's disease at high risk of unfavorable outcome. *Blood* 1998; 91(8):3011-6
  31. Murphy SB. Classification, staging and end results of treatment of childhood non-Hodgkin's lymphomas: dissimilarities from lymphomas in adults. *Semin Oncol* 1980; 7:332-9
  32. Lister TA, Crowther SB, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos G, Young RC et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol* 1989; 7(11):1630-6
  33. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, Zimmermann M, Burkhardt B, Oschlies I et al. The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. *Blood* 2005; 105(3):948-58
  34. Pillon M, Di Tullio MT, Garaventa A, Cesaro S, Putti MC, Favre C et al. Long-term results of the first Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology protocol for the treatment of pediatric B-cell non-Hodgkin lymphoma (AIEOP LNH92). *Cancer* 2004; 101(2):385-94
  35. Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, Tiemann M, Parwaresch R, Zimmermann M et al. Intensive ALL-type therapy without local radiotherapy provides a 90% event-free survival for children with T-cell lymphoblastic lymphoma: a BFM group report. *Blood* 2000; 95(2):416-21
  36. Rosolen A, Pillon M, Garaventa A, Burnelli R, d'Amore ES, Giuliano M et al. Anaplastic large cell lymphoma treated with a leukemia-like therapy: report of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) LNH-92 protocol. *Cancer* 2005; 104(10):2133-40
  37. Seidemann K, Tiemann M, Schrappe M, Yakisan E, Simonitsch I, Janka-Schaub G et al. Short-pulse B-non-Hodgkin lymphoma-type chemotherapy is efficacious treatment for pediatric anaplastic large cell lymphoma: a report of the Berlin-Frankfurt-

- Munster Group Trial NHL-BFM 90. *Blood* 2001; 97(12):3699-706
38. Landman-Parker J, Pacquement H, Leblanc T, Habrand JL, Terrier-Lacombe MJ, Bertrand Y et al. Localized childhood Hodgkin's disease: response-adapted chemotherapy with etoposide, bleomycin, vinblastine, and prednisone before low-dose radiation therapy-results of the French Society of Pediatric Oncology Study MDH90. *J Clin Oncol* 2000; 18(7):1500-7
  39. Schellong G, Potter R, Bramswig J, Wagner W, Prott FJ, Dorffel W et al. High cure rates and reduced long-term toxicity in pediatric Hodgkin's disease: the German-Austrian multicenter trial DAL-HD-90. The German-Austrian Pediatric Hodgkin's Disease Study Group. *J Clin Oncol* 1999; 17(12):3736-44
  40. Donaldson SS, Hudson MM, Lamborn KR, Link MP, Kun L, Billett AL et al. VAMP and low-dose, involved-field radiation for children and adolescents with favorable, early-stage Hodgkin's disease: results of a prospective clinical trial. *J Clin Oncol* 2002; 20(14):3081-7

## 4.0 NEUROBLASTOMA

Il neuroblastoma, neoplasia maligna del sistema nervoso autonomo, trae origine dalle cellule neuroectodermiche della primitiva cresta neurale che, nel corso della vita embrionale, migrano dando origine ai gangli simpatici e alla midollare surrenalica (1). In due terzi dei casi, il neuroblastoma si presenta come una massa addominale, mediana o laterale, a partenza dai gangli paravertebrali o dalle ghiandole surrenali, con vaghi sintomi legati alla compressione degli organi della cavità addominale. Nel 20% dei casi, il neuroblastoma origina dai gangli paravertebrali del mediastino posteriore, dando a volte una sintomatologia respiratoria importante, ma talora rivelato solo da un esame radiografico occasionale. Nel resto dei casi, il neuroblastoma ha origine nel collo, dove si manifesta come tumefazione linfonodale o sindrome di Bernard-Horner o nella pelvi, con disuria e/o stipsi. Le sedi più frequentemente colpite da metastasi sono l'osso ed il midollo osseo e sovente, i sintomi legati alla disseminazione del tumore quali febbre, anoressia, pallore, dolori ossei, ecchimosi periorbitale e proptosi sono i primi ad attirare l'attenzione dei genitori e del pediatra (1). Nel 7-10% dei casi, il paziente presenta i segni di una compressione tumorale sul midollo spinale, molto difficile da valutare nel bambino molto piccolo. Gli effetti di tale compressione sono reversibili solo se diagnosticati precocemente e trattati tempestivamente (2). Un possibile meccanismo autoimmune, scatenato dal neuroblastoma, che coinvolge il cervelletto, è alla base dell'encefalopatia mioclonica o sindrome degli occhi o dei piedi danzanti, presente nell'1-2% dei casi. Benché associato a buona prognosi, un terzo dei casi presenta sequele psicomotorie importanti, nonostante il trattamento immunosoppressivo (3-4).

Ancor più rara, è la diarrea acquosa legata alla produzione del polipeptide intestinale vasoattivo da parte del tumore (per lo più localizzato e differenziato).

### 4.1 Epidemiologia e fattori di rischio

Per frequenza, il neuroblastoma è il terzo tra i tumori pediatrici dopo leucemie e neoplasie del sistema nervoso centrale; rappresenta il tumore solido più frequente nei soggetti d'età < 5 anni e costituisce il

7-10% di tutte le neoplasie osservate in età < 15 anni, pari a 130 nuovi casi/anno in Italia (5).

L'età media alla diagnosi è attorno a 2 anni, il 90% dei casi è diagnosticato prima dei 6 anni ed è eccezionale nell'adolescente e nell'adulto (5). Alcuni casi sono scoperti già in epoca prenatale, tramite ecografia. Il rapporto maschi/femmine è di 1.3, ma la differenza tra i due sessi non è statisticamente significativa. Nessun agente eziologico, ambientale, fisico, chimico o virale è mai stato messo in evidenza nella genesi del neuroblastoma. È stato però evocato che un'esposizione intrauterina all'alcool, all'idantoina e al fenobarbital, la carenza di acido folico o l'infezione da BK virus, possono incrementare il rischio di neuroblastoma (6). Il neuroblastoma non è associato in maniera significativa a malformazioni congenite, benché descritto in soggetti con neurofibromatosi, sindrome di Beckwith-Widemann, sindrome di Ondine e malattia di Hirschprung, mentre è eccezionale nei bambini con trisomia 21.

## **4.2 Anatomia patologica**

Il termine neuroblastoma è di solito utilizzato impropriamente per indicare tutta la famiglia dei tumori neuroblastici periferici di derivazione dalla cellule embrionali neuroectodermiche (7), famiglia che comprende tumori che differiscono per composizione cellulare e grado di differenziazione e che possono essere così classificati:

- Neuroblastoma: povero in stroma schwannico, costituito da cellule neuroblastiche immature. Sottotipi: indifferenziato; poco differenziato; differenziato.
- Ganglioneuroblastoma nodulare: costituito da una componente prevalente e/o predominante di stroma schwannico e da una componente di neuroblastoma povero in stroma in forma di uno o più noduli macroscopici.
- Ganglioneuroblastoma intermixed: costituito da una componente prevalente (> 50%) di stroma schwannico e da una componente di neuroblastoma in forma di nidi microscopici interrompenti lo stroma.
- Ganglioneuroma: composto predominantemente da stroma schwannico con cellule ganglionari completamente differenziate (ganglioneuroma maturo) o incompletamente differenziate (ganglioneuroma immaturo).

### 4.3 Caratterizzazione biologico-molecolare

Negli ultimi due decenni, si è registrato un notevole progresso nella comprensione delle caratteristiche biologiche del neuroblastoma e sono state identificate alterazioni cromosomiche strutturali delle cellule di neuroblastoma che correlano con la prognosi:

- amplificazione di *MYC-N*: primo marcatore molecolare neuroblastoma-specifico ad essere identificato come prognosi sfavorevole indipendentemente da età e stadio. È un oncogene che mappa su 2p24. L'amplificazione di *MYC-N* si presenta solo nel 20% circa dei casi, donde la necessità di altri marcatori molecolari per una stratificazione prognostica esaustiva (8-9);
- delezione 1p: presente nel 30% dei casi, solitamente associata ad amplificazione di *MYC-N*, ha significato prognostico sfavorevole (10);
- trisomia o polisomia di porzioni del 17q: predittiva di aggressività della malattia (11);
- delezione 11q: recentemente è stata associata a prognosi sfavorevole nelle forme localizzate e stadio 4S senza amplificazione di *MYC-N* (12).

### 4.4 Indagini diagnostiche, stadiazione e prognosi

#### *Diagnosi*

Si effettua tramite:

- dosaggio dei metaboliti delle catecolamine urinarie: Acido Omovanillico e Vanilmandelico (AOV, AVM);
- TAC o RMN, per documentare la sede, le dimensioni ed i rapporti del tumore primitivo;
- esame istologico della neoplasia primitiva o di metastasi;
- biopsia ossea ed aspirato midollare in 2 sedi, per valutare l'eventuale infiltrazione neoplastica del midollo osseo. La valutazione dell'infiltrazione midollare con tecniche di biologia molecolare od immunocitochimica ha finora indicazione di studio (13);
- scintigrafia con <sup>131</sup>I MIBG (metil-iodio-benzil-guanidina), sostanza radioattiva elettivamente captata dalle cellule neuroblastiche per evidenziare la sede primitiva e le metastasi, consente di valutare la diffusione della malattia all'esordio ed è importante nella valutazione della risposta al trattamento (14);

- RX o TC di segmenti ossei, per confermare eventuali metastasi ossee presenti nella scintigrafia con MIBG, nei bambini d'età < 12 mesi.

### **Stadiazione**

Sulla base dei risultati dello studio dell'estensione locale e a distanza della neoplasia e dell'eventuale chirurgia sulla neoplasia primitiva alla diagnosi viene definito lo stadio della malattia (Tabella 1), elemento essenziale per definire la prognosi ed impostare il piano di cura. L'attuale stadiazione INSS è basata in gran parte sui risultati della chirurgia alla diagnosi, risultando influenzabile dalla soggettività del chirurgo del centro di diagnosi. Attualmente, questo sistema classificativo è in corso di revisione, per definire gruppi più omogeneamente riproducibili (Tabella 2). A tale scopo, sono stati adottati dei criteri basati sulla definizione radiologica della presenza o meno di fattori di rischio chirurgico. I rapporti del tumore con le strutture circostanti ed in particolare con i grossi vasi sono risultati infatti, determinanti in un recente studio europeo (15) per predire l'impossibilità di un'asportazione completa della neoplasia e l'insorgenza di complicanze gravi post-chirurgiche.

**Tabella 1 Stadiazione *International Neuroblastoma Staging System* (INSS)**

<b>Stadio 1</b>	Tumore localizzato asportato in modo macroscopicamente radicale, con o senza residui microscopici; linfonodi omolaterali "rappresentativi" istologicamente negativi (linfonodi aderenti al tumore asportati assieme al tumore stesso possono essere istologicamente positivi senza portare a cambiamento di stadio)
<b>Stadio 2 A</b>	Tumore localizzato asportato in modo incompleto; linfonodi omolaterali "rappresentativi" non aderenti al tumore, istologicamente negativi per infiltrazione tumorale.
<b>Stadio 2 B</b>	Tumore localizzato asportato in modo completo o incompleto, con linfonodi omolaterali non aderenti al tumore, positivi per infiltrazione tumorale. Eventuali adenopatie controlaterali istologicamente negative per infiltrazione.

*segue*

<b>Stadio 3</b>	Tumore unilaterale inoperabile infiltrante la linea mediana, con o senza interessamento dei linfonodi regionali; oppure, tumore localizzato unilaterale con interessamento dei linfonodi regionali controlaterali; oppure, tumore sulla linea mediana con estensione bilaterale per infiltrazione o interessamento linfonodale.
<b>Stadio 4</b>	Qualunque tumore primitivo con disseminazione e linfonodi distanti, ossa, midollo osseo, fegato, cute e/o altri organi (ad eccezione dei casi descritti nello stadio 4S).
<b>Stadio 4 S</b>	Tumore primitivo localizzato (come per gli stadi 1 e 2 A o 2 B), con disseminazione limitata a cute, fegato e/o midollo osseo.

**Tabella 2 Stadiazione *International NB Risk Group Staging System (INRGSS)***

<b>L<sub>1</sub> localizzato</b>	Fattori di rischio radiologico assenti
<b>L<sub>2</sub> localizzato</b>	Fattori di rischio radiologico presenti
<b>MS metastatico speciale</b>	Malattia metastatica limitata a cute e/o fegato e/o midollo osseo
<b>M metastatico</b>	Malattia metastatica non MS

***Fattori prognostici***

I fattori prognostici includono: a) l'età, b) lo stadio, c) l'amplificazione del gene *MYC-N*, d) l'istologia secondo Shimada, e) il contenuto cellulare di DNA, f) i fattori biumorali, g) la sede primaria del tumore, h) le anomalie dei cromosomi 1, 11 e 17. L'andamento clinico è più favorevole nei bambini di età inferiore all'anno e/o con malattia localizzata, mentre nell'adolescente e nell'adulto ha un andamento più lento con recidive anche tardive e prognosi più sfavorevole.

*N.B.: Grazie alla collaborazione di tutti i centri AIEOP ed al sostegno economico della Fondazione Neuroblastoma, gli accertamenti atti a definire la prognosi, istologia, classificazione INPC (International Neuroblastoma Pathological Classification) valutazione midollare e le caratteristiche cromosomiche vengono eseguiti in laboratori centralizzati garantendo così una elevata qualità degli studi eseguiti.*

I pazienti allo stadio 1 e 2 presentano un'ottima prognosi con percentuali di sopravvivenza libera da malattia a 5 anni rispettivamente del 90-85%, mentre quelli in stadio 3 e 4 hanno una prognosi severa, con percentuali di sopravvivenza libera da malattia del 40-60% e del 15-25% rispettivamente. I pazienti in stadio 4S hanno una sopravvivenza libera da malattia pari al 60-70%.

#### **4.5 Trattamento**

Il trattamento del neuroblastoma oggi si basa su chirurgia, chemioterapia e radioterapia ed è determinato dal rischio di recidiva definito da età, estensione alla diagnosi e caratteristiche biologiche di malattia.

##### ***Chirurgia***

La chirurgia gioca un ruolo fondamentale nel trattamento del neuroblastoma alla diagnosi e dopo chemioterapia. Gli obiettivi della chirurgia all'esordio sono quelli di definire la diagnosi, acquisire tessuto per gli studi biologici e rimuovere il tumore con morbidità minima. Poiché l'escissione completa è l'obiettivo principale dell'intervento, questa non deve essere "tentata" prima della chemioterapia qualora sia presente uno qualsiasi dei fattori di rischio (Tabella 3). Le moderne tecniche diagnostiche per immagini consentono una valutazione di resecabilità nella maggior parte dei casi (15). Qualora non si ritenga possibile l'asportazione radicale o possibile solo al prezzo del sacrificio di strutture importanti, il chirurgo dovrà procedere all'esecuzione solo di biopsie diagnostiche e l'intervento andrà differito dopo chemioterapia, quando una certa qual morbidità è considerata accettabile (ad esempio, la nefrectomia monolaterale), se questa consente l'asportazione radicale della neoplasia. Nel neuroblastoma disseminato l'importanza dell'asportazione rimane controversa, ma, considerata l'incidenza di recidive locali, l'attuale indicazione è quella di tentare un'asportazione radicale o maggiore, dopo aver però eseguito chemioterapia ed eventualmente anche la chemioterapia mieloablative, onde evitare l'interruzione del programma chemioterapico.

**Tabella 3** *International Neuroblastoma Risk Group Staging System*  
**IDRF - Fattori di Rischio Definiti sulle Immagini (per sede)**

<b>Collo</b>
Tumore che ingloba la carotide e/o l'arteria vertebrale e/o la vena giugulare interna
Tumore esteso a base cranica
Tumore che comprime la trachea
Passaggio cervico-toracico: Tumore che ingloba il plesso brachiale Tumore che ingloba i vasi sottoclaveari e/o l'arteria vertebrale o carotidea Tumore che comprime la trachea
<b>Torace</b>
Tumore che ingloba l'aorta e/o i rami principali
Tumore che comprime la trachea e/o i bronchi principali
Tumore mediastino inferiore infiltrante la giunzione costo-vertebrale tra T9 e T12
<b>Torace-addome</b>
Tumore che ingloba l'aorta e/o la vena cava
<b>Addome/pelvi</b>
Tumore che ingloba la vena porta epatica e/o il legamento epatoduodenale
Tumore che ingloba i rami dell'arteria mesenterica superiore
Tumore che ingloba l'origine del tripode celiaco e/o dell'arteria mesenterica superiore
Tumore che si estende ad uno od entrambi i peduncoli renali
Tumore che ingloba l'aorta e/o la vena cava
Tumore che ingloba i vasi iliaci
Tumore pelvico che incrocia il nervo sciatico
Tumore a clessidra con CES sintomatica
Infiltrazione di organi/strutture adiacenti: pericardio, diaframma, rene, fegato, blocco duodeno-pancreatico e mesentere

**Trattamento radiante**

Il neuroblastoma è generalmente considerato un tumore radio-sensibile, ma non radio-guaribile. Al momento, la radioterapia è indicata solo nei pazienti a peggior prognosi ovvero nello stadio 4 e nel neuroblastoma localizzato inoperabile in età > 2 anni alla diagnosi, al termine della chemioterapia e dopo l'intervento chirurgico differito.

### ***Chemioterapia***

La chemioterapia è certamente la modalità di trattamento predominante nel trattamento del neuroblastoma metastatico e nelle forme di neuroblastoma localizzato non operabile alla diagnosi. Il trattamento chemioterapico viene utilizzato anche nei pazienti a minor rischio con sintomatologia importante.

Diversi gruppi internazionali hanno sviluppato un modello di stratificazione della casistica, così da erogare un trattamento di diversa aggressività in rapporto al gruppo di rischio.

Alle diverse caratteristiche cliniche di questa malattia sono state associate caratteristiche biologiche, così da identificare almeno 2 diversi quadri. Uno è quello che insorge nel primo anno di vita, per lo più in forma localizzata o con un quadro caratteristico di metastasi (stadio 4S) che coinvolgono fegato, sottocute ed, in minima parte, il midollo osseo: le possibilità di sopravvivenza sono alte, se non è presente amplificazione dell'oncogene *MYC-N*. All'opposto, abbiamo un quadro a prognosi sfavorevole, che colpisce i pazienti sopra l'anno di vita, con malattia in stadio 3 con amplificazione di *MYC-N* e/o delezione del braccio corto del cromosoma 1 o disseminata in stadio 4. Tra questi due quadri, si pone una casistica a prognosi intermedia non altrettanto ben definita.

Basso rischio: stadio 1, stadio 2, 4S o stadio 3-sotto l'anno con *MYC-N* non amplificato. In questi casi, la chemioterapia non intensiva è indicata solamente in presenza di sintomi gravi o in caso di recidiva.

La chirurgia è solitamente sufficiente per curare pazienti con malattia localizzata, anche in presenza di residui micro-macroscopici di tumore lasciati *in situ*, se non sono presenti alterazioni cromosomiche strutturali o istologia sfavorevole (11-12,16). La sopravvivenza prevista per questi pazienti è maggiore del 95%. Recentemente, sono stati avviati studi cooperativi nell'ipotesi che i bambini sotto i 18 mesi in stadio 1 e quelli in stadio 2A/2B e 4S senza amplificazione del gene *MYC-N* possano non richiedere chirurgia, ma solo osservazione (17).

Rischio intermedio. Questo gruppo, la cui sopravvivenza è dell'80% circa, include pazienti con tumore non operabile alla diagnosi (15) e bambini d'età < 12 mesi con stadio 4 metastatico ad ossa, pleura/polmone e sistema nervoso centrale. Entrambi i sottogruppi sono trattati con chemioterapia non intensiva con Ciclofosfamide-Adriamicina e Carboplatino-Etoposide, allo scopo di rendere operabile o di ridurre la neoplasia ed eradicare la malattia metastatica.

Alto rischio. La sopravvivenza prevista è inferiore al 30% (18). Questo gruppo include tutti i pazienti in stadio 4 aventi età > 1 anno alla diagnosi ed in stadio 2, 3 e 4S con *MYC-N* amplificato. Un certo numero di farmaci attivi tra cui alchilanti, analoghi del platino, epidofillotossine e doxorubicina è stato identificato negli ultimi tre decenni attraverso studi di fase I-II; la combinazione di questi agenti ha notevolmente migliorato la percentuale di risposta, anche se la percentuale di cura rimane insoddisfacente. Il topotecan (19) e la temozolomide (20) hanno recentemente mostrato una significativa attività antitumorale in pazienti in ricaduta.

Nella seconda parte degli anni '80, si è registrato un aumento significativo della sopravvivenza, ma i progressi nei protocolli successivi sono stati meno evidenti (21). Alla fine del 1999 sono stati pubblicati i risultati dello studio del *Children Cancer Group* (22) che, nel periodo 1991-96, aveva arruolato 560 pazienti ad alto rischio in un protocollo basato su una prima fase di chemioterapia di induzione aggressiva, seguita dalla randomizzazione in due bracci terapeutici (chemioterapia mieloablattiva con trapianto di midollo osseo autologo *versus* tre cicli di chemioterapia di mantenimento); i pazienti venivano poi ulteriormente randomizzati per ricevere o meno trattamento con acido cis-retinoico. I pazienti sottoposti a terapia mieloablattiva hanno avuto una sopravvivenza libera da eventi a 3 anni del 34% rispetto al 22% osservato in quelli che avevano ricevuto chemioterapia. Questi pazienti ricevevano anche radioterapia sulla sede del tumore primitivo dopo resezione chirurgica, ma il ruolo della radioterapia non è ancora ben definito (23-24).

Un altro approccio radioterapico studiato e dibattuto in questi ultimi anni è quello metabolico con  $^{131}\text{I}$  veicolato dalla metaiodobenzilguanidina, un analogo della norepinefrina in grado di entrare nella via metabolica delle catecolamine e quindi di essere captato dalle cellule di neuroblastoma. Alcuni ricercatori ne hanno propugnato l'impiego in prima linea terapeutica, all'esordio di malattia, ma i risultati a lungo termine non appaiono interessanti. Potrebbe esserne utile l'impiego per consolidare la risposta ottenuta e nel contesto dei regimi di chemioterapia ad alte dosi (25).

Allo scopo di ridurre l'incidenza di recidive nonostante il trattamento chemioterapico intenso è stato utilizzato l'acido cis-retinoico che ha migliorato la prognosi, in particolare dei pazienti sottoposti a terapia mieloablattiva (22). L'acido 13 cis-retinoico orale viene somministrato dopo chemioterapia e radioterapia basandosi sulla capacità di indurre

differenziazione su linee cellulari tumorali. Attualmente, è in studio anche la somministrazione di anticorpi contro il ganglioside GD2, poiché tale antigene è espresso ad alta densità sulle cellule tumorali, mentre ad un livello molto più basso solo in alcuni tessuti normali (26). I primi studi clinici in fase I risalgono ad un decennio fa, recentemente il gruppo europeo della SIOP (*Société Internationale de Oncologie Pédiatrique*) ha iniziato uno studio randomizzato per la somministrazione di questo anticorpo in associazione al trattamento differenziativo con acido cis-retinoico.

#### **4.6 Follow-up**

Le recidive di malattia si presentano per lo più nei primi due anni dall'intervento chirurgico nelle forme localizzate o dalla sospensione del trattamento nelle forme metastatiche. L'attenzione ai sintomi e l'accurato esame obiettivo sono i due cardini del *follow-up* che nel primo anno andrebbero eseguiti insieme ad emocromo, catecolamine urinarie e allo studio strumentale della sede della neoplasia primitiva (US o RX) ogni 3 mesi e nel 2° e 3° anno, ogni 6 mesi.

Poiché il 70% circa delle recidive è disseminata, nei primi due anni ogni 6 mesi andrebbero eseguiti anche la scintigrafia con MIBG e la valutazione osteomidollare. Al momento, non vi sono dati sul significato della malattia minima circolante evidenziata con immunocitochimica o PCR su sangue periferico, per cui queste indagini non debbono essere eseguite di routine.

Per quanto rare, le recidive a 4-5 anni dalla diagnosi non sono del tutto eccezionali, per cui è opportuno che la comparsa, anche tardiva, di sintomi non venga sottostimata.

#### **4.7 Direzioni future**

La storia naturale di questa malattia, lo studio approfondito della malattia midollare con tecniche di immunocitochimica e biologia molecolare hanno dimostrato la presenza dopo il trattamento chemioterapico di cloni resistenti che possono essere la causa principale dell'elevato numero di recidive. L'attenzione dei ricercatori si è incentrata perciò su strategie terapeutiche diverse dall'uso dei chemioterapici, quali l'immunoterapia ed in particolare la possibilità di utilizzare anticorpi monoclonali diretti contro antigeni espressi sulle

cellule di neuroblastoma o lo sviluppo di vaccini e lo studio di farmaci capaci di indurre differenziazione.

La miglior comprensione dei meccanismi molecolari della neoplasia e la caratterizzazione delle cellule staminali neoplastiche potrebbero consentire lo sviluppo di terapie mirate con farmaci molecolari specifici per bersagli presenti sulla superficie delle cellule neoplastiche (ad esempio, inibitori TK), attivando meccanismi specifici di morte cellulare, quale l'apoptosi. Altro campo di studio è rappresentato dallo sviluppo di farmaci o dalla modalità di somministrazione di questi, usando basse dosi o la terapia "metronomica". Tra i farmaci allo studio grande attenzione è rivolta agli inibitori della neoangiogenesi, poiché il grado di vascolarizzazione tumorale e l'espressione di alcuni fattori angiogenici sono direttamente correlati alla prognosi. Questi farmaci se somministrati in combinazione con farmaci antitumorali convenzionali hanno dimostrato, *in vitro*, di essere in grado di potenziare l'azione di questi e potrebbero consentire lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche più efficaci, in particolare nel trattamento della malattia minima residua.

## BIBLIOGRAFIA

1. Caron HN, Pearson ADJ. Neuroblastoma. In: *Voute PA, Barrett A, Stevens MCG, Caron HN (eds.) Cancer in Children, 5<sup>th</sup> edn. Oxford: Oxford University Press, 2005:337-352*
2. De Bernardi B, Balwierz W, Bejent J et al. Epidural compression in neuroblastoma: Diagnostic and therapeutic aspects. *Cancer Lett 2005; 228:283-299*
3. Gambini C, Conte M, Bernini G et al. Neuroblastic tumors associated with opsoclonus-myoclonus syndrome: histological, immunohistochemical and molecular features of 15 Italian cases. *Virchows Arch 2003; 442:555-562*
4. Rostasy K, Wilken B, Baumann M et al. High dose pulsatile dexamethasone therapy in children with opsoclonus-myoclonus syndrome. *Neuropediatrics 2006; 37:291-295*
5. Conte M, Parodi S, De Bernardi B et al. Neuroblastoma in adolescents: the Italian experience. *Cancer 2006; 106:1409-1417*

6. Olshan AF, Smith JC, Bondy ML et al. Maternal vitamin use and reduced risk of neuroblastoma. *Epidemiology* 2002; 13:575-580
7. Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr et al. Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73:405-416
8. Look AT, Hayes FA, Shuster JJ et al. Clinical relevance of tumor cell ploidy and N-myc gene amplification in childhood neuroblastoma. A pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1991; 9:581-591
9. Tonini GP, Boni L, Pession A et al. MYCN oncogene amplification in neuroblastoma is associated with worse prognosis, except in stage 4s: the Italian experience with 295 children. *J Clin Oncol* 1997; 15:85-93
10. Caron H, van Sluis P, Buschman R et al. Allelic loss of chromosome 1p as a predictor of unfavorable outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med* 1996; 334:225-230
11. Bown N, Cotterill S, Lastowska M et al. Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med* 1999; 340:1954-1961
12. Asgharzadeh S, Pique-Regi R, Sposto R et al. Prognostic significance of gene expression profiles of metastatic neuroblastomas lacking MYCN gene amplification. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:1193-1203
13. Corrias MV, Faulkner LB, Pistorio A et al. Detection of neuroblastoma cells in bone marrow and peripheral blood by different techniques: accuracy and relationship with clinical features of patients. *Clin Cancer Res* 2004; 10:7978-7985
14. Olivier P, Colarinha P, Fettich J et al. Guidelines for radioiodinated MIBG scintigraphy in children. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:B45-50
15. Cecchetto G, Mosseri V, De Bernardi B et al. Surgical risk factors in primary surgery for localized neuroblastoma: the LNESG1 study of the European International Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group. *J Clin Oncol* 2005; 23:8483-8489
16. Navarro S, Amann G, Beiske K et al. European Study Group 94.01 Trial and Protocol. Prognostic value of International Neuroblastoma Pathology Classification in localized resectable peripheral neuroblastic tumors: a histopathologic study of

localized neuroblastoma European Study Group 94.01 Trial and Protocol. *J Clin Oncol* 2006; 2:695-699

17. Fritsch P, Kerbl R, Lackner H, Urban C. "Wait and see" strategy in localized neuroblastoma in infants: an option not only for cases detected by mass screening. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 43:679-682
18. De Bernardi B, Nicolas B, Boni L et al. Disseminated neuroblastoma in children older than one year at diagnosis: comparable results with three consecutive high-dose protocols adopted by the Italian Co-Operative Group for Neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2003; 21:1592-1601
19. Garaventa A, Luksch R, Biasotti S et al. A phase II study of topotecan with vincristine and doxorubicin in children with recurrent/refractory neuroblastoma. *Cancer* 2003; 98:2488-2494
20. Rubie H, Chisholm J, Defachelles AS et al.: Società Francaisedes Cancers de l'Enfant; United Kingdom Children Cancer Study Group-New Agents Group Study. Phase II study of temozolomide in relapsed or refractory high-risk neuroblastoma: a joint Societe Francaise des Cancers de l'Enfant and United Kingdom Children Cancer Study Group-New Agents Group Study. *J Clin Oncol* 2006; 24:5259-5264
21. Berthold F, Boos J, Burdach S et al. Myeloablative megatherapy with autologous stem-cell rescue versus oral maintenance chemotherapy as consolidation treatment in patients with high-risk neuroblastoma: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 649-658
22. Matthay KK, Villablanca JG, Seeger RC et al. Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. *N Engl J Med* 1999; 341: 1165-1173
23. Laprie A, Michon J, Hartmann O et al.: Neuroblastoma Study Group of the French Society of Pediatric Oncology. High-dose chemotherapy followed by locoregional irradiation improves the outcome of patients with international neuroblastoma staging system Stage II and III neuroblastoma with MYCN amplification. *Cancer* 2004; 101: 1081-1089
24. Haas-Kogan DA, Swift PS, Selch M et al. Impact of radiotherapy for high-risk neuroblastoma: a Children's Cancer Group study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56: 28-39
25. Garaventa A, Bellagamba O, Lo Piccolo MS et al. 131I-

metaiodobenzylguanidine (<sup>131</sup>I-MIBG) therapy for residual neuroblastoma: a mono-institutional experience with 43 patients. *Br J Cancer* 1999; 81: 1378-1384

26. Modak S, Cheung NK. Disialoganglioside directed immunotherapy of neuroblastoma. *Cancer invest* 2007; 25: 66-77

## 5.0 SARCOMI

### *Rabdo*

#### 5.1 Epidemiologia e fattori di rischio

Il Rhabdomyosarcoma (RMS) è un tumore altamente aggressivo composto da cellule di origine mesenchimale che mostrano una differenziazione in senso muscolare. È il più frequente sarcoma delle parti molli in età pediatrica e rappresenta circa il 4-5% di tutti i tumori infantili. È comunque una neoplasia rara ed in Italia sono previsti 200-250 nuovi casi l'anno (1). È stata evidenziata una tendenza all'aumento a livello europeo, in quanto il tasso di incidenza per milione di bambini da 0 a 14 anni è passato da 4.2, negli anni '70, a 5.4 negli anni '90 (2).

Il picco di incidenza si situa attorno a 2-3 anni di età, con una mediana di 5 anni alla diagnosi. Vi è una lieve prevalenza nel sesso maschile (1.4-1.7: 1).

Derivando da tessuti di origine mesenchimale, il RMS può insorgere praticamente in qualsiasi distretto corporeo, ma le sedi più frequenti sono la testa-collo (40%), l'apparato genitourinario (20%) e gli arti (20%). Poiché la sede costituisce un importante fattore prognostico ed influenza la strategia terapeutica, sono state internazionalmente definite sette categorie maggiori (3):

1. Orbita (tumore limitato alla cavità orbitaria, senza estensione intracranica).
2. Parameningei (include il nasofaringe, la cavità nasale, orecchio medio/mastoide, fossa pterigopalatina, spazio parafaringeo, e orbita con estensione intracranica).
3. Testa-collo non parameningei (include parotide, guance, cavità orale con orofaringe, laringe, area tiroidea e collo).
4. Genitourinari vescica e prostata.
5. Genitourinari non vescica prostata: vagina, vulva, utero, paratesticolo.
6. Arti (includendo la scapola, superiormente, ed i glutei, inferiormente).
7. Altre sedi: questa denominazione include tumori che insorgono a livello di parete toracica, area intratoracica, addome, retroperitoneo, pelvi, perineo, regione paravertebrale.

In generale, il RMS si rivela come una massa in crescita più o meno rapida, con manifestazioni cliniche che dipendono essenzialmente dalla sede di origine e dagli organi coinvolti. Il RMS che insorge a livello dell'orbita tende a dislocare il globo oculare, mentre quelli parameningei possono estendersi intracranialmente (ipertensione endocranica) o coinvolgere i nervi cranici (paresi); il RMS della vescica può causare difficoltà della minzione, mentre quello paratesticolare si manifesta con un ingrossamento scrotale, solitamente indolente. A livello addominale o toracico, il RMS si sviluppa come una massa che non dà segno di sé fino a che non ha interessato organi vicini e quindi, solitamente, raggiunge dimensioni ragguardevoli.

L'interessamento dei linfonodi regionali è presente alla diagnosi nel 20-25% dei casi e dipende molto dalla sede del primitivo, risultando più frequente nel caso di tumori che insorgono a livello degli arti.

In circa il 20% dei casi, il RMS si presenta alla diagnosi con metastasi, che interessano più frequentemente polmoni, midollo osseo e/o ossa.

I fattori patogenetici o predisponenti all'insorgenza del RMS non sono noti, anche se il ruolo di fattori genetici è indicato dall'associazione con malformazioni congenite, in particolare dell'apparato uro-genitale od altre condizioni quali la sindrome di Li-Fraumeni o la neurofibromatosi di tipo 1. Non sono state stabilite correlazioni certe con fattori ambientali anche se alcuni studi hanno suggerito un'associazione con l'uso di droghe leggere, la sindrome feto-alcolica e l'esposizione a sostanze chimiche (4).

## **5.2 Diagnostica di laboratorio e strumentale**

Non vi sono marcatori ematochimici tipici del RMS, pertanto gli esami diagnostici sono essenzialmente di tipo strumentale.

Il miglioramento delle tecniche di *imaging* ha permesso, nel corso degli ultimi anni, di ottenere una definizione sempre più precisa del tumore primitivo (inclusa la misurazione del volume), della sua estensione loco-regionale (inclusi i linfonodi) e delle sedi di potenziali metastasi. Queste informazioni sono cruciali per poter pianificare al meglio il trattamento.

Le indagini possono variare a seconda della sede di insorgenza del tumore, ma in generale devono includere:

- RMN e/o TAC (con contrasto): la RMN è diventata l'esame di scelta per molte sedi e, in particolare, per i tumori della testa-collo, le localizzazioni genito-urinarie e quelle paravertebrali. La TAC è utile per indagare il torace e per valutare il coinvolgimento osseo.
- TAC polmonare: va eseguita in tutti i pazienti alla diagnosi, per valutare la presenza di metastasi.
- TAC addome-pelvi: è utile per valutare la presenza di metastasi epatiche ed i linfonodi addominali, in caso di tumori che insorgono a livello paratesticolare o degli arti.
- Scintigrafia ossea (con radiografia e/o RMN in caso di anomalie isolate).
- Aspirato midollare e biopsia.

Altre indagini vanno eseguite in casi particolari ed includono l'uso dell'ecografia, in modo da semplificare i controlli successivi per il paziente, l'esplorazione del liquido cefalorachidiano, in caso di tumori parameningei, e la TAC cerebrale, in caso di RMS degli arti, che più frequentemente danno metastasi cerebrali. L'uso della PET-TAC appare di crescente interesse, ma il suo impiego non è ancora entrato nell'uso routinario (5).

Durante la terapia, le indagini radiologiche vanno ripetute periodicamente per valutare l'entità della resezione chirurgica iniziale, la risposta al trattamento chemioterapico e per pianificare la chirurgia differita e la radioterapia. In questo caso è importante utilizzare sempre la stessa metodica di *imaging* in modo da potere avere dei confronti corretti.

Va sottolineato che le indagini radiologiche sono vitali per definire al meglio le caratteristiche e l'estensione della malattia, ma non possono portare ad una diagnosi che deve sempre essere stabilita istologicamente.

### **5.3 Anatomia patologica**

Il RMS insorge in sedi dove normalmente il tessuto muscolare non si sviluppa, testimoniando l'origine mesenchimale di questi tumori. Tuttavia, tutti i RMS posseggono un maggiore o minore grado di differenziazione in senso miogenico. Il RMS è distinto in due istotipi principali, quello embrionale (che costituisce circa il 75-80% di tutti i RMS) e quello alveolare (20-25%) (6). È descritto un terzo istotipo, il RMS pleomorfo, eccezionale in età pediatrica.

Il RMS embrionale è un tumore composto da piccole cellule rotonde o fusate circondate da una quantità più o meno importante di stroma mixoide o di collagene. La differenziazione in senso muscolare è dimostrata dalla presenza di rbdomioblasti e di *cross striations* all'interno delle cellule.

Un sottotipo è il RMS botrioide che insorge tipicamente all'interno di organi cavi, in particolare vagina e nasofaringe. Si differenzia dal RMS embrionale per la presenza di un denso strato di cellule tumorali allineato sotto la mucosa sovrastante, denominato *cambium layer*. Un secondo sottotipo è il RMS a cellule fusate (o leiomiomatoso), che presenta prevalente componente di cellule fusate disposte in fascetti, simil-leiomiosarcoma.

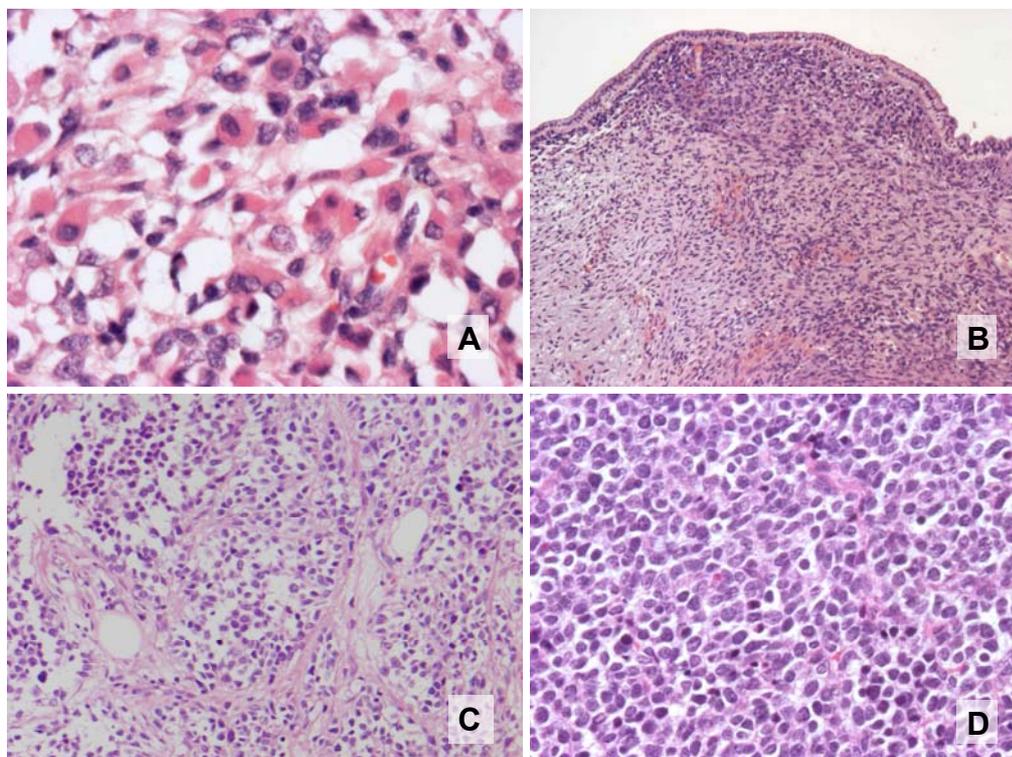
Il RMS alveolare è caratterizzato da elementi rotondi, con sottile rima di citoplasma e scarsa evidenza di differenziazione rbdomioblastica. Questi possono essere disposti lungo setti fibrosi con tipico *pattern* alveolare. Nel contesto degli alveoli si reperta una variabile quantità di cellule fino ad una completa oblitterazione dell'alveolo stesso. Nella variante cosiddetta solido-alveolare, gli elementi sono arrangiati in foglietti privi di alcuna caratteristica alveolare (Figura 1).

