



haematologica

the hematology journal

s4

ISSN 0390-6078

Official Journal of the European Hematology Association
Published by the Ferrata-Storti Foundation, Pavia, Italy
Volume 92, no. 6 supplement 4, October 2007

www.haematologica-thj.org
www.siematologia.it
cme.haematologica.org

ABSTRACT BOOK

**XXXIV Congresso Nazionale
Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica
Acconia di Curinga (CZ), 21-23 ottobre 2007
*Guest Editor: Maurizio Aricò***

Owned & published by the Ferrata Storti Foundation, Pavia, Italy

Editors

Mario Cazzola (Pavia)
Robin Foà (Roma)

Associate Editors

Gaetano Bergamaschi (Pavia), Jan Cools (Leuven), Andreas Engert (Köln), Pierre Fenaux (Paris),
Alois Gratwohl (Basel), Peter Hillmen (Leeds), Cristina Mecucci (Perugia), Ingrid Pabinger (Vienna),
Jerome Ritz (Boston), Vittorio Rosti (Pavia), Jesus F. San Miguel (Salamanca), Martin S. Tallman (Chicago),
Ivo P. Touw (Rotterdam), Vicente Vicente Garcia (Murcia)

Assistant Editors

Rosangela Invernizzi (Pavia, *CME Editor*), Luca Malcovati (Pavia, *Peer Review Assistant*),
Cristiana Pascutto (Pavia, *Statistical Consultant*), Rachel Stenner (Pavia, *English Editor*)

Editorial Board

Adriano Aguzzi (Zürich), Kari Alitalo (Helsinki), Sergio Amadori (Roma), Michele Bacarani (Bologna),
Andrea Bacigalupo (Genova), Giovanni Barosi (Pavia), Yves Beguin (Liège), Magnus Björkholm (Stockholm),
Joan Bladé (Barcelona), Didier Blaise (Marseille), Bjarne Bogen (Oslo), David Bowen (Dundee),
Carlo Brugnara (Boston), Oystein Bruserud (Bergen), Clara Camaschella (Milano), Dario Campana (Memphis),
Elias Campo (Barcelona), Xuetao Cao (Shanghai), Marco Cattaneo (Milano), Jaroslav Cermák (Prague),
Thérèse L. Coetzer (Johannesburg), Javier Corral (Murcia), Nicholas Cross (Salisbury), Theodor De Witte (Nijmegen),
Guillaume Dighiero (Paris), Meletios A. Dimopoulos (Athens), Hermann Einsele (Tübingen), Jean-Claude Faber (Luxembourg),
J.H. Frederik Falkenburg (Leiden), Jordi Fontcuberta Boj (Barcelona),
Supan Fucharoen (Khon Kaen), Eliane Gluckman (Paris), Els Goulmy (Leiden), Mike Greaves (Aberdeen),
Anthony Green (Cambridge), Torsten Haferlach (Muenchen), Zhong Chao Han (Tianjin), Christine Harrison (London),
Luis Hernández Nieto (Santa Cruz de Tenerife), Chaim Hershko (Jerusalem), A. Victor Hoffbrand (London),
Achille Iolascon (Napoli), Gertjan J.L. Kaspers (Amsterdam), Sakari Knuutila (Helsinki), Doug E. Joshua (Camperdown),
Bernhard Laemmle (Bern), Per Ljungman (Stockholm), Franco Locatelli (Pavia), Francesco Lo Coco (Roma),
Stephen Mackinnon (London), Pascual Marco Vera (Alicante), Junia V. Melo (London), Rainer Moog (Essen), Andreas Neubauer (Marburg),
Børge Grønne Nordestgaard (Herlev), Ulrike Nowak-Göttl (Münster),
Gerassimos A. Pangalis (Athens), Jens Pedersen-Bjergaard (Copenhagen), Michael Pfreundschuh (Homburg),
Paolo Rebulla (Milano), Yair Reisner (Rehovot), Maria Leticia Ribeiro (Coimbra), Olle Ringdén (Stockholm), Vander-
son Rocha (Paris), Gilles Salles (Lyon), Miguel Angel Sanz (Valencia), Norbert Schmitz (Hamburg),
Claudia Schoch (Muenchen), Uri Seligsohn (Tel-Hashomer), John F. Seymour (Victoria), Jordi Sierra Gil (Barcelona),
Radek C. Skoda (Basel), Philippe Solal-Celigny (Le Mans), Pieter Sonneveld (Rotterdam), Masao Tomonaga (Nagasaki),
Giuseppe Torelli (Modena), Alvaro Urbano-Ispizua (Barcelona), Jacques J.M. van Dongen (Rotterdam), Iwona Wlodarska (Leuven),
Mark Worwood (Cardiff), Neal S. Young (Bethesda)

