



UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
di
BOLOGNA

Bologna, 24 Maggio 2013

Ai: Componenti GdL MDS

Prof. Franco Locatelli
Dott. Marco Zecca
Dott.ssa Laura Sainati
Dott. Carmelo Rizzari
Dott. Fabio Timeus
Dott.ssa Concetta Micalizzi
Dott.ssa Anna Maria Testi
Dott. Giuseppe Menna

Segreteria

Dott.ssa Francesca Vendemini

Consulenti GdL MDS

Prof. Cesare Danesino
Dott.ssa Rita Devito
Dott. Roberto Rondelli
Dott.ssa Silvia Bresolin
Dott.ssa Susanna Fenu
Prof. Giuseppe Basso

Cc:

Presidente AIEOP – Prof Andrea Biondi
Redazione Sito AIEOP www.aieop.org

Oggetto: GdL MDS – VERBALE riunione – Bologna 24 Maggio 2013

La riunione inizia alle ore 15:00 alla presenza dei componenti del GdL e dei consulenti. Presenti su invito: Prof. Giuseppe Basso, Dott.ssa Alice Bertaina
Il presente doc è disponibile alla pagina <http://www.aieop.org/?q=node/382> del sito AIEOP.

Il Coordinatore Dott. Masetti prende la parola per presentare la composizione del GdL e fornire aggiornamenti sul reclutamento nel Protocollo EWOG-MDS 2006. Tale protocollo è attivo in Italia dal 04-04-2006 e l'analisi dei dati eseguita in aprile 2013 mostra che sono stati arruolati 661 pazienti provenienti dai Paesi afferenti all'EWOG (MDS primarie: 424, MDS secondarie: 95, JMML incluse JMML-like disease + sindrome di Noonan: 142). L'Italia ha contribuito arruolando 65 pazienti tra JMML, MDS primitive e secondarie, pari al 9.8% del totale. Dal novembre 2012 su un totale di 13 pazienti inviati o registrati sul Remote Data Entry, 10 casi sono stati centralizzati all'EWOG. Il Centro che ad oggi ha arruolato più pazienti ed inviato il maggior numero di schede di FUP è il Centro di Roma Bambin Gesù diretto dal Prof. Locatelli. Viene discussa la possibilità di far fronte alla discrepanza tra la registrazione nel Mod 1.01 delle nuove diagnosi di MDS e la centralizzazione della registrazione all'EWOG. A questo proposito viene proposto di creare una connessione informatica diretta che informi il Coordinatore del GdL al momento di una nuova diagnosi di MDS eseguita presso il laboratorio di Padova per consentire la successiva centralizzazione all'EWOG. Sarà premura del Coordinatore contattare la dott.ssa Emanuela Giarin dell'Università di Padova per la creazione di uno strumento che permetta la tracciabilità dei campioni delle nuove diagnosi di MDS.

Il Coordinatore Dott. Masetti prosegue presentando gli argomenti di rilievo emersi al Meeting EWOG di Praga in Novembre 2012 e al Business Meeting tenutosi a Madrid in

Aprile 2013. In particolare, vengono presentati i risultati dell'analisi mutazionale condotta sul materiale biologico di 34 JMML recidivate (escluse MDS in sindrome di Noonan e CBL syndrome) che documentano la comparsa nel 14% dei casi di mutazioni aggiuntive di geni noti (*NRAS*: 2 casi, *CBL*: 2 casi e *KRAS*: 1 caso).