Le indagini immunoistochimiche sono un importante supporto per la dimostrazione della linea differenziativa rbdomioblastica, specialmente nella variante di RMS solido-alveolare, che può simulare altre neoplasie a cellule rotonde. La positività citoplasmatica per desmina (filamento intermedio presente nel citoplasma delle cellule muscolari) e quella nucleare per MyoD1 e Myf4 (proteine regolatrici della differenziazione muscolare) sono diagnostici di RMS. La distinzione delle diverse varianti è, invece, essenzialmente morfologica, anche se un elevato grado di *staining* della miogenina è stato correlate con l'istotipo alveolare (7).

La Classificazione Internazionale attualmente in uso distingue i sottotipi in base alle caratteristiche morfologiche e al loro significato prognostico (6):

- Prognosi favorevole: RMS botrioide e RMS a cellule fusate
- Prognosi intermedia: RMS embrionale
- Prognosi sfavorevole: RMS alveolare e RMS solido-alveolare

**Figura 1 Istotipi del Rbdomiosarcoma**



- A. Rbdomiosarcoma embrionale: evidenza di numerosi rbdomioblasti con citoplasma eosinofilo ampio e nucleo eccentrico.
- B. Rbdomiosarcoma botriode: in sede sottoepiteliale si osserva un addensamento di rbdomioblasti, il cosiddetto “strato cambiale”.
- C. Rbdomiosarcoma Alveolare: presenza di pattern alveolare, si vedono singole cellule che bordano setti fibrosi.
- D. Rbdomiosarcoma Solido-Alveolare: tappeto di cellule con nuclei rotondeggianti, cromatina finemente dispersa e scarso citoplasma. Difficile la diagnosi differenziale con PNET.

*(per cortesia della d.ssa Rita Alaggio)*

#### **5.4 Caratterizzazione biologico-molecolare**

Circa l'80% dei RMS alveolari è caratterizzata dalla presenza di una traslocazione specifica,  $t(2;13)(q35;q14)$  o, meno frequentemente, di una variante,  $t(1;13)(p36;q14)$  (8). Le proteine che vengono codificate, PAX3-FOXO1A (in precedenza denominata PAX3-FKHR)

e PAX7-FOXO1A, sono espresse ad un livello molto elevato ed agirebbero attivando la trascrizione dai rispettivi siti PAX, ma sarebbero da 10 a 100 volte più potenti delle proteine native PAX3 e PAX7. L'aumentata espressione delle proteine di fusione e la loro aumentata capacità trascrizionale causerebbero un'aumentata espressione dei geni PAX e sarebbero responsabili della trasformazione maligna attraverso l'alterazione dei meccanismi di crescita, differenziazione e apoptosi (9,10).

Al momento, non sono state identificate traslocazioni specifiche per il RMS embrionale, ma è stata dimostrata la perdita di materiale genico a livello del cromosoma 11p15.5 (11). È pertanto possibile che un gene oncosoppressore sia localizzato in questa regione, e, fra i geni candidati, H19 e p57kip2 hanno suscitato notevole interesse (12).

Più recentemente, l'utilizzo dei *microarrays* ha dimostrato profili genici diversi per RMS embrionale ed alveolare. Più in dettaglio, all'interno di quest'ultimo istotipo, tumori con traslocazioni diverse (o senza evidenza di traslocazioni note) presentano diversi profili genici. L'utilizzo di questa tecnica sembrerebbe in grado di poter migliorare la classificazione dei diversi RMS e identificare nuovi geni probabilmente coinvolti nel meccanismo patogenetico (13).

## 5.5 Stadiazione

Il sistema più a lungo usato è stato quello proposto nel 1972 dal gruppo nordamericano *Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group* (IRSG) (14):

- Gruppo I: pazienti con tumore asportato in maniera completa;
- Gruppo II: pazienti con tumore macroscopicamente asportato, ma con residui microscopici (margini di resezione infiltrati) e/o con coinvolgimento dei linfonodi regionali;
- Gruppo III: pazienti con residui macroscopici dopo una resezione incompleta od una biopsia;
- Gruppo IV: pazienti con metastasi alla diagnosi.

Questa stadiazione è stata criticata perché basata essenzialmente sulla chirurgia (e sull'abilità del chirurgo), senza considerare le caratteristiche del tumore. Per questo motivo, altri Gruppi cooperativi hanno preferito utilizzare il sistema TNM dove T1 identifica tumori limitati all'organo o tessuto di origine, T2 tumori che invadono le strutture contigue. T1 e T2 sono ulteriormente distinti in A o B a seconda che il diametro del tumore sia rispettivamente  $\leq$  o  $>$  5 cm.

Il coinvolgimento di linfonodi regionali viene definito come N1 (con N0 se i linfonodi sono negativi). Allo stesso modo M1 e M0 identificano pazienti con o senza metastasi (15).

Altre variabili, in aggiunta al risultato della chirurgia iniziale e all'estensione della malattia, aiutano a predire la prognosi e quindi a modulare l'intensità del trattamento. Il ruolo della sede è ben riconosciuto, e tumori che insorgono a livello dell'orbita o del tratto genito-urinario hanno una prognosi generalmente migliore, seguiti da quelli della testa-collo (parameningei e non parameningei). I tumori localizzati a livello degli arti e delle "altre sedi" sono invece più difficilmente curabili. L'influenza dell'istologia sulla sopravvivenza dei pazienti non è stata rilevata in tutti i trial, ma in genere il RMS alveolare ha un comportamento più aggressivo.

È importante sottolineare che tutti questi fattori sono interdipendenti; infatti, i tumori che insorgono a livello degli arti sono generalmente di tipo alveolare, mentre quelli che nascono a livello del tratto genito-urinario sono in larga parte del tipo embrionale. Il RMS che insorge a livello degli arti o quello di istotipo alveolare dà più frequentemente metastasi ed interessamento linfonodale. Infine, la possibilità di asportare radicalmente un tumore dipende strettamente dalla sede: ad esempio, il RMS paratesticolare viene quasi sempre asportato radicalmente alla diagnosi, mentre una resezione è difficilmente proponibile per un RMS parameningeo.

La ricerca di fattori prognostici di tipo biologico non ha ancora dato risultati definitivi. Alcuni studi hanno esaminato il contenuto di DNA misurando la ploidia cellulare e l'attività proliferativa (fase S). Tumori con un contenuto di DNA iperdiploide sembrano avere una prognosi migliore, al contrario di quelli a contenuto tetraploide. Poiché questi ultimi sono maggiormente rappresentati nella popolazione alveolare e metastatica, il valore della ploidia come fattore indipendente non è stato confermato (16). Dati più recenti hanno indicato come per i RMS alveolari la prognosi sia influenzata dal tipo di traslocazione, risultando migliore per i tumori con t(1;13)(p36;q14) rispetto a quelli con t(2;13)(q35;q14) (17).

In Tabella 1 è riportato il sistema di stadiazione attualmente adottato in Europa. L'utilizzo di sei diversi fattori prognostici ha portato all'identificazione di 8 categorie di pazienti, che sono poi state unificate in 4 gruppi di rischio.

**Tabella 1 Stratificazione EpSSG per i pazienti con Rbdomiosarcoma localizzato**

Gruppo di rischio	Sottogruppo	Istologia	Gruppo IRS	Sede	Linfonodi	Dimensioni del tumore & Età del paziente
<b>Basso Rischio</b>	<i>A</i>	Favorevole	I	Qualsiasi	N0	Favorevole
<b>Rischio Standard</b>	<i>B</i>	Favorevole	I	Qualsiasi	N0	Sfavorevole
	<i>C</i>	Favorevole	II, III	Favorevole	N0	Qualsiasi
	<i>D</i>	Favorevole	II, III	Sfavorevole	N0	Favorevole
<b>Alto Rischio</b>	<i>E</i>	Favorevole	II, III	Sfavorevole	N0	Sfavorevole
	<i>F</i>	Favorevole	II, III	Qualsiasi	N1	Qualsiasi
	<i>G</i>	Sfavorevole	I, II, III	Qualsiasi	N0	Qualsiasi
<b>Altissimo Rischio</b>	<i>H</i>	Sfavorevole	I, II, III	Qualsiasi	N1	Qualsiasi

**Istologia:**

*Favorevole* = RMS embrionale, leiomiomatoso, botrioide

*Sfavorevole* = RMS alveolare e solido-alveolare

**Gruppo IRS:**

*Gruppo I* = Resezione completa

*Gruppo II* = Resezione con residui microscopici o resezione completa ma linfonodi regionali coinvolti (N1)

*Group III* = Resezione con residui macroscopici

**Sede:**

*Favorevole* = orbita, genito-urinario non vescica prostata e testa-collo non parameningei

*Sfavorevole* = parameningei, arti, vescica e prostata, altre sedi

**Coinvolgimento linfonodale (secondo la classificazione TNM):**

*N0* = nessun coinvolgimento clinico o istologico

*N1* = coinvolgimento clinico o istologico

**Dimensioni del tumore & Età del paziente:**

*Favorevole* = massima dimensione del tumore  $\leq 5$ cm ed età  $< 10$  anni

*Sfavorevole* = tutti gli altri (cioè dimensioni  $> 5$  cm o età  $\geq 10$  anni)

## 5.6 Trattamento

L'impiego coordinato di chirurgia, chemioterapia e radioterapia ha permesso di migliorare progressivamente i risultati del trattamento. Infatti, le probabilità di sopravvivenza di un paziente affetto da RMS localizzato sono aumentate dal 25% nei primi anni '70 a circa il 70% ai nostri giorni. I vari aspetti di questo approccio multidisciplinare sono stati esplorati in una serie di trial coordinati da Gruppi Cooperativi nazionali ed internazionali: in nordamerica dal COG (*Children Oncology Group*, in precedenza denominato IRSG), in Europa dal gruppo SIOP (*Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique*), dal gruppo tedesco (CWS) e da quello italiano AIEOP STSC (Associazione Italiana di Oncologia Pediatrica, Soft Tissue Sarcoma Committee). Recentemente, il gruppo SIOP e STSC hanno unito i loro sforzi fondando l'*European paediatric Soft tissue Sarcoma Study Group* (EpSSG).

### **Chirurgia**

Il tipo e il momento della chirurgia dipendono da vari fattori fra cui la sede, le dimensioni del tumore, il coinvolgimento degli organi vicini, l'età del paziente e la risposta alla chemioterapia.

#### *Chirurgia iniziale*

Si richiede al chirurgo di tentare un'asportazione del tumore solo se, sulla base dell'*imaging*, ritenga che la resezione possa risultare completa (margini liberi) senza rischi o danni per il paziente. Per resezione completa si intende l'asportazione del tumore con un margine (2-5 cm) di tessuto sano. Va tenuto presente che un'asportazione parziale, anche ampia, non dà vantaggi al bambino e che una resezione completa può essere tentata in un secondo tempo, quando la chemioterapia avrà ridotto le dimensioni del tumore (18). Per questo motivo l'approccio chirurgico iniziale dovrebbe limitarsi ad una biopsia nella maggior parte dei casi. Si richiede una *open biopsy* piuttosto di un *tru-cut* od un agoaspirato allo scopo di fornire materiale adeguato per permettere una caratterizzazione del tumore sia dal punto di vista istologico (sottotipi) che biologico (traslocazioni).

Spesso il bambino giunge in un Centro di Oncologia Pediatrica dopo che la lesione è già stata asportata, spesso senza indagini adeguate, perché ritenuta di natura benigna ed i margini di resezione non sono quasi mai ampi, in quanto la lesione viene semplicemente enucleata. In questi casi, è possibile ricorrere ad una seconda chirurgia (*primary*

*re-excision*) prima di iniziare il trattamento chemioterapico. Questo approccio si usa in particolare per i RMS paratesticolari, del tronco o degli arti, quando è prevedibile che si possano asportare eventuali residui microscopici, allargando i margini di resezione senza danni per il bambino (19).

#### ***Chirurgia differita***

Dopo il trattamento chemioterapico iniziale, il chirurgo è chiamato ad asportare la massa residua. In questo caso anche resezioni marginali possono essere accettate, in quanto è possibile poi somministrare la radioterapia. Questa chirurgia va attentamente pianificata ricorrendo, se necessario, ad un *team* chirurgico multidisciplinare (ad esempio: chirurgo pediatra ed ortopedico). Una chirurgia può anche rendersi necessaria a fine trattamento, cioè dopo chemioterapia e radioterapia quando siano presenti dei residui neoplastici.

In generale, la chirurgia deve essere sempre di tipo conservativo, perché l'utilizzo della chemioterapia e della radioterapia possono portare al controllo del tumore anche quando una resezione completa non sia possibile. Una chirurgia di tipo mutilante va quindi considerata solo in quei casi in cui altri trattamenti si siano dimostrati inefficaci. Il concetto di chirurgia conservativa, comunque, si sta ampliando grazie alle aumentate potenzialità della chirurgia ricostruttiva. Ad esempio, in particolari casi, è possibile far seguire ad una cistectomia il confezionamento di una vescica continente che assicuri una buona qualità di vita al bambino.

La chirurgia deve anche considerare le lesioni a distanza.

Alla diagnosi devono essere biopsiati i linfonodi sospetti e, nel caso di RMS degli arti, anche i linfonodi regionali clinicamente negativi, poiché frequentemente coinvolti. Una dissezione dei linfonodi regionali non è utile perché, se positivi per tumore, bisogna comunque ricorrere all'irradiazione.

Quando si è raggiunta la remissione completa a livello del tumore primitivo, va considerata anche la resezione delle lesioni metastatiche, se ancora evidenti dopo il trattamento chemioterapico e se tecnicamente fattibile.

#### ***Radioterapia***

Il RMS è un tumore radiosensibile e pertanto la radioterapia ha un ruolo importante nel controllo locale della malattia. Il rischio di effetti collaterali, particolarmente evidenti nei bambini (ritardo di crescita,

malformazioni scheletriche, disordini cognitivi, ecc.) spinge però i ricercatori a cercare strategie che ne limitino l'impatto (20).

Il gruppo della SIOP ha cercato di utilizzare la radioterapia solo in quei pazienti che non riuscivano a raggiungere la remissione completa con chemioterapia e chirurgia. È stato così possibile curare senza radioterapia fino al 40% dei bambini con RMS dell'orbita (21). Purtroppo, questo approccio non ha dato gli stessi risultati nei pazienti con tumori in altre sedi ed ha comportato un tasso di recidive più alto se paragonato a studi che utilizzano la radioterapia in modo sistematico. Ci sono evidenze robuste che indicano come la radioterapia possa essere omessa con sicurezza solo in pazienti affetti da RMS embrionale, completamente asportato alla diagnosi o nei casi di RMS localizzati alla vagina che raggiungono la remissione completa dopo chemioterapia (22).

Per cercare di ridurre le possibili sequele, negli ultimi anni si è cercato di ridurre le dosi e di migliorare le tecniche di irradiazione.

Le dosi attualmente in uso variano da 40 Gy, che sembrano sufficienti per sterilizzare residui microscopici, a 50-55 Gy, somministrati in caso di malattia residua macroscopica. Sono in atto tentativi di scendere fino a 32-36 Gy nei pazienti con caratteristiche favorevoli (istologia embrionale e buona risposta al trattamento chemioterapico). Si è cercato di migliorare la tecnica di irradiazione passando da un trattamento convenzionale, somministrato in frazioni di 1.5-2 Gy, una volta al giorno, a quello iperfrazionato, che utilizza due dosi giornaliere di 1.1 Gy a distanza di 6-8 ore l'una dall'altra. I risultati in termini di sopravvivenza sono però risultati equivalenti e si attende di avere un *follow-up* più lungo per valutare gli effetti a distanza delle due tecniche (23).

Negli ultimi anni, i progressi dell'*imaging* hanno portato ad una migliore pianificazione del campo di trattamento, permettendo di irradiare più precisamente l'area coinvolta dal tumore, risparmiando il più possibile gli organi circostanti (radioterapia conformazionale).

Infine, si è progressivamente consolidato il ricorso alla brachiterapia che, mediante l'impianto di "fili" radioattivi posizionati nella sede del tumore asportato, consente di erogare una dose elevata in un'area circoscritta, evitando l'eccessiva irradiazione dei tessuti sani circostanti. Tale tecnica è però applicabile solo a tumori che insorgano in sedi accessibili quali vagina, arti e parti superficiali del tronco.

Da quanto detto emerge la raccomandazione che la radioterapia sia eseguita in centri che posseggano strutture ed attrezzature idonee, insieme ad un'adeguata esperienza in campo pediatrico.

### **Chemioterapia**

La chemioterapia si è dimostrata molto efficace nel ridurre il tumore primitivo e le lesioni metastatiche, diminuendo l'aggressività di chirurgia e radioterapia. Raramente però può curare un paziente da sola.

Nel corso degli anni sono stati selezionati i farmaci più attivi in base al tasso di risposta ottenuto. Inizialmente, i farmaci più validi si sono dimostrati vincristina (tasso di risposta 59%), ciclofosfamide (54%), adriamicina (31%), actinomicina D (24%) e DTIC (11%). Successivamente, altri farmaci si sono dimostrati attivi come cisplatino, etoposide, ifosfamide, methotrexate ad alte dosi e melphalan, usato a dosi convenzionali o ad alte dosi con *rescue* di cellule staminali (4). Più recentemente, sono stati studiati gli inibitori della topoisomerasi, topotecan e irinotecan, che hanno mostrato tassi di risposta superiori al 40% in pazienti non pretrattati. Infine, la vinorelbina, un alcaloide semisintetico della vinca, ha mostrato di avere una buona attività accompagnata da una tossicità limitata. Questi farmaci sono stati variamente associati ed i regimi chemioterapici maggiormente usati sono descritti in Tabella 2.

**Tabella 2 Regimi di chemioterapia maggiormente utilizzati**

<i>VA</i>	Vincristina 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno Actinomicina D 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno
<i>Pulse VAC</i>	Vincristina 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) Actinomicina D 0.015 mg/kg/die x 5 giorni o 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno Ciclofosfamide 10 mg/kg/die x 3 giorni o 250 mg/mq/die x 5-7 giorni
<i>Intensive pulse VAC</i>	Vincristina 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno Actinomicina D 0.015 mg/mq (max 0.5 mg)/die e.v. x 5 giorni Ciclofosfamide 2.2 g/mq x 1 giorno
<i>IVA</i>	Ifosfamide 3 g/mq e.v. x 2 or 3 giorni Vincristina 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno Actinomicina D 1.5 mg/mq e.v. (max 2 mg) x 1 giorno

*segue*

<i>VAIA</i>	<i>Composto da 3 cicli: IVA, IVAd, IVA. Nel ciclo IVAd l'Actinomicina D è sostituita da: Adriamicina 40 mg/mq e.v. x 2 giorni</i>
<i>CEVAIE</i>	<i>Composto da 3 cicli: 1) CEV: Carboplatino 500 mg/mq e.v. x 1 giorno; Epirubicina 150 mg/mq e.v. x 1 giorno; Vincristina 1.5 mg/mq (max 2 mg) e.v. x 1 giorno; 2) IVA (come sopra) 3) IVE, come IVA ma con Etoposide 200 mg/mq/die x 3 giorni al posto dell'actinomicina D</i>
<i>VTP</i>	<i>Vincristina 1.5 mg/mq E.V. (max 2 mg) x 1 giorno Topotecan 0.75 mg/mq x 5 giorni Ciclofosfamide 250 mg/mq x 5 giorni</i>
<i>IVADo</i>	<i>IVA (come sopra) + somministrazione concomitante di Doxorubicina 30 mg/mq e.v. x 2 giorni</i>

La maggior parte dei protocolli raccomandano un intervallo di tre settimane fra i cicli e la somministrazione di Vincristina settimanalmente per le prime 7-9 settimane.

Vincristina, actinomicina D, ciclofosfamide e adriamicina sono i farmaci più frequentemente utilizzati in diverse combinazioni (VA, VAC, VACAdr). Gli investigatori nordamericani del COG, in generale, usano VA per i bambini a prognosi più favorevole e VAC per quelli inseriti nei gruppi a rischio intermedio ed alto (24).

Poiché l'utilizzo dell'ifosfamide sembrava in grado di aumentare il tasso di risposta, negli anni '80, in Europa, si è deciso di utilizzarla al posto della ciclofosfamide nei regimi IVA o VAIA (25).

Recentemente, il protocollo americano IRS IV ha confrontato, in uno studio randomizzato, le combinazioni VAC, IVA e VIE (vincristina, ifosfamide, etoposide) mostrando risultati equivalenti (26). Pertanto, la combinazione VAC è attualmente considerata lo standard negli studi nord-americani, per il minor costo e per il rischio di nefrotossicità correlato con la somministrazione di ifosfamide. In Europa, la combinazione IVA continua ad essere il regime di riferimento, per evitare la tossicità gonadica causata dalla ciclofosfamide ed utilizzando dosi di ifosfamide potenzialmente non nefrotossiche.

Uno studio randomizzato, recentemente concluso dal COG, ha valutato se l'inclusione di topotecan potesse migliorare la sopravvivenza dei pazienti. Il confronto VTC (vincristina, topotecan e

ciclofosfamide) vs VAC non ha però dimostrato una sostanziale differenza (24).

In Europa, invece, si è cercato di superare l'insorgenza di chemioresistenza utilizzando un regime a 6 farmaci denominato CEVAIE, che ha permesso di somministrare, in modo alternato, buona parte dei farmaci maggiormente attivi contro il RMS. Due trial paralleli della SIOP e CWS/STSC hanno confrontato CEVAIE contro IVA e VAIA. Dati preliminari mostrano che, anche in questo caso, il nuovo regime non ha apportato sostanziali vantaggi in termini di sopravvivenza.

Approcci più intensivi, che hanno previsto la somministrazione di alte dosi di chemioterapia seguita da infusione di cellule staminali, sono stati utilizzati per i pazienti con metastasi alla diagnosi. Nel protocollo europeo MMT4, l'uso di alte dosi di melfalan, dopo somministrazione di 9 cicli CEVAIE, ha prodotto una sopravvivenza libera da eventi del 29% a 3 anni (27). Risultati ugualmente insoddisfacenti sono stati ottenuti con altri regimi mieloablativi che includevano melfalan, etoposide con o senza carboplatino, oppure thiothepa, ciclofosfamide e carboplatino.

Recentemente, i Gruppi SIOP e STSC hanno tentato di utilizzare la chemioterapia ad alte dosi nella fase iniziale del trattamento, al fine di prevenire l'insorgenza di chemioresistenza. Tale approccio non ha però dato i risultati sperati [dati non pubblicati]. D'altra parte, il Gruppo CWS ha recentemente riportato una sopravvivenza più elevata quando la chemioterapia standard venga fatta seguire da un trattamento prolungato a basse dosi (trattamento orale con trofosfamide e idarubicina). Questa terapia di "mantenimento" ha comportato una sopravvivenza libera da eventi (EFS) a 3 anni superiore del 50% in un gruppo di 62 pazienti. Questo risultato attende però conferme da trial metodologicamente più validi [dati non pubblicati].

I risultati finora ottenuti con l'uso di un approccio multidisciplinare sono sicuramente soddisfacenti. Nello studio americano più recente (IRS IV) la sopravvivenza complessiva e quella libera da recidiva sono risultate rispettivamente del 77% e dell'86%, a 3 anni. Questi risultati non sono però significativamente migliori rispetto al 65% di sopravvivenza libera da progressione, a 5 anni, riportata nel precedente studio (IRS III) (26,28).

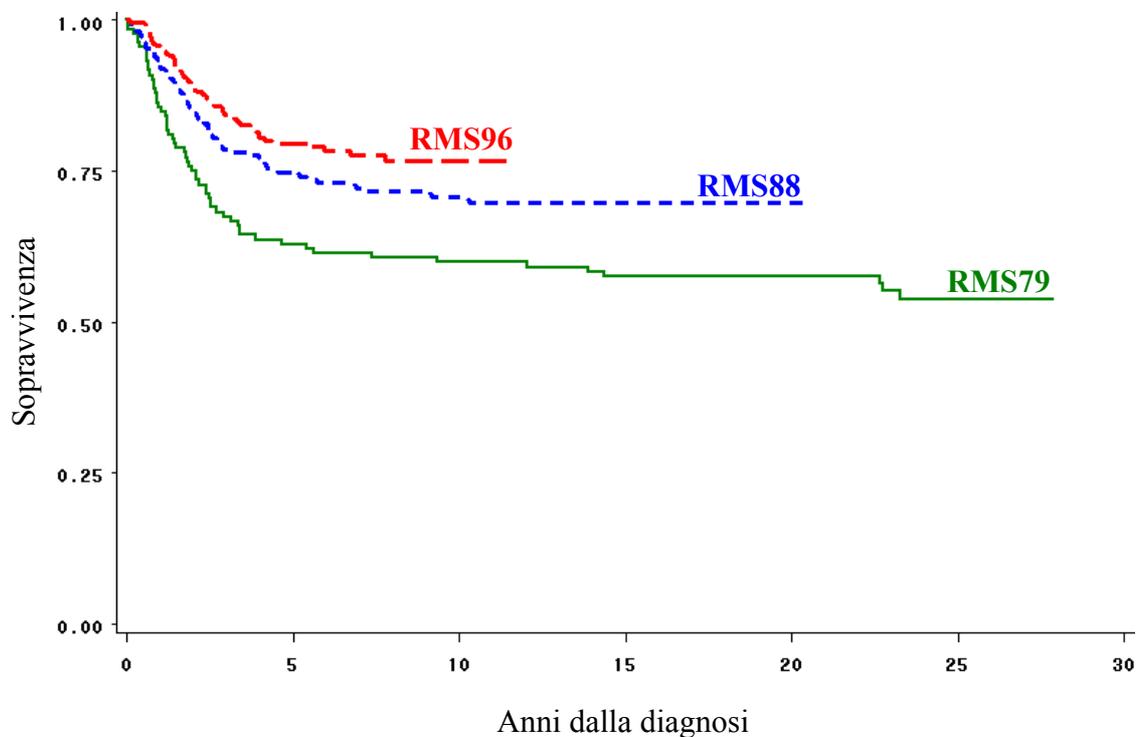
Risultati comparabili sono stati ottenuti in Europa. Il protocollo MMT 89 del gruppo SIOP ha ottenuto una sopravvivenza libera da eventi e

complessiva, rispettivamente del 57% e 71% (29). La differenza tra questi due dati riflette la strategia di limitare l'uso della radioterapia. Questo ha comportato un più elevato tasso di recidive, ma un certo numero di pazienti è stato poi recuperato con terapie di seconda linea, portando la sopravvivenza complessiva a valori comparabili a quelli ottenuti dal COG.

Il Gruppo CWS ha pubblicato una sopravvivenza libera da eventi del 66% a 5 anni (30). I dati italiani del STSC rispecchiano i miglioramenti ottenuti nel tempo nei pazienti con RMS localizzato. La sopravvivenza totale che era del 62% nel primo protocollo nazionale, denominato RMS79, è salita al 74% nel protocollo successivo RMS88 ed al 79% nel protocollo RMS96 recentemente concluso (Figura 2).

Tuttavia, esistono categorie di pazienti che non riusciamo a curare: infatti, la sopravvivenza dei pazienti con RMS metastatico alla diagnosi non è sostanzialmente cambiata negli ultimi 30 anni e resta fra il 20 ed il 30%.

**Figura 2 Progressi nella sopravvivenza dei pazienti con Rbdomiosarcoma localizzato, in Italia**



## 5.7 *Follow-up*

Dopo la fine della terapia, i pazienti con RMS devono essere attentamente seguiti per il rischio di una possibile recidiva e per monitorare gli eventuali effetti collaterali del trattamento.

Tipicamente, le recidive avvengono nei primi 3 anni dalla diagnosi e raramente dopo i 5 anni. Nel 60% dei casi si tratta di recidive locali. La comparsa di metastasi è più frequente in caso di RMS alveolare e/o insorto a livello degli arti. Purtroppo, la sopravvivenza mediana di un bambino dopo recidiva è inferiore all'anno. Studi recenti dimostrano che pazienti con alcune caratteristiche favorevoli (istotipo embrionale, sede favorevole e l'omissione della radioterapia durante la terapia di prima linea) possono avere una seconda possibilità di cura.

Al contrario, pazienti con caratteristiche sfavorevoli (istologia alveolare, metastasi alla diagnosi, recidiva disseminata) raramente sopravvivono dopo una recidiva (31).

Poiché, complessivamente, la sopravvivenza sta migliorando considerare il "prezzo" della cura sta diventando sempre più importante. I possibili effetti collaterali dovrebbero essere previsti nel corso del trattamento e possibilmente evitati o minimizzati. Le sequele chirurgiche sono dovute soprattutto ad amputazioni, exenteratio orbita o cistectomie. In questi casi, la chirurgia ricostruttiva può essere importante e va presa in considerazione precocemente. Per pazienti irradiati è importante sapere quali organi sono stati inclusi nel campo di radioterapia, in modo da impostare un *follow-up* mirato.

Ad esempio, andranno previste visite oculistiche periodiche nel caso di RMS dell'orbita o valutazioni ormonali nei pazienti con RMS parameningeo, in quanto l'ipofisi viene spesso compresa nel campo di irradiazione.

Anche la chemioterapia può causare sequele importanti. Pertanto, a seconda dei farmaci somministrati andrà monitorata la funzione renale (ifosfamide), quella cardiaca (doxorubicina) o la fertilità (ciclofosfamide). Infine, esiste il rischio, seppur basso, di un secondo tumore dovuto alla somministrazione di agenti alchilanti e di radioterapia.

## 5.8 Direzioni future

Per migliorare la sopravvivenza dei pazienti, è fondamentale migliorare le terapie che abbiamo a disposizione ed esplorare nuovi approcci. Fra i farmaci tradizionali è tipico l'esempio della doxorubicina, farmaco molto attivo contro il RMS, ma che non ha comportato un miglioramento dei risultati quando usato in combinazione con altri farmaci. Per questo motivo l'EpSSG ha recentemente avviato uno studio randomizzato, denominato RMS 2005, che confronta il trattamento standard IVA con una nuova combinazione denominata IVADo (IVA + Doxorubicina) (32).

I colleghi nordamericani stanno continuando a testare i derivati della camptotecina, e recentemente, è stato avviato uno studio randomizzato che confronta lo standard VAC con un regime che incorpora anche l'irinotecan associato alla vincristina. Nuove strategie per intensificare il trattamento prevedono la possibilità di ridurre da 3 a 2 settimane l'intervallo fra i cicli, come avverrà in uno studio COG per i pazienti ad alto rischio (24).

Una via diversa è quella seguita dall'EpSSG, che sta valutando l'efficacia di un trattamento prolungato somministrando basse dosi di ciclofosfamide e vinorelbina nei pazienti in remissione completa dopo il trattamento standard.

Approcci maggiormente sperimentali riguardano la possibilità di innescare un'ipotetica *graft versus tumor* dopo trapianto di midollo allogenico, similmente a quanto avviene nelle leucemie. L'esperienza si basa però su casi aneddotici e necessita di studi controllati (33).

Vanno segnalati anche alcuni farmaci che hanno mostrato attività antineoplastica nei modelli animali di RMS, come l'ixabepilone (BMS247550), appartenente ad una nuova classe di agenti che stabilizzano i microtubuli, l'irofulvene, derivato da una tossina fungina e l'ecteinascidina (ET 743) che interferirebbe con la trascrizione del DNA (34).

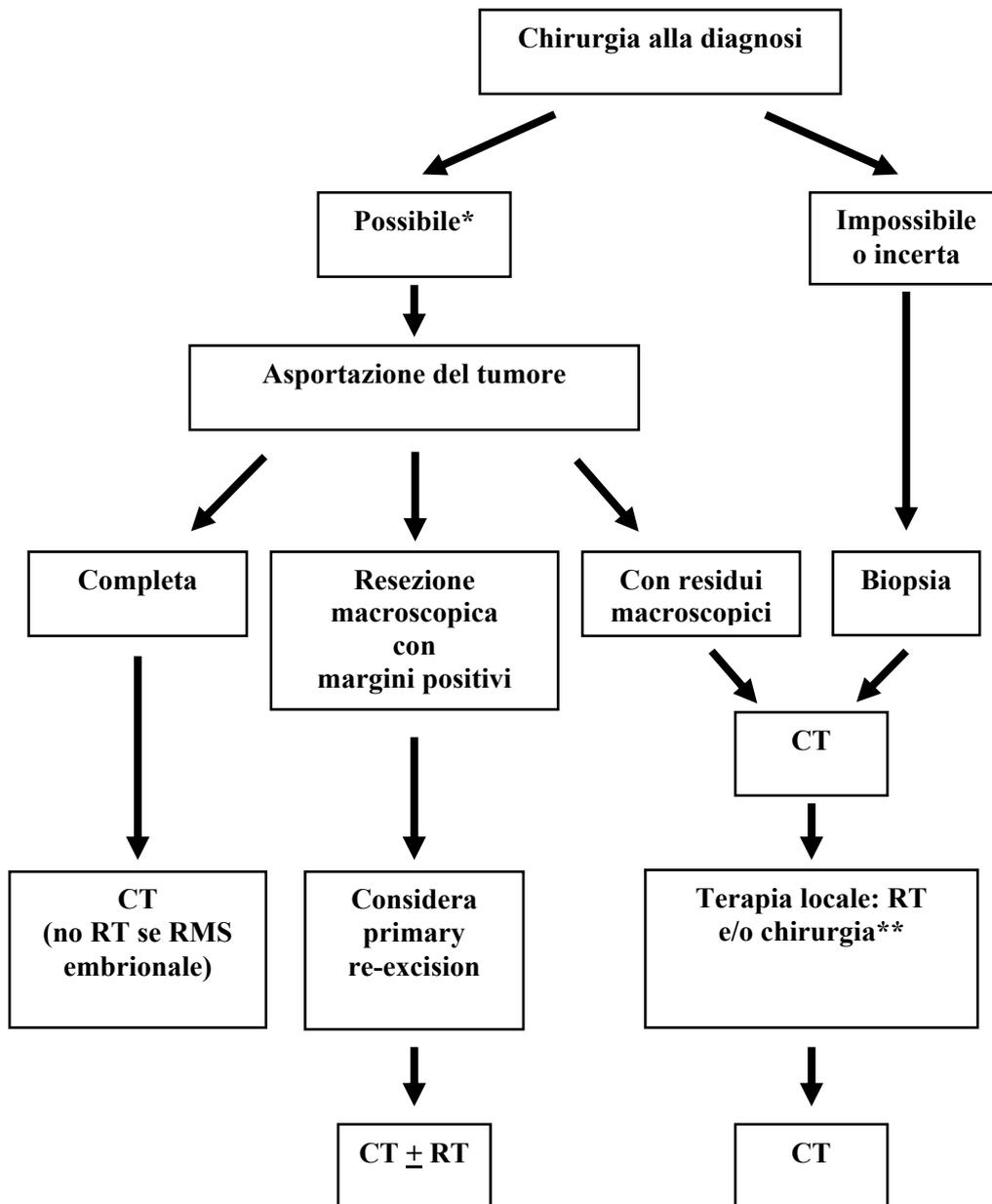
Approcci di *target therapy* sembrano possibili nei confronti di fattori di crescita prodotti ad alti livelli dal RMS, come l'*insulin-like growth factors I and II* (IGF-I/II) ed i loro recettori (IGF-IR). Un *insulin-like growth factor* che, attraverso un legame con la proteina 6 (IGFBP-6), si lega a IGF-II e un anticorpo monoclonale diretto contro IGF-IR sembrano in grado di inibire proliferazione e sopravvivenza delle cellule di RMS, sia in linee cellulari che in modelli animali (35,36). La proteina di fusione PAX3-FOXO1A presente nel RMS alveolare

rappresenta un possibile *target* per approcci immunoterapici. L'uso di linfociti T citotossici in grado di attaccare specificamente le cellule tumorali che esprimono questa proteina non ha però dato i risultati sperati.

I farmaci innovativi più vicini ad una fase di sperimentazione su pazienti sembrano essere quelli dotati di meccanismo antiangiogenico, come il bevacizumab. Queste sostanze sembrano promettenti sia perché varie linee cellulari di RMS esprimono il *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), che per la possibilità di associarli ai trattamenti chemioterapici in atto (37).

Sono quindi numerose le possibilità di migliorare le nostre capacità di curare i pazienti affetti da RMS grazie alla ricerca di base ed agli studi clinici che la collaborazione nazionale e internazionale, esistente nel campo dei sarcomi delle parti molli pediatriche, sta portando avanti.

## RABDOMIOSARCOMI



CT: chemioterapia; RT: radioterapia

\* Un'asportazione completa del tumore con margini ampi liberi e senza danni per il paziente è in realtà possibile in non più del 10-20% dei casi.

\*\* Le modalità del trattamento locale, incluse le dosi di radioterapia, variano a seconda delle caratteristiche del tumore (istologia, sede, dimensioni) e del paziente (età).