Editorial Office

Michele Moscato (Pavia, *Production Manager*), Lorella Ripari (Pavia, *Peer Review Manager*),
Matteo Giovanni della Porta (Pavia), Igor Ebuli Poletti (Pavia), Marta Fossati (Pavia)

Affiliated Scientific Societies

SIE (Italian Society of Hematology, www.siematologia.it)
AEHH (Spanish Association of Hematology and Hemotherapy, www.aehh.org)
SETH (Spanish Society of Thrombosis and Hemostasis, www.seth.es)
SIES (Italian Society of Experimental Hematology, www.sies.ws)
SISSET (Italian Society for Studies on Hemostasis and Thrombosis, www.siset.org)
AIEOP (Italian Association of Pediatric Hematology/Oncology, www.aieop.org)

Information for readers, authors and subscribers

Haematologica/The Hematology Journal (print edition, pISSN 0390-6078, eISSN 1592-8721) publishes peer-reviewed papers on all areas of experimental and clinical hematology. The journal is owned by a non-profit organization, the Ferrata Storti Foundation, and serves the scientific community strictly following the World Association of Medical Editors (WAME) recommendations on publication ethics policies for medical journals (www.wame.org/pubethicrecom.htm).

Haematologica/The Hematology Journal publishes editorials, perspectives, research papers, decision making & problem solving papers, review articles, brief reports and scientific letters. Manuscripts should be prepared according to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) and fully available online (<http://www.icmje.org>). Additional papers may be considered for the purely online journal (Haematologica/The Hematology Journal on Internet, eISSN 1592-8721). Because there are no space constraints online, Haematologica/The Hematology Journal will publish several items deemed by peer review to be scientifically sound and mainly useful as educational papers. These will include case reports, irreplaceable images, educational material from scientific meetings, meeting abstracts, and letters to the Editor.

Papers should be submitted online at <http://www.haematologica.org/>.

Conflict of interests. According to the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org/#conflicts>), "Public trust in the peer review process and the credibility of published articles depend in part on how well conflict of interest is handled during writing, peer review, and editorial decision making". The ad hoc journal's policy is reported in detail online (www.haematologica-thj.org/policy.html).

Galley Proofs and Reprints. Galley proofs should be corrected and returned by email, fax or express delivery within 48 hours. Minor corrections or reasonable additions are permitted; however, excessive alterations will require editorial re-evaluation and will be possibly charged to the authors. Papers accepted for publication will be printed without cost. The cost of printing color figures will be communicated upon request. Reprints may be ordered at cost by returning the appropriate form sent by the Publisher.

Transfer of Copyright and Permission to Reproduce Parts of Published Papers. Authors will grant copyright of their articles to the Ferrata Storti Foundation. No formal permission will be required to reproduce parts (tables or illustrations) of published papers, provided the source is quoted appropriately and reproduction has no commercial intent. Reproductions with commercial intent will require written permission and payment of royalties.

Haematologica/The Hematology Journal is published in two printed editions: International (worldwide except Italy, Spain, Portugal and Latin America), and Spanish (Spain, Portugal and Latin America). Detailed information about subscriptions is available online at URL <http://www.haematologica-thj.org>. While access to the online journal is free, online access to some additional items available on <http://www.haematologica-thj.org> may require either institutional or personal subscription.

Rates of the International edition for the year 2008 are as following:

	<u>Institutional</u>	<u>Personal</u>
Print edition (including full access to the online CME for personal subscribers)	Euro 400	Euro 150
Full access to the online CME only		Euro 75

To subscribe to the International edition, please visit our web site <http://www.haematologica.org/subscribe> or contact: Haematologica/the Hematology Journal Office, via G. Belli 4, 27100 Pavia, Italy (phone +39.0382.27129, fax +39.0382.394705, E-mail: office@haematologica.org).

Advertisements. Contact the Advertising Manager, Haematologica/The Hematology Journal Office, via G. Belli 4, 27100 Pavia, Italy (phone +39.0382.27129, fax +39.0382.394705, e-mail: info@haematologica.org).

Disclaimer. Whilst every effort is made by the publishers and the editorial board to see that no inaccurate or misleading data, opinion or statement appears in this journal, they wish to make it clear that the data and opinions appearing in the articles or advertisements herein are the responsibility of the contributor or advisor concerned. Accordingly, the publisher, the editorial board and their respective employees, officers and agents accept no liability whatsoever for the consequences of any inaccurate or misleading data, opinion or statement. Whilst all due care is taken to ensure that drug doses and other quantities are presented accurately, readers are advised that new methods and techniques involving drug usage, and described within this journal, should only be followed in conjunction with the drug manufacturer's own published literature.