Vengono poi presentati i dati di overall survival (OS) ed event free survival dei differenti sottogruppi di JMML in base all'analisi mutazionale. Alla luce dei risultati presentati, il Dott. Masetti con il supporto del Prof Locatelli, Chairman del Committee on Stem Cell Transplantation dell'EWOG inizia la discussione riguardante l'approccio terapeutico nei differenti sottogruppi di JMML. Relativamente alle indicazioni al trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE), le decisioni prese in merito sono:

- per i pazienti affetti da *Sindrome di Noonan e JMML* si concorda sulla scelta di non inviare alla procedura trapiantologica questo tipo di pazienti alla luce della buona prognosi in assenza di TCSE - OS a 5 anni pari a 68%. Tali pazienti potrebbero piuttosto beneficiare di terapia citoriduttiva;
- il ricorso al TCSE non viene indicato nei pazienti con *CBL syndrome* che presentano un OS a 5 anni del 90% in assenza di TCSE e del 73% dopo TCSE. Anche questi pazienti potrebbero ottenere un vantaggio dall'utilizzo di una terapia citoriduttiva;
- i pazienti con mutazione di *KRAS* presentano indicazione al TCSE (OS a 5 anni con e in assenza di TCSE: 71% vs 21%, rispettivamente): alla luce della cumulative incidence of relapse (CIR) a 5 anni molto bassa (8%) il Prof. Locatelli propone un approccio per prevenire l'insorgenza di GVHD con ATG Fresenius a 10 mg/kg/die per 3 giorni, short term MTX (10+10+10 mg/mq), e mantenendo i livelli di Ciclosporina tra 200 e 300 ng/ml;
- i pazienti con mutazione somatica di *PTPN11* sono candidati al TCSE (OS a 5 anni con e in assenza di TCSE: 53% vs 15%, rispettivamente): considerata la alta CIR a 5 anni (39%) viene definita la necessità di modulare la terapia immunosoppressiva in modo da favorire l'insorgenza di graft versus leukemia. Il Prof. Locatelli propone un terapia immunosoppressiva con ATG Fresenius 10 mg/kg/die per 3 giorni, short term MTX (10+10+10 mg/mq) e Ciclosporina tale da mantenere bassi livelli sierici (tra 80 e 100 ng/ml);
- i pazienti con mutazione di *NRAS* presentano un ottimo outcome a lungo termine anche in assenza di TCSE con una OS a 5 anni con e in assenza di TCSE del 59% e 52%, rispettivamente. La raccomandazione per l'avvio alla procedura trapiantologica in questi pazienti deve essere guidata dalla condizioni cliniche generali: se deteriorate è indicato il ricorso al TCSE da qualsiasi donatore. Se le condizioni sono invece stabili è indicato un atteggiamento di *watch and wait* ovviamente mantenendo l'opzione TCSE come prima indicazione e rapidamente attuabile qualora il quadro clinico cambiasse.

Al termine della discussione sull'approccio terapeutico nei differenti sottogruppi di JMML, il Dott. Masetti prosegue nell'illustrare i risultati preliminari del progetto EWOG sulla mutazione di GATA-2 in pazienti con anamnesi positiva o familiarità per MDS/AML e/o fenotipo di sindrome di Emberger e/o immunodeficienza. All'interno di tutti i Paesi dell'EWOG sono state identificate 19 famiglie con MDS/AML insorta in parenti di primo grado e 5 pazienti con MDS e fenotipo di sindrome di Emberger o immunodeficienza. In questi pazienti con mutazione di GATA2 il 56% presentava monosomia del cromosoma 7 e il 35% trisomia del cromosoma 8. Per valutare l'incidenza di tale mutazione nelle forme di MDS sporadiche sono stati analizzati i campioni di 72

pazienti tedeschi con MDS primaria o secondaria con 7-, 8+: 17/72 (23%) hanno evidenziato la mutazione di GATA2. La mutazione germinale di GATA2 è stata confermata in 7/17 pazienti e un'attenta revisione del quadro clinico ha dimostrato la presenza di un modesto fenotipo di immunodeficienza in 5 pazienti e reperti fenotipici atipici (anomalie di reni e vie urinarie, alterazioni comportamentali e dello sviluppo) in 8 pazienti. Tra i 13 campioni italiani analizzati, 7 sono risultati positivi per la mutazione di GATA2.