## BIBLIOGRAFIA

1. Baussano I, Maule MM, Dama E, Dalmaso P, Mosso ML, Galzerano M, Merletti F, Magnani C, Pastore G. Expected number of childhood cancers in Italy from 2001 to 2015. *Haematologica* 2007; 92(9):1258-61
2. Pastore G, Peris-Bonet R, Carli M, Martínez-García C, Sánchez de Toledo J, Steliarova-Foucher E. Childhood soft tissue sarcomas incidence and survival in European children (1978-1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006; 42(13):2136-49
3. Donaldson SS, Draper GJ, Flamant F, Gerard-Marchant R, Mouriessse H, Newton WA, Lemerle J. Topography of childhood tumors: pediatric coding system. *Pediatr Hematol Oncol* 1986; 3(3):249-58
4. Carli M, Cecchetto G, Sotti G, Alaggio R, Stevens MCG. Soft tissue sarcoma. In: *Paediatric Oncology (pp 339-370)*, ed. Pinkerton R, Plowman PN, Pieters R. Arnold London 2004
5. Völker T, Denecke T, Steffen I, Misch D, Schönberger S, Plotkin M, Ruf J, Furth C, Stöver B, Hautzel H, Henze G, Amthauer H. Positron emission tomography for staging of pediatric sarcoma patients: results of a prospective multicenter trial. *J Clin Oncol* 2007; 25(34):5435-41
6. Newton WA Jr, Gehan EA, Webber BL, Marsden HB, van Unnik AJ, Hamoudi AB, Tsokos MG, Shimada H, Harms D, Schmidt D et al. Classification of rhabdomyosarcomas and related sarcomas. Pathologic aspects and proposal for a new classification - an Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *Cancer* 1995; 76(6):1073-85
7. Morotti RA, Nicol KK, Parham DM et al. An immunohistochemical algorithm to facilitate diagnosis and subtyping of rhabdomyosarcoma: the Children's Oncology Group experience. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:962-8
8. Barr FG. Gene fusions involving PAX and FOX family members in alveolar rhabdomyosarcoma. *Oncogene* 2001; 20(40):5736-46
9. Bennicelli JL, Edwards RH, Barr FG. Mechanism for transcriptional gain of function resulting from chromosomal translocation in alveolar rhabdomyosarcoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:5455-9

10. Davis RJ, Barr FG. Fusion genes resulting from alternative chromosomal translocations are overexpressed by gene-specific mechanisms in alveolar rhabdomyosarcoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:8047-5
11. Scrable H, Cavenee W, Ghavimi F, Lovell M, Morgan K, Sapienza C. A model for embryonal rhabdomyosarcoma tumorigenesis that involves genome imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(19):7480-4
12. Casola S, Pedone PV, Cavazzana AO et al. Expression and parental imprinting of the H19 gene in human rhabdomyosarcoma. *Oncogene* 1997; 14:1503-1510
13. Wachtel M, Dettling M, Koscielniak E, Stegmaier S, Treuner J, Simon-Klingenstein K, Bühlmann P, Niggli FK, Schäfer BW. Gene expression signatures identify rhabdomyosarcoma subtypes and detect a novel t(2;2) (q35;p23) translocation fusing PAX3 to NCOA1. *Cancer Res* 2004; 64(16):5539-45
14. Maurer HM, Moon T, Donaldson M, Fernandez C, Gehan EA, Hammond D, Hays DM, Lawrence W Jr, Newton W, Ragab A, Raney B, Soule EH, Sutow WW, Tefft M. The intergroup rhabdomyosarcoma study: a preliminary report. *Cancer* 1977; 40(5):2015-26
15. Rodary C, Flamant F, Donaldson SS. An attempt to use a common staging system in rhabdomyosarcoma: a report of an international workshop initiated by the International Society of Pediatric Oncology (SIOP). *Med Pediatr Oncol* 1989; 17(3):210-5
16. De Zen L, Sommaggio A, d'Amore ES, Masiero L, di Montezemolo LC, Linari A, Madon E, Dominici C, Bosco S, Bisogno G, Carli M, Ninfo V, Basso G. Clinical relevance of DNA ploidy and proliferative activity in childhood rhabdomyosarcoma: a retrospective analysis of patients enrolled onto the Italian Cooperative Rhabdomyosarcoma Study RMS88. *J Clin Oncol* 1997; 15(3):1198-205
17. Sorensen PH, Lynch JC, Qualman SJ, Tirabosco R, Lim JF, Maurer HM, Bridge JA, Crist WM, Triche TJ, Barr FG. PAX3-FKHR and PAX7-FKHR gene fusions are prognostic indicators in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 2002; 20(11):2672-9
18. Cecchetto G, Bisogno G, De Corti F, Dall'Igna P, Inserra A, Ferrari A, Garaventa A, Scagnellato A, Carli M. Biopsy or debulking surgery as initial surgery for locally advanced

- rhabdomyosarcomas in children? the experience of the Italian Cooperative Group studies. *Cancer* 2007; 110(11):2561-7
19. Cecchetto G, Guglielmi M, Inserra A, Zanetti I, Dall'Igna P, Gigante C, Carli. Primary re-excision: the Italian experience in patients with localized soft-tissue sarcomas. *Pediatr Surg Int* 2001; 17:532-534
  20. Stevens MC. Treatment for childhood rhabdomyosarcoma: the cost of cure. *Lancet Oncol* 2005; 6:77-84
  21. Oberlin O, Rey A, Anderson J et al. Treatment of orbital rhabdomyosarcoma: survival and late effects of treatment-results of an international workshop. *J Clin Oncol* 2001; 19:197-204
  22. Wolden SL, Anderson JR, Crist WM et al. Indications for radiotherapy and chemotherapy after complete resection in rhabdomyosarcoma: A report from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Studies I to III. *J Clin Oncol* 1999; 17:3468-3475
  23. Donaldson SS, Meza J, Breneman JC et al. Results from the IRS-IV randomized trial of hyperfractionated radiotherapy in children with rhabdomyosarcoma a report from the IRSG. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51:718-728
  24. Breitfeld PP, Meyer WH. Rhabdomyosarcoma: new windows of opportunity. *Oncologist* 2005; 10:518-527
  25. Treuner J, Koscielniak E, Keim M. Comparison of the rates of response to ifosfamide and cyclophosphamide in primary unresectable rhabdomyosarcomas. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 24 Suppl 1:S48-50
  26. Crist WM, Anderson JR, Meza JL et al. Intergroup rhabdomyosarcoma study-IV: results for patients with nonmetastatic disease. *J Clin Oncol* 2001; 19:3091-3102
  27. Carli M, Colombatti R, Oberlin O et al. High-dose melphalan with autologous stem-cell rescue in metastatic rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol* 1999; 17:2796-2803
  28. Crist W, Gehan EA, Ragab AH et al. The Third Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *J Clin Oncol* 1995; 13:610-630
  29. Stevens MC, Rey A, Bouvet N, Ellershaw C, Flamant F, Habrand JL, Marsden HB, Martelli H, Sanchez de Toledo J, Spicer RD, Spooner D, Terrier-Lacombe MJ, van Unnik A, Oberlin O. Treatment of nonmetastatic rhabdomyosarcoma in childhood and adolescence: third study of the International

Society of Paediatric Oncology--SIOP Malignant Mesenchymal Tumor 89. *J Clin Oncol* 2005; 23(12):2618-28

30. Koscielniak E, Harms D, Henze G, Jurgens H, Gadner H, Herbst M, Klingebiel T, Schmidt BF, Morgan M, Knietig R, Treuner J. Results of treatment for soft tissue sarcoma in childhood and adolescence: a final report of the German Cooperative Soft Tissue Sarcoma Study CWS-86. *J Clin Oncol* 1999; 17(12):3706-19
31. Mazzoleni S, Bisogno G, Garaventa A, Cecchetto G, Ferrari A, Sotti G, Donfrancesco A, Madon E, Casula L, Carli M. Outcomes and prognostic factors after recurrence in children and adolescents with nonmetastatic rhabdomyosarcoma. *Cancer* 2005 Jul 1; 104(1):183-90
32. Bisogno G, Ferrari A, Bergeron C, Scagnellato A, Prete A, Alaggio R, Casanova M, D'Angelo P, Di Cataldo A, Carli M. The IVADo regimen--a pilot study with ifosfamide, vincristine, actinomycin D, and doxorubicin in children with metastatic soft tissue sarcoma: a pilot study on behalf of the European pediatric Soft tissue sarcoma Study Group. *Cancer* 2005; 103(8):1719-24
33. Koscielniak E, Gross-Wieltsch U, Treuner J, Winkler P, Klingebiel T, Lang P, Bader P, Niethammer D, Handgretinger R. Graft-versus-Ewing sarcoma effect and long-term remission induced by haploidentical stem-cell transplantation in a patient with relapse of metastatic disease. *J Clin Oncol* 2005; 23(1):242-4
34. Gupta AA, Pappo SA. New drugs for the treatment of metastatic or refractory soft tissue sarcomas in children. *Future Oncol* 2006; 2(5):675-685
35. Scotlandi K, Manara MC, Nicoletti G et al. Antitumor activity of the insulin-like growth factor-I receptor kinase inhibitor NVP-AEW541 in musculoskeletal tumors. *Cancer Res* 2005; 65:3868-3876
36. Maloney EK, McLaughlin JL, Dagdigian NE et al. An anti-insulin-like growth factor I receptor antibody that is a potent inhibitor of cancer cell proliferation. *Cancer Res* 2003; 63:5073-5083
37. Onisto M, Slongo ML, Gregnanin L, Gastaldi T, Carli M, Rosolen A. Expression and activity of vascular endothelial growth factor and metalloproteinases in alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma cell lines. *Int J Oncol* 2005; 27:791-798

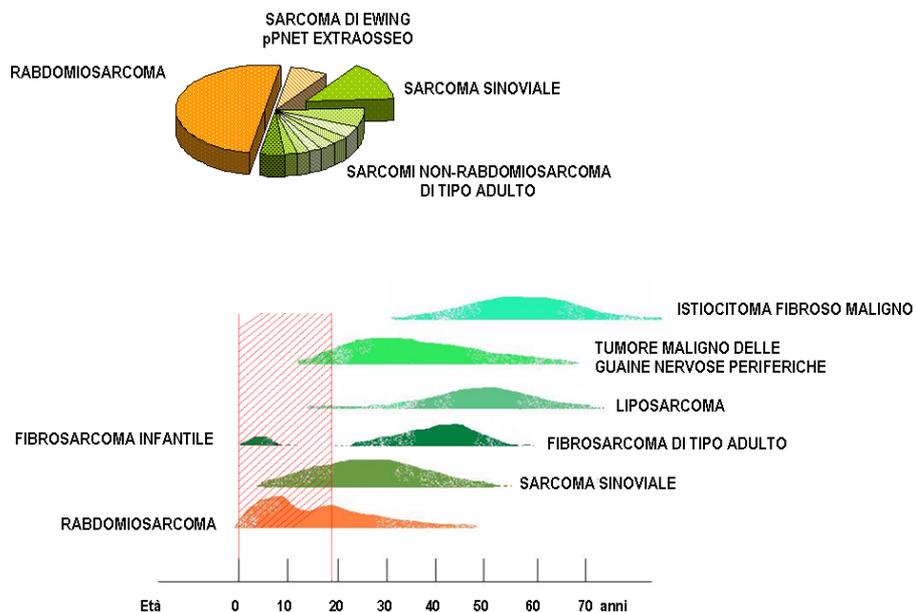
## *Non-rabdo*

### 5.9 Epidemiologia e fattori di rischio

I sarcomi delle parti molli costituiscono un gruppo eterogeneo di tumori mesenchimali maligni e rappresentano circa il 6-8% dei tumori dell'età pediatrica ed adolescenziale, con un'incidenza di 8-12 nuovi casi per milione di individui. In età pediatrica, la metà dei casi è rappresentata dal rhabdomiosarcoma, che è un'entità a sé stante tipica di questa fascia di età, mentre il restante 50% costituisce un gruppo eterogeneo di sarcomi cosiddetti "non-rhabdomiosarcoma".

Questi tumori sono anche molto diversi tra loro per caratteristiche biologiche e storia clinica e, a parte alcune eccezioni come il fibrosarcoma infantile, sono neoplasie tipiche dell'età adulta, ma possono insorgere anche nel bambino e nell'adolescente. L'istotipo più frequente è il sarcoma sinoviale, che ha il suo picco di incidenza tra i 15 e i 30 anni di età (Figura 1) (1).

**Figura 1** Incidenza dei sarcomi delle parti molli in età pediatrica



La patogenesi dei sarcomi delle parti molli è ancora poco chiara e non vi sono fattori di rischio accertati. Nonostante la maggior parte dei casi sia sporadica, è ben nota l'associazione di questi tumori con particolari sindromi familiari come la neurofibromatosi di tipo I (malattia di von Recklinghausen), con specifici tumori maligni delle guaine nervose periferiche e la sindrome di Li-Fraumeni, caratterizzata da mutazioni nella linea germinale del gene oncosoppressore p53. Inoltre, è descritto il rischio di sarcomi radioindotti (angiosarcomi) o associati ad immunodeficienze (leiomiomasarcomi) (1).

### **5.10 Diagnostica di laboratorio e strumentale**

Pur potendo insorgere virtualmente in qualsiasi sede del corpo (spesso con l'aspetto di masse a progressivo accrescimento), la localizzazione più frequente di questi tumori è quella degli arti.

Il comportamento clinico, ed in particolare la tendenza a sviluppare metastasi ematogene, in genere al polmone, varia in relazione al tipo istologico e al grado di malignità.

In genere, essendo estremamente difficile differenziare una lesione benigna da un tumore maligno delle parti molli sulla base della sola presentazione clinica, è indicato procedere alla biopsia per tutte le tumefazioni solide, semisolide o semicistiche dei tessuti molli, quando sono caratterizzate da un aumento dimensionale nel tempo. L'approccio bioptico deve assicurare la massima informazione (quantità di tessuto sufficiente anche per studi di carattere biologico), ma anche la minima contaminazione dei tessuti sani. La biopsia con ago grosso (*tru-cut*) e la biopsia incisionale sono le due metodiche più utilizzate, mentre la biopsia con ago sottile (*fine needle*) non è quasi mai sufficiente per una corretta diagnosi istologica. La biopsia escissionale (enucleazione) è da evitare perché, senza mai essere curativa, è causa di contaminazione e richiede un successivo intervento di radicalizzazione allargata. L'indagine radiologica di prima scelta, per valutare l'estensione locale ed i rapporti della neoplasia con gli organi contigui, è la risonanza magnetica, grazie all'elevato potere di risoluzione di contrasto tra parti molli e alla anatomicità e multiplanarietà di immagine. La TAC è in molti casi una valida alternativa, mentre l'ecografia ha la sua utilità per lesioni piccole e superficiali e come primo approccio diagnostico. La TAC

del torace è in genere richiesta per valutare eventuali localizzazioni metastatiche di malattia a livello del polmone.

Gli esami ematochimici sono in genere privi di significato.

### **5.11 Anatomia patologica**

La classificazione istologica dei sarcomi delle parti molli non si basa più sull'istogenesi, bensì sulla linea di differenziazione, cioè sul confronto tra la linea cellulare tumorale e la linea cellulare corrispondente, ovvero più simile, senza ipotizzare necessariamente un'origine della neoplasia da quest'ultima. Nella classificazione WHO 2002, i sarcomi sono divisi in tumori adipocitici, fibroblastici/miofibroblastici, fibroistiocitici, muscolari lisci e muscolari striati, pericitici/perivascolari, vascolari, e ad incerta differenziazione (2). La diagnosi istologica richiede necessariamente l'integrazione della microscopia ottica tradizionale con l'immunoistochimica, grazie alla presenza di marcatori specifici per i diversi istotipi. In molti casi, però, di fronte a *pattern* aspecifici di sarcomi a cellule fusate, o pleomorfi, la corretta diagnosi è permessa solo dal ricorso alla citogenetica e alla biologia molecolare, per l'identificazione di riarrangiamenti cromosomici e molecolari specifici dei diversi sarcomi.

Oltre alla definizione del tipo istologico, al patologo è richiesta la definizione del grado di malignità, in genere correlato a parametri quali l'attività mitotica, il grado di necrosi ed il pleomorfismo cellulare/anaplasia. Diversi sistemi di *grading* sono stati utilizzati negli anni, il sistema americano del *Pediatric Oncology Group* -POG in campo pediatrico (3) ed il sistema francese FFCLCC per i sarcomi dell'adulto (4); tuttavia il sistema classificativo perfetto non è ancora stato individuato, tanto che per diversi istotipi la storia naturale non pare essere prevedibile sulla base di dati istologici.

### **5.12 Caratterizzazione biologico-molecolare**

La maggior parte dei sarcomi delle parti molli è caratterizzata da specifiche traslocazioni e da riarrangiamenti molecolari che sono oggi in gran parte noti e che hanno un ruolo fondamentale di tipo Diagnostico ed, in prospettiva, anche terapeutico, nell'ottica della ricerca di nuove molecole mirate a specifici target cellulari.

La Tabella 1 illustra nel dettaglio traslocazioni e geni di fusione per alcuni sottotipi.

**Tabella 1 Traslocazioni specifiche (e trascritti) nei sarcomi delle parti molli**

<i>Tumore</i>	<i>Traslocazione</i>	<i>Trascritto</i>
Sarcoma sinoviale	t(X;18)(q11;q11)	SYT-SSX1 SYT-SSX2 SYT-SSX4
Fibrosarcoma infantile	t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3
Tumore desmoplastico a piccole cellule rotonde	t(11;22)(q13;q12)	EWS-WT1
Liposarcoma mixoide	t(12;16)(q13;p11)	TLS-CHOP
Sarcoma a cellule chiare	t(12;22)(q13;q12)	EWS-ATF1
Sarcoma alveolare delle parti molli	t(X;17)(p11;q25)	TFE3/ASPL
Condrosarcoma mixoide extraosseo	t(9;22)(q22;q12) t(9;15)(q22;q21)	EWS-TEC CHN-TFC12
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)(q22;q13)	COL1A1-PDGFB
Tumore miofibroblastico infiammatorio	t(1;2)(q25;p23) t(2;19)(p23;q13) t(2;17)(p23;q23)	TPM3/ALK ALK/TPM4 ALK/CLTC
Rabdomiosarcoma alveolare	t(2;13)(q35;q14) t(1;13)(p36;q14)	PAX3/FKHR PAX7/FKHR
Sarcoma di Ewing/pPNET extraosseo	t(11;22)(q24;q12) t(21;22)(q22;q12) t(17;22)(q12;q12) t(7;22)(p22;q12)	FLI1/EWS ERG/EWS E1AF/EWS ETV1/EWS

### 5.13 Classificazione e stadiazione

Per i sarcomi non-rabdomiosarcoma vengono storicamente utilizzati i due sistemi di stadiazione dei rabdomiosarcomi: la stadiazione clinico-radiologica TNM(5), che considera come parametri le dimensioni del tumore e l'invasività nei confronti delle strutture contigue (oltre alla presenza o meno di metastasi linfonodali od ematogene) ed il sistema post-chirurgico IRS (*Intergroup Rhabdomyosarcoma Study*) (6), che si

basa sulla radicalità o meno dell'intervento chirurgico iniziale. Pur con i loro limiti, ad esempio, nel sistema IRS, pazienti con analoga presentazione di malattia possono essere classificati in modo differente in base al diverso giudizio di resecabilità. Entrambi i sistemi di stadiazione hanno dimostrato di possedere un importante peso prognostico.

La stratificazione dei pazienti in classi di rischio, e quindi la successiva definizione del tipo e dell'intensità del trattamento, è oggi correlata alla combinazione di tre parametri: 1) gruppo IRS, 2) dimensioni del tumore, 3) grado istologico (7,8).

#### **5.14 Trattamento**

Il trattamento dei pazienti (pediatrici e non) con sarcoma delle parti molli è assai complesso e richiede un approccio multidisciplinare integrato, che tenga conto di tutte le possibili modalità terapeutiche, chirurgia, radioterapia e chemioterapia. La rarità e l'eterogeneità di questi tumori suggerisce che, al fine di definire la strategia terapeutica ottimale per il singolo paziente e valutare prospetticamente i risultati terapeutici, i bambini e gli adolescenti con sarcoma delle parti molli, siano trattati in centri di riferimento altamente specializzati, con provata esperienza in questa patologia. Oggi, tre quarti dei pazienti con sarcoma non-rabdomiosarcoma vengono guariti, grazie all'utilizzo di approcci terapeutici sviluppati nell'ambito di protocolli cooperativi nazionali ed internazionali. Attualmente, esistono due grossi gruppi cooperativi, quello americano (*Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children Oncology Group – COG*) e quello europeo (*European pediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group – EpSSG*), a cui fanno capo anche i centri italiani.

Diversamente dal rabdomiosarcoma, che è un tumore altamente responsivo a chemioterapia e radioterapia, per i sarcomi non-rabdomiosarcoma è meno facile definire con precisione il ruolo, e quindi l'indicazione, dei trattamenti complementari alla chirurgia, che resta quindi il cardine del trattamento.

Un grosso limite, nella valutazione delle possibili opzioni terapeutiche per questi pazienti, è legato all'estrema eterogeneità dei tumori inclusi in questo gruppo. È indispensabile pertanto, identificare sottogruppi omogenei, almeno dal punto di vista clinico, per i quali possano valere in qualche modo le medesime scelte terapeutiche. In questa direzione va la definizione di *sarcomi “di tipo adulto”*, tumori delle parti molli

“a sicura malignità, tipici dell’età adulta, con morfologia assimilabile a quella di tessuti differenziati/maturi” (9), che include la maggior parte dei sarcomi non-rabdomiosarcoma del bambino e dell’adolescente, e cioè i tumori maligni delle guaine nervose periferiche (schwannomi maligni), i fibrosarcomi di tipo adulto, i liposarcomi, i leiomiomasarcomi, i sarcoma epitelioidi, i sarcomi alveolari, i sarcomi a cellule chiare, gli istiocitomi fibrosi maligni, i dermatofibrosarcomi protuberans, gli angiosarcomi e gli emangiopericitomi. Il *sarcoma sinoviale*, che è a tutti gli effetti un sarcoma di tipo adulto, viene in genere discusso (e trattato) separatamente, non solo perché è il sarcoma non-rabdomiosarcoma più frequente, ma perché gli oncologi pediatri hanno storicamente trattato questo tumore assimilandolo maggiormente al rabdomiosarcoma più che ai sarcomi dell’adulto. In effetti, vari studi suggeriscono oggi, che la chemioresponsività del sarcoma sinoviale possa essere considerata intermedia rispetto a quella dei sarcomi tipici dell’età adulta (cioè in genere inferiore al 40%) e quella dei tipici sarcomi pediatrici a piccole cellule rabdomiosarcoma e sarcoma di Ewing (cioè intorno all’80%).

Quello che è fondamentale, però, è distinguere (e quindi non solo trattare in modo differente, ma anche analizzare in modo differente) quei sarcomi che appaiono biologicamente e clinicamente molto diversi dai sarcomi “di tipo adulto”: cioè i tumori della famiglia dei *sarcomi di Ewing/tumori neuroectodermici primitivi periferici*, (quando hanno insorgenza extraossea), neoplasie ad alto grado di malignità e ad elevata responsività a chemioterapia e radioterapia, che necessitano di regimi di polichemioterapia intensi (con terapia mieoloablattiva nei casi a prognosi peggiore), eventualmente utilizzando i medesimi protocolli in uso per i sarcomi di Ewing dell’osso, che dal punto di vista biologico devono essere considerati la medesima entità; i *tumori desmoplastici a piccole cellule rotonde*, neoplasie in genere ad insorgenza intra-addominale, spesso multifocale, altamente aggressive, spesso a prognosi infausta nonostante protocolli di terapia intensiva; i tumori rabdoidi maligni delle parti molli, biologicamente la stessa entità dei *tumori rabdoidi renali e intracranici*, ad andamento aggressivo e sfavorevole nella maggior parte dei casi; i *fibrosarcomi infantili*, tipici della prima infanzia, che presentano comportamento peculiare rispetto alla forma di tipo adulto, con buona sensibilità alla chemioterapia e ottima prognosi nonostante presentazioni apparentemente molto aggressive

alla diagnosi od, infine, i *tumori a malignità incerta*, o intermedia, i cosiddetti tumori *borderline* (come gli emangioendoteliomi), spesso considerati insieme agli altri sarcomi con conseguente difficoltà poi nell'interpretazione dei dati.

La descrizione che segue circa le modalità di trattamento, quindi, è da riferire ai sarcomi “di tipo adulto” ed ai sarcomi sinoviali.

### **Chirurgia**

La chirurgia resta il momento fondamentale del trattamento dei sarcomi pediatrici. Ogni sforzo deve essere quindi fatto per assicurare un trattamento chirurgico che sia radicale (con margini chirurgici liberi) e conservativo (sia in termini anatomici che funzionali) ed in tal senso, l'esperienza del chirurgo è fondamentale. È chiaro però che il possibile ricorso a chemioterapia e radioterapia può in parte modificare non tanto il ruolo quanto estensione e tempi della chirurgia: l'asportazione del tumore, cioè, non deve necessariamente essere il primo momento terapeutico. In caso di tumore localmente avanzato, il chirurgo dovrebbe limitarsi ad un accertamento bioptico, che sarà quindi seguito dall'inizio della chemioterapia (ed eventualmente dalla radioterapia) e dal riconsiderare la chirurgia in seguito. In caso di chirurgia iniziale inadeguata (spesso effettuata con l'ipotesi diagnostica di tumore benigno), è importante il ruolo del reintervento precoce di radicalizzazione. È opportuno ricordare, poi, che se da un lato è vero che la chirurgia non deve essere mai, di scelta, demolitiva, è vero anche che esistono purtroppo situazioni cliniche in cui l'intervento di amputazione può essere l'unica alternativa terapeutica percorribile.

Un concetto di importanza cruciale è quello della definizione di “margini chirurgici adeguati”, cioè quantità e qualità del tessuto sano che circonda il tumore. I margini chirurgici sono definiti liberi da malattia dopo interventi compartimentali (il tumore è rimosso in blocco con il compartimento anatomico in cui è totalmente confinato) o ampi, mentre non sono tali dopo interventi marginali (con sospetti residui microscopici di malattia) o intralesionali. Non c'è consenso su una definizione “metrica” di margine, di “distanza di sicurezza”: può essere però ragionevole considerare come “adeguato” un margine di tessuto sano intorno al tumore superiore a 1 cm in caso di tessuti muscolari o adiposi, mentre in caso di tessuti che agiscono potenzialmente da barriera all'invasività delle cellule tumorali, come

ad esempio periostio, fasce o guaine, il margine può essere considerato sufficiente se superiore a 1 mm (10).

### ***Radioterapia***

Nell'ambito di un approccio terapeutico multidisciplinare, la radioterapia rappresenta una valida arma nel trattamento dei sarcomi delle parti molli. Per i sarcomi dell'adulto, la radioterapia è spesso consigliata non solo in caso di resezione incompleta, ma anche dopo chirurgia ampia, specie in caso di tumori di maggiori dimensione. In età pediatrica è però più rilevante la necessità di porre attenzione alle possibili sequele a lungo termine della radioterapia (ed esempio, la riduzione della crescita delle ossa irradiate, o il rischio di seconde neoplasie indotte) e questo deve essere sempre preso in considerazione al momento di porre o meno l'indicazione al trattamento radiante, in particolare nei pazienti di più giovane età.

Se l'approccio più classico prevede il ricorso alla radioterapia in fase post-operatoria, sempre più frequentemente la radioterapia viene proposta in fase pre-operatoria, insieme alla chemioterapia neo-adiuvante. La radioterapia pre-operatoria può avere potenzialmente la possibilità di favorire la successiva chirurgia differita, riducendo anche il rischio di contaminazione intra-operatoria, utilizzando campi e dosi ridotti. Dosi intorno a 50-60 Gy sono in genere consigliate nei protocolli pediatrici, con l'irradiazione del volume iniziale del tumore e, quando possibile, di un margine di tessuto sano di almeno 2 cm.

Indicazioni assolute alla radioterapia sono i casi di tumore non resecabile o sottoposto a chirurgia marginale, così come i casi di sarcoma ad alto grado di malignità, di dimensioni maggiori di 5 cm, sottoposti a chirurgia ampia. Sono invece indicazioni più dibattute, la radioterapia dopo chirurgia ampia in tumori inferiori a 5 cm, o la radioterapia nei sarcomi a basso grado di malignità (meno sensibili all'irradiazione) (7).

### ***Chemioterapia***

Se il ruolo di chirurgia e radioterapia nei sarcomi delle parti molli è ben consolidato, la potenziale efficacia della chemioterapia resta in forte dubbio e, in genere, i sarcomi delle parti molli dell'adulto, e quindi i sarcomi non-rabdomiosarcoma, sono considerati tumori scarsamente chemiosensibili.

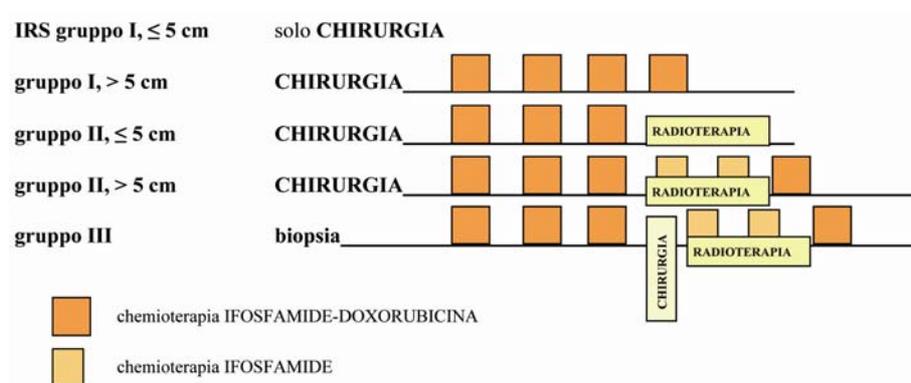
Un'eccezione è sicuramente rappresentata dai sarcomi sinoviali. Per ciò che concerne la chemioterapia, la filosofia di trattamento degli

oncologi pediatri è stata, negli ultimi 20 anni, diversa da quella utilizzata dagli oncologi medici dell'adulto: in relazione a soddisfacenti risposte alla chemioterapia registrate nei bambini e negli adolescenti, i protocolli di oncologia pediatrica hanno incluso i casi di sarcoma sinoviale negli studi clinici del rhabdomyosarcoma, ponendo così indicazione ad esempio alla somministrazione di chemioterapia adiuvante in tutti i casi, anche dopo asportazione completa di tumori di piccole dimensioni (11). Questa strategia terapeutica ha permesso di ottenere risultati significativi, in genere superiori a quelli registrati nei pazienti adulti (12), che ricevevano chemioterapia, solo in casi selezionati o nel contesto di studi clinici randomizzati con braccio di controllo (che includevano tutti i sarcomi delle parti molli). Il parametro di riferimento per i sarcomi sinoviali pediatrici resta la "mini-meta-analisi", coordinata dal M. D. Anderson di Houston, che include tutti i casi pediatrici pubblicati e riporta una sopravvivenza globale a 5 anni dell' 80% ed una risposta alla chemioterapia primaria del 60% (11). Per ciò che concerne il ruolo della chemioterapia adiuvante, è significativo lo studio retrospettivo dell'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano su 271 pazienti di tutte le età: l'analisi evidenzia una forte correlazione tra l'età del paziente, l'uso della chemioterapia adiuvante e la sopravvivenza (13). Più recentemente, anche studi condotti su pazienti in età adulta hanno evidenziato per la chemioterapia un ruolo più significativo di quanto ritenuto in precedenza (14). D'altro canto, un altro elemento importante viene dallo studio del gruppo cooperativo pediatrico italo-tedesco, che identifica un sottogruppo di pazienti (IRS gruppo I, cioè iniziale asportazione completa, e dimensioni < 5 cm) in cui il rischio di metastasi a distanza appare davvero minimo e per i quali è verosimile ritenere che la somministrazione di chemioterapia adiuvante, come effettuato in passato nei protocolli pediatrici, possa essere considerato un *overtreatment* (15).

In sintesi, la chemioterapia gioca probabilmente un ruolo importante nel trattamento dei pazienti con sarcoma sinoviale, che devono però essere sicuramente distinti dai rhabdomyosarcomi. L'attuale strategia terapeutica sembra essere un compromesso tra le precedenti esperienze pediatriche e quelle dell'adulto e sembra permettere finalmente il raggiungimento di un consenso comune tra i vari gruppi, indipendentemente dall'età del paziente. Il regime ifosfamide-doxorubicina viene oggi suggerito come terapia neo-adiuvante in caso di malattia localmente avanzata e in regime adiuvante nei casi a

maggiore rischio (tumori non completamente resecati, o tumori resecati in modo completo, ma con dimensioni > di 5 cm) (Figura 2).

**Figura 2 Stratificazione e trattamento dei sarcomi sinoviali secondo il protocollo europeo pediatrico EpSSG RSTS 2005**



Il ruolo della chemioterapia è invece sicuramente più incerto per gli altri sarcomi “di tipo adulto”. D’altro canto, è vero che un trattamento locale adeguato è in grado di garantire la guarigione solo ad una parte dei pazienti e, in particolare, i tumori ad alto grado di malignità (G3) e dimensioni > 5 cm sembrano essere caratterizzati da una elevata tendenza a sviluppare metastasi a distanza (9). Per questi pazienti, la ricerca di un trattamento sistemico efficace è di vitale importanza.

Il regime chemioterapico ifosfamide-doxorubicina (quando somministrato a dosi piene) sembra essere quello più efficace, in grado di garantire in prima linea una percentuale di risposte intorno al 40%. Il ricorso alla chemioterapia neo-adiuvante appare utile non solo nei casi avanzati, nell’ottica di ottenere una riduzione dimensionale del tumore e quindi, permettere una successiva chirurgia radicale conservativa, ma anche nei pazienti ad alto grado, per trattare precocemente le micrometastasi (dato che in molti casi questi pazienti presentano poi disseminazione a distanza) (9-16).

Inoltre, quando la chemioterapia è somministrata in regime neo-adiuvante, è possibile testare *in vivo* la sensibilità del tumore ai farmaci, ottenendo così un parametro fondamentale per definire l’indicazione ai successivi trattamenti.

L'efficacia della chemioterapia, quando proposta in regime adiuvante nell'ottica di prevenire la comparsa di metastasi a distanza dopo un trattamento locale adeguato, è sempre stato un argomento di controversia nell'ambito dei sarcomi dell'adulto. La maggior parte degli studi randomizzati non ha evidenziato vantaggi significativi per la chemioterapia, ma molti dei risultati storici vanno oggi riconsiderati, alla luce del fatto che questi studi non utilizzavano la chemioterapia oggi considerata essere la più efficace e, inoltre, non prevedevano la selezione dei pazienti a maggior rischio, cioè ad esempio con tumori ad alto grado di malignità o grosse dimensioni e quindi, a maggior probabilità di beneficiare della terapia (17). Tra gli studi di nuova generazione, ed in particolare nello studio dell'*Italian Sarcoma Group* (18), esistono invece dati che suggerirebbero un certo beneficio della chemioterapia adiuvante per i pazienti ad alto rischio. In ambito pediatrico, l'unico studio randomizzato sulla chemioterapia adiuvante condotto dal gruppo cooperativo americano non permise di raggiungere alcun risultato, perché la maggior parte dei pazienti rifiutò la randomizzazione, dimostrando le enormi difficoltà ad effettuare studi di questo tipo, con bracci di controllo senza trattamento, in pazienti pediatrici con malattie rare (19).

Più recentemente, però, due studi retrospettivi pediatrici, uno dell'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano (9) ed uno del gruppo italo-tedesco (20), hanno da un lato nuovamente sottolineato l'elevato rischio di metastasi nei pazienti con tumore ad alto grado e di grosse dimensioni e dall'altro evidenziato un miglioramento della prognosi per i pazienti trattati con chemioterapia adiuvante, pur con i limiti di casistiche retrospettive e di ridotte dimensioni.

In sintesi, il ruolo della chemioterapia in questi tumori rimane dubbio e la sua indicazione resta su base individuale o nel contesto di studi clinici. Tuttavia analisi recenti suggerirebbero che per casistiche selezionate l'efficacia della terapia sistemica potrebbe essere maggiore di quanto ritenuto in passato.

### **5.15 Follow-up**

Dopo la conclusione delle cure, i pazienti con sarcoma delle parti molli devono essere periodicamente seguiti con indagini cliniche e radiologiche. Il significato di questi controlli è duplice: da un lato la possibilità di identificare precocemente possibili riprese di malattia

per poter proporre terapie di salvataggio potenzialmente efficaci. A tale riguardo, le modalità e i tempi degli esami di *follow-up* sono da adattare in funzione del rischio, cioè sono molto diversi in relazione ai fattori prognostici, quali il grado di malignità o le dimensioni del tumore. Dall'altro, il *follow-up* del paziente, soprattutto in età pediatrica, è fondamentale per valutare le possibili sequele tardive legate ai trattamenti (fibrosi, linfedema, riduzione della crescita delle regioni irradiate, danni neuroendocrini, secondi tumori).

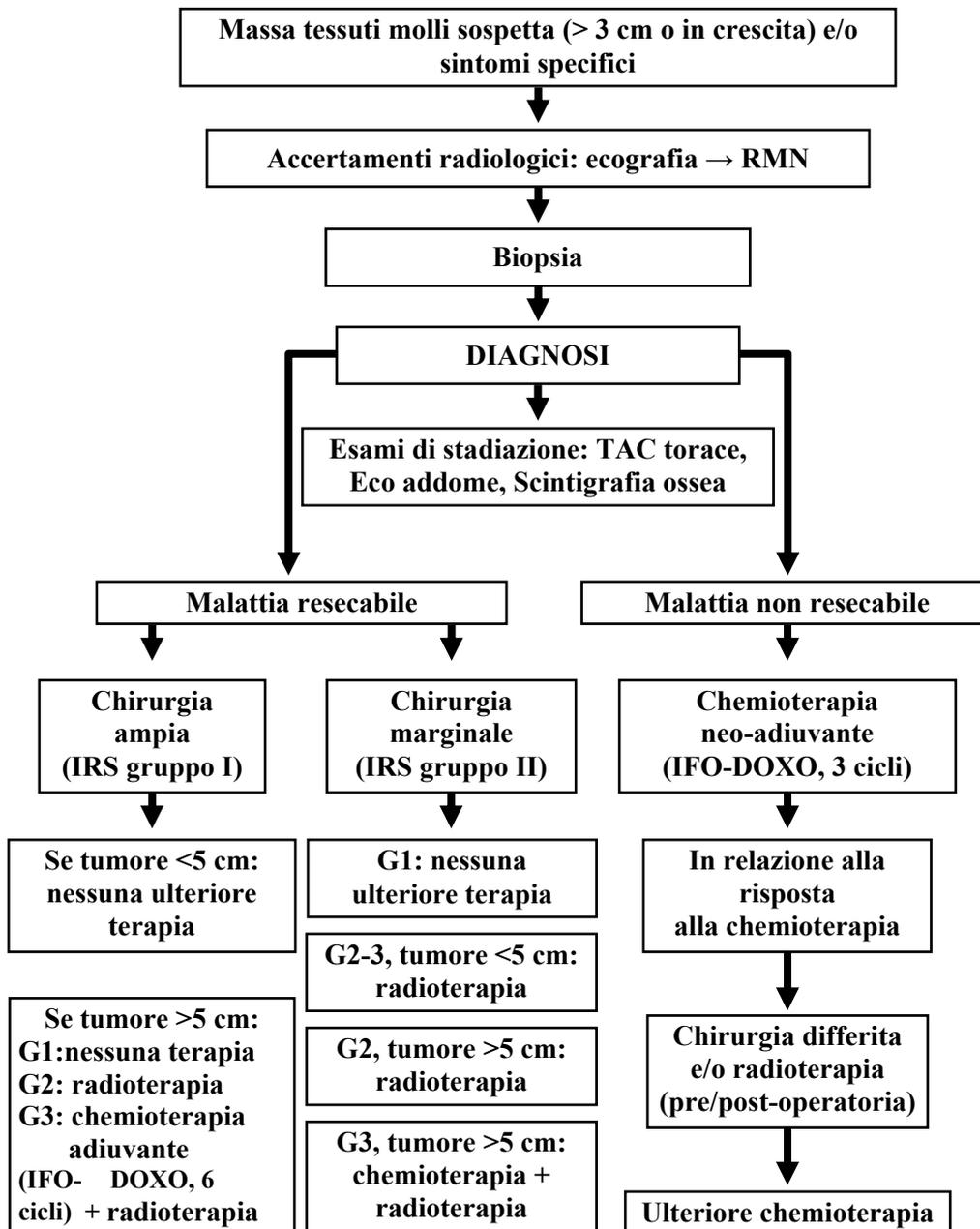
### **5.16 Direzioni future**

I sarcomi delle parti molli, spesso caratterizzati da traslocazioni specifiche, sono possibili bersagli ideali per il trattamento con agenti di nuova generazione, eventualmente mirati ai singoli istotipi. Il successo dell'imatinib mesilato (Glivec) nel trattamento dei tumori gastrointestinali stromali (GIST) ha infatti aperto le porte a studi finalizzati all'identificazione di terapie molecolari mirate, che possano agire contro recettori specifici con ruolo cardine nei meccanismi di duplicazione cellulare.

Nei prossimi anni, la ricerca andrà sempre più nella direzione di possibili agenti terapeutici mirati ai singoli tipi di sarcoma. Già oggi, a parte l'evidenza di una maggiore efficacia della chemioterapia con ifosfamide nei sarcomi sinoviali rispetto agli altri sarcomi dell'adulto, esistono dati relativi al possibile ruolo dei taxani negli angiosarcomi (21), della gemcitabina nel leiomiomasarcoma (22), della trabectedina nel liposarcoma mixoide (23), dell'Imatinib nel dermatofibrosarcoma protuberans (ma anche dati preliminari su inibitori di molecole come mTOR, VEGF ed altre).

Per gli oncologi pediatri, lo sviluppo di terapie mirate alle singole entità sarà possibile solo se essi saranno in grado di potenziare la cooperazione nell'ambito dei gruppi internazionali, ma soprattutto se saranno capaci di migliorare la collaborazione con i gruppi di oncologi medici e biologi esperti di sarcomi dell'adulto.