Direttore responsabile: Prof. Edoardo Ascari; Autorizzazione del Tribunale di Pavia n. 63 del 5 marzo 1955.
Editing: ♣ Medit - Medical Editions, via A. Fogazzaro 5, Voghera, Italy
Printing: Tipografia PI-ME, via Vigentina 136, Pavia, Italy. Printed in October 2007.

Image of blood cells on cover: Giorgio Lambertenghi Delilieri, University of Milan, Italy.

European Hematology Association (EHA)

EHA is a scientific society aiming to support research, education and clinical practice in hematology. Its main objective is to be useful to scientific researchers, clinicians, medical students, as well as all those working in other fields but who are interested in hematology.

The European Hematology Association was founded in June 1992. Today, EHA – with over 2700 active members from 95 countries – is a consolidated organization that pursues a large and growing number of projects and programs.

EHA aims to promote

- Exchange and dissemination of knowledge and scientific information in the field of hematology.
- Education and training in hematology.
- Medical practice in the area of hematology and the position of hematology as medical discipline.
- Scientific research in hematology.
- Exchange of information for all European doctors, scientists and other professionals interested in hematology.
- A unified European training program in hematology in collaboration with European National Societies of Hematology.

In order to achieve these goals, EHA

- Maintains regular contacts and organizes meetings with all European National Societies of Hematology.
- Holds an annual scientific and educational congress in a major European city; European Cooperative Groups and Networks are encouraged to take advantage of this major event to gather.
- Disseminates medical research, both basic and clinic, through the new journal Haematologica/The Hematology Journal.
- Has established a link with European National Societies of Hematology and other organizations such as the European Group for Bone Marrow Transplantation, European Association for Hematopathology, European Society of Medical Oncology, and American Society of Hematology.
- Provides postgraduate education through the annual congresses, seminars, courses, workshops and meetings organized in collaboration with the European School of Haematology.
- Has a Fellowship/Grants Program to promote research in hematology.
- Accredits scientific meetings and provides CME accounts in collaboration with the European National Societies for hematology.

If you recognize the need for a strong European Hematology Association and would like to take advantage of the various activities of the Association, you may wish to become a member of the EHA and contribute to its objectives.

Benefits of EHA Membership

- Subscription to Haematologica/ The Hematology Journal, including on-line access
- Reduced registration fee for EHA Annual Congresses
- Eligible to EHA Research Fellowships & Grants
- EHA Newsletter
- Access to EHA membership database
- Access to webcast sessions of the EHA Annual Congress – **NEW!**
- Entitled to apply for € 500.– scholarship to attend EHA scientific workshops

**XXXIV Congresso Nazionale
Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica**

Acconia di Curinga (Catanzaro), 21/23 Ottobre 2007

Guest Editor: Maurizio Aricò

ABSTRACT BOOK

Abstracts | Comunicazioni e Poster

Tumori solidi	1
Trapianto	14
Leucemie e Linfomi	19
Ematologia e coagulazione	31
Altro	40

Abstracts | Dati per Letti

.....	54
-------	----

Indice degli Autori

.....	a
-------	---

**XXXIV Congresso Nazionale
Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica**

Acconia di Curinga (Catanzaro), 21/23 Ottobre 2007

PRESIDENTI DEL CONGRESSO

SAVERIO MAGRO (Catanzaro)
DOMENICO SPERLÌ (Cosenza)
MARGHERITA COMIS (Reggio Calabria)

COMITATO SCIENTIFICO

CONSIGLIO DIRETTIVO AIEOP

SEGRETERIA A.I.E.O.P

Tiziana Landi
Azienda Ospedaliera di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi
Via Massarenti, 11 - 40138 Bologna (Italia)
Tel. +39 051 6364667 - Fax +39 051 345759
email: segreteria@aieop.org – <http://www.aieop.org>

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Congress Team Project
Via L. Mascheroni 68, 27100 Pavia
Tel. 0382 22650 Fax 0382 33822
Email: aieop07@congressteam.com – <http://www.congressteam.com>

ABSTRACTS

selezionati per la presentazione come:
Comunicazioni (C), Poster (P)

TUMORI SOLIDI

C001

STUDIO DEI MICRORNAS COINVOLTI NEI PRINCIPALI SEGNALI DI TRASDUZIONE DEL MEDULLOBLASTOMA

Garzia L,¹ Marrone A,¹ Cusanelli E,¹ Andolfo I,¹ Navas L,¹ Galeone L,³ Marino N,¹ Fatteth S,⁴ Del Vecchio L,¹ Roma C,¹ Delattre O,⁴ Cinalli G,⁶ Migliorati R,⁶ Iolascon A,¹ Zollo EM,^{1,5}

¹CEINGE, Centro di Ingegneria Genetica e Biotecnologie Avanzate, Napoli, Italia; ²Dip. di Scienze Cliniche Veterinarie - Sez. di Clinica Chirurgica, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italia; ³Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia; ⁴Istituto Curie, Paris, France; ⁵Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia; ⁶Azienda ospedaliera Pausillipon Santobono, Napoli, Italy