La dott.ssa Bresolin prende la parola per illustrare tre differenti proposte di studi biologici nelle JMML all'esordio. La prima proposta prevede l'esecuzione di analisi in Whole exome sequencing e RNA sequencing di cellule provenienti da midollo osseo (BM) di 5 pazienti con JMML. Lo scopo dell'analisi è di identificare possibili varianti nell'esoma di pazienti AML-like vs non AML-like e di identificare e validare nuove mutazioni in pazienti senza mutazioni note (PTPN11, CBL, NF1, RAS). La seconda proposta di studio, in collaborazione con il Children's Hospital di Philadelphia (Prof. Weiss) e con University of California San Francisco (Prof. Loh), concerne la generazione di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs) derivanti da cellule somatiche mononucleate di pazienti alla diagnosi con JMML con differenti mutazioni (PTPN11, CBL, RAS). La terza proposta prevede la prosecuzione dell'analisi GEP dei pazienti con MDS/JMML alla diagnosi per identificare la signature (AML-like, non AML-like) e monitorare l'andamento clinico. Il Prof. Basso interviene per comunicare una richiesta di collaborazione ricevuta dalla Prof.ssa Cavazzana in collaborazione con la dott.sa Cave riguardo a un'analisi di apoptosi leucocitaria in pazienti con JMML e mutazione di RAS. L'analisi necessita di cellule congelate di BM ottenute alla diagnosi di JMML.

Il dott. Zecca prende la parola per presentare una proposta di studio in collaborazione con l'Istituto Mario Negri sull'utilizzo della Trabectedina nelle JMML. La Trabectedina è un agente antitumorale utilizzato nella terapia di seconda linea dei sarcomi delle parti molli e nei carcinomi dell'ovaio che si è dimostrato efficace nell'indurre l'apoptosi mediata dall'attivazione della caspasi 8 dei tumor-associated macrophages (TAMs) mediante il legame con recettori TRAIL (TRAIL-R) (Cancer Cell. 2013 Feb 11;23(2):249-62). Per tale studio sono necessari 10-20 ml di sangue periferico in eparina ottenuti all'esordio di malattia allo scopo di eseguire saggi di apoptosi e valutazione di espressione dei TRAIL-R. Successivamente prende la parola la dott.ssa Bertaina del Centro di Roma Bambin Gesù che espone il proprio progetto di valutazione dell'espressione e dell'eventuale ruolo patogenetico o prognostico di Micro RNA valutabili in circa 20 casi di JMML e advanced MDS. I microRNA (miRNA o miR) sono una classe di RNA lunghi circa 22-nt non codificanti, che sopprimono l'espressione delle proteine a livello posttrascrizionale, principalmente mediante il loro legame mediante il loro legame con la regione 3' UTR del mRNA bersaglio. I microRNA svolgono un ruolo centrale nella regolazione delle funzioni cellulari di base, quali la proliferazione, la differenziazione e l'apoptosi in condizioni normali e patologiche. Non vi sono studi pediatrici in ambito di MDS sulla valutazione dei miRNA preferenzialmente espressi e sul loro significato patogenetico e prognostico.

Il GdL approva tutti i suddetti studi. Considerati i numerosi progetti presentati, si decide di eseguire in prima istanza un censimento dei campioni disponibili, rimandando successivamente la definizione della modalità di suddivisione di tali campioni per gli studi biologici.

Al termine della discussione, la dott.ssa Fenu prende la parola per presentare la proposta di uno studio retrospettivo di revisione in parallelo di biopsie osseo e citologie nelle

Citopenie Refrattarie. Verranno analizzati i casi di RCC diagnosticati presso l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma nel periodo 2011-2013 allo scopo di ottenere dei dati di confronto tra le due metodiche, attualmente non disponibili in letteratura. La proposta viene approvata con l'impegno di organizzare un incontro *ad hoc* del gruppo di morfologia per proseguire il progetto.

La riunione termina alle ore 17:45.

Redazione
Dott. Francesca Vendemini

Coordinatore GdL MDS
Dott. Riccardo Masetti