**SARCOMI DELLE PARTI MOLLI  
NON-RABDOMIOSARCOMI**



Protocollo europeo EpSSG NRSTS 2005 (European pediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group – Non Rhabdomyosarcoma Soft Tissue Sarcomas)  
 IRS: Intergroup Rhabdomyosarcoma Study, G: grado tumorale,  
 IFO-DOXO: ifosfamide-doxorubicina

## BIBLIOGRAFIA

1. Okcu MF, Hicks J, Merchant TE, Andrassy RJ, Pappo AS, Horowitz ME. Nonrhabdomyosarcomatous soft tissue sarcomas. In: Pizzo PA, Poplack DC (eds), *Principles and Practice of Pediatric Oncology 5th ed.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2006; 1033-1073
2. WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of Soft Tissue and Bone. CDM Fletcher, KK Unni and F Mertens eds. *IARC Press, Lyon 2002*
3. Parham DM, Webber BL, Jenkins JJ, Cantor AB, Maurer HM. Nonrhabdomyosarcomatous soft tissue sarcomas of childhood: formulation of a simplified system for grading. *Mod Pathol* 1995; 8(7):705-710
4. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, Vilain MO, Mandard AM, Le Doussal V, Leroux A, Jacquemier J, Duplay H, Sastre-Garau X, Costa J. Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adults patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol* 1997; 15(1):350-362
5. Harmer MH. TNM Classification of pediatric tumors. Geneva, Switzerland, *UICC International Union Against Cancer 1982*; 23-28
6. Maurer HM, Beltangady M, Gehan EA, Crist W, Hammond D, Hays DM, Heyn R, Lawrence W, Newton W, Ortega J. The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-I. A final report. *Cancer* 1988; 61(2):209-220
7. Ferrari A, Casanova M. New concepts for the treatment of pediatric non-rhabdomyosarcoma soft tissue sarcomas. *Expert Rev Anticancer Ther* 2005; 5(2):307-318
8. Ferrari A, Miceli R, Casanova M, Gronchi A, Collini P, Meazza C, Zaffignani E, Massimino M, Spreafico F, Mariani L. Adult-type soft tissue sarcomas in paediatric age: A nomogram-based prognostic comparison with adult sarcoma. *Eur J Cancer* 2007; 43(18):2691-2697
9. Ferrari A, Casanova M, Collini P, Meazza C, Luksch R, Massimino M, Cefalo G, Terenziani M, Spreafico F, Catania S, Gandola L, Gronchi A, Mariani L, Fossati-Bellani F. Adult-type

- soft tissue sarcomas in pediatric age: experience at the Istituto Nazionale Tumori in Milan. *J Clin Oncol* 2005; 23(18):4021-4030
10. Gronchi A, Casali PG, Mariani L, Miceli R, Fiore M, Lo Vullo S, Bertulli R, Collini P, Lozza L, Olmi P, Rosai J. Status of surgical margins and prognosis in adult soft tissue sarcomas of the extremities: a series of 911 consecutive patients treated at a single institution. *J Clin Oncol* 2005; 23(1):96-104
  11. Okcu MF, Munsell M, Treuner J, Mattke A, Pappo A, Cain A, Ferrari A, Casanova M, Ozkan A, Raney B. Synovial sarcoma of childhood and adolescence: a multicenter, multivariate analysis of outcome. *J Clin Oncol* 2003; 21(8):1602-1611
  12. Lewis JJ, Antonescu CR, Leung DHY, Blumberg D, Healey JH, Woodruff JM, Brennan MF. Synovial sarcoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 112 patients with primary localized tumors of the extremity. *J Clin Oncol* 2000; 18(10):2087-2094
  13. Ferrari A, Gronchi A, Casanova M, Meazza C, Gandola L, Collini P, Lozza L, Bertulli R, Olmi P, Casali PG. Synovial sarcoma: a retrospective analysis of 271 patients of all ages treated at a single institution. *Cancer* 2004; 101(3):627-634
  14. Eilber FC, Brennan MF, Eilber FR, Eckardt JJ, Grobmyer SR, Riedel E, Forscher C, Maki RG, Singer S. Chemotherapy is associated with improved survival in adult patients with primary extremity synovial sarcoma. *Ann Surg* 2007; 246(1):105-113
  15. Brecht IB, Ferrari A, Int-Veen C, Schuck A, Mattke AC, Casanova M, Bisogno G, Carli M, Koscielniak E, Treuner J. Grossly-resected synovial sarcoma treated by the German and Italian pediatric soft tissue sarcoma cooperative group: discussion on the role of adjuvant therapies. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(1):11-17
  16. Pappo AS, Devidas M, Jenkins J, Rao B, Marcus R, Thomas P, Gebhardt M, Pratt C, Grier HE. Phase II trial of neoadjuvant vincristine, ifosfamide, and doxorubicin with granulocyte colony-stimulating factor support in children and adolescents with advanced-stage nonrhabdomyosarcomatous soft tissue sarcomas: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2005; 23(18):4031-4038
  17. Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma of adults: meta-analysis of individual data. *Lancet* 1997; 350:1647-1654

18. Frustaci S, Gherlinzoni F, De Paoli A, Bonetti M, Azzarelli A, Comandone A, Olmi P, Buonadonna A, Pignatti G, Barbieri E, Apice G, Zmerly H, Serraino D, Picci P. Adjuvant chemotherapy for adult soft tissue sarcomas of extremities and girdles: results of the Italian randomized cooperative trial. *J Clin Oncol* 2001; 19(5):1238-1247
19. Pratt CB, Pappo AS, Gieser P, Jenkins JJ, Salzbergdagger A, Neff J, Rao B, Green D, Thomas P, Marcus R, Parham D, Maurer H. Role of adjuvant chemotherapy in the treatment of surgically resected pediatric nonrhabdomyosarcomatous soft tissue sarcomas: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1999; 17(4):1219-1226
20. Ferrari A, Brecht IB, Koscielniak E, Casanova M, Scagnellato A, Bisogno G, Alaggio R, Cecchetto G, Catania S, Meazza C, Int-Veen C, Kirsch S, Dantonello T, Carli M, Treuner J. The role of adjuvant chemotherapy in children and adolescents with surgically resected, high-risk adult-type soft tissue sarcomas. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45(2):128-134
21. Fata F, O'Reilly E, Ilson D, Pfister D, Leffel D, Kelsen DP, Schwartz GK, Casper ES. Paclitaxel in the treatment of patients with angiosarcoma of the scalp or face. *Cancer* 1999; 86(10):2034-2037
22. Hensley ML, Maki R, Venkatraman E, Geller G, Lovegren M, Aghajanian C, Sabbatini P, Tong W, Barakat R, Spriggs DR. Gemcitabine and Docetaxel in patients with unresectable leiomyosarcoma: results of a phase II trial. *J Clin Oncol* 2002; 20(12):2824-2831
23. Grosso F, Jones RL, Demetri GD, Judson IR, Blay JY, Le Cesne A, Sanfilippo R, Casieri P, Collini P, Dileo P, Spreafico C, Stacchiotti S, Tamborini E, Tercero JC, Jimeno J, D'Incalci M, Gronchi A, Fletcher JA, Pilotti S, Casali PG. Efficacy of trabectedin (ecteinascidin-743) in advanced pretreated myxoid liposarcomas: a retrospective study. *Lancet Oncol* 2007; 8(7):595-602

## 6.0 TUMORI CEREBRALI

### 6.1 Epidemiologia e fattori di rischio

I tumori del SNC rappresentano, per incidenza, la seconda neoplasia dell'età pediatrica dopo le leucemie. Sono la neoplasia solida più comune nei primi 15 anni di vita e rappresentano il 20-25% di tutte le neoplasie. In tutto il mondo, l'incidenza corrisponde a 2-3 casi/anno/100.000 bambini. In Italia, si ammalano ogni anno tra 400 e 450 bambini, negli Stati Uniti 2400 (1). Un ulteriore numero di ammalati è determinato da patologie benigne e più rare come i craniofaringiomi, gli adenomi pituitari, i meningiomi benigni, i papillomi dei plessi corioidei che si aggiungono con un'incidenza di circa 0,7/100.000. Il 93% di questi tumori ha sede intracranica. Dati recenti provenienti da Europa, Australia, Stati Uniti, indicano che l'incidenza delle neoplasie del SNC è realmente aumentata negli ultimi due decenni (2,3).

Circa la metà dei tumori origina nella fossa posteriore e, tra questi, il medulloblastoma, l'astrocitoma cerebellare, i tumori del tronco encefalico, l'ependimoma ed il tumore teratoide-rabdoide atipico rappresentano i tipi più frequenti. Le lesioni sopra-tentoriali sono altrettanto eterogenee. Nella linea mediana possono insorgere inoltre, il craniofaringioma, i gliomi delle vie ottiche ed i tumori germinali. Nella regione pineale, oltre che i tumori germinali, insorgono anche pineoblastomi, pineocitomi ed astrocitomi. I tumori corticali sono solitamente gliomi, di cui all'incirca i due terzi sono gliomi a basso grado di malignità. Nei bambini al di sotto dei due anni di età possono trovarsi neoplasie più rare ad insorgenza corticale come il ganglioglioma desmoplastico infantile ed il tumore disembrioplastico neuro epiteliale.

Esiste un certo numero di sindromi familiari (4), che comporta un'elevata incidenza di tumori del SNC, come la neurofibromatosi di tipo 1 e 2 (5 < 10%), la sclerosi tuberosa, la malattia di von Hippel-Lindau, la sindrome di Li-Fraumeni e la sindrome di Turcot: a queste sindromi non può essere imputata l'insorgenza di più del 5% dei tumori del SNC.

Altre sindromi genetiche che associano tumori del SNC sono l'atassia-teleangectasia e la sindrome del nevo-basocellulare (sindrome di

Gorlin), causata da una mutazione costituzionale del gene PTCH sul cromosoma 9q22.3, di recente meglio studiata per l'incidenza di un particolare tipo di medulloblastoma, iconograficamente e istologicamente riconoscibile per la presenza di noduli e la differenziazione gliale e per la sua incidenza nella prima infanzia.

Tra i fattori eziologici non genetici, un ruolo dominante ha sicuramente l'irradiazione del cranio che è, talora, ancora impiegata nel trattamento delle leucemie linfatiche acute dell'infanzia e più anticamente (30 anni fa) per il trattamento dermatologico della *tinea capitis*. Molti altri fattori sono stati chiamati in causa e tanto più sono numerosi gli agenti eziologici quanto più difficile è identificarne un ruolo preciso.

La presenza di complessi nitrosi nel cibo è tra i fattori più spesso citati in letteratura, ma senza che ne sia stato determinato un ruolo causale. Lo stesso può dirsi per l'esposizione ai pesticidi, la cui presenza ambientale è talmente elevata da non poter distinguere un'esposizione maggiore dei pazienti rispetto ai controlli e per agenti virali quali il poliomavirus e l'SV40, rilevati come contaminanti nei vaccini anti-polio, ma anche in molti tessuti cerebrali neoplastici e non.

## **6.2 Diagnostica di laboratorio e strumentale**

La Risonanza Magnetica Nucleare (RM) è diventata lo standard diagnostico per i pazienti con sospette neoplasie del SNC ed è inoltre, usata per valutare la risposta del tumore alle terapie. La Tomografia computerizzata (TC) è tuttora di grande importanza per valutare condizioni di emergenza quali idrocefalo, sanguinamenti, raccolte liquorali ed emorragiche o nella valutazione di lesioni calcifiche.

La RM è sicuramente da preferire nelle altre situazioni, in cui occorra una maggiore sensibilità ed è possibile l'acquisizione di immagini multiplanari senza perdere dettagli. Gli agenti paramagnetici come il gadolinio permettono inoltre, l'aggiunta di una valutazione con contrasto con rischi minimi di allergia. Tuttavia, malgrado sia molto sensibile e specifica, la RM non può determinare in modo definitivo diagnosi di patologia ed è comunque necessaria, a questo scopo, l'asportazione del tumore o la sua biopsia. Il campo dello studio delle immagini attraverso RM sta cambiando rapidamente, comunque, con nuove tecniche che aumentano la specificità e riducono i tempi ed i costi dell'esame. L'impiego di tempi brevi è particolarmente

importante nei bambini per ridurre, dove è possibile, la necessità di sedazione. La RM è particolarmente utile nello stabilire la risposta al trattamento e nell'aiutare a porre la diagnosi. In questi casi possono essere di aiuto, anche se non completamente validate, le tecniche di immagine di tipo metabolico come la PET (*Positron Emission Tomography*). I tumori maligni tendono ad essere ipermetabolici nel confronto con i tessuti circostanti, mentre il tessuto necrotico mostra un metabolismo ridotto. Una modalità diagnostica di recente uso e valutazione è la risonanza magnetica con spettroscopia. La spettro-RM è disponibile nelle normali apparecchiature per RM e le aree di interesse possono essere valutate per metaboliti intracellulari differenziando la radio-necrosi tardiva dall'effetto del tumore. Infine, l'*imaging* diagnostico è di estrema importanza per guidare il chirurgo in resezioni senza danni. Per la maggior parte dei tumori, lo scopo della chirurgia è rimuovere quanto più tumore è possibile. L'asportazione del tumore con assistenza stereo- guidata al computer richiede che i dati raccolti con varie tecniche di *imaging* vengano integrati in un sistema tri-dimensionale capace di guidare gli strumenti operatori.

La rachicentesi è esame indispensabile, specialmente negli istotipi maligni, per definire la possibile disseminazione liquorale della malattia attraverso l'esame citologico del liquor e, attraverso la valutazione dell'esame biochimico, le eventuali disfunzioni della circolazione liquorale. Possono essere documentate iperproteorachia, presenza di cellule neoplastiche ed effettuato il dosaggio di marcatori specifici (quali gli antigeni oncofetali, diagnostici per le neoplasie germinali).

### **6.3 Anatomia patologica**

I tumori del SNC vengono classificati sulla base delle loro caratteristiche istologiche. Tuttavia, le recenti acquisizioni citogenetiche e bio-molecolari stanno avendo un ruolo sempre più rilevante nel fornire più precise informazioni diagnostiche e prognostiche.

La classificazione attualmente utilizzata è quella dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). La classificazione OMS (5) attribuisce ad ogni neoplasia un *grading* che rappresenta una scala di malignità biologica e varia dal grado I (tumori benigni) al grado IV (tumori

altamente maligni), mentre il grado II e III rappresentano forme intermedie di malignità.

Le forme più frequenti sono: i gliomi, le neoplasie neuronali, le neoplasie embrionarie ed i meningiomi.

**Gliomi** Derivati dalle cellule gliali, comprendono: astrocitomi, oligodendrogliomi, ependimomi e tumori dei plessi corioidi.

*Astrocitomi.* Sono neoplasie di derivazione astrocitaria, in cui si riconoscono due categorie: le forme localizzate a prognosi relativamente favorevole, che includono l'astrocitoma pilocitico, lo xantoastrocitoma pleomorfo e l'astrocitoma subependimale gigantocellulare e le forme diffusamente infiltranti che, come sottolinea il nome, tendono ad infiltrare il tessuto cerebrale anche a distanza ed a progredire nel tempo, verso gradi maggiori di malignità: questi comprendono l'astrocitoma diffuso, l'astrocitoma anaplastico ed il glioblastoma.

*Astrocitomi localizzati.* L'astrocitoma pilocitico (OMS grado I) insorge tipicamente nei bambini ed in giovani adulti ed è localizzato in genere nel cervelletto, ma può insorgere in altre zone del SNC quali il III ventricolo, le vie ottico/chiasmatiche e meno frequentemente, nei gangli della base o il midollo spinale.

Lo xantoastrocitoma pleomorfo (OMS grado II) è un tumore che colpisce bambini e giovani adulti. Insorge superficialmente, spesso interessando il lobo temporale con una storia di epilessia di lunga durata. L'astrocitoma subependimale gigantocellulare (OMS grado I) è un tumore benigno a lenta crescita, che origina nella parete dei ventricoli laterali ed è composto da cellule grandi di aspetto gangliare con limitata attività proliferativi. Esso è frequentemente parte del quadro sindromico della Sclerosi tuberosa, ma può presentarsi come unica manifestazione.

*Astrocitomi diffusi e Glioblastoma.* Questo gruppo mostra uno spettro progressivo di malignità, che varia da forme ben differenziate di astrocitoma diffuso (OMS grado II) a forme meno differenziate ad alto grado quali l'astrocitoma anaplastico (OMS grado III) e il glioblastoma (OMS grado IV).

L'astrocitoma diffuso (grado II) colpisce prevalentemente gli emisferi cerebrali, ma può insorgere, specialmente in età pediatrica, nel tronco cerebrale o nel midollo spinale.

L'astrocitoma anaplastico (OMS grado III) spesso si sviluppa da astrocitomi diffusi a basso grado. Istologicamente, presenta una

maggiore cellularità, un più marcato pleomorfismo nucleare e mitosi frequenti. Tuttavia, necrosi e proliferazione vascolare sono assenti.

Il glioblastoma (OMS grado IV) è la forma più frequente di neoplasia primitiva cerebrale in età adulta ed è anche la forma più maligna di neoplasia astrocitaria. Istologicamente è simile all'astrocitoma anaplastico con l'aggiunta della presenza di necrosi e proliferazione vascolare o endoteliale. Raro in età pediatrica, il glioblastoma, pur avendo le caratteristiche cliniche del glioblastoma primario, è caratterizzato molecularmente da un'elevata frequenza di mutazione della p53.

*Ependimomi.* Gli ependimomi rappresentano il 6% dei gliomi. Essi derivano dal rivestimento ependimario ed insorgono in prossimità delle strutture ventricolari, compreso il canale midollare spinale.

Nei bambini e nei giovani adulti hanno una localizzazione intracerebrale con una predilezione per il IV ventricolo. Negli adulti prevale la localizzazione intramidollare. La maggioranza degli ependimomi è ben differenziata ed è classificata come grado II OMS; meno frequentemente si osservano segni istologici di anaplasia con numerose mitosi, proliferazione vascolare e necrosi e con comportamento clinico più aggressivo (OMS grado III).

*Tumori dei plessi corioidei.* Derivano dalle cellule specializzate dei plessi corioidei, deputate alla produzione di liquido cefalo-rachidiano. In età pediatrica insorgono prevalentemente all'interno dei ventricoli laterali.

***Neoplasie neuronali e miste glioneuronali*** Gruppo di neoplasie rare e con un decorso clinico generalmente favorevole. Si manifestano preferenzialmente in adolescenti o giovani adulti. Sono neoplasie ben circoscritte, che prediligono come sede il lobo temporale, il pavimento del III ventricolo o l'ipotalamo. Istologicamente, sono costituite da cellule neuronali mature (gangliocitoma) od associate ad una componente gliale (ganglioglioma). A questo gruppo appartengono anche forme più rare quali il neurocitoma, il tumore disembrionoplastico neuroepiteliale (DNET) ed il tumore papillare glioneuronale. Spesso tali lesioni causano epilessia farmaco-resistente di lunga durata.

Una menzione a parte merita l'astrocitoma/ganglioglioma desmoplastico infantile (OMS grado I).

***Neoplasie embrionarie*** Derivano da cellule embrionali primitive. Insorgono tipicamente nei bambini, sono altamente maligne e quindi,

tutte identificate con il grado IV dell'OMS. Istologicamente, sono costituite da cellule indifferenziate di piccole dimensioni con scarso citoplasma. Tuttavia, esse possono dimostrare vari gradi di differenziazione neuronale, gliale od anche mesenchimale.

Le neoplasie embrionarie comprendono il medulloblastoma, i tumori primitivi neuroectodermici (PNET) del SNC ed il Tumore teratoide/rabdoide atipico (AT/RT).

Il *medulloblastoma* per definizione, insorge nel cervelletto a livello del verme e meno frequentemente, interessa gli emisferi cerebellari. È costituito istologicamente, nella variante classica, da cellule indifferenziate piccole, ipercromiche localmente positive per marcatori neuronali. Accanto alla forma classica esistono varianti istologiche importanti ai fini prognostici: il medulloblastoma nodulare/desmoplastico e la forma ad estesa nodularità che si associano, specialmente nei bambini d'età < 3 anni, ad una prognosi più favorevole. Le varianti a grandi cellule ed anaplastica sono, al contrario, particolarmente aggressive e spesso si presentano già disseminate all'esordio. L'alterazione cromosomica più comune nel medulloblastoma è la perdita del braccio corto del cromosoma 17 causata dalla duplicazione del braccio lungo del cromosoma 17 (isocromosoma 17q). Le alterazioni molecolari alla base del medulloblastoma sono quelle che interessano le vie molecolari coinvolte nella morfogenesi del cervelletto, in particolare la via di Sonic Hedgehog (coinvolta nel controllo della normale proliferazione dei granuli cerebellari) e quella di WNT (comprendente APC e beta-catenina). La forma a grandi cellule/anaplastica è caratterizzata molecolarmente da amplificazione dell'oncogene C-MYC.

I *tumori primitivi neuroectodermici* (PNET) del SNC sono così definiti per distinguerli da quelli del sistema nervoso periferico che, pur sovrapponibili istologicamente, presentano caratteristici markers molecolari. I PNET insorgono prevalentemente a livello degli emisferi cerebrali, ma possono colpire anche il tronco ed il midollo spinale.

Il *tumore teratoide/rabdoide atipico* (AT/RT) è una neoplasia embrionaria che predilige in egual misura la fossa cranica posteriore e gli emisferi cerebrali. L'AT/RT presenta un'anomalia molecolare altamente specifica che consiste nella mutazione/delezione del gene INI1 a livello del cromosoma 22q11.2.

*Tumori della regione pineale.* In tale gruppo di neoplasie, quelle che interessano particolarmente l'età pediatrica sono il pinealoblastoma ed

il tumore del parenchima pineale a differenziazione intermedia (OMS grado II/III).

Il *pinealoblastoma* (OMS grado IV) è un tumore embrionario altamente maligno composto da piccole cellule indifferenziate positive per i markers neuronali quali sinaptofisina, neurofilamenti e beta tubulina III.

**Meningiomi** Sono neoplasie che insorgono prevalentemente in età adulta e rappresentano quasi il 20% di tutte le neoplasie primitive intracraniche. I meningiomi possono raramente insorgere anche in età pediatrica. L'alterazione molecolare più frequente è la perdita del cromosoma 22 con delezione/mutazioni del gene NF2. Nei pazienti affetti da neurofibromatosi di tipo 2, in cui tale gene è mutato a livello germinale, si ha un'elevata incidenza di meningiomi, che spesso si presentano in sedi multiple.

#### **6.4 Caratterizzazione biologico-molecolare**

Negli ultimi anni, le tecniche di biologia molecolare e citogenetica molecolare hanno avuto sempre maggiore peso nell'identificazione di alterazioni genetiche tumore-specifiche e di marcatori molecolari di interesse prognostico o terapeutico, influenzando la classificazione isto-patologica delle neoplasie. Nell'ambito dei tumori cerebrali pediatrici, questi risultati sono limitati dalla esigua disponibilità di materiale biologico adeguato e solo recentemente sono state applicate le tecniche più raffinate di analisi genomica.

In ambito biologico, la scoperta recente più rilevante riguarda l'isolamento, anche nei tumori cerebrali pediatrici, di una frazione variabile di cellule (cellule staminali tumorali) geneticamente alterate che posseggono le caratteristiche distintive di specifici precursori neurali presenti nelle diverse sedi cerebrali: l'espressione di specifici marcatori immunofenotipici, i loro profili di espressione di vie di segnale legate allo sviluppo neurale; la capacità di autorinnovamento (*self-renewal*); la capacità di dare origine ad una eterogenea progenie di cellule tumorali (6).

Sono qui di seguito elencate le principali caratteristiche molecolari dei tumori in esame.

**Gliomi ad alto grado** Le più frequenti anomalie dei corrispettivi tumori dell'adulto sono raramente presenti: si osserva una limitata

frequenza di alterazioni dei geni EGFR, TP53, PTEN, p14 e p16. È riportata la attivazione del *pathway* di RAS in pazienti a peggiore prognosi.

***Gliomi a basso grado*** Le anomalie genetiche descritte nei tumori non sindromici sono rare e la maggior parte di questi tumori conserva un cariotipo normale o con singole anomalie numeriche. Alterazioni di TP53 e p16 sono presenti in una minoranza di casi.

***Ependimoma*** Gli ependimomi spinali evidenziano mutazioni del gene NF2, assenti nei tumori intracranici, che pure hanno frequente delezione del cromosoma 22 dove risiede NF2. La perdita di materiale genetico in 17p (ma non TP53) e 6q sono frequenti e potrebbero contenere geni oncosoppressori non ancora identificati. La *gain* di 1q è stata associata a una peggiore prognosi. Analisi di espressione genica hanno evidenziato la attivazione di diversi *pathways* coinvolti nello sviluppo neurale, in particolare NOTCH.

***Tumore teratoide/rabdoide atipico (AT/RT)*** Negli ultimi anni si è dimostrato che questo tumore rappresenta una entità a sé, caratterizzata nel 90% dei casi, da mutazioni inattivanti nel gene oncosoppressore SMARCB1/INI1, codificante un fattore del complesso di rimodellamento della cromatina SWI/SNF.

***Medulloblastoma*** Il coinvolgimento dei *pathways* SHH, WNT, ERBB e MYC in sottogruppi distinti di medulloblastoma sporadico è dimostrato da analisi di espressione e di mutazione. Alcune di queste anomalie sono state identificate anche a livello costituzionale in casi sindromici. Sono state riportate numerose anomalie genetiche ricorrenti, di cui ancora non è stato identificato in maniera definitiva il/i gene/i coinvolto/i, tra cui delezioni in 17p e 6q. Il tumore sPNET (*Supratentorial primitive neuroectodermal tumors*), grazie anche alle recenti indagini molecolari, è oggi considerato un'entità distinta rispetto al medulloblastoma e all'AT/RT, nonostante la frequente somiglianza morfologica (7-13).

## 6.5 Stadiazione

Lo scopo principale della stadiazione è determinare la localizzazione del tumore, la sua estensione, le sue dimensioni e l'eventuale disseminazione subaracnoidea.

Per tutte le neoplasie maligne o potenzialmente tali, la RM diagnostica deve comprendere anche lo studio del midollo con e senza contrasto. Il midollo dovrebbe essere preferibilmente valutato prima dell'intervento chirurgico, al fine di evitare possibili falsi positivi. Le sequenze in T1 danno un buon dettaglio anatomico, ma la differenza tra tessuto normale e patologico è definita dalle immagini in T2 e da quelle in T1, dopo la somministrazione del mezzo di contrasto paramagnetico. Le immagini secondo le sequenze FLAIR (*Fluid Attenuation Inversion Recovery*) e T2 mostrano aree dove la barriera emato-encefalica è rotta e dove vi è infiltrazione neoplastica ed edema.

La valutazione dell'*imaging* post-operatorio nelle prime 48 ore può fornire una valutazione adeguata del volume di tumore residuo, che può avere significato prognostico e determinare la strategia terapeutica, mentre dopo i primi due giorni i cambiamenti post-operatori e la presa di contrasto vicino al letto tumorale possono rendere difficile l'interpretazione di un eventuale residuo neoplastico. L'esame citologico del liquor, al fine di definire le metastasi liquorali, deve essere eseguito tramite puntura lombare ed è preferibile che questo venga fatto dopo due settimane dall'intervento chirurgico. Le metastasi extracerebrali e linfonodali sono estremamente rare. Non esiste una classificazione in stadi unificata per i tumori del SNC.

## **6.6 Trattamento**

La scelta terapeutica dei tumori del SNC non è solo guidata dal tipo di neoplasia, ma anche dalla sede del tumore, dall'età del paziente e dai possibili effetti deleteri del trattamento su un sistema nervoso in evoluzione. Il programma terapeutico comprende sempre la chirurgia primaria, se tecnicamente possibile.

Un trattamento complementare con chemioterapia e/o radioterapia è effettuato sulla base dell'esito della chirurgia e del tipo istologico.

Le difficoltà diagnostiche e terapeutiche comportano la necessità di una pianificazione terapeutica decisa collegialmente da neuroradiologo, neurochirurgo, oncologo pediatra, patologo, radioterapista. I trattamenti multidisciplinari hanno determinato, in Europa, un miglioramento della sopravvivenza a 5 anni dal 57 al 65% per i bambini trattati dal 1983 al 1994, con una riduzione del rischio di morte del 3% per anno (14).

## **Chirurgia**

La chirurgia è indicata nella maggior parte dei casi ed è strumento indispensabile per l'accertamento diagnostico. I bambini dovrebbero essere operati da chirurghi con particolare esperienza in neurochirurgia pediatrica. L'indicazione chirurgica deve tenere conto della presenza di idrocefalo ed il suo trattamento dovrebbe sempre precedere il gesto chirurgico sulla massa tumorale.

L'idrocefalo può essere curato tramite sistemi derivativi o, più recentemente, tramite trattamento endoscopico. L'eventuale comparsa di idrocefalo post-operatorio deve necessariamente imporre un trattamento adeguato tempestivo. Regioni critiche, come il tronco cerebrale, le aree corticali eloquenti, le vie ottiche, necessitano di un approccio combinato che associ la neurofisiologia, la stereotassi e l'*imaging* intra-operatorio, al fine di ottenere un'asportazione chirurgica adeguata con pochi danni neurologici definitivi. I tumori (ad esempio, quelli a cellule germinali) per cui una diagnosi può essere eseguita con criteri neuroradiologici e bioumorali possono non necessitare di approccio chirurgico, se non in casi selezionati.

L'approccio chirurgico è il trattamento principale e, spesso, dalla qualità dell'exeresi dipende la prognosi. Fattori limitanti l'exeresi chirurgica completa sono: alcuni istotipi (ad esempio, gliomi a basso grado infiltranti strutture eloquenti), la disseminazione subaracnoidea, alcune sedi o la particolare estensione della neoplasia. Altre strutture profonde, quali i nuclei della base o i peduncoli cerebellari necessitano di approcci pianificati con ausilio del neuronavigatore. L'exeresi radicale di un tumore della fossa posteriore è possibile nel 70-80% dei casi.

I fattori limitanti l'exeresi radicale di un tumore sopratentoriale sono: l'estensione bilaterale attraverso il corpo calloso e l'invasione di aree eloquenti dimostrate dalla Risonanza magnetica funzionale.

Il microscopio chirurgico, l'endoscopio, il neuronavigatore, la coagulazione bipolare e l'aspiratore ultrasonico hanno profondamente modificato la possibilità di exeresi chirurgica allargata dei tumori cerebrali. Il monitoraggio intra-operatorio, con le misurazioni elettrofisiologiche dei potenziali evocati somatosensoriali e la stimolazione corticale usando elettrodi appoggiati sulla superficie del cervello, può facilitare ed ottimizzare la rimozione del tumore, riducendo la morbilità chirurgica.

Questi perfezionamenti chirurgici hanno ridotto la mortalità operatoria e le sequele neurologiche, così come la neuroanestesia e le

neuroimmagini hanno notevolmente migliorato i risultati a breve ed a lungo termine.

### ***Radioterapia***

Il suo ruolo è quello di impedire le recidive locali e la disseminazione del tumore, dopo il trattamento chirurgico. E' dipendente dall'età del paziente, dall'istologia e dalla biologia del tumore. La radioterapia rimane una modalità terapeutica efficace ed irrinunciabile, fino a quando trattamenti di tipo alternativo, complementari alla chirurgia, non avranno dimostrato la loro equivalente efficacia. Gli effetti collaterali a lungo termine sul cervello nell'età dello sviluppo sono noti da tempo, per questo si cerca di procrastinarla, ove possibile, fino a dopo i 3-5 anni. Attualmente, tutti i pazienti che sono destinati al trattamento radiante sul SNC dovrebbero essere trattati dopo l'attuazione di un piano di trattamento creato con un *software* in grado di utilizzare immagini tri-dimensionali con l'integrazione delle immagini di RM e TC. Le tecniche di alta precisione hanno lo scopo di permettere la guarigione di bambini portatori di minori sequele. La dose reale ricevuta ed il volume coinvolto dipendono da diversi fattori, come l'energia radiante del fascio utilizzato, le dimensioni e la forma del fascio stesso, la forma del cranio, l'accuratezza e la riproducibilità quotidiana della posizione del paziente, le dimensioni della fonte, la distanza tra fonte e paziente, l'uso di filtri, piombi e la configurazione dei collimatori: tutto questo va considerato in dettaglio.

Il termine di "radioterapia conformazionale" si riferisce a qualsiasi tecnica radioterapica che consenta di conformare la distribuzione della dose terapeutica intorno al volume bersaglio tumorale, con una contemporanea riduzione del livello di dose assorbito dai tessuti sani circostanti. La radioterapia conformazionale richiede l'acquisizione di immagini diagnostiche del volume di interesse di elevata qualità, tomografia assiale computerizzata e/o risonanza magnetica nucleare, per delineare con estrema accuratezza l'estensione del volume tumorale ed i suoi rapporti anatomici con le strutture normali circostanti.

La radioterapia conformazionale può essere realizzata adottando diverse tecniche che utilizzano fasci di raggi X (fotoni), quali la radioterapia conformazionale tridimensionale a fasci fissi, la radioterapia stereotassica ad archi multipli e la radioterapia a modulazione d'intensità (IMRT). Un altro nuovo e promettente

approccio è quello che sfrutta le peculiari caratteristiche fisiche degli adroni, in particolare dei fasci di protoni, per aumentare la conformazionalità dell'irradiazione incrementando il risparmio dei tessuti sani.

A seconda del tipo istologico, il volume da irradiare può corrispondere solo al letto tumorale stesso o al tumore assieme al nevrasso. L'irradiazione viene effettuata in frazioni giornaliere da 1,6 Gy a 1,8 Gy, 5 giorni alla settimana. L'iperfrazionamento (più di una frazione al giorno con dose ridotta per singola frazione a 1-1,3 Gy ed intervallo di 6-8 ore), che è una tecnica non convenzionale attuata in studi clinici controllati, ha lo scopo di aumentare la dose radiobiologica efficace riducendone gli effetti collaterali sui tessuti sani. La possibilità di omettere e ridurre dosi e campi di radioterapia è legata al tipo istologico del tumore, alla sua estensione, alla risposta al trattamento farmacologico effettuato e all'età del paziente.

Il trattamento impone un'immobilità assoluta, ottenuta di solito conquistando la fiducia del bambino con spiegazioni semplici e chiare ed eventualmente, con l'ausilio di mezzi meccanici contenitivi. Talvolta si ricorre a una premedicazione con benzodiazepine o fenotiazinici, eccezionalmente ad una breve anestesia generale. Va ricordato che in linea di massima il tempo che occorre per attuare un trattamento radiante in un bambino è circa il doppio di quello necessario per un adulto.

### ***Chemioterapia***

Gli studi clinici continuano a dimostrare che l'efficacia della chemioterapia nei tumori cerebrali è inferiore a quella ottenuta nei tumori solidi di altre sedi. I farmaci che passano più facilmente la barriera ematoencefalica sono liposolubili, si ionizzano poco e si legano poco alle proteine. La barriera non è comunque uniformemente intatta, ma esistono diversi gradi di discontinuità. I farmaci più utilizzati sono le nitrosouree, la vincristina, la procarbazine, i derivati del platino, le epipodofillotossine, il methotrexate ad alte dosi ed altri antimetaboliti. Tra i farmaci attualmente studiati occorre ricordare la temozolomide, che ha una buona biodisponibilità se assunta per via orale ed è gravata da mielodepressione modesta. Alcune variabili influenzano l'attività della chemioterapia. Esistono protocolli che fanno precedere la chemioterapia alla radioterapia il più precocemente possibile dopo la chirurgia, nell'ipotesi che le alterazioni anatomiche post-operatorie possano permettere un passaggio migliore dei farmaci

attraverso la barriera emato-encefalica. L'uso degli steroidi sembra ridurre la penetrazione dei farmaci, mentre dosi elevate di radioterapia sembrano incrementare il trasporto transcappillare. La chemioterapia intratecale ed intraventricolare utilizza prevalentemente il methotrexate e la citarabina, ma anche l'etoposide ed il tiotepa sono somministrabili endorachide. Alcuni gruppi utilizzano, come terapia post-chirurgica dei gliomi ad alto grado ed in altre neoplasie a prognosi sfavorevole per istotipo, stadio o età del paziente, la chemioterapia ad alte dosi seguita da trapianto di cellule staminali periferiche o midollo autologo. Il superamento del più importante problema legato alla chemioterapia, la barriera emato-encefalica, è in fase di studio e la strategia per superarla consiste nel deposito diretto del farmaco all'interno del letto tumorale. L'instillazione diretta della chemioterapia è stata inoltre adottata nelle cisti recidive del craniofaringioma, prima della loro asportazione o dell'irradiazione.

### ***Trattamento biologico***

La caratterizzazione di nuove vie di trasduzione del segnale, implicate nella genesi e progressione di tumori del SNC, ha dato origine ad una pletera di nuovi farmaci ed approcci terapeutici per quelle neoplasie che non rispondono ai trattamenti convenzionali. I nuovi agenti coinvolti comprendono: inibitori specifici (*small molecules*), anticorpi monoclonali (moAb) e farmaci antiangiogenici. La maggior parte dei dati sull'efficacia e la tossicità di questi farmaci deriva, per il momento, da studi clinici in gliomi maligni ricaduti ed in progressione dell'adulto.

Gli studi clinici di fase I/II, alcuni dei quali in corso, hanno mostrato che i trattamenti con inibitori specifici e moAb presentano una modesta tossicità, associata ad una non ancora sicura efficacia terapeutica associata ad una modesta tossicità. Inibitori di tirosina-kinasi come ZD1839 (gefitinib) e OSI-774 (erlotinib) sono stati usati in studi preclinici dei tumori cerebrali dell'età pediatrica. Queste molecole sono inibitori specifici del EGFR, capaci di competere con l'ATP nel legame con il dominio tirosina-kinasico. Attualmente, nella terapia dei gliomi maligni, studi clinici stanno testando la loro efficacia sia in monoterapia che in combinazione con altri chemioterapici come la temozolomide (TMZ). Lo STI-571 (imatinib mesylate o Gleevec) è stato il primo inibitore specifico delle tirosina-kinasi ad essere stato studiato ed usato come radiosensibilizzante in studi su modelli sperimentali di glioblastoma murino. Tale inibitore

sembra diminuire il tasso di crescita tumorale; inoltre, studi clinici del glioblastoma dell'adulto hanno mostrato che l'imatinib in combinazione con l'idrossiurea aumenta la sopravvivenza. Nonostante i primi risultati siano incoraggianti, dati sperimentali recenti mostrano che questi inibitori attraversano con difficoltà la barriera emato-encefalica (BEE) e sono inoltre substrati della glicoproteina-P (resistenza multi-farmaco, MDR) (15,16).

Gli immunosoppressori, rapamicina ed i suoi analoghi, CCI-779 (temserolimus) e RAD001 (everolimus), agiscono attraverso l'inibizione della molecola mTOR. Studi condotti su xenotrapianti di medulloblastoma e glioblastoma hanno mostrato che questi agenti sono in grado di legarsi a mTOR, inibendone l'attività tirosin-kinasica e compromettendo quindi la crescita cellulare. Uno studio clinico di fase II condotto su recidive di glioblastomi, trattate con temserolimus, ha mostrato che questo tipo di approccio è ben tollerato e capace di ritardare il tempo della progressione tumorale (17).

Una spiccata farnesilazione della molecola Ras, meccanismo dovuto ad un'iperattività della farnesyl transferasi, è una caratteristica comune a molti tumori, compresi quelli del SNC. Due molecole, R111577 (tipifarnib) e SCH66336 (lofarnib), inibitori della farnesyl transferasi, sono capaci di bloccare la crescita incontrollata (*over-growth*) cellulare attraverso l'inibizione della via di trasduzione del segnale RAS/MAPK. Questo tipo di molecole, a bassa tossicità, ha mostrato una certa attività nella terapia dei gliomi maligni (18).

I risultati soddisfacenti, ottenuti con la terapia con anticorpi monoclonali (moAb) in alcuni tumori ad alto rischio, stanno fornendo informazioni significative per lo sviluppo di nuovi moAb specifici contro bersagli critici della cellula tumorale SNC e l'uso recente di anticorpi umanizzati ha contribuito ad aumentare la loro efficacia terapeutica. Dati sperimentali e clinici sono stati ottenuti con bevacizumab, moAb umanizzato che blocca la neovascolarizzazione attraverso il legame con il VEGF, cetuximab, moAb chimerico diretto contro l'EGFR, trastuzumab, moAb che colpisce erbB2/HER-2 e più recentemente IMC-1C11, che blocca il VEGFR-2. Gli studi clinici di terza linea in corso, che usano moAb, studiano l'espressione dell'antigene bersaglio sulle cellule tumorali. Rispetto a terapie consolidate che utilizzano solo radioterapia o radio/chemioterapia, alcuni moAb contro EGFR, sperimentati nella terapia di tumori cerebrali sia in vivo che in vitro, hanno comunque mostrato benefici in termini di sopravvivenza. Nimotuzumab (hR3), moAb specifico per il

dominio tirosino-kinasico del EGFR, ha stabilizzato la malattia in 9 su 14 pazienti con glioma del tronco encefalico, senza presentare alcun effetto collaterale per i pazienti. Un analogo murino contro EGFR, EMD 55900, non ha comunque mostrato alcuna efficacia in uno studio condotto sui gliomi ad alto grado (15,19).