Introduzione ed obiettivi. I microRNAs (miRs) sono molecole di RNA, di circa 22 nucleotidi, non codificanti per proteine. La scoperta della loro funzione nella regolazione dell'espressione di geni bersaglio ha evidenziato anche il loro ruolo nella cancerogenesi; alcuni con azione di tipo oncogenica altri oncosoppressoria. I tumori pediatrici del cervello derivano dalla deregolazione precoce dei processi di sviluppo del sistema nervoso centrale, tra questi uno dei più frequenti è il medulloblastoma (MB). Questo tumore origina dai precursori delle cellule granulari presenti nello stato germinale esterno del cervello durante lo sviluppo embrionale. Il segnale di trasduzione di Notch regola lo sviluppo delle cellule granulari e svolge una funzione cruciale in diversi stadi del differenziamento neuronale. L'obiettivo del lavoro è stato quello di studiare i microRNAs che regolano l'espressione di geni coinvolti nei pathways di Notch, Wnt e Sonic Hedgehog, la cui funzione è alterata durante lo sviluppo del MB.

Metodi. Saggi TaqMan, saggi di luciferasi, saggi MTS, citofluorimetria, xenotraspianti di cellule tumorali in topi atimici.

Risultati. I dati preliminari ci hanno condotto alla selezione di un miR che potrebbe regolare il segnale di trasduzione di Notch. L'overespressione del miR nella linea cellulare Daoy riduce la proliferazione cellulare e diminuisce la percentuale di cellule appartenenti alla *side population*. Un aumento della sua espressione causa inoltre, una diminuzione della capacità delle cellule di formare tumori in topi atimici con saggi tipo xenograft. Lo studio preliminare di espressione del miR, in un piccolo campionamento di tessuti biotipici di pazienti affetti da MB, suggerisce una correlazione della sua espressione con la progressione tumorale. Il campionamento è in corso di ampliamento per confermare tale ipotesi.

Conclusioni. In questo studio abbiamo identificato un microRNA che potrebbe essere coinvolto nella regolazione del segnale di trasduzione di Notch, attraverso l'inibizione

dell'espressione del suo diretto target, Hes1, un noto fattore di trascrizione, suo effettore. In vivo, l'espressione del miR in un numero limitato di campioni biotipici suggerisce un suo possibile ruolo di oncosoppressore nel MB.

Questo lavoro è finanziato dall'AIRC e dalla FILN (Progetto Pensiero).

C002

RISULTATI PRELIMINARI DEL SECONDO PROTOCOLLO AIEOP PER L'EPENDIMOMA (EPD) INTRACRANICO

Massimino M, Gandola L, Garrè ML, Genitori L, Modena PG, Forni M, Sandri A, Collini P, Solero CL, Scarzello G, Acerno S, Cama A, Spreafico F, Mascarin M, Nozza P, Peretta P, Poggi G, Scoccianti S, Sardi I, Sanzo M, Balter R, Perilongo G, Biassoni V, Favre C, Sozzi G, Giangaspero F
Fondazione IRCCS Istituto Tumori, Milano; IRCCS G. Gaslini, Genova; Osp. Meyer, Firenze; OIRM, Torino; Ist. Neurol. C. Besta, Milano; Dip. Pediatria e Radioterapia, Padova; IRCCS S. Raffaele, Milano; Radioterapia CRO, Aviano; IRCCS E. Medea, Bosisio Parini; Radioterapia Osp. Careggi, Firenze; Onc. Pediatrica, Verona; Onc. Ped. Osp. Santa Chiara, Pisa; Università La Sapienza, Roma e IRCCS Neuromed, Pozzilli, Italy

Introduzione. Dopo la valutazione e la pubblicazione del nostro primo studio, abbiamo lanciato il secondo protocollo che stratifica i pazienti secondo il risultato chirurgico (intervento completo vs incompleto) e l'istologia (grado 2 vs grado 3) in relazione alla revisione istologica centralizzata alla diagnosi.

Metodi. I pazienti senza residuo e con tumore di grado 2 vengono irradiati con tecnica conformazionale 3D fino alla dose di 59.4 Gy (1.8 Gy/die), mentre in caso di assenza di residuo e grado 3 è prevista, dopo la stessa radioterapia, la chemioterapia secondo lo schema VEC (CTX, VP16, VCR) per 4 cicli. I pazienti con residuo ricevono 4 cicli di VEC, una seconda chirurgia appena e se possibile, e radioterapia locale per 59.4 Gy con un boost di 8 Gy in due frazioni sul residuo post-chirurgico. I bambini di età superiore ad 1 anno ed inferiore a 3 ricevono lo stesso trattamento, a parte in caso di sicura assenza di residuo e grado 2 per cui vengono effettuati solo 6 cicli di VEC.

Risultati. Al marzo 2007, i pazienti in studio sono 57, 54 con informazioni complete. I maschi sono 39, le femmine sono 15, l'età mediana 6 anni. Il tumore origina in fossa posteriore in 33 (di cui uno con metastasi spinale), è sopratentoriale in 33 pazienti. La chirurgia di second-look è stata effettuata in 11 pazienti con asportazione completa del residuo in 5 e senza morbidità aggiuntiva. Il boost di radioterapia ha ottenuto riduzione del tumore in 4/5 pazienti. Ad una follow-up mediano di 36 mesi, la sopravvivenza globale è dell'82% e la PFS del 62%. Rispetto allo studio precedente, la PFS dei pazienti con residuo sembra migliorata (67.5% vs 50%, p 0.09) come pure quella dei pazienti senza residuo, ma con tumore di grado 3 (61% vs 43%, p 0.28).

Conclusioni. Il reclutamento dei pazienti è soddisfacente. La

revisione neuro-patologica alla diagnosi, il second-look chirurgico e la radioterapia conformazionale seguita da boost sono fattibili a livello nazionale, senza tossicità imprevista. I risultati preliminari suggeriscono un miglioramento prognostico nelle categorie più a rischio di progressione.

C003

PROTOCOLLO AIEOP TUMORE DI WILMS (TW) 2003: OSSERVAZIONI PRELIMINARI

Spreato F, Collini P, Piva L, Gandola L, Nantron M, Pession A, Bianchi M, D'angelo P, Indolfi P, Di Cataldo A, Terenziani M, Tamaro P, Provenzi M, Gambini C, Pucci A, Rizzo A, Santoro N, Martone A, Favre C, Federici S, Tettoni K, Miglionico L, Melchionda F, Barone A, Perotti D, Radice P, Fossati-Bellani F

Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori Milano, Istituto G Gaslini Genova, Policlinico S Orsola Malpighi Bologna, Ospedale Infantile Regina Margherita Torino, Ospedale dei Bambini G di Cristina Palermo, Seconda Università degli Studi di Napoli, Clinica Pediatrica Catania, Ospedale Infantile Burlo Garolfo Trieste, Ospedali Riuniti Bergamo, Policlinico I Bari, Ospedale S Chiara Pisa, Azienda USL Rimini, Ospedale Civile Brescia, Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza S Giovanni Rotondo, Azienda Ospedaliera di Parma; Con il contributo di tutti i centri AIEOP

Obiettivi. TW 2003 è uno studio AIEOP osservazionale multicentrico, con gli obiettivi di: 1) ridurre la chemioterapia (CT) nello stadio I-II; 2) migliorare la disease-free survival (DFS) nello stadio III attraverso un'ottimizzazione della radioterapia (ma riducendo la dose cumulativa di DOXO), e, nello stadio IV, con un aumento dell'intensità di dose; 3) allestire una banca di preparati istologici consultabile e di tessuto tumorale fresco per studi biologici traslazionali, per ogni caso di tumore primitivo del rene in età pediatrica.

Metodi. 226 casi di tumori renali sono stati registrati da 27 centri (8/2003-3/2007); tra i 170 con diagnosi eleggibile (158 TW monolaterale, 7 sarcomi a cellule chiare, 5 tumori rabdoidi), 149 sono i TW inclusi, oggetto della presente analisi. Tra le diagnosi non eleggibili si segnalano: nefroma mesoblastico/cistico 11/4, carcinoma 11, TW bilaterale 13.

Risultati. Età mediana 41 mesi (range, 1-168). Revisione centralizzata della diagnosi: 119/149 (80%) (174/226 registrati, 77%); centralizzazione di tessuto tumorale fresco: 117/149 (78%) (155/226, 69%). Distribuzione in stadi: stadio I 39 casi, II 56, III 31, IV 23. In 7 casi è stata diagnosticata anaplasia diffusa. 6 pazienti con parametri patologici e clinici speciali sono stati trattati solo con nefrectomia, e sono tutti vivi a 23 mesi. Si sono registrate 19 rotture tumorali (13%), di cui 16 intraoperatorie (11%). L'impiego selezionato della CT primaria in 26 TW non-metastatici ha permesso una distribuzione in stadi a favore dello stadio I-II (75% dei TW non-metastatici). 21 pazienti hanno sviluppato una recidiva (polmone 9; locale 9 - di cui 5 + altre sedi; rene controlaterale 3 casi), ad una mediana di 8 mesi dalla diagnosi. Il follow-up mediano è di 27 mesi (range, 3-48). DFS (OS) a 3 anni per tutti i pazienti: 81% (SE 4%) (95%, SE 2%). DFS (OS) per stadio: stadio I 89% (SE 5%) (100%); stadio II 83% (SE 6%) (92%, SE 5%), stadio III 85% (SE 7%) (80%, SE 18%), stadio IV 55.5% (SE 16%) (93%, SE 7%).