Hanno mostrato risultati soddisfacenti, in termini di sopravvivenza e tollerabilità, gli studi condotti su glioblastomi ricaduti dell'adulto, trattati con bevacizumab e irinotecan, aumentando l'interesse per la terapia antiangiogenica. Lo scopo della terapia antiangiogenica è quello di bloccare il processo di neovascolarizzazione ed il flusso di sangue, ricco di nutrienti, al tumore; la formazione di nuovi vasi è un evento necessario quando una massa tumorale supera il diametro di 2 mm. Il trattamento antiangiogenico deve essere ottimizzato con una completa caratterizzazione del profilo tumorale pro-angiogenico, attraverso l'immunistochemical, di CD31, CD34 o del FVIII, marker di vascolarizzazione per la *microvessel density* o la presenza di fattori pro-angiogenici come VEGF, EGF, PDGF, bFGF o l'attività della COX-2 (20).

Recentemente, è stato proposto uno studio clinico per i tumori pediatrici non responsivi, come ependimomi anaplastici o medulloblastomi recidivati; il protocollo prevede la somministrazione giornaliera di talidomide e celecoxib associata a basse dosi di chemioterapici come etoposide e ciclofosfamide. Un potente analogo della talidomide, Revlimid®, è attualmente allo studio in un protocollo clinico pediatrico di fase I. TMZ associata a rofecoxib è risultata una buona combinazione, come terapia di terza linea, per pazienti con glioblastoma (17,18,20).

La maggior parte di questi nuovi farmaci richiederà ulteriori sperimentazioni cliniche per stabilire sia il regime ottimale come singoli agenti o in combinazione, che per conoscerne il potenziale aggiuntivo o gli effetti sinergici.

### **6.7 Follow-up**

Attualmente, oltre la metà dei bambini che si ammalano di tumori cerebrali ha la possibilità di guarire e diventare adulto. Tuttavia, il prezzo della guarigione è spesso elevato in termini di sequele che si manifestano in deficit neuro-cognitivi, endocrino-metabolici e dell'accrescimento somatico. Gli aspetti di prevenzione, riabilitazione

e correzione di tali deficit sono oggi parte integrante del piano terapeutico a cui questi bambini vengono sottoposti.

*Problemi neuropsicologici.* Il trattamento per tumore in età infantile determina una serie di alterazioni neurocognitive caratterizzate principalmente da deficit di attenzione, di memoria e rallentamento del processamento delle informazioni: queste problematiche determinano secondariamente una diminuzione del livello cognitivo: a 5 anni dalla diagnosi il 71% dei pazienti presenta un quoziente intellettivo  $QI < 70$  e problemi di apprendimento in età scolare. Lo sviluppo cognitivo dei bambini con esiti di tumore cerebrale può essere influenzato da due categorie di fattori: deficit causati dal tumore in sé e dalla sua localizzazione, deficit indotti dalle terapie, che aggravano gli effetti secondari della patologia primaria.

La localizzazione del tumore è un fattore cruciale che causa deficit elettivi che dipendono dall'area coinvolta. I trattamenti oncologici (radioterapia e chemioterapia) possono contribuire alla determinazione di deficit neuropsicologici intellettivi complessi. In particolare, la radioterapia contribuisce alla comparsa di queste problematiche, che si manifestano in genere tre anni dopo la fine delle terapie, raggiungendo un picco dopo 1-3 anni, per poi mantenere un persistente andamento decrescente, seppur meno drastico. La compromissione cognitiva appare decisamente più grave nei pazienti che hanno subito la radioterapia in età  $< 3$  anni; infatti, nonostante la plasticità cerebrale propria dell'età, nel bambino non sono ancora evolute le funzioni basiche, che sono condizione necessaria di ogni ulteriore sviluppo. Ai danni immediati del tumore cerebrale (sede/dimensione/istologia della neoplasia), quindi, si aggiungono danni a lungo termine dovuti all'impatto degli interventi oncologici su un sistema in evoluzione, che possono determinare un ritardo negli apprendimenti.

I principali fattori di rischio sono: tipologia e sede del tumore cerebrale, danni conseguenti all'intervento neurochirurgico, idrocefalo, età al momento della diagnosi, radioterapia, chemioterapia (metotrexate), crisi epilettiche, compromissione sensoriale e motoria, sesso, fase di sviluppo delle strutture cerebrali, sviluppo funzionale cognitivo, stimolazioni ambientali ricevute.

Per inquadrare questi problemi, e conseguentemente individuare eventuali bisogni riabilitativi, è necessario procedere con la raccolta anamnestica dei dati clinici relativi al periodo pre-perinatale, alle tappe di acquisizione dello sviluppo psicomotorio, al curriculum scolastico, alle capacità sociali e all'ambiente socio-culturale. I dati

anamnestici relativi al periodo pre/peri/post-intervento neurochirurgico permettono di quantificare gli eventi di tipo medico occorsi prima della diagnosi di neoplasia cerebrale, i deficit neurologici preesistenti, gli eventi peri- e post-operatori. Sono inoltre indispensabili la valutazione clinica con esame neurologico, fisiatrico, oculistico ed otorinolaringoiatrico; la valutazione del decorso clinico e della qualità della vita; PPSC (*Play Performance Scale for Children*); FIM (*Functional Independence Measure*) e Wee-FIM Scales (*Functional Independence Measure for Children*).

Nello specifico, la valutazione delle funzioni cognitive deve essere effettuata mediante applicazione di test standardizzati che consentono la comparazione delle prestazioni a differenti età ed una associazione tra i risultati e danno di specifiche aree cerebrali.

Per i pazienti in età scolare, è necessario analizzare anche le competenze scolastiche, con valutazione della lettura, della scrittura e delle abilità matematiche; le prove da somministrare devono essere individuate in base alla classe frequentata e al livello cognitivo del paziente.

Al termine della valutazione, in base ai deficit rilevati delle funzioni neuropsicologiche e delle abilità scolastiche, possono essere individuati gli obiettivi prioritari e le tecniche di intervento di un eventuale programma riabilitativo.

*Conseguenze psicologiche e comportamentali.* I problemi psicologici e comportamentali in pazienti che hanno subito interventi per tumore cerebrale in età evolutiva sono prevalentemente caratterizzati da disturbi quali ansia e depressione, con una tendenza al ritiro, alla chiusura e all'isolamento relazionale ed una conseguente compromissione dell'adattamento e della competenza sociale. Raramente, e quasi esclusivamente in fase di trattamento oncologico ed in età molto precoce, si osservano distorsioni comportamentali quali aggressività e comportamenti oppositivi. La valutazione di questi problemi, operata con diversi strumenti, ha permesso di identificare una frequenza molto variabile dal 25% al 93% dei casi.

L'eziologia dei disturbi psicologici e comportamentali è ancora incerta e certamente multifattoriale: si manifestano come conseguenza indiretta della patologia stessa ovvero come reazione psicologica alla diagnosi, ai trattamenti o ad altri eventi dolorosi legati alla malattia. Diversi fattori, alcuni più strettamente demografici (sesso, età, età all'insorgenza della malattia, fattori familiari e sociali) ed altri più strettamente clinici (sede e tipo di neoplasia, trattamenti oncologici,

limitazioni e problematiche residue), così come le caratteristiche psicologiche premorbose del bambino e dei suoi familiari, possono concorrere alla definizione del quadro psicologico di ogni paziente.

Anche la comunicazione al bambino riguardo della diagnosi e, più genericamente, della malattia e la sua conseguente consapevolezza al riguardo concorrono e in maniera importante, insieme ai diversi fattori dapprima considerati, all'insorgenza e alla definizione dei problemi psicologici e comportamentali individuati.

La valutazione dei problemi psicologici viene effettuata sia mediante osservazione del comportamento spontaneo che somministrazione di scale standardizzate (21-24).

*Alterazioni endocrine nei pazienti pediatrici portatori di tumori cerebrali primitivi.* Sono frequenti, possono insorgere precocemente ed interessare numerosi sistemi endocrini e differenti metabolismi. Il manifestarsi di una particolare endocrinopatia dipende da fattori diversi, che includono la sede e la velocità di crescita della neoplasia, le terapie antineoplastiche instaurate e le eventuali patologie associate e concomitanti.

In breve, le neoplasie che originano lungo la linea mediana si accompagnano a deficit endocrini più estesi e marcati. Tipico in questo senso è il manifestarsi di diabete insipido, come segno d'esordio di neoplasie germinali e del craniofaringioma. Al contrario, le neoplasie sovratentoriali difficilmente comportano alterazioni endocrine e, in questi pazienti, le endocrinopatie sono per lo più secondarie ai trattamenti, mentre i frequenti deficit ormonali che si osservano nel caso di neoplasie della fossa posteriore (medulloblastoma, ependimoma) sono quasi esclusivamente conseguenza delle terapie adottate: in primo luogo, della radioterapia, ma come di recente evidenziato, anche del tipo di approccio chirurgico e delle possibili alterazioni vascolari e neuroendocrine ad esso secondarie.

Il deficit d'accrescimento costituisce la manifestazione più frequente nei bambini con neoplasie cerebrali. Rallentamenti nella crescita, seguiti da una fase di recupero più o meno completa, si osservano pressoché costantemente e sono legati alle terapie (in corso di chemioterapia, se con regimi prolungati ed intensivi), all'ospedalizzazione ed a deficit nutrizionali di diversa gravità. Tuttavia, la perdita definitiva del potenziale di crescita è un evento di comune riscontro in questi bambini e può essere sostenuto da un deficit di produzione di ormone della crescita (GH), dall'irradiazione dei corpi vertebrali (irradiazione cranio-spinale adottata nei

medulloblastomi ed in taluni tumori germinali) e dalla precoce saldatura delle cartilagini di accrescimento (pubertà precoce). Nella genesi dei deficit staturali la radioterapia svolge un ruolo patogenetico centrale. A questo proposito, si ricorda che tanto più precoce ed intensa è la sua adozione tanto più marcate ed anticipate saranno le alterazioni endocrine. Per dosi erogate  $> 30$  Gy a livello ipofisario, il deficit di GH (GHD) si manifesta entro 5 anni in quasi la totalità dei pazienti, ma la sua carenza si rende evidente in circa i due terzi dei casi anche per dosi inferiori. La diagnosi di GHD si avvale di criteri diagnostici che considerano i dati auxologici e la determinazione delle concentrazioni basali di IGF-1 e di GH dopo stimolo provocativo. La correzione del deficit di GH, oltre a consentire, nella maggior parte dei pazienti, il recupero della crescita, determina anche altri benefici (miglioramento delle *performance* neuro-cognitive, incremento della forza muscolare con riduzione e redistribuzione della massa grassa, aumento della massa minerale scheletrica, ecc.), per cui nel percorso riabilitativo la terapia sostitutiva con GH deve essere considerata come uno strumento importante per migliorare la qualità di vita dei pazienti. Frequenti sono anche i deficit tiroidei, che si possono manifestare precocemente come ipotiroidismi centrali, più costantemente nell'ambito di un più ampio panipopituitarismo (tumori della linea mediana) oppure più tardivamente come forme periferiche secondarie alla radioterapia dall'esterno (tumori della fossa cranica posteriore). In quest'ultima situazione, la patologia nodulare tiroidea non è infrequente e merita di essere attentamente considerata e controllata alla luce della nota azione carcinogenetica esercitata dalle radiazioni ionizzanti.

Con frequenza simile a quelli tiroidei si riscontrano i deficit della funzione gonadica. Ipogonadismi di origine centrale, con amenorrea primaria nella femmina e mancato sviluppo puberale nel maschio, sono di riscontro soprattutto in associazione ad altri deficit della funzione ipotalamo-ipofisaria. Deficit periferici della funzione gonadica secondari a regimi di chemioterapia adottati nel paziente in fase peri-puberale sono altrettanto frequenti, configurando spesso quadri misti di ipogonadismo di non agevole inquadramento diagnostico e terapeutico. L'insorgenza di pubertà precoce costituisce un evento di particolare gravità in questi pazienti e questo, non solo per i risvolti relativi al mancato raggiungimento di un'altezza definitiva ottimale, ma anche, e soprattutto, per le ricadute psicologiche e sulla qualità di vita del paziente e del suo ambito

familiare. L'evento non è frequente, ma è scarsamente prevedibile sulla base della storia oncologica del paziente, anche se è riconosciuto un ruolo causale alla radioterapia, per cui deve essere sempre sospettato nel bambino che presenta una crescita in apparenza più che soddisfacente e con età ossea anche solo lievemente avanzata. Quadri di pseudo-pubertà precoce possono rappresentare i sintomi ed i segni d'esordio di una neoplasia germinale secernente gonadotropina corionica (HCG).

Il deficit cortico-surrenalico è il meno frequente tra le manifestazioni di panipopituitarismo e, nello stesso tempo, è di difficile individuazione.

Lo scheletro è particolarmente vulnerabile nei pazienti pediatrici con neoplasie cerebrali e deficit di mineralizzazione ossea sono spesso evidenti. Infatti, fattori di tipo iatrogeno (chemioterapia, radioterapia spinale, cortisonici, anti-convulsivanti), endocrinologico (carenze di GH, di ormoni gonadici e tiroidei), nutrizionale (ridotto apporto di calcio e proteine) e fattori legati alla ospedalizzazione (diminuita attività fisica e ridotta sintesi di vitamina D) influiscono negativamente sul processo di mineralizzazione.

Da ultimo, meritano di essere menzionate le *alterazioni del peso corporeo e la sindrome metabolica*. Sono soprattutto pazienti con neoplasie che hanno interessato la linea mediana ed in particolare la regione ipotalamica, nei quali è ipotizzabile un danno dei centri coinvolti nella regolazione del comportamento alimentare o, comunque, del bilancio energetico. In questi soggetti, l'aumento del peso corporeo si accompagna in maniera praticamente invariabile alla presenza più o meno completa delle alterazioni che configurano la sindrome metabolica (insulino-resistenza, ipertrigliceridemia, ridotte concentrazioni di HDL, ipertensione arteriosa) (25-27).

## **6.8 Direzioni future**

Grazie ai progressi compiuti nel campo delle terapie mirate, traguardi interessanti stanno per essere raggiunti per la cura dei tumori SNC. La prospettiva di alternative terapeutiche più promettenti, associate ad una minor tossicità rispetto alle terapie tradizionali, riflette il progresso nella conoscenza, a livello molecolare, della biologia dei tumori SNC.

Da alcuni anni, le nuove biotecnologie come i *microarray* hanno permesso di definire molecolarmente vie di trasduzione per ogni

singola lesione tumorale; il profilo molecolare dei *pathway* cellulari, come quello della crescita o del segnale, permette di identificare i geni bersaglio coinvolti nella genesi e nella progressione tumorale; inoltre, l'impronta molecolare può giocare un ruolo rilevante nella caratterizzazione della sensibilità o resistenza farmacologica.

Le nuove tecnologie di genomica e proteomica stanno fornendo enormi quantità di dati in termini di espressione di molecole chiave per la crescita e progressione del tumore, anche se, questi importanti risultati rimangono di difficile interpretazione senza l'ausilio di uno specialista bioinformatico e di una corretta standardizzazione e riproducibilità dei dati.

Nei tumori SNC più aggressivi, molti agenti antitumorali agiscono sul singolo clone neoplastico, ma in nessun modo sulla cellula staminale tumorale che è resistente alle terapie consolidate (28).

La cellula staminale tumorale è localizzata in un microambiente perivascolare ricco di fattori autocrini e paracrini, che ne permettono la sopravvivenza illimitata. Un possibile *target* è l'inibizione della via di trasduzione mediata da NOTCH, che depleta le cellule staminali, come mostrato in recenti studi condotti su modelli di tumore SNC embrionale (29,30).

I prossimi studi clinici controllati prevedono la quantificazione tumorale e sierica, attraverso l'immunoistochimica, di importanti fattori come VEGF, bFGF e PGE, permettendo di allestire così la terapia più appropriata, massimizzando l'efficacia e la bassa tossicità di questo tipo di approccio (31).

Il principale ostacolo della chemioterapia sistemica, nella cura dei tumori SNC, è rappresentato dalla barriera emato-encefalica, che impedisce il passaggio di molecole più grandi di 180 kD; il potenziale chemioterapico può essere inoltre abbassato dalla ridotta frazione di crescita di alcune forme tumorali, dal meccanismo di riparazione del danno indotto dai chemioterapici e dall'*uptake* del farmaco, che è basso nei tumori SNC, specialmente nelle forme più aggressive. I nuovi approcci terapeutici locali potrebbero permettere di superare l'ostacolo rappresentato dalla BEE e di agire localmente riducendo drasticamente gli effetti collaterali della terapia sistemica (32).

La CED è la microinfusione ad alto flusso a pressione positiva all'interno del parenchima cerebrale. Il gradiente di pressione mantenuto durante il flusso offre la possibilità di diffondere nel parenchima molecole anche di grosse dimensioni, raggiungendo un'elevata concentrazione locale.

Gli studi di oncogenomica stanno caratterizzando numerosi bersagli molecolari che potranno essere utilizzati, nel futuro prossimo, per allestire terapie mirate con nuovi farmaci specifici che possiedono una maggior selettività tumorale e, quindi, riducono la tossicità dei chemioterapici convenzionali. L'avvento di nuovi agenti antitumorali avrà inoltre importanti conseguenze sulle terapie personalizzate ed il monitoraggio dell'espressione genica darà nuove informazioni su molti aspetti di tumori aggressivi come i gliomi maligni, i medulloblastomi e gli ependimomi. Lo sviluppo di nuove molecole antitumorali sarà probabilmente accelerato sia dalla caratterizzazione di nuovi bersagli farmacologici che dalla selezione di pazienti con specifici profili di espressione genica tumorale (33).

**TUMORI CEREBRALI**

Alterazioni neuroendocrine

Segni di ipertensione endocranica (cefalea, vomito, edema della papilla)

Sospetta neoplasia cerebrale

Segni neurologici focali (ataxia, deficit nervi cranici, deficit di marcia, epilessia)

Studi di immagine del sistema nervoso centrale  
RM encefalo, preferibilmente con RM spinale  
TC nei casi in cui non si disponga di RM

Non evidenza di neoplasia

Tumore cerebrale

Controllo clinico

Valutazione secondo la sede della lesione

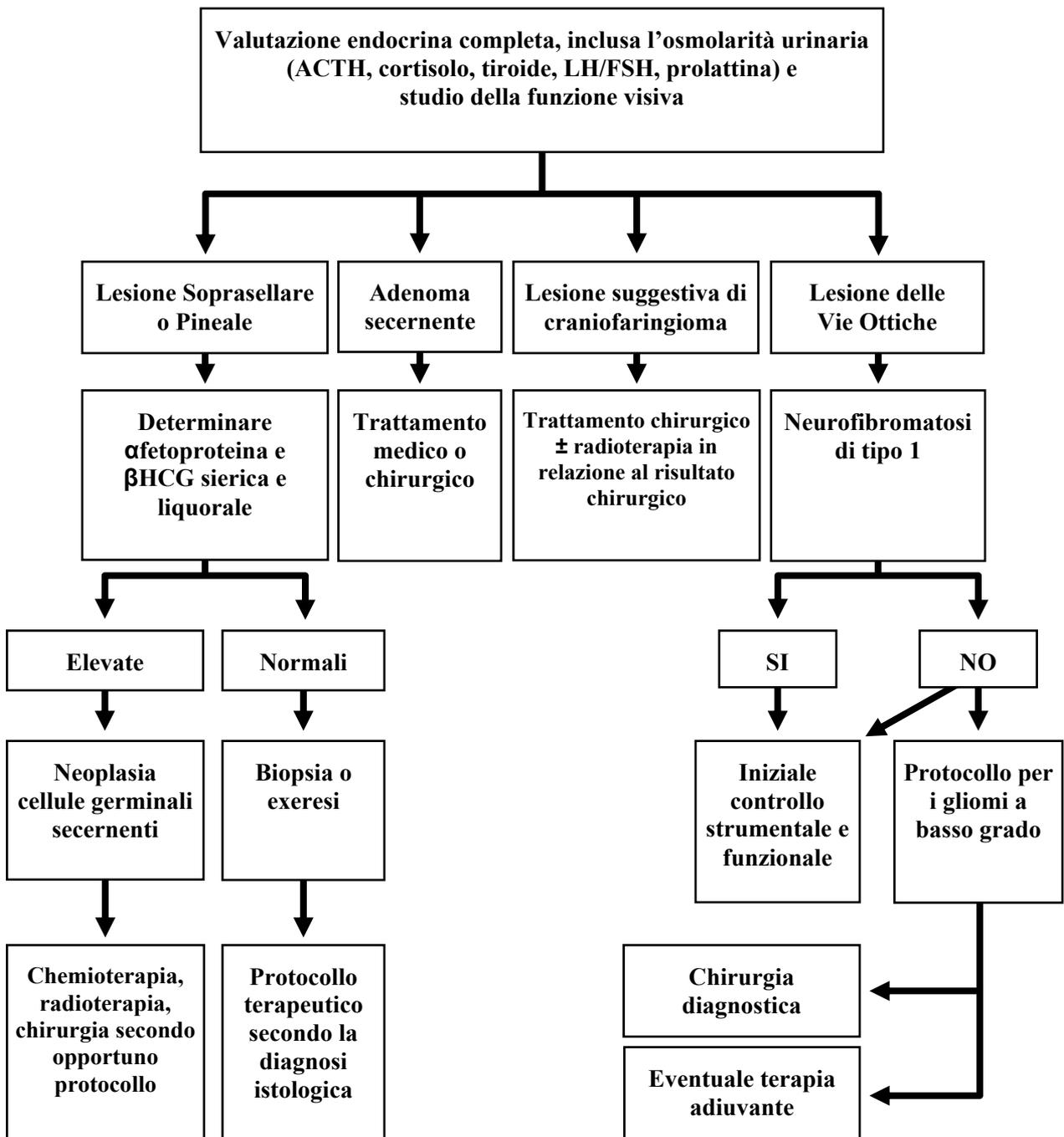
In caso di *Idrocefalo* considerare provvedimento urgente di derivazione liquorale e avviare desametazone

Lesione Pineale, Soprasellare o delle Vie Ottiche

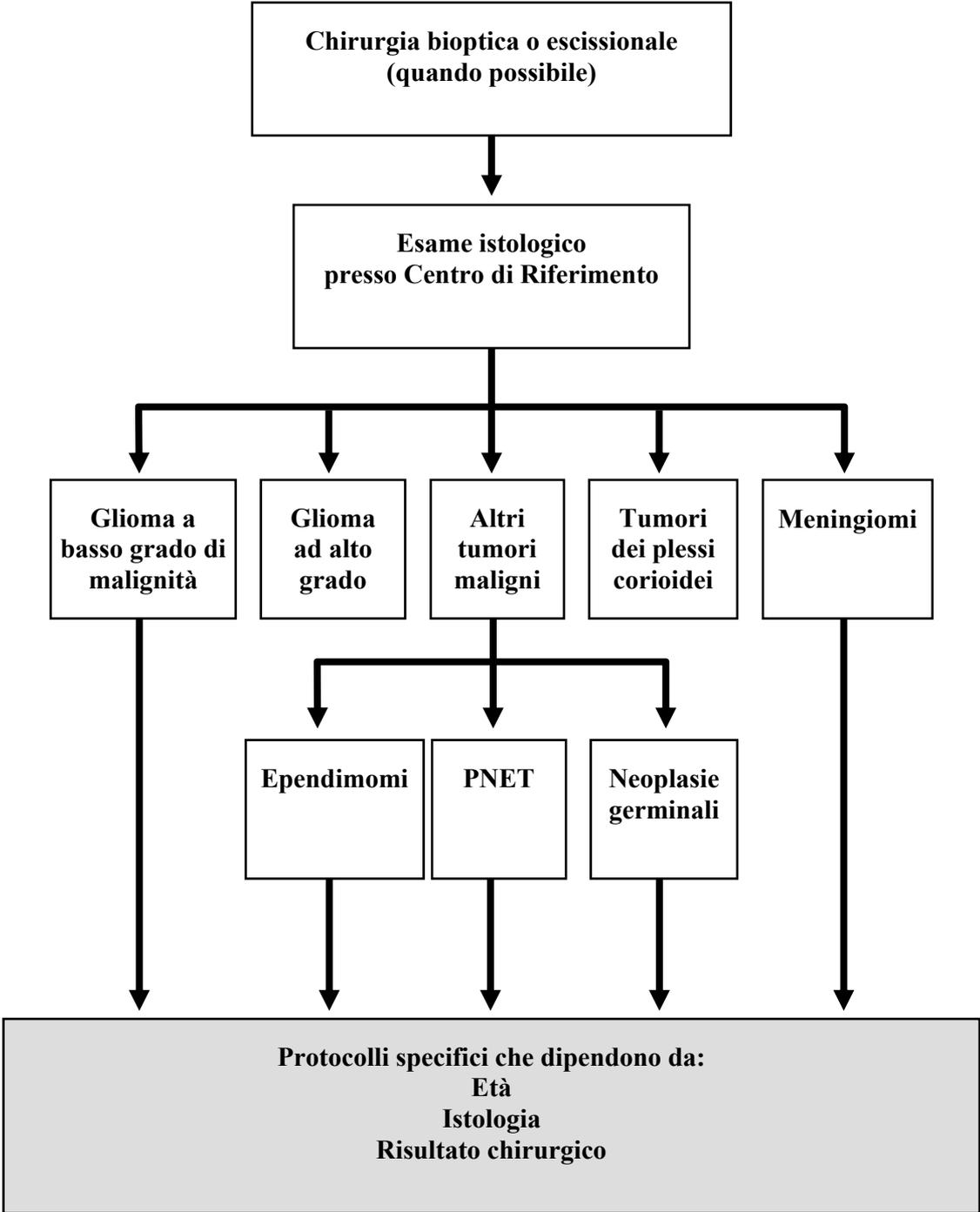
Lesione Sopratentoriale

Lesione Sottotentoriale

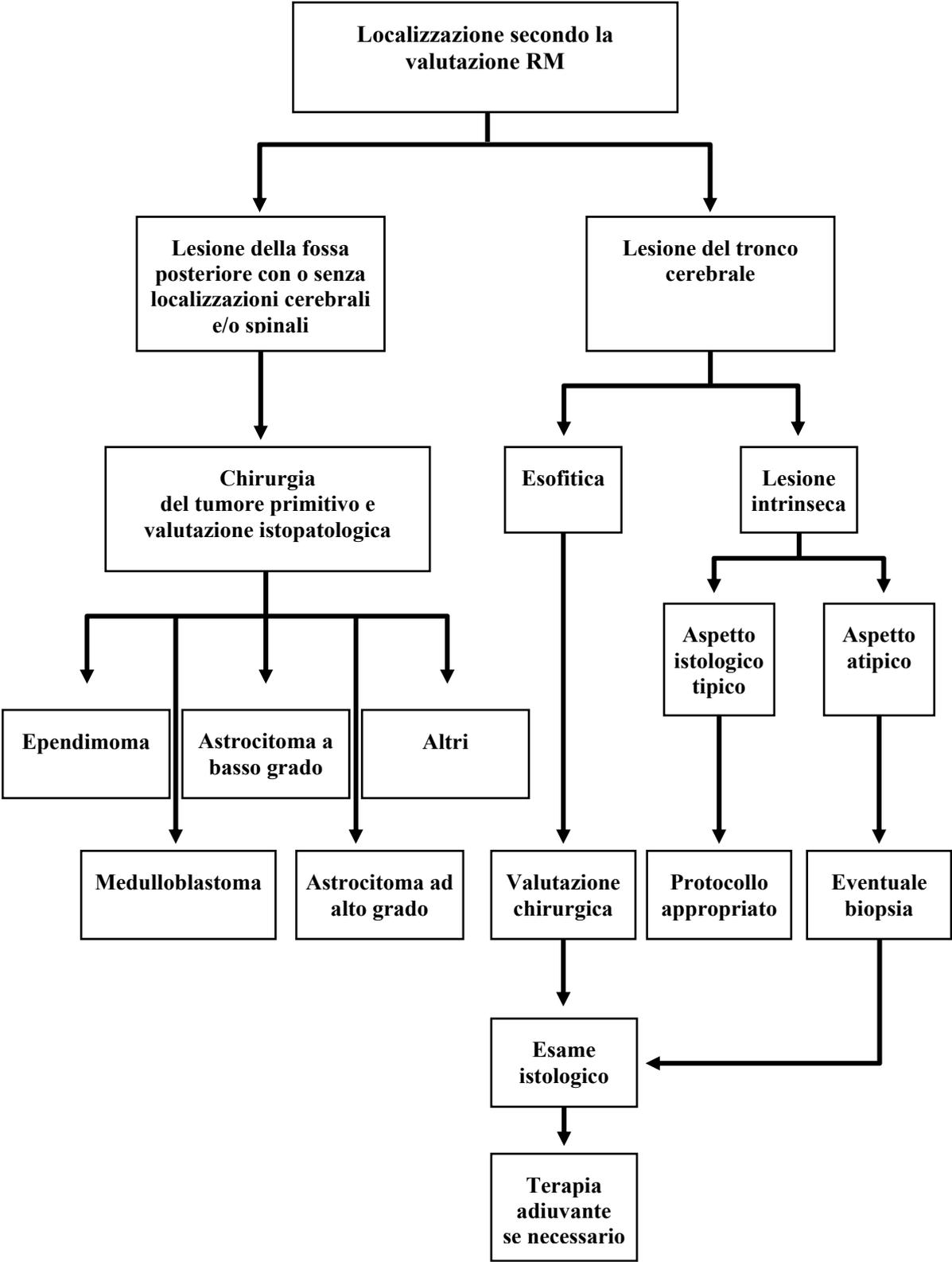
**LESIONE FINALE, SOPRASELLARE O DELLE VIE OTTICHE**

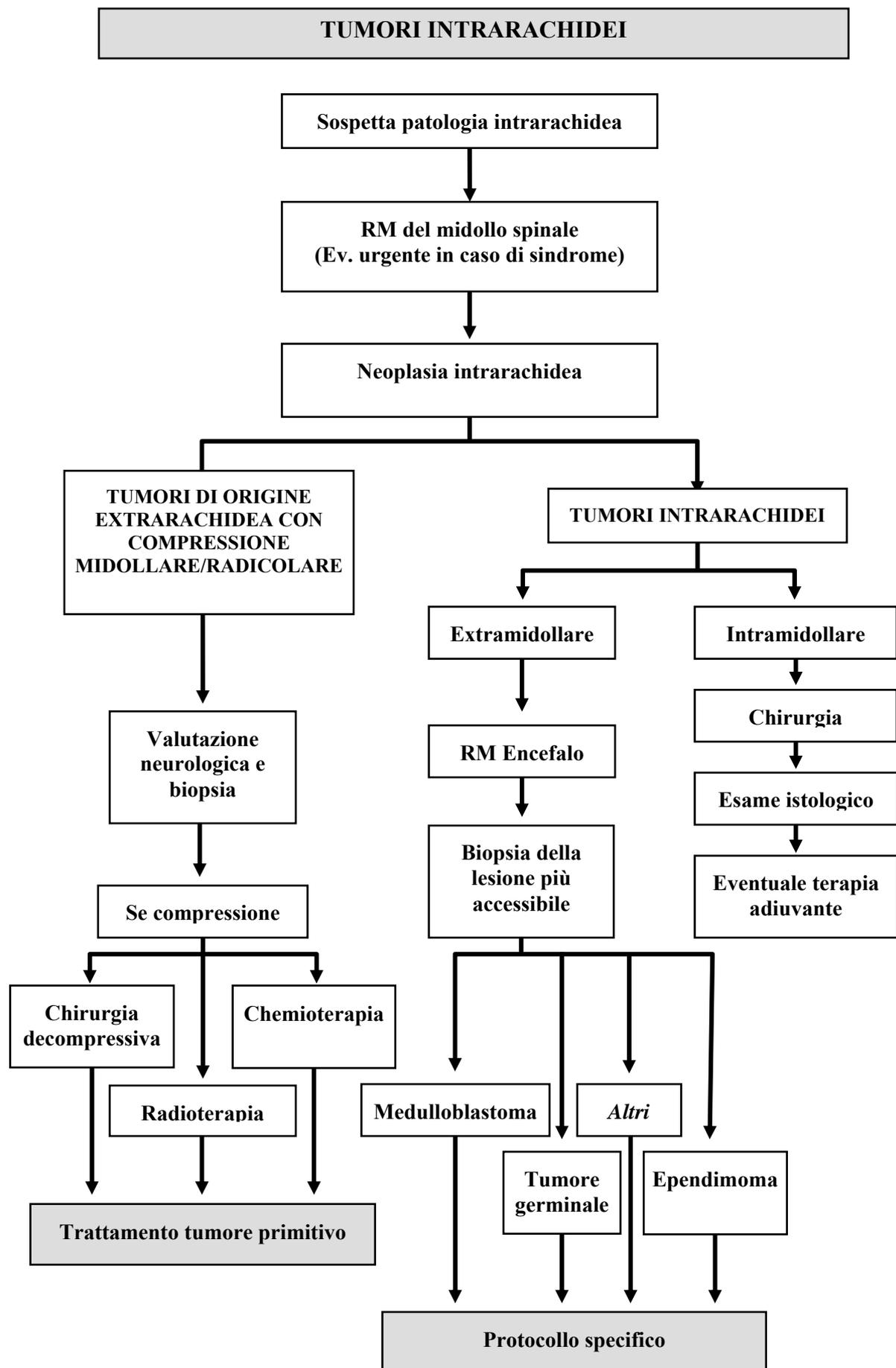


**LESIONE SOPRATENTORIALE**



**LESIONE SOTTOTENTORIALE**





## BIBLIOGRAFIA

1. Gurney GG, Smith MA, Bunin GR. CNS and miscellaneous intracranial and intraspinal neoplasms in SEER Pediatric Monograph, National Cancer Institute ICCC III
2. Baussano I, Maule MM, Dama E, Dalmaso P, Mosso ML, Galzerano M, Merletti F, Magnani C, Pastore G. Expected number of childhood cancers in Italy from 2001 to 2015 *Haematologica* 2007; 92:1258-1261
3. Smith MA, Freidlin B, Glocker-Ries LA, Simon R. Trends in reported incidence of primary malignant brain tumors in children in the United States. *J Nat Cancer Instit* 1998; 90:1269-1277
4. Farrel CJ, Plotkin SR. Genetic causes of brain tumors: neurofibromatosis, tuberous sclerosis, von Hippel-Lindau, and other syndrome. *Neurologic Clinics* 2007; 25:925-946
5. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavaneer WK. WHO classification of tumours of the central nervous system. *IARC*, 2007
6. Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(6):425-36
7. Faury D, Nantel A, Dunn SE, Guiot MC, Haque T, Hauser P, Garami M, Bognár L, Hanzély Z, Liberski PP, Lopez-Aguilar E, Valera ET, Tone LG, Carret AS, Del Maestro RF, Gleave M, Montes JL, Pietsch T, Albrecht S, Jabado N. Molecular profiling identifies prognostic subgroups of pediatric glioblastoma and shows increased YB-1 expression in tumors. *J Clin Oncol* 2007; 25:1196-208
8. Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X, Liu Y, Jensen P, Magdaleno S, Dalton J, Calabrese C, Board J, Macdonald T, Rutka J, Guha A, Gajjar A, Curran T, Gilbertson RJ. Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma. *Cancer Cell* 2005; 8:323-335
9. Modena P, Lualdi E, Facchinetti F, Veltman J, Reid JF, Minardi S, Janssen I, Giangaspero F, Forni M, Finocchiaro G, Genitori L, Giordano F, Riccardi R, Schoenmakers EF, Massimino M, Sozzi G. Identification of tumor-specific molecular signatures in intracranial ependymoma and association with clinical characteristics. *J Clin Oncol* 2006; 24:5223-33

10. Biegel JA, Tan L, Zhang F, Wainwright L, Russo P, Rorke LB. Alterations of the hSNF5/INI1 gene in central nervous system atypical teratoid/rhabdoid tumors and renal and extra-renal rhabdoid tumors. *Clin Cancer Res* 2002; 8:3461-3467
11. Pomeroy SL, Tamayo P, Gaasenbeek M, Sturla LM, Angelo M, McLaughlin ME, Kim JY, Goumnerova LC, Black PM, Lau C, Allen JC, Zagzag D, Olson JM, Curran T, Wetmore C, Biegel JA, Poggio T, Mukherjee S, Rifkin R, Califano A, Stolovitzky G, Louis DN, Mesirov JP, Lander ES, Golub TR. Prediction of central nervous system embryonal tumor outcome based on gene expression. *Nature* 2002; 415:436-442
12. Gilbertson RJ. Medulloblastoma: signalling a change in 2002 treatment. *Lancet Oncol* 2004; 5:209-18
13. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, Dalton J, Finkelstein D, Lau CC, Chintagumpala M, Adesina A, Ashley DM, Kellie SJ, Taylor MD, Curran T, Gajjar A, Gilbertson RJ. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J Clin Oncol* 2006; 24:1924-31
14. Gatta G, Capocaccia R, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Terenziani M. Childhood Cancer survival trends in Europe: a EURO CARE working group study. *J Clin Oncol* 2005; 23:3742-3751
15. Grill J, Bhangoo R. Recent development in chemotherapy of paediatric brain tumours. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(6):612-5
16. Muldoon LL, Soussain C, Jahnke K, Johanson C, Siegal T, Smith QR, Hall WA, Hynynen K, Senter PD, Peereboom DM, Neuwelt EA. Chemotherapy delivery issues in central nervous system malignancy: a reality check. *J Clin Oncol* 2007; 25(16):2295-305
17. Siegel MJ, Finlay JL, Zacharoulis S. State of the art chemotherapeutic management of pediatric brain tumors. *Expert Rev Neurother* 2006; 6(5):765-79
18. Sardi I, Cavalieri D, Massimino M. Emerging treatments and gene expression profiling in high-risk medulloblastoma. *Paediatr Drugs* 2007; 9(2):81-96
19. Stupp R, Hegi ME, Gilbert MR, Chakravarti A. Chemoradiotherapy in malignant glioma: standard of care and future directions. *J Clin Oncol* 2007; 25(26):4127-36
20. Kieran MW. Anti-angiogenic therapy in pediatric neuro-oncology. *J Neurooncol* 2005; 75(3):327-34

21. Poggi G, Liscio M, Galbiati S, Adduci A, Massimino M, Gandola L, Spreafico F, Clerici CA, Fossati-Bellani F, Sommovigo M, Castelli E. Brain tumors in children and adolescents: Cognitive and psychological disorders at different ages. *Psychooncology* 2005; 14:386-395
22. Fouladi M, Gilger E, Kocak M, Wallace D, Buchanan G, Reeves C, Robbins N, Merchant T, Kun LE, Gajjar A, Muhlern R. Intellectual and functional outcome of children 3 years old or younger who have CNS malignancies. *J Clin Oncol* 2005; 23(28):7152-60
23. Kiehna EN, Mulhern RK, Li C, Xiong X, Merchant TE. Changes in attentional performance of children and young adults with localized primary brain tumors after conformal radiation therapy. *J Clin Oncol* 2006; 24(33):5283-90
24. Reimers TS, Mortensen EL, Schmiegelow K. Memory deficits in long-term survivors of childhood brain tumors may primarily reflect general cognitive dysfunctions *Pediatric Blood Cancer* 48 (2): 205-12 (2007).
25. Gleeson HK, Shalet SM. The impact of cancer therapy on the endocrine system in survivors of childhood brain tumours. *Endocrine-Related Cancer* 2004; 11:589-602
26. Hawkins MM. Long-term survivors of childhood cancers: what knowledge have we gained? *Nature Clinical Practice Oncology* 2004; 1:26-31
27. Haugnes HS, Aass N, Fossa SD et al. Components of the metabolic syndrome in long-term survivors of testicular cancer. *Ann Oncol* 2007; 18:241-248
28. Piccirillo SG, Vescovi AL. Brain tumour stem cells: possibilities of new therapeutic strategies. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(8):1129-35
29. Gilbertson RJ, Rich JN. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(10):733-6
30. Sakariassen PØ, Immervoll H, Chekenya M. Cancer stem cells as mediators of treatment resistance in brain tumors: status and controversies. *Neoplasia* 2007; 9(11):882-92
31. Hargrave DR, Zacharoulis S. Pediatric CNS tumors: current treatment and future directions. *Expert Rev Neurother* 2007; 7(8):1029-42

32. Sawyer AJ, Piepmeier JM, Saltzman WM. New methods for direct delivery of chemotherapy for treating brain tumors. *Yale J Biol Med* 2006; 79:141-152
33. Pollack IF, Keating R. New delivery approaches for pediatric brain tumors. *J Neurooncol* 2005; 75(3):315-26

## **7.0 TUMORE DI WILMS E TUMORI RENALI**

### **7.1 Epidemiologia e fattori di rischio**

**Tumore di Wilms.** Il tumore di Wilms o nefroblastoma rappresenta la neoplasia primitiva del rene più frequente in età pediatrica; compare prima dei 5 anni di età nel 75% dei casi, ma può essere occasionalmente osservato anche nel giovane adulto (1,2).