Conclusioni. Nei TW non-metastatici i risultati sono sovrapponibili a quelli dei gruppi cooperativi SIOP e NWTs. La strategia per lo stadio IV non sembra portare ad un miglioramento della DFS. La compliance alla centralizzazione di materiale

biologico e istologico è superiore all'atteso. Studi traslazionali che si basano sui risultati delle analisi di perdita di eterozigosi su 1p, 7p, 11q, 16q, e 22q sono in corso.

C004

IMMUNOTERAPIA T CELLULARE SPECIFICA PER PAZIENTI AFFETTI DA OSTEOSARCOMA AD ALTISSIMO RISCHIO

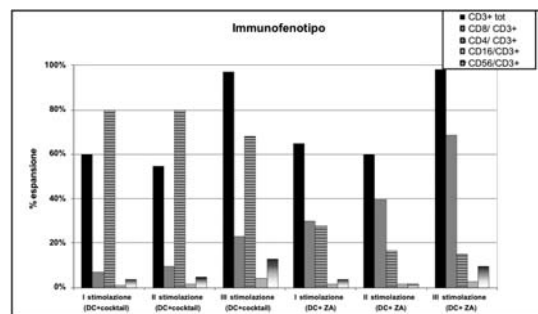
Muraro M, Carraro F, Mereuta OM, Madon E, Fagioli F

S.C. Onco-Ematologia Pediatrica, Trapianto Cellule Staminali e Terapia Cellulare, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino

Introduzione e obiettivi. La prognosi dei pazienti affetti da osteosarcoma in recidiva è tuttora molto severa, nonostante i recenti progressi. Recentemente l'espressione di antigeni della famiglia MAGE, SSX e SART3 è stata identificata anche in linee cellulari di osteosarcoma e in tessuti di osteosarcoma freschi, permettendo lo sviluppo di strategie immunoterapeutiche anche per questo tumore, finora considerato poco immunogenico. L'obiettivo dello studio è stato l'attivazione in vitro di linfociti T citotossici (CTL) osteosarcoma-specifici in donatori sani, al fine di determinare la fattibilità della generazione di linee citotossiche, di valutare la loro specificità e funzionalità e di determinare le migliori condizioni di espansione.

Metodi. Le linee CTL sono state create utilizzando una linea di osteosarcoma HLA-identica oppure cellule dendritiche (DC) autologhe pulsate con i corpi apoptotici delle linee tumorali irradiate (70 Gy) e maturate con cocktail citochinico (GM-CSF, IL-4, IL-1 β , IL-6, PG-E2 and TNF- α) o l'acido zoledronico (ZA) 1 micromolare. Le cellule mononucleate del donatore sono state stimulate con le DC mature ed irradiate (30 Gy) in presenza di IL-2, IL-7, IL-12 e IL-15. Dopo tre stimolazioni sono stati valutati l'immunofenotipo dei CTL generati (CD3, CD4, CD8, CD16, CD56), l'attività citotossica mediante lo studio del rilascio dell'IFN- γ in ELISPOT Assay e il rilascio di citochine in risposta allo stimolo antigenico.

Risultati. I CTL generati dimostrano un fenotipo CD8⁺, sono osteosarcoma-specifici e rilasciano IFN- γ in risposta alle linee tumorali utilizzate per la stimolazione. In particolare, utilizzando direttamente la linea tumorale, HLA-identica al donatore sano, abbiamo ottenuto un'ottima risposta verso la linea stessa anche bloccata dagli anticorpi anti-classe I; questo risultato si associa ad una più bassa, ma pur presente, risposta verso le altre linee testate. Inoltre, i CTL generati dopo la stimolazione con le DC autologhe maturate con ZA mostrano un immunofenotipo dominante CD3⁺/CD8⁺ (>70%). (Figura 1)



Conclusioni. I dati ottenuti indicano la possibilità di avviare un protocollo di fase I/II per la sperimentazione clinica nei pazienti affetti da osteosarcoma in seconda o successiva recidiva.

C005**LE CELLULE MALIGNI NEUROBLASTICHE E LE CELLULE STROMALI DI SCHWANN DEI TUMORI NEUROBLASTICI MOSTRANO DUE DISTINTE GENE SIGNATURES**

Albino D,^{1*} Scaruffi P,^{2*} Moretti S,³ Coco S,² Di Cristofano C,⁴ Cavazzana A,⁴ Truini M,⁵ Gambini C,⁶ Bonassi S,³ Tonini GP²

*gli autori hanno ugualmente contribuito al presente studio.

¹Laboratory of Italian Neuroblastoma Foundation, ²Translational Paediatric Oncology, ³Unit of Molecular Epidemiology and ⁵Department of Pathology, National Institute for Cancer Research (IST), Genova; ⁴Section of Molecular Pathology, University Hospital of Pisa, Pisa; ⁶Department of Pathology, G. Gaslini Children's Hospital, Genova, Genova, Italy

Introduzione. I tumori neuroblastici (NTs) possono essere composti da cellule neuroblastiche (Nb) e da una quantità variabile di cellule Schwanniche stromali (SS). Poiché l'aggressività del tumore è nei soggetti sopra l'anno di età associata ad una istologia prevalentemente composta da cellule Nb, abbiamo indagato le differenze della gene signature delle cellule Nb e SS dei NTs per identificare un profilo di espressione genica associato all'aggressività del fenotipo Nb.

Materiali e metodi. Nel presente studio, abbiamo analizzato l'espressione genica di 10 stroma-poor NTs (NTs-SP) e 9 stroma-rich NTs (NTs-SR) usando gli oligo-array ad alta densità. L'analisi dei dati di microarray è stata eseguita con: Significance Analysis of Microarrays (SAM) e la Teoria dei giochi (GT): quest'ultimo metodo proposto per la prima volta per l'analisi dei dati di gene expression. Da 2 NTs-SP e 2 NTs-SR, inoltre, sono state isolate per mezzo di microdissezione laser le cellule Nb e SS e quindi sono stati purificati gli RNA.

Risultati. Sono stati identificati due clusters gerarchici separati tra NTs-SP e NTs-SR con entrambi gli approcci SAM e GT. I tumori NTs-SP esprimono principalmente geni associati alla replicazione cellulare, sviluppo del sistema nervoso e pathways antiapoptotici, mentre i tumori NTs-SR esprimono geni della comunicazione cellula-cellula e pathways della trasduzione del segnale. Inoltre, SAM e GT hanno identificato 16 geni comuni che evidenziano la separazione tra NTs-SP e NTs-SR. Tutti i geni overespressi nei tumori NTs-SP codificano per proteine nucleari (TOP2A, CENPF, EYA1, PBK, e TFAP2B), mentre solo 1 gene (NR4A2) degli 11 overespressi nei NTs-SR codifica per un recettore nucleare. I clusters gerarchici hanno assegnato, rispettivamente, le cellule Nb e SS ai due tronchi dei NTs-SP e NTs-SR. Abbiamo, inoltre, osservato una bassa eterogeneità dei profili di espressione genica tra diverse aree dello stesso tumore.

Conclusioni. Il presente studio dei NTs ha identificato due distinte gene signatures tra NTs-SP e NTs-SR e tra le cellule isolate maligne Nb e le cellule SS. I nostri risultati hanno permesso di identificare una gene signature associata al fenotipo Nb più aggressivo.

Lo studio è stato finanziato dalla Fondazione Italiana per la Lotta al Neuroblastoma, Ricerca Finalizzata 2006.

P001**TRAPIANTO EPATICO (OLT) E CHEMIOTERAPIA (CT) IN EPATOCARCINOMA (HCC) IN EPATOPATIE CRONICHE IN ETÀ PEDIATRICA**

Provenzi M, Giraldo E, Cavalleri L, Ravasio E, Morali L, Cornelli P, Stroppa P, Pinelli D¹, Colledan M¹, Torre G