La bilateralità del tumore è presente nel 5-7% dei casi; maschi e femmine sono colpiti con la stessa frequenza. L'età media alla diagnosi è di 42-47 mesi per le forme unilaterali e di circa 30 mesi per quelle bilaterali.

L'incidenza del tumore di Wilms è di 8,1 casi/milione in bambini di razza bianca e di età < 15 anni.

Malformazioni congenite, quali emipertrofia, aniridia, malformazioni genitourinarie, possono associarsi al tumore di Wilms.

Più rara, ma caratteristica, è l'associazione del nefroblastoma con la sindrome di Beckwith-Wiedemann (gigantismo, visceromegalia, macroglossia, ipoglicemia neonatale), la sindrome di Denys-Drash (pseudoermafroditismo, glomerulonefrite o sindrome nefrosica) e la sindrome WAGR (tumore di Wilms, aniridia, malformazioni genitourinarie e ritardo mentale). Forme familiari sono state descritte nell'1-2% dei casi; rispetto alle forme sporadiche, presentano una maggiore incidenza di bilateralità e di minore età alla diagnosi.

Studi su fattori ambientali non sono risultati conclusivi circa un loro possibile ruolo nella genesi del tumore di Wilms, in cui i fattori di rischio di tipo genetico svolgono un ruolo predominante.

### **7.2 Diagnostica di laboratorio e strumentale**

La diagnostica per immagini riveste un ruolo determinante nell'inquadramento di un bambino affetto da un tumore renale. L'ecografia dell'addome è da raccomandare quale prima indagine strumentale: essa è in grado di distinguere la natura cistica o solida di una neoformazione, di riconoscere la presenza di trombosi della vena cava, la presenza di metastasi epatiche o di neoplasie bilaterali.

La Tomografia Computerizzata (TC) dell'addome offre informazioni più dettagliate sul rapporto tra neoplasia e strutture anatomiche

limitrofe, che il chirurgo vaglierà ai fini del giudizio sull'operabilità del tumore. Con ecografia e TC si dovranno escludere la bilateralità della neoplasia, presente nel 5% dei casi. La Risonanza Magnetica Nucleare (RMN) dell'addome rappresenta un esame in grado di fornire dati altrettanto informativi ed è particolarmente indicata per lo studio dei resti nefrogenici. La scelta tra TC e RMN, le cui informazioni sono abbastanza sovrapponibili, dipende in parte dall'accessibilità a tali indagini nella struttura ospedaliera in cui si trova il paziente.

L'agobiopsia va considerata in presenza di espansi, per i quali l'origine renale e/o la diagnostica differenziale tra le diverse neoplasie del rene o del retroperitoneo non sia chiarificata dalle indagini strumentali. Infatti, la possibilità di una errata diagnosi pre-operatoria sulla base dei dati radiologici è di circa il 5-6%. La biopsia è da ritenersi una procedura sensibile, non gravata da un reale rischio di morbidità acuta né di disseminazione della neoplasia nel tragitto bioptico (11).

La radiografia standard del torace è finalizzata al riscontro di metastasi polmonari, presenti alla diagnosi nel 10% dei casi. Invece, è in fase di definizione l'utilità della TC polmonare per il riconoscimento di metastasi subcentimetriche. Il vantaggio clinico di una diagnosi precoce di tale lesioni, in termini di miglioramento della sopravvivenza, non è stato dimostrato (12).

I dati di laboratorio non evidenziano alterazioni patognomiche o suggestive della diagnosi di una neoplasia renale. L'anemia può essere presente in caso di ematuria o quando si sia verificata rottura della neoplasia. La funzionalità renale non risulta alterata, se non nei rari casi associati a sindromi con alterazioni renali sottostanti, così come quella epatica. Può essere riscontrata elevazione di LDH e, in individui affetti da tumore rabdoide o nefroma mesoblastico congenito, della calcemia. Uno stato ipertensivo secondario ad elevati tassi di reninemia è presente nel 25% dei casi e di solito regredisce dopo l'asportazione della neoplasia. Nell'8% circa dei casi è presente un disturbo della coagulazione, con riduzione dei livelli sierici del fattore di von Willebrand.

In età pediatrica, la diagnosi differenziale delle masse renali deve tenere in considerazione sia le lesioni benigne che quelle maligne. La diagnosi differenziale radiologica tra i tumori del rene più frequenti (tumore di Wilms, sarcoma a cellule chiare, tumore rabdoide, nefroma mesoblastico, carcinoma a cellule renali) non è agevole.

Tra le patologie benigne, la diagnosi differenziale si pone con l'idronefrosi, le cisti renali uniche o multiloculari e l'ascesso renale.

Nei pazienti affetti da tumore rabdoide, sarcoma a cellule chiare e carcinoma, la scintigrafia ossea va inclusa tra le indagini diagnostiche basali. Nel tumore rabdoide del rene la RMN cerebrale è utile per escludere la presenza di tumori multifocali sincroni, più spesso sottotentoriali.

### 7.3 Anatomia patologica

**Tumore di Wilms.** Una delle caratteristiche peculiari del tumore di Wilms è l'estrema eterogeneità, e la possibilità di evidenziare un'ampia varietà di cellule e tessuti (13,14). Macroscopicamente, il tumore di Wilms è circondato da una pseudocapsula connettivale; spesso nel suo contesto sono presenti aree cistiche o necrotico-emorragiche. La neoplasia, più spesso unifocale, può essere contenuta nel rene e circondata da parenchima renale normale oppure può superare la capsula renale infiltrando il grasso perirenale. Spesso il tumore è esteso al bacinetto, più raramente all'uretere. Una trombosi neoplastica della vena renale può estendersi alla vena cava, fino all'atrio destro. I linfonodi regionali, dell'ilo renale e periaortici, sono interessati nel 15% dei casi. Nel 12% dei casi, sono presenti lesioni multifocali in un solo rene.

Microscopicamente, si tratta di tumore embrionario polimorfo, contenente in proporzione variabile tre tipi cellulari, blastematoso (indifferenziato, basofilo), epiteliale, che può esprimersi in imperfette strutture tubulari e glomerulari, e mesenchimale. Una di queste componenti può prevalere sulle altre.

Gli studi anatomo-patologici del gruppo cooperativo Nordamericano (*National Wilms Tumor Study*, NWTs) hanno identificato quadri istopatologici del tumore di Wilms correlati ad una prognosi meno favorevole, caratterizzati da anaplasia (15). L'anaplasia è definita dalla presenza di grossi nuclei ipercromici, da un marcato incremento del rapporto nucleo-citoplasmatico delle cellule delle diverse componenti stromale, epiteliale o blastematoso e da un aumentato indice mitotico. Il concetto originale di anaplasia è stato rivisto alla luce di una distinzione, in base ad un criterio topografico, di anaplasia focale e diffusa (16). L'anaplasia è considerata focale se presente in meno del 10% dei campi esaminati, deve essere confinata all'interno del tumore primitivo e non deve essere presente nelle metastasi.

L'anaplasia diffusa costituisce ancora oggi un fattore determinante per la prognosi. L'anaplasia è presente in circa il 5% dei casi e correla con l'età del paziente: rara nei primi 2 anni di vita, l'incidenza aumenta, stabilizzandosi, fino al 13% nei bambini d'età > 5 anni.

**Sarcoma a cellule chiare e Tumore rabdoide.** Sono oggi correttamente identificate come neoplasie primitive del rene diverse dal tumore di Wilms (14,17). Il primo ha un comportamento clinico aggressivo, presentando una peculiare potenzialità di metastatizzazione allo scheletro; la sua istogenesi è incerta ed è più frequente nei maschi.

Il tumore rabdoide rappresenta una neoplasia altamente aggressiva (le possibilità di sopravvivenza a lungo termine sono intorno al 15%), può essere multifocale associandosi ad altre localizzazioni sincrone o metacrone, soprattutto cerebrali, ed è osservabile nei bambini più piccoli (l'85% dei casi si sviluppa nei primi 2 anni di vita). Il tumore rabdoide viene così definito per il prominente citoplasma acidofilo, che fa assomigliare le cellule a rabdomioblasti, ma in realtà è ampiamente dimostrato che non vi è una relazione con cellule muscolari scheletriche. La recente caratterizzazione di una delezione del cromosoma 22q11-12, comune ai tumori rabdoidi sia renali che extra-renali, fa ipotizzare l'esistenza di un gruppo di neoplasie dell'infanzia biologicamente distinto, indipendentemente dalla sede anatomica di origine. L'area di delezione mappa nel gene hSNF5/INI1. Un anticorpo monoclonale che riconosce la proteina prodotta da INI1 rappresenta oggi un sussidio diagnostico importante in questo gruppo di neoplasie.

**Nefroma mesoblastico congenito.** Il nefroma mesoblastico congenito, osservabile prevalentemente nei maschi e nei primi mesi di vita, è costituito da un tessuto mesenchimale primitivo. Ha un comportamento prevalentemente benigno, essendo curabile con la sola nefrectomia. Sono definite tre varietà istologiche: il tipo classico (24% dei casi), il tipo cellulato (66%) ed il tipo misto (10%). Mentre la variante classica ricorda istologicamente la fibromatosi infantile, la variante cellulata ricorda il fibrosarcoma infantile. Il legame genetico tra il nefroma mesoblastico congenito cellulato ed il fibrosarcoma infantile è supportato dall'individuazione di una traslocazione comune alle due patologie, t(12;15) (p13;q25).

La varietà cellulata ha comportamento più aggressivo e si possono osservare recidive locali nel 15% dei casi, in particolare in presenza di un intervento chirurgico non radicale.

**Residui nefrogenici.** I residui nefrogenici esprimono la persistenza di blastema embrionale renale oltre la 36<sup>a</sup> settimana di gestazione. Sono riscontrati nel 35% circa dei reni affetti da tumore di Wilms monolaterale e, in pratica, nel 100% dei tumori bilaterali. In base ad un criterio topografico, si distinguono in perilobari ed intralobari. Il termine nefroblastomatosi è riferito alla presenza di resti nefrogenici multipli. In realtà, solo una minoranza di resti nefrogenici evolve in tumore di Wilms attraverso trasformazione clonale; la maggior parte divengono dormienti o regrediscono spontaneamente.

**Carcinoma a cellule renali.** I carcinomi del rene rappresentano il 2.6% dei tumori renali nei pazienti di età < 15 anni. La forma a cellule chiare, tipica dell'adulto, è rara in età pediatrica. Vi è invece evidenza clinica e molecolare che il carcinoma che si sviluppa nell'adolescente e nel giovane adulto rappresenti una forma peculiare e geneticamente contraddistinta dalla presenza di traslocazioni coinvolgenti il gene TFE localizzato su Xp11.2. Considerata la relativamente recente introduzione di questa entità nosologica, sono in corso approfondimenti finalizzati alla descrizione delle caratteristiche istologiche e cliniche di queste neoplasie. Tra i diversi istotipi, la forma papillare è indubbiamente la più rappresentata.

#### **7.4 Caratterizzazione biologico-molecolare**

Oggi, appare chiaro che lo sviluppo di un tumore di Wilms sia il risultato di un processo molto complesso, rispetto alla teoria originariamente ipotizzata della perdita funzionale di un singolo gene (3).

Dall'identificazione nel 1990 del primo gene putativamente coinvolto nella genesi del tumore di Wilms, WT1, sul braccio corto del cromosoma 11 (11p13) (4), altri geni candidati sono stati oggetto di studio: uno sul cromosoma 11p15, WT2 (5,6) e due geni legati al tumore di Wilms familiare, FWT1 su 17q e FWT2 su 19q, anche se non sono stati clonati. L'esatto ruolo di WT1 non è ancora stabilito: probabilmente funge da regolatore della trascrizione di altri geni. I pazienti con mutazione di WT1 rappresentano soltanto il 10% dei casi. Anomalie ricorrenti a carico di altri loci, come 16q, 1p, e 7p, suggeriscono che anche queste regioni possano contenere geni coinvolti nello sviluppo biologico del tumore di Wilms (7-9). Mutazioni del gene onco-soppressore p53 sul cromosoma 17p sono descritte con una certa frequenza, soprattutto nei casi di tumore di

Wilms con anaplasia (10). Infine, sempre maggior attenzione è rivolta al possibile coinvolgimento del *pathway* di Wnt, avendo alcuni ricercatori dimostrato mutazioni attivanti  $\beta$ -catenina, in alcuni casi di tumore di Wilms.

Oltre a queste osservazioni eziologiche, occorre citare gli studi sul possibile ruolo prognostico di alterazioni molecolari nel tumore di Wilms.

I ricercatori del NWTSS hanno analizzato in modo prospettico una casistica molto ampia di tumori di Wilms, ottenendo risultati estremamente interessanti. In particolare, la presenza contemporanea di LOH su 1p e 16q aumenterebbe di circa 3 volte il rischio relativo di una recidiva nei pazienti con tumore di Wilms localizzato (stadio I-II) (7). Nei pazienti con malattia allo stadio III-IV, il rischio di una recidiva è aumentato di 2,4 volte rispetto ai pazienti senza le descritte alterazioni molecolari. Da un punto di vista terapeutico, queste osservazioni costituiscono il razionale per una intensificazione precoce del trattamento nei pazienti con stadio I o II con LOH su 1p e 16q, così come attualmente prevista nel protocollo nordamericano in corso.

## 7.5 Stadiazione

L'esame istopatologico completo, macro e microscopico, deve fornire al clinico gli elementi decisionali per la diagnosi di stadio. Compito del patologo è quello di precisare l'entità dell'estensione tumorale, con studio adeguato della capsula tumorale (sua rottura o invasione), del grasso perirenale, dei vasi dell'ilo renale e dei linfonodi regionali. La classificazione in stadi utilizzata è specificatamente studiata per il tumore di Wilms ed è quella del NWTSS, presentata nella tabella seguente.

### **Classificazione in stadi del tumore di Wilms secondo il National Wilms' Tumor Study.**

- |           |   |
|-----------|---|
| Stadio I  | Tumore confinato al rene ed asportato completamente. La capsula renale è intatta. Non si è verificata rottura del tumore e non è stata eseguita biopsia prima della rimozione della massa. Non esiste tumore residuo oltre i margini di resezione. I vasi dell'ilo renale non sono interessati. |
| Stadio II | Tumore che si estende oltre il rene, ma che è asportato completamente. È presente estensione regionale del tumore, cioè invasione della capsula renale con penetrazione nei tessuti perirenali.   |

- I vasi al di fuori del parenchima renale contengono trombi neoplastici. Può essere stata eseguita biopsia del tumore o essersi verificato insembramento neoplastico locale, limitato alla regione del fianco senza però interessare il peritoneo. Non esistono residui tumorali apparenti e i margini di resezione sono in tessuto sano.
- Stadio III Presenza di residui tumorali confinati nella cavità addominale; una o più delle seguenti condizioni:
- A) interessamento dei linfonodi ilari, periaortici od oltre, verificato con biopsia;
  - B) insembramento neoplastico peritoneale diffuso per rottura del tumore o per infiltrazione del peritoneo;
  - C) presenza di localizzazioni neoplastiche peritoneali;
  - D) il tumore si estende oltre i margini di resezione chirurgica, macro e/o microscopicamente;
  - E) tumore non completamente resecabile a causa di infiltrazione neoplastica di strutture vitali.
- Stadio IV Presenza di metastasi ematogene, ad es. polmonari, epatiche, scheletriche, cerebrali o linfonodali, eccetto quelle addomino-pelviche.
- Stadio V Interessamento bilaterale dei reni alla diagnosi. È opportuno cercare di determinare lo stadio in ogni rene in base ai criteri soprariportati, prima dell'accertamento biotico.

*N.B. I trombi fluttuanti (non attaccati all'intima dei vasi extrarenali), indipendentemente dalla loro lunghezza, sono classificati stadio II se rimossi completamente. L'infiltrazione della parete del vaso implica stadio III.*

Modificata da: Farewell VT, D'Angio GJ, Breslow N, Norkool P. Retrospective validation of a new staging system for Wilms' tumor. *Cancer Clin Trials*. 1981;4(2):167-171.

Tale sistema di stadiazione è adottato anche per il tumore rabdoide ed il sarcoma a cellule chiare del rene, mentre per il carcinoma il sistema classificativi più utilizzato è quello TNM.

Le sedi più frequenti di metastasi (presenti nel 10% dei casi alla diagnosi) sono i polmoni (80%), i linfonodi regionali, il fegato (15%). Sedi metastatiche meno comuni sono rappresentate da scheletro ed encefalo.

## 7.6 Trattamento

I risultati terapeutici raggiunti consentono di guarire circa l'85% dei bambini affetti da tumore di Wilms. L'approccio terapeutico moderno prevede l'impiego di chirurgia in tutti i casi, di chemioterapia nella maggior parte dei casi, eccetto situazioni favorevoli estremamente

selezionate, mentre le indicazioni alla radioterapia sono più limitate e codificate.

La modalità terapeutica iniziale (chirurgia *d'emblée* oppure chemioterapia pre-operatoria) riflette le esperienze di due gruppi multicentrici (18): secondo il NWTS, è preferibile la chirurgia primaria, per avere informazioni più sicure sul tipo istologico e sullo stadio (19); secondo gli Europei (SIOP), la chemioterapia pre-operatoria consente, con la riduzione delle dimensioni tumorali, una chirurgia più sicura (minore rischio di rotture intraoperatorie), una stadiazione più favorevole del tumore e, quindi, un minore impegno terapeutico nella fase post-chirurgica (20,21).

### **Chirurgia**

L'intervento chirurgico costituisce il più importante momento terapeutico per tutte le neoplasie primitive del rene. L'exeresi del tumore, da eseguirsi per via laparotomica trans-peritoneale, deve includere l'asportazione del rene interessato (nephrectomia radicale), compresa la fascia di Gerota ed il grasso perirenale. Deve essere attentamente valutata la situazione della vena renale omolaterale e della vena cava inferiore, relativamente alla presenza di eventuali trombi neoplastici. Il surrene viene lasciato in sede nei tumori del polo renale inferiore, asportato in quelli del polo superiore od in caso di neoplasia che coinvolga tutto il rene. Per la disponibilità di sensibili tecniche di *imaging* (TC, RMN), l'esplorazione chirurgica del rene controlaterale per la ricerca di neoplasie bilaterali non trova più indicazione. Elementi legati alla chirurgia che possono condizionare negativamente la prognosi del paziente sono rappresentati dalla rottura intraoperatoria della neoplasia o da una rimozione incompleta, dalla mancanza del campionamento dei linfonodi e dalla insorgenza di complicanze peri-operatorie. La rottura intra-operatoria del tumore si associa ad un aumentato rischio di recidiva locale. I linfonodi regionali (ilari) devono essere e asportati in blocco con la neoplasia; per la corretta stadiazione della malattia è fondamentale la asportazione ai fini diagnostici anche dei linfonodi para-aortici e/o para-cavali omolaterali al tumore. La mancanza di un adeguato campionamento linfonodale si associa, soprattutto nei tumori allo stadio I e II, ad una prognosi peggiore (22,23).

Una tecnica chirurgica dedicata deve essere effettuata in situazioni particolari, ad esempio quando esista un'estensione tumorale nella vena cava, che può raggiungere l'atrio destro. In tale situazione, deve

essere previsto l'ausilio di una *équipe* cardiocirurgica, che collabori con il chirurgo oncologo per la rimozione completa del trombo neoplastico.

Una chirurgia conservativa del rene coinvolto è indicata solo nelle neoplasie bilaterali o in situazioni cliniche, in cui vi sia un aumentato rischio di sviluppare una neoplasia metacrona nel rene controlaterale (ad esempio, in bambini affetti da sindromi predisponenti il tumore di Wilms). In ogni caso, il possibile vantaggio di un approccio chirurgico conservativo (resezioni parziali del rene) deve essere attentamente valutato, considerando il rischio di lasciare malattia microscopica residua e/o residui nefrogenici.

Al di là delle impostazioni diverse dei gruppi SIOP e NWTS riguardo alla tempistica ottimale per eseguire la nefrectomia (primaria o dopo chemioterapia), esistono tuttavia condizioni cliniche, quali la presenza di trombosi cavale, adenopatie retroperitoneali, alto rischio di rottura od asportazione con sacrificio di organi limitrofi, che fanno ritenere preferibile l'adozione di chemioterapia pre-operatoria. L'adozione di chemioterapia pre-operatoria rende solitamente più agevole la asportazione della neoplasia, riduce significativamente il rischio di rottura del tumore e di complicanze perioperatorie (24).

È importante sottolineare che la tecnica chirurgica da adottare per eseguire una nefrectomia, quando sia ipotizzata una neoplasia renale, è la stessa, qualunque possa essere il tipo istologico. In caso di concreto sospetto di carcinoma del rene (ad esempio, per l'età del bambino superiore ai 10 anni), è indicato procedere ad una linfadenectomia formale omolaterale.

### ***Chemioterapia***

*Tumore di Wilms.* I farmaci più attivi nel tumore di Wilms sono actinomicina D (actD), vincristina (VCR), adriamicina (ADM) e ciclofosfamide (25-29). Farmaci introdotti successivamente, come ifosfamide, etoposide e carboplatino, si sono dimostrati efficaci nell'indurre una remissione nei pazienti non responsivi ai farmaci tradizionali e sono oggi impiegati nella terapia dei pazienti con anaplasia o in caso di recidiva (30-32). L'orientamento terapeutico del gruppo cooperativo SIOP privilegia, rispetto agli americani, una chemioterapia pre-operatoria per ridurre al minimo il rischio di rottura intra-operatoria del tumore (2-3%), inducendo anche una modificazione dello stadio in senso favorevole (con un incremento dei pazienti classificati allo stadio I-II rispetto al III). Per quanto concerne

la chemioterapia primaria, gli studi SIOP hanno dimostrato che l'associazione di VCR (1,5 mg/m<sup>2</sup>/sett. per 4 settimane) e actD (45 µg/kg, 1<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> sett.) dà il medesimo risultato in termini di regressione della massa tumorale, rispetto ad un trattamento più prolungato (28).

Il programma terapeutico del tumore di Wilms è stabilito in relazione allo stadio della neoplasia ed alla presenza di anaplasia diffusa.

I risultati dei vari studi consentono di somministrare il seguente schema di terapia orientativo, per le forme senza anaplasia:

- nei bambini con tumore classificato allo stadio I o II, la sopravvivenza libera da malattia a 4 anni è superiore al 90% con regimi terapeutici che associano VCR e actD, per un periodo di 2-6 mesi; l'omissione di ADM e radioterapia nello stadio II è stata un'acquisizione importante ed ora codificata;
- per un sottogruppo selezionato di bambini che sviluppano un tumore di Wilms prima dei due anni di età, caratterizzato da una diagnosi precoce (volume tumorale piccolo) e da assenza di anaplasia, esistono dati promettenti circa la possibilità di omettere la chemioterapia complementare, senza che sia compromessa la probabilità di guarigione (33);
- nei pazienti classificati allo stadio III, il trattamento considerato standard comprende l'aggiunta di radioterapia (sull'emiaddome o su tutto l'addome, in relazione alla diffusione neoplastica endoaddominale) e ADM alla terapia con due farmaci, per una durata complessiva di 12 mesi, permettendo di raggiungere sopravvivenze libere da recidiva di 75-80%;
- i pazienti con malattia metastatica alla diagnosi (stadio IV) sono in genere candidati a ricevere un trattamento primario di 6 settimane con VCR, actD e ADM. Il trattamento successivo alla nefrectomia è deciso in base agli elementi di stadiazione anatomicopatologici sul tumore primitivo (stadio "locale"), per cui valgono le considerazioni fatte sopra per i casi non metastatici. Appare sempre più supportato da evidenze cliniche il razionale di omettere la radioterapia sui polmoni, nei casi in cui si sia ottenuta una remissione completa delle metastasi dopo la fase di chemioterapia pre-operatoria (34). In presenza di metastasi polmonari multiple, non regredite completamente dopo chemioterapia, è indicato eseguire l'irradiazione dei polmoni, con

una dose che non eccede solitamente i 12 Gy. Complessivamente, la sopravvivenza dei pazienti metastatici è stimata intorno al 64-80%, nei diversi studi clinici (35);

- la condotta terapeutica in presenza di tumori bilaterali deve essere necessariamente individualizzata al singolo paziente ed affrontata in centri specializzati. L'obiettivo chirurgico deve sempre essere quello di effettuare una nefrectomia parziale, se possibile, in entrambi i lati, cercando di preservare un' adeguata quantità di nefroni funzionanti. Al fine di aumentare la possibilità di una chirurgia conservativa, è sempre indicato eseguire una chemioterapia preoperatoria, usualmente con VCR e actD. L'aggiunta di ADM dovrà essere valutata in caso di scarsa risposta ai due farmaci. In genere, la durata ottimale della chemioterapia prechirurgica non deve superare le 8-10 settimane, anche in caso di continua risposta della neoplasia. Dopodiché, appare sempre indicato procedere ad una esplorazione chirurgica, anche in caso di insufficiente risposta alla chemioterapia. Il trattamento complementare alla chirurgia dipende dall'esito di quest'ultima e dalle indicazioni ottenute dalla stadiazione anatomico-chirurgica rispetto al lato più compromesso ed al tipo istologico (presenza di anaplasia, entità dei fenomeni regressivi indotti dalla chemioterapia). La sopravvivenza dei bambini con nefroblastoma bilaterale è intorno al 75-80%.

*Nefroblastoma con anaplasia diffusa, sarcoma a cellule chiare del rene, tumore rabdoide del rene.* Piani di cura con incremento della intensità di dose, che includano più farmaci (VCR, Act D, ADM, ifosfamide, carboplatino, etoposide), sono in corso di valutazione per questi istotipi (36). Per il sarcoma a cellule chiare del rene, la prognosi è migliorata da quando l'ADM è stata utilizzata con gli altri farmaci nel trattamento adiuvante (17); la radioterapia è sempre indicata. Per il tumore rabdoide del rene non esistono al momento terapie giudicate soddisfacenti. È pratica comune adottare in questi casi regimi chemio-radioterapici intensivi, che includano l'associazione di un agente alchilante (ifosfamide o ciclofosfamide) con etoposide e carboplatino. La dose ottimale di radioterapia sull'addome in questi istotipi più aggressivi non è definita. In particolare, nel tumore di Wilms con anaplasia non è stata dimostrata una dose-risposta ad un *range* di radioterapia tra 10 e 40 Gy (37) e generalmente la dose prescritta per l'irradiazione del fianco è di 20 Gy.

*Carcinoma del rene.* Considerata la rarità di questa neoplasia in età pediatrica, non sono stati condotti studi prospettici per la valutazione del trattamento adiuvante ottimale (38). In genere, la sopravvivenza per pazienti pediatrici affetti da carcinoma renale decresce con l'avanzare dello stadio: stadio I 90%, stadio II 80%, stadio III 70%, stadio IV 15%. Osservazioni basate sulle casistiche limitate pubblicate ci permettono di affermare che la chemioterapia non porta un beneficio. Nei pazienti con malattia macroscopicamente asportata, non sembra che l'immunoterapia con interleuchina-2 od interferon- $\alpha$  aumenti la probabilità di sopravvivenza. I risultati ottenuti con gli inibitori della tirosin-chinasi sorafenib e sunitinib nei pazienti adulti (39), dovrebbero indurre a valutare l'impiego di tali farmaci nei bambini con carcinoma renale metastatico, dove i risultati attuali con l'impiego della immunoterapia sono insoddisfacenti.

*Tumore di Wilms alla recidiva.* Analisi delle casistiche più recenti dei pazienti affetti da recidiva di tumore di Wilms definiscono alcune caratteristiche che si associano ad una prognosi peggiore alla recidiva. Pazienti precedentemente trattati anche con ADM o con una recidiva precoce rispetto alla conclusione della terapia di prima linea, con anaplasia o con una recidiva compresa nel campo di radioterapia, hanno una minor possibilità di cura con terapie di seconda linea. Le esperienze più recenti hanno permesso di documentare che, in questi pazienti, l'impiego di chemioterapia con ifosfamide (od in alternativa, ciclofosfamide), etoposide e carboplatino a dosi intense, con o senza consolidamento con chemioterapia ad alte dosi ed autotrapianto di cellule staminali emopoietiche autologhe, permetta di raggiungere probabilità di sopravvivenza dell'ordine di 50-60% (31,32,40).

### ***Radioterapia***

Il ruolo della radioterapia è sottoposto a rivalutazione critica, in relazione al riconoscimento di fattori prognostici, ai risultati degli studi cooperativi ed agli effetti collaterali a distanza sull'accrescimento.

Per quanto concerne il ruolo della radioterapia nella fase post-operatoria del tumore di Wilms senza anaplasia diffusa, appaiono relativamente consolidate le seguenti osservazioni:

- la radioterapia non è necessaria negli stadi I e II se, come indicato, viene usata chemioterapia con due farmaci (VCR, actD);

- il trattamento radiante dell'emiaddome, con un *range* di dose compreso tra 10 e 15 Gy (con sovradose su aree di eventuale residuo tumorale), è indicato nei casi classificati allo stadio III;
- in caso di disseminazione pre- od intra-operatoria della neoplasia, per rottura tumorale massiva, il campo di radioterapia comprende tutto l'addome, con schermatura del rene residuo a 12 Gy e del fegato a 20 Gy;
- laddove indicato, il trattamento radiante sull'addome dovrebbe essere somministrato, appena fattibile, dopo la nefrectomia, in genere non oltre le due settimane;
- il trattamento radiante delle metastasi, a parte le considerazioni già espresse per le metastasi polmonari, in genere è da riservare alle lesioni non asportabili chirurgicamente (fegato, encefalo, osso).

### **7.7 Follow-up**

La necessità di un controllo di questi pazienti da parte dei pediatri oncologi è motivata dal rischio di insorgenza di complicanze iatrogene, acute o tardive.

In generale, particolare attenzione deve essere posta alla prevenzione delle infezioni delle vie urinarie, al fine di evitare danni al rene residuo.

Tra gli eventi tossici acuti durante la chemioterapia, si segnala che l'actD può causare una epatopatia acuta con piastrinopenia, talora anche di entità severa (malattia veno-occlusiva epatica). L'analisi dei risultati degli studi nordamericani ha dimostrato un rischio di scompenso cardiaco aumentato nei pazienti trattati con ADM; il fattore di rischio più importante è rappresentato dalla sua dose cumulativa, seguito dalla pregressa radioterapia (41). Pertanto, tali pazienti devono seguire un adeguato monitoraggio cardiologico, specialmente se coesiste radioterapia su polmoni o fianco sinistro. Il *follow-up* cardiaco deve inoltre, protrarsi negli anni successivi alle cure oncologiche.

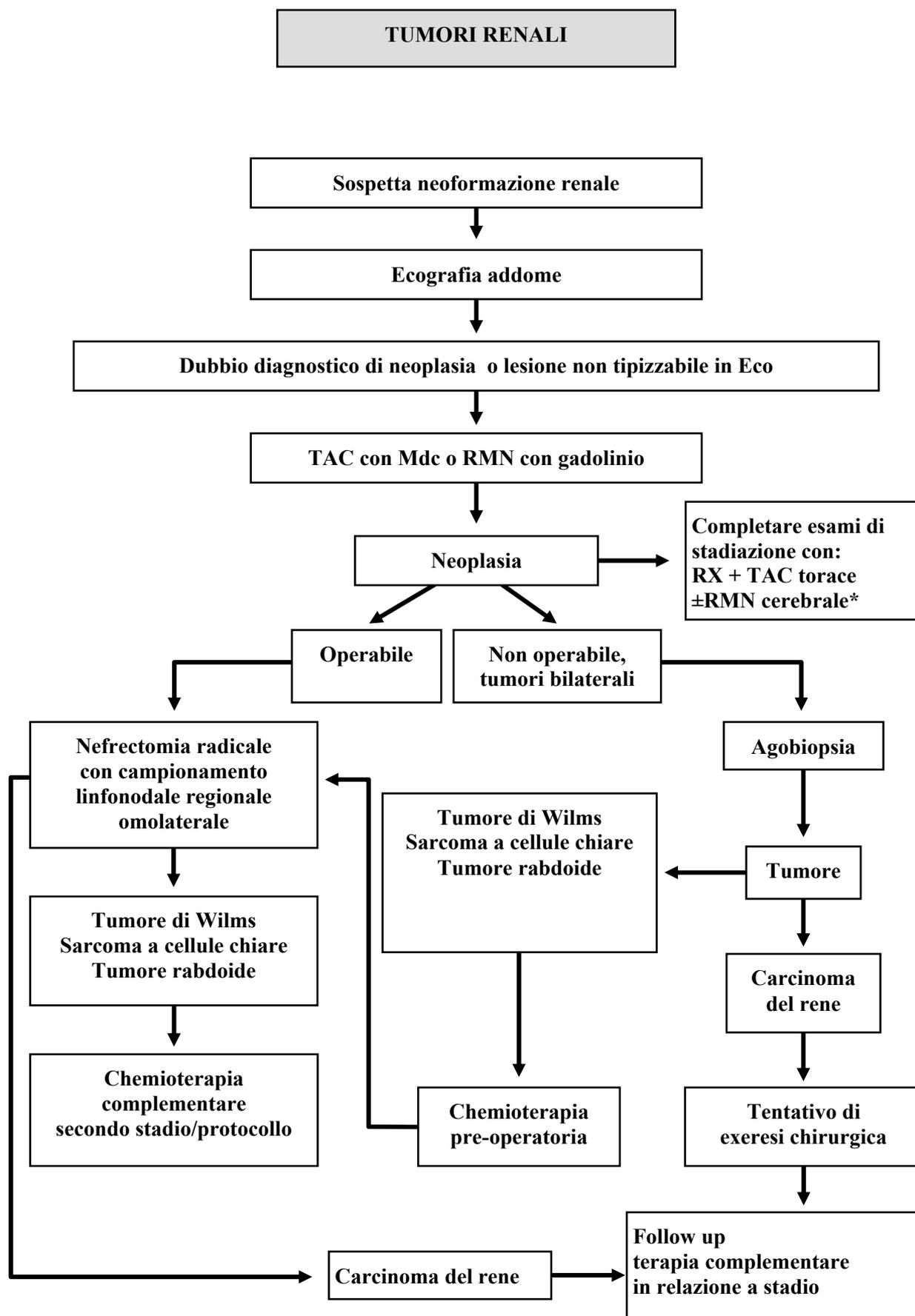
Tra i possibili danni iatrogeni tardivi vanno annoverati quelli legati alla radioterapia: l'irradiazione *in toto* dei corpi vertebrali ha ridotto il rischio di scoliosi che, tuttavia, può instaurarsi in soggetti predisposti. Nei pazienti sottoposti a radioterapia polmonare è importante il

controllo periodico della funzionalità respiratoria, potendosi manifestare una sindrome disventilatoria restrittiva e tiroidea. Infine, sono da prevedere procedure di *counseling* nelle femmine, in merito alle problematiche di fertilità, rischio di menopausa anticipata ed andamento della gravidanza, specie quando sia stata necessaria l'irradiazione addominale.

## **7.8 Direzioni future**

Dall'analisi dei risultati dei principali studi cooperativi emerge che problematiche future relative ai tumori del rene in età pediatrica dovranno rapportarsi a:

- a) miglioramento terapeutico delle neoplasie in stadio avanzato (metastatico) o con caratteristiche istologiche o biologiche a prognosi sfavorevole (anaplasia, LOH 1p e/o 16q);
- b) ricerca di nuovi fattori prognostici, in particolare nei casi che attualmente hanno possibilità di cura superiori al 90% (stadio I e II), con l'obiettivo di ottimizzare l'impiego di quei trattamenti maggiormente gravati da sequele a distanza;
- c) miglioramento della collaborazione internazionale per lo studio di neoplasie primitive del rene rare (carcinoma, tumore rabdoide), dove appare fondamentale la possibilità di approfondire gli studi biologici.



\* solo per istotipo rabdoide

## BIBLIOGRAFIA

1. Pizzo PA, Poplack DG . Principles and Practice of Pediatric Oncology. 3<sup>a</sup> Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997; 733-759
2. Kalapurakal JA, Dome JS, Perlman E, Malogolowkin M, Haase GM, Grundy P, Coppes MJ. Management of Wilms' tumour: current practice and future goals. *Lancet Oncol* 2004 ; 5:37-46
3. Dome JS, Coppes MJ. Recent advances in Wilms tumor genetics. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14:5-11
4. Bonetta L, Kuehn SE, Huang, Law DJ, Kalikin LM, Koi M, Reeve AE, Brownstein BH, Yeger H, Williams BR et al. Wilms' tumor locus on 11p13 defined by multiple CpG island-associated transcripts. *Science* 1990; 250:994-997
5. Reeve AE, Sih SA, Raizis AM, Feinberg AP. Loss of allelic heterozygosity at a second locus on chromosome 11 in sporadic Wilms' tumor cells. *Mol Cell Bio* 1989; 9:1799-1803
6. Koufos A, Grundy P, Morgan K, Aleck KA, Hadro T, Lampkin BC, Kalbakji A, Cavenee WK. Familial Wiedemann-Beckwith syndrome and a second Wilms tumor locus both map to 11p15.5. *Am J Hum Gene* 1989; 44:711-719
7. Grundy PE, Breslow NE, Li S, Perlman E, Beckwith JB, Ritchey ML, Shamberger RC, Haase GM, D'Angio GJ, Donaldson M, Coppes MJ, Malogolowkin M, Shearer P, Thomas PR, Macklis R, Tomlinson G, Huff V, Green DM; National Wilms Tumor Study Group. Loss of heterozygosity for chromosomes 1p and 16q is an adverse prognostic factor in favourable-histology Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 2005; 23:7312-7321
8. Bown N, Cotterill SJ, Roberts P, Griffiths M, Larkins S, Hibbert S, Middleton H, Kelsey A, Tritton D, Mitchell C. Cytogenetic abnormalities and clinical outcome in Wilms tumor: a study by the U.K. Cancer Cytogenetics Group and the U.K. Children's Cancer Study Group. *Med Ped Oncol* 2002; 38:11-21
9. Miozzo M, Perotti D, Minoletti F, Mondini P, Pilotti S, Luksch R, Fossati-Bellani F, Pierotti MA, Sozzi G, Radice P. Mapping of a putative tumor suppressor locus to proximal 7p in Wilms tumors. *Genomics* 1996; 37:310-315
10. Bardeesy N, Falkoff D, Petruzzi MJ, Nowak N, Zabel B, Adam M, Aguiar MC, Grundy P, Shows T, Pelletier J. Anaplastic

Wilms' tumour, a subtype displaying poor prognosis, harbours p53 gene mutations. *Nat Genet* 1994; 7:91-97

11. Vujanic GM, Kelsey A, Mitchell C, Shannon RS, Gornall P. The role of biopsy in the diagnosis of renal tumors of childhood: results of the UKCCSG Wilms tumor study 3. *Med Pediatr Oncol* 2003; 40:18-22
12. Meisel JA, Guthrie KA, Breslow NE, Donaldson SS, Green DM. Significance and management of computed tomography detected pulmonary nodules: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 44:579-585
13. Beckwith JB. New developments in the pathology of Wilms tumor. *Cancer Invest* 1997; 15:153-162
14. Argani P, Ladanyi M. Recent advances in pediatric renal neoplasia. *Adv Anat Pathol* 2003; 10:243-260
15. Beckwith JB, Zuppan CE, Browning NG, Moksness J, Breslow NE. Histological analysis of aggressiveness and responsiveness in Wilms' tumor. *Med Ped Oncol* 1996; 27:422-428
16. Faria P, Beckwith JB, Mishra K, Zuppan C, Weeks DA, Breslow N, Green DM. Focal versus diffuse anaplasia in Wilms tumor - new definitions with prognostic significance: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:909-920
17. Argani P, Perlman EJ, Breslow NE, Browning NG, Green DM, D'Angio GJ, Beckwith JB. Clear cell sarcoma of the kidney. A review of 351 cases from the National Wilms Tumor Study Group pathology center. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:4-18
18. D'Angio GJ. Pre- or post-operative treatment for Wilms tumor? Who, what, when, where, how, why- and which. *Med Pediatr Oncol* 2003; 41:545-549
19. Green DM. The treatment of stages I-IV favourable histology Wilms' tumor. *J Clin Oncol* 2004; 22:1366-1372
20. Graf N, Tournade MF, de Kraker J. The role of preoperative chemotherapy in the management of Wilms's tumor. *Urol Clin North Am* 2000; 27:443-454
21. de Kraker J, Graf N, van Tinteren H, Pein F, Sandstedt B, Godzinski J, Tournade MF. Reduction of postoperative chemotherapy in children with stage I intermediate-risk and anaplastic Wilms' tumour (SIOP 93-01 trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364:1229-1235

22. Shamberger RC, Guthrie KA, Ritchey ML, Haase GM, Takashima J, Beckwith JB, D'Angio GJ, Green DM, Breslow NE. Surgery-related factors and local recurrence of Wilms tumor in National Wilms Tumor Study 4. *Ann Surgery* 1999; 229:292-297
23. Ehrlich PF, Ritchey ML, Hamilton TE, Haase GM, Ou S, Breslow N, Grundy P, Green D, Norkool P, Becker J, Shamberger RC. Quality assessment for Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study-5. *J Ped Surg* 2005; 40:208-213
24. Godzinski J, Tournade MF, deKraker J, Lemerle J, Voute PA, Weirich A, Ludwig R, Rapala M, Skotnicka G, Gauthier F, Moorman-Voestermans CG, Buerger D, VanVeen A, Sawicz-Birkowska K. Rarity of surgical complications after postchemotherapy nephrectomy for nephroblastoma. Experience of the International Society of Paediatric Oncology-Trial and Study "SIOP-9". International Society of Paediatric Oncology Nephroblastoma Trial and Study Committee. *Eur J Pediatr Surg* 1998; 8:83-86
25. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Finklestein JZ, Grundy PE, Thomas PR, Kim T, Shochat SJ, Haase GM, Ritchey ML, Kelalis PP, D'Angio GJ. Comparison between single-dose and divided-dose administration of dactinomycin and doxorubicin for patients with Wilms' tumor: A report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 1998; 16:237-45
26. Neville HL, Ritchey ML. Wilms' tumor. Overview of the National Wilms' Tumor Study Group results. *Urol Clin North Am* 2000; 27:435-442
27. D'Angio GJ, Evans AE, Breslow N, Beckwith B, Bishop H, Feigl P, Goodwin W, Leape LL, Sinks LF, Sutow W, Tefft M, Wolff J. The treatment of Wilms' tumor: results of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1976; 38:633-646
28. Tournade MF, Com-Nougué C, de Kraker J, Ludwig R, Rey A, Burgers JM, Sandstedt B, Godzinski J, Carli M, Potter R, Zucker JM; International Society of Pediatric Oncology Nephroblastoma Trial and Study Committee. Optimal duration of preoperative therapy in unilateral and nonmetastatic Wilms' tumor in children older than 6 months: results of the Ninth International Society of Pediatric Oncology Wilms' Tumor Trial and Study. *J Clin Oncol* 2001; 19:488-500

29. Lemerle J, Voute PA, Tournade MF, Delemarre JF, Jereb B, Ahstrom L, Flamant R, Gerard-Marchant R. Preoperative versus postoperative radiotherapy, single versus multiple courses of actinomycin D, in the treatment of Wilms' tumor. Preliminary results of a controlled clinical trial conducted by the International Society of Pediatric Oncology (SIOP). *Cancer* 1976; 38:647-654
30. Pein F, Tournade MF, Zucker JM, Brunat-Mentigny M, Deville A, Boutard P, Dusol F, Gentet JC, Legall E, Mechinaud F et al. Etoposide and carboplatin: a highly effective combination in relapsed or refractory Wilms' tumor - A phase II study by the French Society of Pediatric Oncology. *J Clin Oncol* 1994 ; 12:931-936
31. Pein F, Michon J, Valteau-Couanet D, Quintana E, Frappaz D, Vannier JP, Philip T, Bergeron C, Baranzelli MC, Thyss A, Stephan JL, Boutard P, Gentet JC, Zucker JM, Tournade MF, Hartmann O. High-dose melphalan, etoposide, and carboplatin followed by autologous stem-cell rescue in pediatric high-risk recurrent Wilms' tumor: a French Society of Pediatric Oncology study. *J Clin Oncol* 1998; 16:3295-3301
32. Abu-Ghosh AM, Krailo MD, Goldman SC, Slack RS, Davenport V, Morris E, Laver JH, Reaman GH, Cairo MS. Ifosfamide, carboplatin and etoposide in children with poor-risk relapsed Wilms' tumor: a Children's Cancer Group report. *Ann Oncol* 2002; 13:460-469
33. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Ritchey ML, Shamberger RC, Haase GM, D'Angio GJ, Perlman E, Donaldson M, Grundy PE, Weetman R, Coppes MJ, Malogolowkin M, Shearer P, Coccia P, Kletzel M, Thomas PR, Macklis R, Tomlinson G, Huff V, Newbury R, Weeks D. Treatment with nephrectomy only for small, stage I/favorable histology Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 2001; 19:3719-3724
34. de Kraker J, Lemerle J, Voûte PA, Zucker JM, Tournade MF, Carli M. Wilms' tumor with pulmonary metastases at diagnosis: the significance of primary chemotherapy. *J Clin Oncol* 1990; 8:1187-1190
35. Green DM, Breslow NE, Evans I, Moksness J, D'Angio GJ. Treatment of children with stage IV favorable histology Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Med Pediatr Oncol* 1996; 26:147-152

36. Dome JS, Cotton CA, Perlman EJ, Breslow NE, Kalapurakal JA, Ritchey ML, Grundy PE, Malogolowkin M, Beckwith JB, Shamberger RC, Haase GM, Coppes MJ, Coccia P, Kletzel M, Weetman RM, Donaldson M, Macklis RM, Green DM. Treatment of anaplastic histology Wilms' tumor: results from the fifth National Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol* 2006; 24:2352-2358
37. Green DM, Beckwith JB, Breslow NE, Faria P, Moksness J, Finklestein JZ, Grundy P, Thomas PR, Kim T, Shochat S et al. Treatment of children with stages II to IV anaplastic Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 1994; 12:2126-2131
38. Selle B, Furtwängler R, Graf N, Kaatsch P, Bruder E, Leuschner I. Population-based study of renal cell carcinoma in children in Germany, 1980-2005: more frequently localized tumors and underlying disorders compared with adult counterparts. *Cancer* 2006; 107:2906-14
39. Oudard S, Gorge D, Mediani J, Motzer R. Treatment options in renal cell carcinoma: past, present and future. *Ann Oncol* 2007; 18(10):25-31
40. Spreafico F, Bisogno G, Collini P, Jenkner A, Gandola L, D'Angelo P, Casazza G, Piva L, Luksch Roberto, Perotti D, Pession A, Fagioli F, Dallorso S. Treatment of High-Risk Relapsed Wilms Tumor with Dose-Intensive Chemotherapy, Marrow-Ablative Chemotherapy, and Autologous Hematopoietic Stem Cell Support: Experience by the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology. *Pediatr Blood Cancer*, in press
41. Green DM, Grigoriev YA, Nan B, Takashima JR, Norkool PA, D'Angio GJ, Breslow NE. Congestive heart failure after treatment for Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 2001; 19:1926-1934

## **8.0 TUMORI RARI ED ISTIOCITOSI**

### ***Tumori Rari***

Partendo dalla definizione europea, per malattia rara si intendono quelle patologie che presentano una prevalenza inferiore a 50.000. I tumori pediatrici, la cui incidenza annuale si aggira intorno ai 15 casi/100.000 (1,2) e tutte le diverse neoplasie infantili rientrerebbero in questa definizione, anche quelle per cui esistono protocolli e ricerche cliniche e biologiche già ben avviati da tempo.

Per individuare quei tumori che, per la loro scarsa prevalenza, non hanno beneficiato finora di uno sforzo cooperativo da parte degli oncologi pediatri, l'Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica (AIEOP) considera come tumori rari pediatrici quelle neoplasie che hanno un'incidenza inferiore ai 2 casi/1.000.000 di bambini e che attualmente, non sono inclusi in protocolli di trattamento AIEOP.

Queste neoplasie comprendono una grande varietà di istotipi, che si localizzano in sedi diverse. Se considerate per singoli gruppi istologici, queste forme non superano il 2% di tutte le neoplasie pediatriche. Si tratta quindi, di forme di inusuale osservazione anche in Centri Oncologici specializzati, alcune rare ad ogni età, altre tipiche dell'adulto e rare nel bambino e che spesso, mancano di criteri univoci di inquadramento diagnostico e di trattamento.

La rarità di queste neoplasie ha finora comportato un minor interesse nel loro studio e quindi, una maggiore difficoltà nel descrivere la storia naturale e nel progettare ricerche cliniche e biologiche. Inoltre, il numero limitato di pazienti affetti comporta un minor "mercato", capace di ammortizzare i costi di una ricerca farmacologica specifica ed una scarsa diffusione delle conoscenze comunque disponibili nella pratica corrente. I tumori rari in età pediatrica sono in questo senso, da considerarsi una patologia "orfana".

### **8.1 Progetto TREP (Tumori Rari in Età Pediatrica)**

Questi tumori sono già stati oggetto di una indagine conoscitiva multicentrica condotta dai proponenti del progetto con la collaborazione di molti centri oncologici e chirurgici pediatrici

italiani, iniziata con uno studio retrospettivo (1982-1993) e proseguita successivamente fino al 1998: sono stati registrati complessivamente 240 pazienti di età inferiore a 16 anni, affetti dalle neoplasie elencate nel paragrafo precedente.

I dati raccolti, disponibili per tutti coloro che hanno partecipato allo studio, sono in parte lacunosi per alcuni aspetti clinici, anatomicopatologici e di *follow-up*; ciò è dovuto parzialmente, alla dispersione dei casi, poiché molte di queste patologie vengono osservate in centri di chirurgia generale, ginecologia, radioterapia ed in generale, alla difficoltà di seguire patologie rare. In particolare, è risultata evidente la necessità di una standardizzazione dell'approccio diagnostico e terapeutico, almeno per alcune forme neoplastiche.

Il Progetto AIEOP "Tumori Rari in Età Pediatrica" (TREP) ha come scopo generale quello di costruire un *network* nazionale dedicato ai bambini affetti da tumori molto rari, pertanto non inclusi in specifici protocolli AIEOP (3).

Obiettivi primari del progetto sono:

- raccogliere dati di tipo epidemiologico;
- produrre linee guida per la diagnosi ed il trattamento di tumori selezionati;
- analizzare la fattibilità e l'efficacia delle linee guida proposte;
- individuare degli "esperti" per i diversi tumori rari, che possano essere contattati, in caso di problemi diagnostico-terapeutici;
- diffondere la conoscenza sui tumori rari alle persone coinvolte da un punto di vista professionale, familiare o istituzionale.

Obiettivi secondari comprendono:

- centralizzare la diagnosi istologica per uniformare i criteri di valutazione e confrontare questi tumori con le analoghe forme dell'adulto;
- raccogliere e conservare tessuto tumorale per futuri studi di tipo biologico;
- creare un *database* ed individuare "esperti" in tumori rari, che possano fornire un servizio di consulenza per tutti i Centri che hanno in cura bambini affetti da tumore raro;
- creare degli strumenti informativi, anche utilizzando *internet*, che possano dare notizie scientifiche a medici, famiglie ed istituzioni;

- instaurare collaborazioni con gruppi di altri paesi interessati all'argomento.

### ***Istotipi compresi nel progetto TREP***

Le forme istologiche inizialmente incluse nel progetto TREP sono le seguenti:

- carcinoidi
- carcinomi adrenocorticali
- carcinomi della tiroide
- carcinomi gastrointestinali
- carcinomi nasofaringei
- feocromocitomi e paragangliomi
- neoplasie pancreatiche
- neoplasie polmonari
- tumori del timo
- tumori della cute
- tumori della mammella
- tumori gonadici (testicolari e ovarici) non germinali
- tumori salivari

Dal progetto TREP ci si aspetta di poter definire strategie diagnostiche e terapeutiche per questi casi assai rari di neoplasie, mutuando la esperienza dell'oncologo dell'adulto, dove la malattia è assai più nota (come ad esempio, nel caso del Carcinoma della tiroide). Alternativamente, si potranno quanto meno mettere in comune esperienze su casi singoli o assai sporadici, aprendo le porte a future conoscenze e quindi, a studi clinici terapeutici.

### ***Istiocitosi Infantili***

Le Istiocitosi sono malattie rare, con una frequenza compresa tra 1:25.000 ed 1:50.000 bambini per anno. La loro rarità ha certamente contribuito a mantenere le incertezze di classificazione e di diagnosi e soprattutto la scarsa conoscenza dei meccanismi patogenetici. Tutto questo ha limitato per anni le possibilità di un nostro approccio razionale ed efficace soprattutto, relativamente alla terapia.

Le istiocitosi sono accomunate e caratterizzate dalla presenza di un infiltrato tissutale infiammatorio, senza segni di malignità, con un

eccesso di macrofagi. Di questo gruppo fanno parte due forme principali: Istiocitosi a cellule di Langerhans (ICL) e Linfo-Istiocitosi Emofagocitica (LEF) (4,5). Con il procedere delle conoscenze patogenetiche derivanti dalla ricerca immunologica e genetica, la LEF si è definitivamente dimostrata una forma di immunodeficienza congenita, per cui esula ormai da trattazioni oncologiche (6). Al contrario, la ICL rimane una malattia di primitiva pertinenza del pediatra onco-ematologo.

## **8.2 Istiocitosi a cellule di Langerhans**

La scarsa conoscenza della sua eziopatogenesi giustifica la definizione di “Istiocitosi X”, molto usata in passato. Oggi sappiamo che questa malattia può essere polimorfa, in funzione soprattutto del numero e dalla sede degli infiltrati tissutali.

In alcuni casi, la diagnosi è di riscontro occasionale; al contrario, in alcune forme la mortalità è molto alta. Cosa hanno dunque in comune forme con espressività e gravità così diverse?

In una minoranza di casi la malattia esplode, gravissima, già nei primi mesi di vita con un quadro simil-leucemico: febbre, epato-splenomegalia, adenomegalia, citopenia. Questa forma, in passato definita Malattia di Letterer-Siwe, è gravata da una mortalità del 20%, anche con i più moderni trattamenti.

Complessivamente quindi, la ICL si può manifestare con un ventaglio di quadri clinici con forme più ricorrenti ed altre che ne rappresentano una varia combinazione (7-9).

Poiché il quadro clinico dipende essenzialmente dal tipo di tessuto interessato e dal grado di implicazione funzionale di questo interessamento, in questa trattazione saranno esaminate brevemente le caratteristiche delle varie localizzazioni d'organo.

L'osso è interessato in circa l'80% dei casi. Una tumefazione dolente è spesso il primo riscontro, specie nelle forme localizzate. Cranio, vertebre, bacino, ossa lunghe sono più spesso coinvolte; al contrario, è quasi eccezionale l'interessamento di mani e piedi. A volte potrà essere presente un tessuto proliferante adiacente a lesioni osteolitiche, che può dare origine a tumefazioni più o meno dolenti; è importante ricordare che l'erosione mastoidea si camuffa da otite persistente, cui quindi il pediatra dovrà porre un'attenzione specifica. Meno insidiosa, in quanto più immediatamente riconoscibile, è la tumefazione intra- o peri-orbitaria che può condurre

fino ad un vero e proprio esoftalmo, segno meritevole sempre di grande attenzione.

L'approccio diagnostico deve iniziare con la radiografia, che mostra aree litiche irregolari, con o senza tumefazione locale (granuloma eosinofilo) (Figura 1).

**Figura 1**



E' importante ricordare che la presenza d'aree osteolitiche multiple, rara in altre forme, è molto suggestiva di ICL. Il riscontro d'aree osteolitiche deve suggerire al pediatra l'invio del bambino al pediatra-oncologo, che completerà la ricerca di altre localizzazioni, anche non sintomatiche e procederà alla biopsia del tessuto.

La diagnosi definitiva di ICL è sempre istologica. Nei casi in cui il quadro morfologico sia compatibile con il sospetto, ad esempio escludendo un tumore osseo, il patologo può ricorrere alle moderne tecniche di immunoistochimica che, senza più ricorrere alla microscopia elettronica, una volta ritenuta indispensabile per la dimostrazione dei granuli di Birbeck, permettono di dimostrare, con colorazioni specifiche, che le grosse cellule macrofagiche evidenti nel tessuto infiltrato sono in effetti cellule di Langerhans.

La cute è interessata in un terzo dei casi, più spesso nelle pieghe, al capo ed in regione lombo-sacrale. L'aspetto è quello della dermatite seborroica, con cui spesso viene scambiata (Figura 2).

**Figura 2**



Nel 10% dei casi in cui la malattia è solo cutanea, essa va incontro, nella maggior parte dei casi, a regressione spontanea nel corso di settimane o mesi.

Compito specifico del pediatra-oncologo che valuta un bambino con diagnosi di ICL all'esordio è quello di esplorare la possibilità di localizzazioni ulteriori, poco o non manifeste. Andranno ricercate infiltrazioni a carico di quelle che possono essere altre sedi usuali. Poliuria e polidipsia (anche 6-8 litri al giorno) sono le manifestazioni del diabete insipido (DI), malattia molto rara nei bambini, ma caratteristicamente associata alla ICL. Eccezionalmente, il DI può esordire come sintomo isolato, celando una ICL non diagnosticata. In questi casi, si impone una ricerca accurata di possibili localizzazioni silenti. Più spesso compare entro alcuni mesi dalla diagnosi di ICL, talora, anche anni dopo. Il rischio di DI è aumentato in caso di coinvolgimento delle ossa del volto o della base cranica (10).

La diagnosi è spesso già clinica, ma sarà documentata dalla incapacità di concentrazione delle urine dopo assetamento e dall'evidenza di perdita del segnale luminoso della neuroipofisi alla RM. Non è noto alcun caso di reversibilità di un DI, dopo alcun trattamento (sistemico o locale), che quindi si limiterà alla sostituzione con Desmopressina (DDAVP).

Fortunatamente, è molto meno frequente nel bambino un interessamento del *fegato*, spesso associato ad ingrandimento della milza. Si tratta nella maggior parte dei casi, di bambini con malattia disseminata, che vanno incontro a flogosi biliare, la cui prognosi risente della sensibilità alla terapia (11).

Altrettanto può accadere per quanto riguarda il *polmone*, organo caratteristicamente bersaglio della ICL nel paziente adulto e fumatore, ma interessato solo nel 20% dei bambini con malattia disseminata. Le lesioni inizialmente nodulari, evolvono verso la cavitazione fino a rendere, nei casi più severi, il parenchima insufficiente (Figura 3).

**Figura 3**



Occasionalmente, una linfadenomegalia anche isolata (solitamente laterocervicale) diventa il quadro clinico principale della ICL.

In sintesi, quindi, di fronte ad un bambino con sospetta ICL va identificato il tessuto lesionale più accessibile per una conferma istologica. Nel caso in cui la diagnosi sia confermata, è importante eseguire una ricerca accurata di eventuali localizzazioni asintomatiche occulte. Questo permetterà di definire la malattia come localizzata (a carico di un singolo tessuto, organo o apparato, sia esso uni- o multi-focale) o disseminata (MS, *multisystem*) e di valutare esattamente le caratteristiche dei focolai di malattia anche al fine di una valutazione della risposta ad un eventuale trattamento (7).

### **8.3 Prognosi e terapia**

La singola lesione istiocitaria tende a stabilizzarsi, dopo un periodo di acuzie e quindi ad andare incontro, entro un periodo di tempo assai variabile, alla risoluzione spontanea. Purtroppo, prima della sua evoluzione favorevole, è possibile che il tessuto interessato, ad esempio l'osso, vada incontro ad un danno: ad esempio, una lesione osteolitica in una regione sottoposta a carico può essere responsabile di una frattura patologica e quindi, di consolidamento con deformità. Addirittura, alcune localizzazioni vertebrali possono divenire immediatamente pericolose. Altrettanto si può dire per lesioni a carico di parenchimi nobili, in cui l'evoluzione fibrotica può essere tardiva o comunque, lesiva della funzione. Obiettivo del trattamento quindi è sempre quello di accelerare il processo di guarigione del focolaio infiammatorio, prevenendo anche, se possibile, la sua cicatrizzazione estesa.

In base a quanto detto, si può comprendere come la ICL infantile localizzata, solitamente a carico di osso o cute, non sia mai mortale e solitamente guarisce spontaneamente dopo un periodo variabile di attivazione/riattivazione.

Obiettivo del trattamento dovrebbe essere quello di limitare i disturbi come dolore e prurito o le possibili sequele invalidanti, specie a carico dell'osso. Solo in casi selezionati, sono utili terapie locali.

#### ***Terapie locali***

Certamente, protagonista è il *curettage* chirurgico, trattamento essenziale delle lesioni osteolitiche. Ad esso, può essere aggiunta la instillazione intra-lesionale di farmaci anti-infiammatori, specie

steroidi. Questa procedura diventa sempre più comune, grazie alla collaborazione con ortopedici sensibilizzati nella conoscenza della malattia (12).

La radioterapia, assai largamente adottata in passato, è certamente efficace nel controllo della lesione osteolitica, ma si associa inevitabilmente ad una morbidità, spesso inaccettabile per il piccolo paziente in età evolutiva. Deformità facciali o del tronco oggi visibili in pazienti trattati alcune decadi or sono rimangono un monito per i trattamenti attuali (13,14).

L'applicazione di mostarda azotata sulle lesioni cutanee è stata suggerita dalla scuola inglese diversi anni fa. Per quanto richieda precauzioni evidenti nella preparazione e nella somministrazione, la sua efficacia è certa, talora addirittura sorprendente e quindi, va considerata come una opzione in casi molto selezionati (15).

E' importante chiarire che la riattivazione di malattia, specie a carico di osso e cute, avverrà nella maggioranza dei casi, ma non va interpretata come un segno di prognosi meno favorevole. Infatti, questa andrebbe definita solo in caso di estensione della malattia ai parenchimi nobili, del tutto infrequente come evoluzione secondaria di malattia localizzata. In realtà, ICL multifocale che non coinvolge fegato, milza, polmone, tessuto emopoietico, parenchima cerebrale non è praticamente mai associata ad un rischio di mortalità, da progressione di malattia.

Ben diversa è la situazione nel caso di ICL disseminata, il cui trattamento è un problema di pertinenza degli oncoematologi pediatri. La *Histiocyte Society*, e con essa l'AIEOP, ha condotto dal 1991 tre studi clinici che hanno permesso di identificare la combinazione di vinblastina + prednisone come lo standard di chemioterapia attuale. La risposta al trattamento con questa combinazione per sei settimane acquista un valore prognostico molto forte, permettendo di identificare rapidamente pazienti con prognosi altamente sfavorevole. In questi casi refrattari alla terapia iniziale, gravati di una mortalità elevata, si adottano chemioterapie alternative che comprendono agenti quali citarabina, cladribina, etoposide. Il ruolo del trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) è attentamente valutato in uno studio cooperativo internazionale (8,16-19).

### ***Sequela della ICL***

La cicatrizzazione della malattia epatica esita in una colangite sclerosante che diventa, anche in caso di ICL spenta, causa di

insufficienza epatica invalidante e che quindi, richiede talora il trapianto di fegato. Analoga situazione si può generare nel polmone che, specie nell'adulto, richiede il trapianto d'organo (11,20).

Le sequele ortopediche od endocrinologiche rappresentano uno dei motivi di maggiore rilievo nell'assistenza ai bambini con ICL. Lesioni osteolitiche o trattamenti radianti, più frequenti in passato, possono essere causa di deformità ossee talora limitanti. Il DI non è guaribile e necessita di terapia sostitutiva, per cui ragazzi anche guariti da ICL possono avere bisogno di una assistenza endocrinologica per valutare la funzione specie del GH e della tiroide, che andranno eventualmente sostituite dove richiesto (10,21,22).

#### **8.4 Caratterizzazione biologico-molecolare**

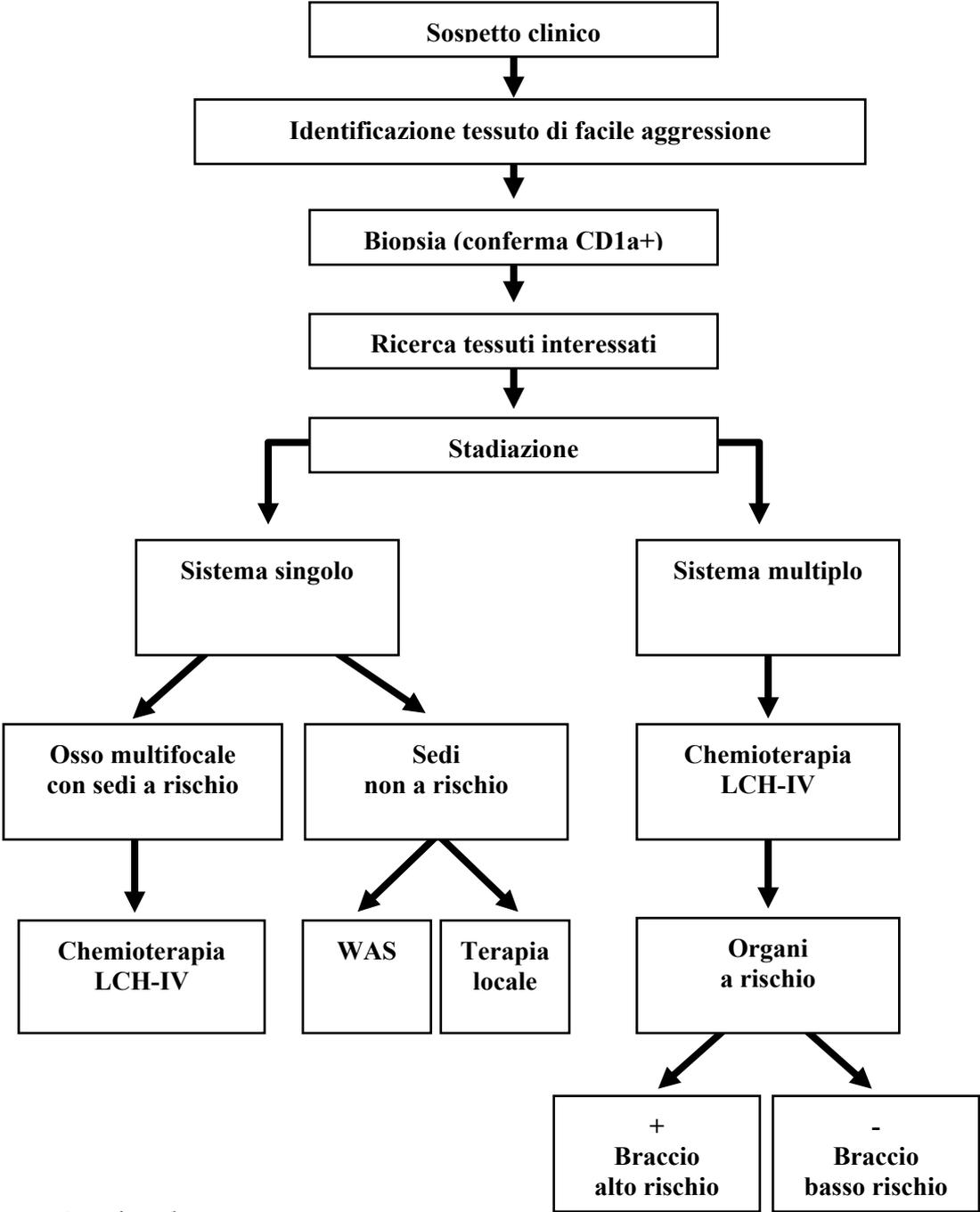
La ricerca attuale nel campo della ICL è rivolta a chiarire la patogenesi di questa malattia (23). A lungo si è indagato sul ruolo delle infezioni virali, con esito frustrante (24).

Recenti studi genetici ed epidemiologici, anche sui gemelli hanno fornito nuove chiavi di lettura, che permettono di ipotizzare che la ICL possa essere una malattia multi-fattoriale, in cui alterazioni congenite del sistema immunitario giocano un ruolo favorente nella patogenesi. In base ai dati disponibili, la probabilità per un paziente con ICL di avere un secondo caso in famiglia, sia esso un fratello, cugino o zio, è pari solo all'1%. Invece, se il paziente è un gemello dizigote, la probabilità che il gemello sviluppi anch'esso la malattia sale al 13%; infine, se si tratta di un gemello omozigote, il rischio arriva ad oltre l'80% (25). Questi dati sono assolutamente in linea con quelli attesi per la trasmissione di una malattia genetica. Quindi, l'insieme di questi dati sembra suggerire con evidenza che nella patogenesi di almeno un sottogruppo di ICL ci sia una componente genetica che gioca un ruolo patogenetico.

I dati riportati in passato sull'evidenza di clonalità in tessuto lesionale, a riprova di una origine neoplastica della ICL (26), non hanno trovato conforto e condivisione in letteratura, essendo stato dimostrato che la clonalità può avere spiegazioni alternative. Al contrario, si sono accumulate evidenze ripetute a favore di un disturbo della risposta immunitaria con disregolazione del sistema di risposta mediato da cito- e chemochine infiammatorie, come base del disturbo di traffico cellulare nei siti interessati dalla malattia (27,28).

Infine, recenti dati sperimentali nell'ambito di una collaborazione internazionale europea permettono di chiarire che la disregolazione della sintesi di interleukina 17 gioca un ruolo patogenetico nella ICL, aprendo nuovi scenari dal punto di vista della interpretazione patogenetica, ma anche di nuovi approcci terapeutici (29).

**ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS**



WAS: wait and see

LCH-IV: protocollo AIEOP-Histiocyte Society LCH-IV

## BIBLIOGRAFIA

1. Baussano I, Maule MM, Dama E, Dalmaso P, Mosso ML, Galzerano M, Merletti F, Magnani C, Pastore G. Expected number of childhood cancers in Italy from 2001 to 2015. *Haematologica* 2007 Sep; 92(9):1258-61
2. Linabery AM, Ross JA. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992-2004). *Cancer* 2008 Jan 15; 112(2):416-32
3. Ferrari A, Bisogno G, De Salvo GL, Indolfi P, Perilongo G, Cecchetto G. Italian Study on Rare Tumours in Paediatric Age (TREP); Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica (AIEOP). The challenge of very rare tumours in childhood: the Italian TREP project. *Eur J Cancer* 2007 Mar; 43(4):654-9. *Epub* 2006 Oct 16
4. Favara BE, Feller AC, Pauli M et al. Contemporary classification of histiocytic disorders. The WHO Committee On Histiocytic/Reticulum Cell Proliferations. Reclassification Working Group of the Histiocyte Society. *Med Pediatr Oncol* 1997; 29:157-66
5. Histiocytosis syndromes in children. Writing Group of the Histiocyte Society. *Lancet* 1987; 1:208-9
6. Aricò M, Danesino C, Pende D, Moretta L. Pathogenesis of haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 2001 Sep; 114(4):761-9
7. Broadbent V, Gadner H, Komp DM, Ladisch S. Histiocytosis syndromes in children: II. Approach to the clinical and laboratory evaluation of children with Langerhans cell histiocytosis. Clinical Writing Group of the Histiocyte Society. *Med Pediatr Oncol* 1989; 17:492-5
8. Gadner H, Grois N, Arico M et al. A randomized trial of treatment for multisystem Langerhans' cell histiocytosis. *J Pediatr* 2001; 138:728-34
9. A multicentre retrospective survey of Langerhans' cell histiocytosis: 348 cases observed between 1983 and 1993. The French Langerhans' Cell Histiocytosis Study Group. *Arch Dis Child* 1996; 75:17-24
10. Grois N, Potschger U, Prosch H et al. Risk factors for diabetes insipidus in langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46:228-33

11. Braier J, Ciocca M, Latella A, de Davila MG, Drajer M, Imventarza O. Cholestasis, sclerosing cholangitis, and liver transplantation in Langerhans cell Histiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 2002; 38:178-82
12. Egeler RM, Thompson RC Jr, Voûte PA, Nesbit ME Jr. Intralesional infiltration of corticosteroids in localized Langerhans' cell histiocytosis. *J Pediatr Orthop* 1992 Nov-Dec; 12(6):811-4
13. Nesbit ME, Kieffer S, D'Angio GJ. Reconstitution of vertebral height in histiocytosis X: a long-term follow-up. *J Bone Joint Surg Am.* 1969 Oct; 51(7):1360-8
14. Womer RB, Raney RB Jr, D'Angio GJ. Healing rates of treated and untreated bone lesions in histiocytosis X. *Pediatrics* 1985 Aug; 76(2):286-8
15. Hoeger PH, Nanduri VR, Harper JI, Atherton DA, Pritchard J. Long term follow up of topical mustine treatment for cutaneous langerhans cell histiocytosis. *Arch Dis Child* 2000 Jun; 82(6):483-7
16. Minkov M, Grois N, Braier J et al. Immunosuppressive treatment for chemotherapy-resistant multisystem Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 2003; 40:253-6
17. Gadner H, Grois N, Potschger U, Minkov M, Arico M, Braier J, Broadbent V, Donadieu J, Henter JI, McCarter R, Ladisch S. Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood* 2007 Dec 18; [Epub ahead of print]
18. Bernard F, Thomas C, Bertrand Y et al. Multi-centre pilot study of 2-chlorodeoxyadenosine and cytosine arabinoside combined chemotherapy in refractory Langerhans cell histiocytosis with haematological dysfunction. *Eur J Cancer* 2005; 41:2682-9
19. Steiner M, Matthes-Martin S, Attarbaschi A et al. Improved outcome of treatment-resistant high-risk Langerhans cell histiocytosis after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36:215-25
20. Dauriat G, Mal H, Thabut G, Mornex JF, Bertocchi M, Tronc F, Leroy-Ladurie F, Darteville P, Reynaud-Gaubert M, Thomas P, Pison C, Blin D, Stern M, Bonnette P, Dromer C, Velly JF, Brugière O, Lesèche G, Fournier M. Lung transplantation for

- pulmonary langerhans' cell histiocytosis: a multicenter analysis. *Transplantation* 2006 Mar 15; 81(5):746-50
21. Haupt R, Nanduri V, Calevo MG et al. Permanent consequences in Langerhans cell histiocytosis patients: a pilot study from the Histiocyte Society-Late Effects Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42:438-44
  22. Maghnie M, Cosi G, Genovese E, Manca-Bitti ML, Cohen A, Zecca S, Tinelli C, Gallucci M, Bernasconi S, Boscherini B, Severi F, Aricò M. Central diabetes insipidus in children and young adults. *N Engl J Med* 2000 Oct 5; 343(14):998-1007
  23. Nezelof C, Basset F. An hypothesis Langerhans cell histiocytosis: the failure of the immune system to switch from an innate to an adaptive mode. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42:398-400
  24. McClain K, Jin H, Gresik V, Favara B. Langerhans cell histiocytosis: lack of a viral etiology. *Am J Hematol* 1994 Sep; 47(1):16-20
  25. Aricò M, Nichols K, Whitlock JA, Arceci R, Haupt R, Mittler U, Kühne T, Lombardi A, Ishii E, Egeler RM, Danesino C. Familial clustering of Langerhans cell histiocytosis. *Br J Haematol* 1999 Dec; 107(4):883-8
  26. Willman CL, Busque L, Griffith BB, Favara BE, McClain KL, Duncan MH, Gilliland DG. Langerhans'-cell histiocytosis (histiocytosis X)--a clonal proliferative disease. *N Engl J Med* 1994 Jul 21; 331(3):154-60
  27. Annels NE, Da Costa CE, Prins FA, Willemze A, Hogendoorn PC, Egeler RM. Aberrant chemokine receptor expression and chemokine production by Langerhans cells underlies the pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis. *J Exp Med* 2003 May 19; 197(10):1385-90. *Epub* 2003 May 12
  28. Da Costa CE, Annels NE, Faaij CM, Forsyth RG, Hogendoorn PC, Egeler RM. Presence of osteoclast-like multinucleated giant cells in the bone and nonostotic lesions of Langerhans cell histiocytosis. *J Exp Med* 2005 Mar 7; 201(5):687-93
  29. Coury F, Annels N, Rivollier A, Olsson S, Santoro A, Speziani C, Azocar O, Flacher M, Djebali S, Tebib J, Brytting M, Egeler RM, Rabourdin-Combe C, Henter JJ, Arico M, Delprat C. Langerhans cell histiocytosis reveals a new IL-17A-dependent pathway of dendritic cell fusion. *Nat Med* 2008 Jan; 14(1):81-7. *Epub* 2007 Dec 23

## **9.0 TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE E TERAPIE CELLULARI INNOVATIVE**

Poche altre terapie hanno inciso così profondamente sulla storia naturale di molte patologie come il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE). Non vi è dubbio, infatti, che il trapianto abbia da un lato modificato le prospettive di sopravvivenza di pazienti affetti da malattie altrimenti, molte volte ad esito infausto (quali leucemie acute e croniche, aplasie midollari) e, dall'altro, sostanzialmente migliorato la qualità di vita associata ad alcune patologie (talassemia *major*, anemia a cellule falciformi), le quali, pur non gravate da prognosi sfavorevole nel breve termine, comunque, comportano importante morbilità. Si può, quindi, a buona ragione, definire il TCSE come una vera e propria rivoluzione terapeutica, che, incominciata diversi anni or sono e progressivamente raffinatasi nel corso degli anni grazie a tutta una serie di innovative scoperte nel campo dell'immunologia, dell'istocompatibilità, dell'infettivologia ecc, non ha ancora completato il suo percorso (1).

### **9.1 Trapianto di cellule staminali emopoietiche**

Non è casuale che i primi TCSE siano stati eseguiti su bambini: infatti, ancora oggi, a 40 anni di distanza dalle prime segnalazioni sull'efficacia del trapianto (2,3), i maggiori successi e le più ampie indicazioni rimangono campo di elettiva pertinenza pediatrica (1).

Accanto alle indicazioni trapiantologiche collaudate e di larga applicazione inerenti al trattamento di emopatie maligne, l'età pediatrica offre lo scenario applicativo (anch'esso ormai largamente consolidato nella pratica clinica) delle malattie genetiche che possono beneficiare del TCSE, sia in una prospettiva di terapia salvavita (per tutte valga l'esempio delle immunodeficienze gravi combinate, piuttosto che dell'anemia aplastica costituzionale di Fanconi), che in un'ottica di terapia in grado di migliorare soprattutto, la qualità della vita stessa si pensi nuovamente ai pazienti con talassemia.

Potremmo allora convenire che molte delle patologie suscettibili di trattamento con un TCSE allogenico, cioè da donatore, riportate nella Tabella 1 rappresentano delle indicazioni consolidate, nelle quali semmai, la scelta trapiantologica potrà venir diversificata in funzione

del tipo di donatore disponibile, essendo i trapianti in cui il donatore è un familiare HLA-compatibile di più immediata e facile realizzazione, anche alla luce della storicamente osservata riduzione del rischio di mortalità trapianto-correlata, rispetto a trapianti da donatore non consanguineo e, ancor più, da donatore familiare HLA-parzialmente compatibile.

**Tabella 1 Indicazioni al trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche in età pediatrica**

Leucemia linfoblastica acuta in I remissione*	Immunodeficienze combinate gravi (SCID)
in II remissione	Immunodeficienza con iper IgM
in III o successiva remissione	
Leucemia mieloide acuta in I o successiva remissione	Deficit delle proteine di adesione leucocitaria
Leucemia mieloide cronica Ph+	Sindrome di Omenn
Sindromi mielodisplastiche	Sindrome di Wiskott-Aldrich
Linfomi (Hodgkin e non-Hodgkin) recidivato o resistenti	Sindrome di Chediak-Higashi
Selezionati tipi di tumore solido**	Sindrome di Kostmann (agranulocitosi maligna infantile)
Anemia aplastica grave	<i>X-linked lymphoproliferative disease</i> (Sindrome dei Duncan)
Anemia di Fanconi	Linfoistocitosi emofagocitica
Discheratosi congenita	Gravissime forme di piastrinopatia costituzionale (es. Tromboastenia di Glanzmann o Sindrome di Bernard- Soulier)
Anemia di Diamond-Blackfan	Tipi selezionati di mucopolisaccaridosi e di altre malattie lisosomiali/perissosomiali
Talassemia <i>major</i>	Osteopetrosi maligna infantile
Anemia a cellule falciformi	Selezionati tipi di malattie autoimmuni refrattarie ai trattamenti convenzionali e a prognosi severa

\*Pazienti ad alto rischio di recidiva (i.e. con traslocazione t(9;22) o t(4;11); *non responder* alla pre-fase corticosteroidica e con immunofenotipo T o più di  $100 \times 10^9$  WBC/L alla diagnosi; pazienti con alti livelli di malattia residua minima ai punti di valutazione).

\*\*Neuroblastoma metastatico o refrattario alle terapie convenzionali o recidivato dopo trapianto autologo, rhabdomyosarcoma refrattario alle terapie convenzionali o recidivato dopo trapianto autologo, sarcoma di Ewing ad altissimo rischio.

Il TCSE sia autologo, cioè effettuato impiegando le cellule staminali del paziente, le cui indicazioni sono illustrate in Tabella 2, che allogenico, è una procedura in continua evoluzione: ciò che oggi può essere definito sperimentale o quantomeno non ancora consolidato nella pratica clinica quotidiana, nell'arco di pochi mesi diviene di *routinaria* applicazione e, di converso, ciò che si riteneva indicazione elettiva viene ad essere superato da trattamenti alternativi in grado di offrire, magari al prezzo di minori effetti collaterali, risultati comparabili rispetto a quelli ottenuti con il trapianto. In altre parole, le indicazioni trapiantologiche sono suscettibili di un continuo, dinamico processo di revisione, in ottemperanza all'obbligo di avere come punto di riferimento la necessità di offrire, in ogni momento, al paziente le terapie migliori ed associate ai minori effetti collaterali (4).

**Tabella 2 Indicazioni al trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche in pediatria**

- Leucemia mieloide acuta in prima o seconda remissione dopo purificazione midollare
- Leucemia linfoblastica acuta in seconda remissione dopo recidiva extramidollare isolata
- Linfomi maligni recidivati
- Neuroblastoma metastatico alla diagnosi
- Rbdomiosarcoma metastatico alla diagnosi
- Sarcoma di Ewing metastatico alla diagnosi
- Selezionati tipi di malattie autoimmuni refrattarie ai trattamenti convenzionali e a prognosi severa.

Paradigmatico della dinamicità di evoluzione delle indicazioni trapiantologiche in oncologia, è l'esempio della leucemia acuta promielocitica, in cui il trattamento con agenti differenzianti quali l'acido trans-retinoico (grazie soprattutto all'attività di prevenzione delle complicanze emorragiche e trombotiche elettivamente associate alla patologia) ha radicalmente mutato la prognosi, consentendo di ottenere probabilità di sopravvivenza libera da malattia ampiamente nell'ordine del 70%, senza necessità di ricorso al TCSE (5). Questo miglioramento ha condotto alla scelta di riservare la procedura di trapianto allogenico solo ai pazienti con persistenza del trascritto di

fusione PML/RAR $\alpha$ , derivante dalla traslocazione t(15;17), al termine del trattamento citostatico e differenziativo o nei pazienti con ricaduta di malattia (6).

Il TCSE, come tutte le terapie biotecnologicamente avanzate e sofisticate, non trova solo indicazioni collaudate, ma, per sua stessa intrinseca natura, viene impiegato in scenari applicativi sperimentali. In questo contesto, non si può non pensare ai programmi di impiego del TCSE allogenico per malati affetti da neoplasie non ematologiche (carcinoma renale, della mammella o, per quanto maggiormente riguarda l'età pediatrica, sarcomi delle parti molli) (7,8). Per la larghissima diffusione delle patologie oncologiche, in cui il trapianto potrebbe trovare impiego, sono evidenti le ragioni per cui questo scenario sperimentale ha destato notevole interesse ed attratto numerosi investimenti di risorse ed impegno di ricerca, anche alla luce di dati preliminari che, certamente, dovranno trovare ulteriore conferma nel tempo, ma che, ad oggi, sembrano aprire spiragli innovativi (soprattutto per quel che riguarda il carcinoma del rene (8) e qualche patologia sarcomatosa, quale il sarcoma di Ewing (7)) nell'ambito di malattie, spesso altrimenti gravate da prognosi altamente infausta. L'impiego del TCSE allogenico nell'ambito di neoplasie non ematologiche esemplifica anche il cambiamento filosofico nella concezione del trapianto, oggi largamente considerato nella prospettiva della creazione di una piattaforma immunoematologica, su cui innestare ulteriori sviluppi di immunoterapia adottiva. Certo, non di pertinenza squisitamente pediatrica, ma dimostrativi in questo senso, sono gli studi clinici in corso di avanzata realizzazione, riguardanti l'impiego del TCSE allogenico per il trattamento di malattie linfoproliferative indolenti (leucemia linfatica cronica, linfomi a basso grado di malignità, mieloma multiplo, malattia di Hodgkin) (9,10).

Per quanto inerisce al TCSE autologo, seppur largamente impiegato in età pediatrica per il trattamento di numerose neoplasie ematologiche o solide (Tabella 2), ad oggi, studi clinici controllati che ne dimostrino la superiorità rispetto a trattamenti citostatici tradizionali sono disponibili solamente per il neuroblastoma metastatico (11) ed in maniera meno consistente, per la leucemia mieloide acuta, patologia per la quale, a fronte di studi indicativi di una superiorità dell'autotrapianto rispetto a terapie post-remissionali convenzionali (12), ve ne sono altri che non hanno confermato il vantaggio a favore della procedura trapiantologia (13,14). In quest'ultimo ambito, vale la pena sottolineare come siano sempre più convincenti i dati a favore di una strategia di purificazione

delle cellule staminali da un'eventuale contaminazione con cellule leucemiche clonogeniche, ottenibile attraverso l'impiego di derivati della ciclofosfamide.

## **9.2 I progressi ed i cambiamenti del “regime di condizionamento”**

Dagli albori e per anni, con rare eccezioni rappresentate dalle immunodeficienze gravi combinate o da forme di aplasia midollare acquisita o costituzionale, i “regimi di condizionamento” al trapianto si sono fondati sull'impiego di schemi ad impronta fortemente mieloablativa, nonché dotati di capacità immunosoppressiva, soprattutto per i pazienti avviati ad un TCSE allogenico. Si riteneva, infatti, che al regime di condizionamento pre-trapianto si dovesse demandare il compito di: 1) creare spazio alle cellule staminali del donatore in sostituzione di quelle del ricevente, 2) eliminare cellule leucemiche presenti nel malato al momento della realizzazione della procedura trapiantologica, 3) indurre un'immunodepressione tale da impedire fenomeni di rigetto del trapianto. In questa prospettiva, è stato fatto largo uso di schemi di preparazione al trapianto basati sulla combinazione di irradiazione totale corporea (*total body irradiation*, TBI) e farmaci citostatici (ciclofosfamide, etoposide, melphalan, citosin-arabinoside) o, in alternativa, fondati sull'uso associato di busulfano con gli stessi agenti chemioterapici impiegati insieme alla TBI. In questa prospettiva, deve essere ricordato che il busulfano, rispetto alla TBI, è gravato da una minor incidenza di effetti collaterali, soprattutto di tipo neurologico (15) ed inerenti ad un ritardo nell'accrescimento staturale (16), in buona parte motivato da una ridotta produzione di ormone somatotropo, conseguente al trattamento radiante. L'uso del busulfano, a parità di efficacia rispetto alla radioterapia, deve essere raccomandato in maniera particolare, nei soggetti di età < 2 anni. Non stupisce, quindi, che, con l'eccezione della leucemia linfatica acuta (ove l'impiego della TBI offre, consolidatamente, un vantaggio in termini di *outcome* finale) (17) la radioterapia a dose convenzionale (990-1200 cGy) venga sempre meno frequentemente utilizzata.

La sempre più crescente consapevolezza che al successo del TCSE allogenico contribuisce più l'effetto immunologico del trapianto (*graft-versus-tumor effect*) che l'intensità del trattamento farmacologico o radiante pre-trapianto, assieme all'evidenza che è possibile ridurre la

tossicità peri-trapiantologica tramite l'impiego di regimi definiti "ad intensità ridotta" (10), ha contribuito alla realizzazione di quel cambiamento filosofico nella concezione del trapianto, cui si è fatto prima riferimento e che prevede, come parte integrante, l'impiego di terapie maggiormente improntate a mediare un'azione efficacemente immunosoppressiva. Questo approccio trapiantologico che è reso possibile dalla disponibilità di farmaci efficacemente immunosoppressori gravati da limitata tossicità extra-midollare, quali la fludarabina (18) e dall'impiego di alte dosi (megadosi) di cellule staminali emopoietiche (19), attraverso cui ottenere uno stabile attecchimento emopoietico, affida alle cellule immunocompetenti del donatore (magari con il supporto di ulteriori infusioni di leucociti post-trapianto, *DLI-donor leukocyte infusion*) il compito non solo di mediare un effetto *graft-versus-tumor*, ma anche quello di eliminare progressivamente l'emopoiesi del ricevente, risparmiando significativa mortalità e morbilità peri-trapiantologica.

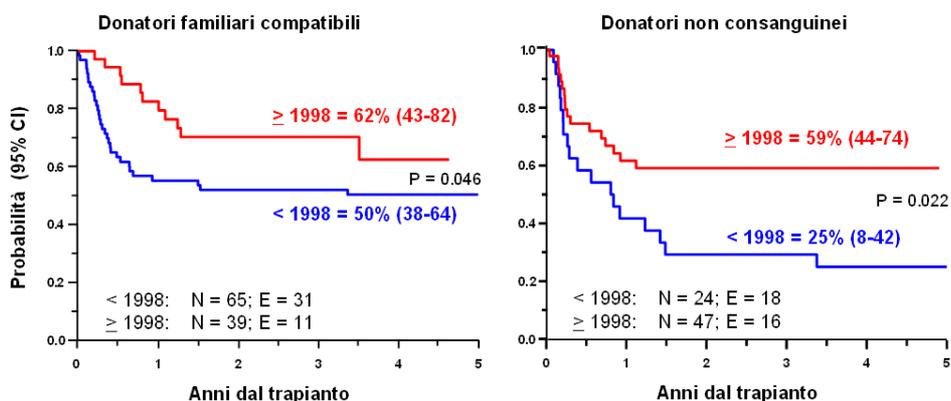
### **9.3 Il donatore di cellule staminali emopoietiche: non solo un germano HLA-compatibile**

Per molti anni l'applicabilità del TCSE è stata largamente condizionata dalla disponibilità di un donatore familiare (usualmente un fratello o una sorella) HLA-compatibile. Nei paesi industrializzati, la creazione dei registri dei donatori volontari di midollo osseo ha reso possibile incrementare il numero dei pazienti sottoposti a TCSE attraverso l'impiego di donatori non consanguinei (20). Oggi, è possibile stimare che circa i 2/3 dei pazienti che attivano la ricerca per identificare un donatore non consanguineo hanno poi la possibilità di accedere alla procedura trapiantologica entro i primi 4-6 mesi dall'inizio della ricerca. Mentre all'inizio degli anni '90, periodo in cui si è diffuso l'impiego di donatori non consanguinei, questo tipo di trapianto era gravato da un significativo incremento del rischio di mortalità trapianto-correlata, principalmente a causa di una aumentata incidenza e severità delle complicanze immunologiche del trapianto e di una ritardata ricostituzione immunologica post-trapianto (21), nell'ultimo decennio si è osservato un marcato miglioramento dei risultati ottenuti, i quali sono diventati del tutto comparabili a quelli riportati dopo impiego di un donatore familiare HLA-compatibile (22). Questo miglioramento è largamente attribuibile ad una più oculata selezione del donatore, grazie al passaggio dalle tecniche sierologiche di

tipizzazione HLA a quelle allelico-molecolari, che consentono di ottenere una precisa caratterizzazione immunogenetica per i loci HLA di classe I e II. Come esemplificativamente illustrato in Figura 1, la probabilità di sopravvivenza libera da malattia (DFS) per pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta in seconda remissione completa (nei quali l'indicazione trapiantologica è più frequente) sottoposti a trapianto da donatore non correlato è significativamente aumentata, divenendo comparabile a quella dei pazienti con donatore HLA-compatibile reperibile in famiglia (23).

**Figura 1** Probabilità di sopravvivenza libera da malattia per pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta in seconda remissione.

Dal 1998, si sono impiegati per la selezione di donatori non consanguinei metodiche di tipizzazione molecolare ad alta risoluzione degli antigeni HLA di I e II classe.



*Locatelli F. et al. Leukemia, 2003*

Per rispetto etico del paziente e della disponibilità biosolidaristica del donatore, questo tipo di trapianti viene effettuato solamente in strutture accreditate, sulla base della realizzazione nei due anni precedenti di almeno 20 TCSE allogenici, dalla società scientifica nazionale (GITMO: Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo) che, in collaborazione con il Centro Nazionale Trapianti, regola l'attività di trapiantologia di cellule staminali emopoietiche nel nostro Paese. A dispetto dell'impiego di donatori non consanguinei, esiste una quota di pazienti per i quali non è possibile identificare un donatore

HLA-compatibile. In campo emato-oncologico, la risposta alla domanda trapiantologica per questi pazienti è fornita dalla possibilità di impiegare donatori familiari HLA-parzialmente compatibili (trapianto aploidentico) (24). Ovviamente, in questo contesto, si rendono necessarie procedure di deplezione linfocitaria del trapianto, mirate a scongiurare lo sviluppo di quadri gravi di malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD, *graft-versus-host disease*), quasi sempre fatali. La rimozione dei T-linfociti del donatore viene a compromettere la componente mediata dall'immunità adottiva dell'effetto immunologico del trapianto (GvL, *graft-versus-leukemia*). Tuttavia, la selezione di donatori con potenziale alloreattività per le cellule *natural killer* (NK) rispetto a *target* leucemici del ricevente, può, almeno parzialmente, compensare la perdita dell'effetto GvL mediato dai T-linfociti (24,25). Procedure di generazione *ex-vivo* di linee o cloni T-linfocitari con reattività preferenziale o specifica per le cellule leucemiche promettono di poter realizzare l'obiettivo di ottenere nel trapianto aploidentico un effetto GvL, mediato da T-linfociti, svincolato dall'induzione di GvHD (26), così come per i patogeni più frequentemente coinvolti nelle complicanze infettivologiche osservate dopo TSCE. L'infusione adottiva di linee e/o cloni specifici consente di accelerare la ricostituzione immunologica, abolendo il rischio di complicanze infettive post-trapianto (27,28). Ovviamente, stante l'elevata complessità di questo tipo di trapianto, è opportuno che procedure di questo tipo vengano riservate a centri con provata qualificazione e competenza nel merito e con programmi di ricerca clinica traslazionale dedicati al trapianto aploidentico.

#### **9.4 Le cellule staminali emopoietiche**

Per anni, l'unica sorgente di cellule staminali emopoietiche impiegata è stato il midollo osseo. La dimostrazione che cellule staminali emopoietiche possono essere mobilizzate nel sangue periferico ha trovato larga applicazione nel contesto del trapianto autologo. Infatti, negli ultimi anni, la maggioranza dei TCSE autologhi vengono realizzati attraverso l'impiego di progenitori emopoietici derivanti dal sangue periferico, previa opportuna terapia mobilizzante. La larga diffusione dell'uso dei progenitori del sangue periferico deriva principalmente dall'accelerata ricostituzione granulocitaria e piastrinica post-trapianto rispetto a quanto osservabile con l'impiego del midollo osseo. Non vi sono, al contrario, evidenze di miglioramento

nell'*outcome* finale o di una riduzione del rischio di ricaduta di una patologia tumorale, essendo stata, al contrario, dimostrata la possibilità che cellule maligne clonogeniche contaminino le raccolte di progenitori emopoietici del sangue periferico.

In una prospettiva di potenziali sorgenti di cellule staminali emopoietiche, non può certo essere sottaciuto, nel contesto del TCSE allogenico, l'uso del cordone ombelicale. Il sangue cordonale, infatti, contiene un elevato numero di cellule emopoietiche ed in particolare, una quota di progenitori emopoietici immaturi (quali *long-term culture initiating cells*, LTC-IC e *high proliferative potential colony forming cell*, HPP-CFC), più elevata rispetto al midollo osseo (29). La valutazione della ricostituzione del *reservoir* emopoietico in pazienti pediatriche sottoposti a TCSE di sangue cordonale o di midollo osseo, ha dimostrato un netto vantaggio a favore dei primi, confermando la maggior staminalità dei progenitori cordonali rispetto a quelli provenienti dal midollo osseo (30). Le caratteristiche immunologiche dei linfociti in esso contenuti rendono, inoltre, il sangue cordonale particolarmente interessante per l'impiego nel contesto trapiantologico. Infatti, dopo trapianto di sangue cordonale si osserva una ridotta incidenza di GvHD ed è possibile effettuare trapianti anche in caso di non perfetta compatibilità HLA tra donatore e ricevente (31). Numerosi studi hanno chiaramente dimostrato che, in pazienti pediatriche, il TCSE da sangue cordonale è in grado di fornire risultati almeno equivalenti rispetto a quelli ottenibili con il trapianto di progenitori emopoietici midollari, sia nell'ambito dei trapianti da donatore familiare, sia nel contesto dei trapianti da donatore non consanguineo (32-34). Il limite maggiore ad una sempre più vasta applicazione del trapianto di cellule cordonali in soggetti di rilevante peso corporeo è rappresentato dal numero finito di progenitori emopoietici contenuti in una singola unità di sangue placentare (mediamente compreso tra  $8 \times 10^8$  e  $1,5 \times 10^9$ ). Il rischio di complicanze fatali associate a questo tipo di trapianto è, infatti, inversamente proporzionale al numero di cellule infuse e, in ogni paziente, non dovrebbero mai essere infuse meno di  $2 \times 10^7$  cellule nucleate/Kg di peso corporeo. La possibilità di trapiantare due unità cordonali nello stesso individuo, di espandere le cellule staminali del sangue cordonale o di procedere ad una diretta iniezione intraossea dei progenitori emopoietici cordonali rende possibile ipotizzare l'impiego *routinario* di questa sorgente di progenitori emopoietici, anche per trapiantare adolescenti con un peso corporeo superiore ai 40-50 Kg.

## 9.5 I miglioramenti delle terapie di supporto: una sfida continua

Pochi dubbi che, se il TCSE viene impiegato sempre più e con sempre maggior successo, i meriti debbano essere attribuiti anche all'ottimizzazione di strategie di supporto che coinvolgono vari aspetti, fra cui la diagnostica e la terapia di complicanze infettive, la prevenzione e la terapia della GvHD, l'uso appropriato di fattori di crescita emopoietici, il sostegno psicologico nelle sue varie implicazioni, anche inerenti al rapporto dialogico tra donatore e ricevente, tanto per citarne alcune.

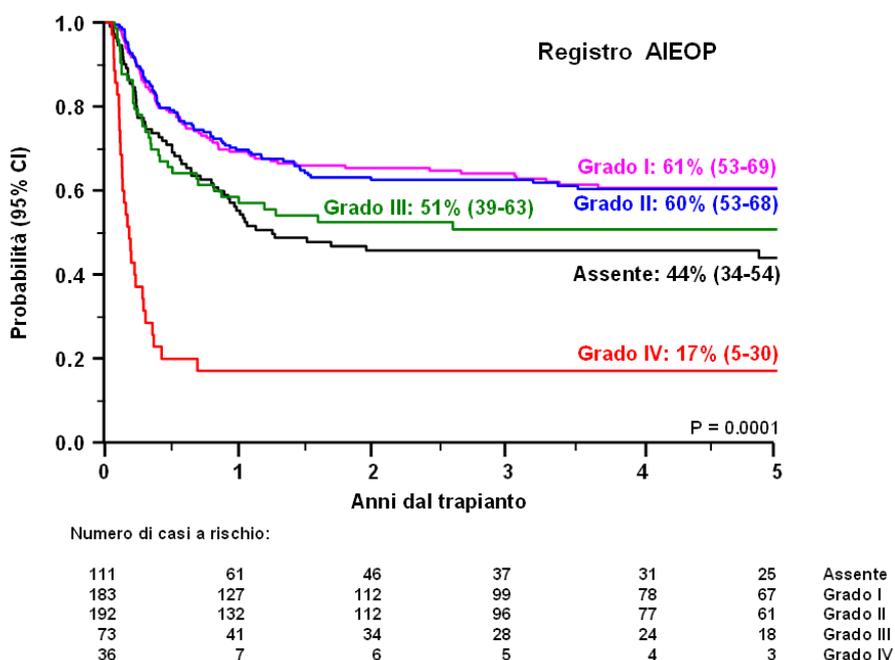
Sarebbe cosa impossibile essere esaustivi, analizzando tutti gli avanzamenti diagnostici, terapeutici e biotecnologici che, più o meno, hanno contribuito al miglioramento dei risultati ottenibili con il trapianto e all'estensione della sua applicazione. Sono stati selezionati alcuni esempi che, forse, più di altri meglio rappresentano ed esemplificano questo continuo cammino teso al perfezionamento degli approcci trapiantologici. L'infezione da virus citomegalico umano (HCMV), per anni, ha rappresentato una delle principali cause di mortalità e morbilità dopo TCSE allogenico, soprattutto a causa del rischio di sviluppare un quadro di polmonite interstiziale correlata all'infezione virale, gravata ancor oggi da una mortalità straordinariamente elevata (più dell'80%) a dispetto delle migliori terapie (35). Lo sviluppo di GvHD acuta, la sieropositività per HCMV di ricevente e/o donatore, l'impiego della T-deplezione quale profilassi della GvHD e l'uso di corticosteroidi post-trapianto costituiscono i principali fattori di rischio identificati per una riattivazione d'infezione da HCMV, la quale può raggiungere percentuali addirittura pari all'80-90% dei casi, in presenza di più d'uno di questi fattori di rischio (36,37). L'applicazione di efficaci protocolli terapeutici basati sul trattamento con farmaci attivi (ganciclovir, foscarnet e più recentemente, cidofovir) dell'infezione virale prima che questa presenti manifestazioni cliniche (*pre-emptive therapy* o terapia presintomatica) consente quasi sempre di evitare lo sviluppo di quadri di polmonite interstiziale, ciò riducendo drammaticamente, o addirittura annullando, l'impatto dell'infezione da HCMV nella mortalità peri-trapiantologica (37,38) e, al contempo, limitando il trattamento (a differenza di scelte di indiscriminata profilassi virale) solo a quei soggetti che davvero ne necessitano e ne possono beneficiare. Tuttavia, questa strategia di trattamento pre-sintomatico non sarebbe stata realizzabile senza la messa a punto di mezzi

sensibili ed efficaci per una rapida diagnosi, quali la determinazione dell'antigenemia virale (valutata attraverso la determinazione, con anticorpi monoclonali, dell'espressione sulla superficie nucleare dei leucociti della fosfoproteina virale pp65) o il monitoraggio quantitativo del DNA virale (39), piuttosto che la valutazione qualitativa di RNA messaggero virale (38). Appare evidente da questi brevissimi cenni come progressi nell'ambito di un settore specifico, come quello della diagnostica virologica, abbiano ricadute di straordinaria rilevanza nell'ambito del TCSE e come il campo dei trapianti trovi sostanziali, straordinariamente benefici e supporti dalla convergenza di vari settori della medicina e delle biotecnologie.

Ancora oggi la GvHD, soprattutto nella sua forma acuta (40), ma anche in quella cronica (41), limita in maniera consistente i successi ottenibili con il TCSE e l'applicabilità dello stesso, rappresentando una delle complicanze più temibili quando si manifesta nelle sue espressioni più gravi o, comunque, meno responsive alla terapia immunosoppressiva. Tuttavia, molta strada è stata percorsa dalle iniziali descrizioni di questa patologia e molto si è compreso sia per quel che riguarda la sua patogenesi (42), che per quel che inerisce al contributo dato dalla GvHD all'eradicazione del clone neoplastico, in pazienti affetti da emopatie maligne (40,41). Per quest'ultimo aspetto si è, infatti, da gran tempo e ripetutamente dimostrato che nella capacità di eradicazione di una neoplasia ematologica svolge una determinante azione l'immunosorveglianza antineoplastica, mediata da cellule del donatore nota come "effetto GvL" (40,41,43). Larga parte dell'effetto GvL è strettamente connessa con la reazione del trapianto contro l'ospite (*graft versus host reaction*, GvHR), che può clinicamente manifestarsi come GvHD nell'ambito di una disparità all'interno della coppia donatore/ricevente per antigeni maggiori di istocompatibilità (cioè antigeni del sistema HLA) o antigeni minori di istocompatibilità (*minor histocompatibility antigens*, mHAg) ad ampia distribuzione tissutale. Allora, è evidente che, in termini di utilità per il paziente, ben diversa sarà la condizione di un soggetto con malattia non maligna che per nulla beneficerà dello sviluppo di GvHD, dalla condizione di un soggetto con emopatia maligna in cui forme di GvHD, ad interessamento magari solo cutaneo, ben controllabili con la terapia, potranno non solo essere utili, ma addirittura quasi auspicabili (Figura 2) o magari provocate attraverso riduzioni nell'intensità della profilassi della GvHD medesima (44). Le acquisizioni di conoscenze in termini di patogenesi

della GvHD, hanno consentito di definire in maniera compiuta gli attori sulla scena di questa complicanza immunologica del trapianto ed i mediatori attraverso cui la risposta alloreattiva, causata principalmente da T-linfociti si viene ad innescare, amplificare ed estrinsecare (42). La miglior comprensione dei fenomeni immunobiologici alla base della patogenesi della GVHD ha aperto la strada allo sviluppo di trattamenti immunosoppressivi diversificati, e certo più raffinati rispetto all'impiego della terapia steroidea, che pure rimane il trattamento cardine (ovvero di prima linea) nei pazienti che sviluppano questa complicanza. Da qui sono derivati, da un lato, l'uso di anticorpi monoclonali specificatamente diretti verso i T-linfociti attivati (45) (magari attraverso l'identificazione di molecole bersaglio elettivamente espresse su cellule T-linfocitarie proliferanti quali l'antigene CD25) o verso mediatori solubili della risposta alloreattiva (46) e, dall'altro, si sono sviluppate strategie di immunomodulazione, quali ad esempio la fotochemioterapia extra-corporea (47), deputate a favorire l'innescio di meccanismi virtuosi in grado di favorire lo sviluppo di condizioni di tolleranza.

**Figura 2** Probabilità di sopravvivenza libera da malattia per pazienti pediatrici affetti da emopatia maligna in funzione del grado di sviluppo della GVHD acuta.



## 9.6 Le cellule staminali mesenchimali ed il TCSE: da spettatori indifferenti ad attori principali

Per anni, le cellule staminali mesenchimali (MSC) sono state ritenute svolgere al più un ruolo di supporto alla creazione della nicchia emopoietica, dove le cellule staminali emopoietiche si insediano per dar corso ai processi proliferativi e differenziativi (48). Nel corso degli ultimi tempi, tuttavia, una mole formidabile di studi ha inequivocabilmente documentato come le MSC posseggano capacità immunomodulanti di straordinario interesse, venendo a svolgere la loro azione su tutte le componenti dell'immunità adottiva (linfociti B, linfociti T, cellule NK, cellule che presentano l'antigene) (49). In particolare, le proprietà immunosoppressive delle MSC le rendono di grande interesse per lo sviluppo di approcci di terapia cellulare adottiva, mirati a promuovere e facilitare l'attecchimento emopoietico in contesti trapiantologici ancora oggi associati ad un considerevole rischio di mancato attecchimento delle cellule del donatore ed intesi a trattare forme di GvHD resistenti alle terapie convenzionali. Nel merito, sono di recente pubblicazione studi pilota che aprono rilevanti prospettive, ponendo le MSC al centro dell'attenzione della comunità trapiantologia (50,51). In un futuro assai prossimo, è ragionevole ipotizzare che le MSC, così come precedentemente accennato, linee o cloni T-linfocitari o cellule NK alloreattive entreranno a far parte routinaria delle strategie trapiantologiche più raffinate e sofisticate la cui applicazione è chiaramente condizionata anche dalla creazione di strutture laboratoristiche, allo scopo dedicate, rispondenti alle più stringenti norme della regolazione vigente in tema di *Good Manufacturing Practice*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Locatelli F, Burgio GR. Transplant of haematopoietic stem cells in childhood: where we are and where we are going. *Haematologica* 1998; 83:550-563
2. Bach FH, Albertini RJ, Joo P, Anderson JL, Bortin MM. Bone marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968; 2:1364-1366

3. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA. Immunological reconstitution of sex linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1968; 2:1366-1369
4. Burgio GR, Locatelli F. Transplant of bone marrow and cord blood hematopoietic stem cells in children, revisited according to the fundamental principles of bioethics. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19:1163-68
5. Testi AM, Biondi A, Lo Coco F, Moleti ML, Giona F, Vignetti M, Menna G, Locatelli F, Pession A, Barisone E, De Rossi G, Diverio D, Micalizzi C, Aricò M, Basso G, Foa R, Mandelli F. GIMEMA-AIEOP AIDA protocol for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) in children. *Blood* 2005; 106:447-53
6. Meloni G, Diverio D, Vignetti M, Avvisati G, Capria S, Petti MC, Mandelli F, Lo Coco F. Autologous bone marrow transplantation for acute promyelocytic leukemia in second remission: prognostic relevance of pretransplant minimal residual disease assessment by reverse-transcription polymerase chain reaction of the PML/RAR alpha fusion gene. *Blood* 1997; 90:1321-5
7. Pedrazzoli P, Da Prada GA, Giorgiani G, Schiavo R, Zambelli A, Giraldi E, Landonio G, Locatelli F, Siena S, Della Cuna GR. Allogeneic blood stem cell transplantation after a reduced-intensity, preparative regimen: a pilot study in patients with refractory malignancies. *Cancer* 2002; 94:2409-2415
8. Childs R, Chernoff A, Contentin N, Bahceci E, Schrupp D, Leitman S, Read EJ, Tisdale J, Dunbar C, Linehan WM, Young NS, Barrett AJ. Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2000; 343:750-8
9. Maloney DG, Molina AJ, Sahebi F, Stockerl-Goldstein KE, Sandmaier BM, Bensinger W, Storer B, Hegenbart U, Somlo G, Chauncey T, Bruno B, Appelbaum FR, Blume KG, Forman SJ, McSweeney P, Storb R. Allografting with nonmyeloablative conditioning following cytoreductive autografts for the treatment of patients with multiple myeloma. *Blood* 2003; 102:3447-54
10. Giralt S, Estey E, Albitar M, van Besien K, Rondón G, Anderlini P, O'Brien S, Khouri I, Gajewski J, Mehra R, Claxton D, Andersson B, Beran M, Przepiorka D, Koller C, Kornblau S, Kørbling M, Keating M, Kantarjian H, Champlin R. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with

purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997; 89:4531-4536

11. Matthay KK, Villablanca JG, Seeger RC, Stram DO, Harris RE, Ramsay NK, Swift P, Shimada H, Black CT, Brodeur GM, Gerbing RB, Reynolds CP. Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. *N Engl J Med* 1999; 341(16):1165-73
12. Stevens RF, Hann IM, Wheatley K, Gray RG. Marked improvements in outcome with chemotherapy alone in paediatric acute myeloid leukemia: results of the United Kingdom Medical Research Council's 10<sup>th</sup> AML trial. *Br J Haematol* 1998; 101:30-40
13. Ravindranath Y, Yeager AM, Chang MN, Steuber CP, Krischer J, Graham-Pole J, Carroll A, Inoue S, Camitta B, Weinstein HJ. Autologous bone marrow transplantation versus intensive consolidation chemotherapy for acute myeloid leukemia in childhood. Pediatric Oncology Group. *N Engl J Med* 1996; 334:1428-34
14. Woods WG, Neudorf S, Gold S, Sanders J, Buckley JD, Barnard DR, Dusenbery K, DeSwarte J, Arthur DC, Lange BJ, Kobrinsky NL. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission: a report from Children's Cancer Group. *Blood* 2001; 97:56-62
15. Parth P, Kennedy RS, Lane NE, Dunlap WP, Ordy JM. Motor and cognitive testing of bone marrow transplant patients after chemo-radiotherapy. *Percept Mot Skills* 1989; 68:1227-1241
16. Giorgiani G, Bozzola M, Locatelli F, Picco P, Zecca M, Cisternino M, Dallorso S, Bonetti F, Dini G, Borrone C, DeStefano P, Severi F. Role of busulfan and total body irradiation on growth of pre-pubertal children receiving bone marrow transplantation and results of treatment with recombinant human growth hormone. *Blood* 1995; 86:825-831
17. Davies SM, Ramsay NK, Klein JP, Weisdorf DJ, Bolwell B, Cahn JY, Camitta BM, Gale RP, Giralt S, Heilmann C, Henslee-Downey PJ, Herzig RH, Hutchinson R, Keating A, Lazarus HM, Milone GA, Neudorf S, Perez WS, Powles RL,

Prentice HG, Schiller G, Socié G, Vowels M, Wiley J, Yeager A, Horowitz MM. Comparison of preparative regimens in transplants for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2000; 18:340-7

18. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, Varadi G, Kirschbaum M, Ackerstein A, Samuel S, Amar A, Brautbar C, Ben-Tal O, Eldor A, Or R. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 1998; 91:756-763
19. Reisner Y, Martelli F. Stem cell escalation enables HLA-disparate hematopoietic transplants in leukaemia patients. *Immunol Today* 1999; 20:343-347
20. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood* 2003; 101:4233-4244
21. Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, Beatty PG, Champlin R, Filipovich A, Gajewski J, Hansen JA, Henslee-Downey J, McCullough J. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Engl J Med* 1993; 328:593-602
22. Petersdorf EW, Gooley TA, Anasetti C, Martin PJ, Smith AG, Mickelson EM, Woolfrey AE, Hansen JA. Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood* 1998; 92:3515-3520
23. Locatelli F, Zecca M, Messina C, Rondelli R, Lanino E, Sacchi N, Uderzo C, Fagioli F, Conter V, Bonetti F, Favre C, Porta F, Giorgiani G, Pession A. Improvement over time in outcome for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission given hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Leukemia* 2002; 16:2228-37
24. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, Falzetti F, Carotti A, Ballanti S, Felicini R, Falcinelli F, Velardi A, Ruggeri L, Aloisi T, Saab JP, Santucci A, Perruccio K, Martelli MP, Mecucci C, Reisner Y, Martelli MF. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukaemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol* 2005; 23:3447-3454

25. Moretta A, Locatelli F, Moretta L. Human NK cells: from HLA class I-specific killer Ig-like receptors to the therapy of acute leukemias. *Immunol Rev* 2008, *in press*
26. Montagna D, Daudt L, Locatelli F, Montini E, Turin I, Lisini D, Giorgiani G, Bernardo ME, Maccario R. Single cell cloning of human, donor-derived anti-leukemia T cell lines for *in vitro* separation of graft-versus-leukemia effect from graft-versus-host reaction. *Cancer Res* 2006; 66:7310-16
27. Comoli P, Basso S, Zecca M, Pagliara D, Baldanti F, Bernardo ME, Barberi W, Moretta A, Labirio M, Paulli M, Furione M, Maccario R, Locatelli F. Preemptive treatment of EBV-related post-transplant lymphoproliferative disorders after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7:1648-55
28. Locatelli F, Comoli P, Montagna D, Rossi F, Daudt L, Maccario R. Innovative approaches of adoptive immune cell therapy in paediatric recipients of haematopoietic stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004; 17:479-92
29. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, Arny M, Thomas L, Boyse EA. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:3828-3832
30. Madrigal JA, Cohen SBA, Gluckman E, Charron DJ. Does cord blood transplantation result in lower graft-versus-host-disease? It takes more than two to tango. *Human Immunol* 1997; 56:1-5
31. Frassoni F, Podestà M, Maccario R, Giorgiani G, Rossi G, Zecca M, Piaggio G, Locatelli F. Cord blood transplantation provides better reconstitution of hematopoietic reservoir as compared to bone marrow transplantation. *Blood* 2003; 102:1138-1141
32. Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, Broxmeyer HE, Gluckman E. Allogenic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 1995; 346: 214-219
33. Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, Remberger M, Michel G, Arcese W, Dallorso S, Tiedemann K, Busca A, Chan KW, Kato S, Ortega J, Vowels M, Zander A, Souillet G, Oakill A, Woolfrey A, Pay AL, Green A, Garnier F, Ionescu I, Wernet P, Sirchia G, Rubinstein P, Chevret S, Gluckman E. Comparison of outcomes of unrelated

bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001; 97(10):2962-71

34. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, Loberiza FR, Champlin RE, Klein JP, Horowitz MM, Wagner JE. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukemia: a comparison study. *Lancet* 2007; 369:1947-54
35. Enright H, Haake R, Weisdorf D, Ramsay N, McGlave P, Kersey J, Thomas W, McKenzie D, Miller W. Cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation: risk factors and response to therapy. *Transplantation* 1993; 55:1339-1346
36. Meyers JD, Flournoy N, Thomas D. Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis* 1986; 153:478-488
37. Locatelli F, Percivalle E, Comoli P, Maccario R, Zecca M, Giorgiani G, De Stefano P, Gerna G. Human cytomegalovirus infection in pediatric patients given allogeneic bone marrow transplantation: role of early treatment of antigenemia on patients' outcome. *Br J Haematol* 1994; 88:64-71
38. Gerna G, Lilleri D, Baldanti F, Torsellini M, Giorgiani G, Zecca M, De Stefano P, Middeldorp J, Locatelli F, Revello MG. Human cytomegalovirus immediate early-mRNAemia versus pp65-antigenemia as a guiding parameter for pre-emptive therapy in children given hematopoietic stem cell transplantation: results of a prospective, randomized, open-label trial. *Blood* 2003; 101:5053-5060
39. Lilleri D, Gerna G, Furione M, Bernardo ME, Giorgiani G, Telli S, Baldanti F, Locatelli F. Use of a DNAemia cut-off for monitoring human cytomegalovirus infection reduces the number of pre-emptively treated children and young adults receiving haematopoietic stem cell transplantation as compared to qualitative pp65-antigenemia. *Blood* 2007; 110:2757-60
40. Bacigalupo A, Palandri F. Management of acute graft versus host disease (GvHD). *Hematol J* 2004; 5:189-96
41. Zecca M, Prete A, Rondelli R, Lanino E, Balduzzi A, Messina C, Fagioli F, Porta F, Favre C, Pession A, Locatelli F; AIEOP-BMT Group. Italian Association for Pediatric Hematology and Oncology-Bone Marrow Transplant. Chronic graft-versus-host

- disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood* 2002; 100:1192-1200
42. Ferrara JL, Cooke KR, Teshima T. The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. *Int J Hematol* 2003; 78:181-7
  43. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, Rimm AA, Ringdén O, Rozman C, Speck B. Graft-versus-leukemia reaction after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75:555-562
  44. Locatelli F, Zecca M, Rondelli R, Bonetti F, Dini G, Prete A, Messina C, Uderzo C, Ripaldi M, Porta F, Giorgiani G, Giraldi E, Pession A. Graft versus host disease prophylaxis with low-dose cyclosporine-A reduces the risk of relapse in children with acute leukemia given HLA-identical sibling bone marrow transplantation: results of a randomized trial. *Blood* 2000; 95:1572-79
  45. Srinivasan R, Chakrabarti S, Walsh T, Igarashi T, Takahashi Y, Kleiner D, Donohue T, Shalabi R, Carvallo C, Barrett AJ, Geller N, Childs R. Improved survival in steroid-refractory acute graft versus host disease after non-myeloablative allogeneic transplantation using a daclizumab-based strategy with comprehensive infection prophylaxis. *Br J Haematol* 2004; 124:777-86
  46. Couriel D, Saliba R, Hicks K, Ippoliti C, de Lima M, Hosing C, Khouri I, Andersson B, Gajewski J, Donato M, Anderlini P, Kontoyiannis DP, Cohen A, Martin T, Giralt S, Champlin R. Tumor necrosis factor- $\alpha$  blockade for the treatment of acute GVHD. *Blood* 2004; 104:649-654
  47. Messina C, Locatelli F, Lanino E, Uderzo C, Zacchello G, Cesaro S, Pillon M, Perotti C, Del Fante C, Faraci M, Rivabella L, Calore E, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Brugiolo A, Balduzzi A, Dini G, ZanESCO L, Dall'Amico R. Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003; 122:118-127
  48. Locatelli F, Maccario R, Frassoni F. Mesenchymal stromal cells, from indifferent spectators to principal actors. Are we going to witness a revolution in the scenario of allograft and immune-mediated disorders ? *Haematologica* 2007; 92:872-877

49. Aggarwal S, Pittinger MF: Human mesenchymal stem cells modulate alloantigen immune cell responses. *Blood* 2005, *105*:1815-1822
50. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, Lankester A, Cometa A, Egeler MR, Locatelli F, Fibbe WE. Co-transplantation of *ex vivo* expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haplo-identical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; *110*:2764-7
51. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lönnies H, Marschall HU, Dlugosz A, Szakos A, Hassan Z, Omazic B, Aschan J, Barkholt L, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease, *Transplantation* 2006; *81*:1390-1397