U.O. Pediatria, ¹Chirurgia Centro Trapianti, Ospedali Riuniti Bergamo, Italy

I risultati ottenuti nel trapianto di fegato in pazienti pediatrici affetti da HCC insorto su fegato normale sono tuttora insoddisfacenti perché questi tumori sono spesso diagnosticati in fase avanzata, presentano angioinvasione e precoce metastatizzazione con scarsa chemiosensibilità. Diversamente quando l'HCC è diagnosticato durante la sorveglianza in epatopatie croniche si evidenzia con dimensioni inferiori e spesso in assenza di metastasi. In questo secondo gruppo di pazienti i risultati ottenuti con l'OLT sono buoni e la CT ha un ruolo da definire. Nel nostro centro dal 1997 al 2007 su 315 trapianti epatici in pazienti pediatrici, 217 sono stati effettuati in pazienti affetti da epatopatia in fase avanzata. In 8 pz. (3,7%) (2 tirosinemia-2 atresia vie biliari -1 glicogenosi -2 M. Byler-1 epatopatia colestatica neonatale) di età compresa tra 10 m e 9 a è stato diagnosticato HCC. La diagnosi pre-trapianto è stata effettuata in 3 casi attraverso il monitoraggio dei livelli di α fetoproteina, ecografia, TC, RNM e biopsia. In 1 caso la biopsia è risultata falsamente negativa. Negli altri 4 pz. l'HCC è stato riscontrato solo sull'organo espantato. Il livello di α fetoproteina elevato in 7/8 pz. (range 285-24196 ng/mL) si è normalizzato entro 2 mesi dall'OLT. In 4 pz si è deciso di effettuare CT adiuvante in 1 pz. Cisplatino, negli altri Cisplatino-Carbo-Doxo. per istologia considerata sfavorevole (scarsa differenziazione, angioinvasività, maggiore estensione dei noduli neoplastici). In 1 caso tuttavia il trattamento non è stato eseguito per l'insorgenza di complicanze infettive, il pz. è comunque in RC con Fu di 60 mesi. La terapia immunosoppressiva è stata modulata su livelli inferiori a quelli usuali per ridurre il rischio di proliferazione tumorale. 6 su 8 pz. sono vivi in RC con FU medio di 42 mesi (5-105 mesi) 2 sono deceduti per complicanze legate al trapianto nessuno nel gruppo trattato con CT. La nostra casistica conferma come la carcinogenesi in bambini affetti da epatopatie croniche sia precoce e i buoni risultati ottenibili con l'OLT in questo setting di pazienti. Difficile valutare il contributo della CT nell'ottenere l'assenza di recidive; la nostra scelta è stata di utilizzarla in presenza di istologia sfavorevole nell'ipotesi di eliminare eventuali micrometastasi occulte o mobilizzate durante il trapianto stesso.

P002**GANGLIONEUROMA. 146 CASI DEL REGISTRO ITALIANO NEUROBLASTOMA**

De Bernardi B, Haupt R, Conte M, Bianchi M, Arcamone P, Castellano A, D'Angelo P, Di Cataldo A, Giuliano MG, Prete A, Provenzi M, Tamburrini A, Tettoni K, Viscardi E, Zanazzo G, Angelini P

per il Gruppo AIEOP Neuroblastoma

Introduzione e obiettivi. Descrivere le caratteristiche cliniche, istologiche, biologiche, nonché il trattamento ed i risultati a distanza di una casistica italiana di ganglioneuroma (GN).

Metodi. Tra il 1979 e il 2005 sono stati arruolati nel Registro Italiano Neuroblastoma 2286 casi di tumori neuroblastici periferici (TNP), di cui 146 erano GN (6,4%) le cui caratteristiche sono state confrontate con quelle dei TNP maligni. L'anda-

mento clinico e la sopravvivenza sono stati rivisti ed analizzati.

Risultati. I GN si differenziano dai TNP maligni per età alla diagnosi, sede del tumore primitivo, stadio, escrezione di catecolamine urinarie, marcatori tumorali sierici, e risultato della scintigrafia con MIBG. I GN erano asintomatici in 67 casi e sintomatici in 79. Sette casi furono sottoposti a biopsia mentre in 139 pazienti fu tentata la resezione che risultò essere completa in 99, quasi completa in 17 ed incompleta in 23. Ventisette dei pazienti operati (19.4%) andarono incontro a complicazioni correlate alla chirurgia, che furono fatali in 2 casi, severe in 9 e moderate in 17. Sette pazienti svilupparono progressione tumorale, ma sopravvissero. Due pazienti svilupparono un secondo tumore, ma sopravvissero. Escluso le due morti correlate a chirurgia tutti i pazienti sono vivi dopo un follow-up mediano di 61 mesi.

Conclusioni. La prognosi pazienti con GN è eccellente. L'intervento di resezione chirurgica non è esente da rischi. La sopravvivenza non è influenzata dall'estensione della resezione tumorale. Un approccio chirurgico aggressivo non è quindi raccomandato per il GN.

P003

SINDROME OPSOCLONO-MIOCLONO-ATASSIA: SEQUELE NEUROPSICOLOGICHE E NEURORADIOLOGICHE

De Grandis E, Conte M, Battaglia MF, Pessagno A, Angelini P, Liberati P, Gandolfo C, Morana G, Mancardi M, De Bernardi B, Garaventa A, Veneselli E

per il Gruppo Italiano Neuroblastoma

Introduzione e obiettivi. La sindrome Opsoclon-Mioclon-Atassia (OMA), caratterizzata da movimenti oculari caotici e involontari, mioclon, atassia e irritabilità, è una severa condizione neurologica che colpisce la prima infanzia ed è la più frequente manifestazione paraneoplastica nel neuroblastoma (NB). Mentre l'outcome oncologico è quasi invariabilmente favorevole, quello neurologico include sequele neuropsicologiche e motorie, nonostante i diversi protocolli terapeutici ad oggi utilizzati al fine di ridurre tali esiti. Scopo del lavoro è stato quello di effettuare una valutazione neurologica, neuropsicologica e neuroradiologica su una casistica monocentrica di pazienti con OMA con o senza NB.

Metodi. Sono stati studiati 17 pazienti, diagnosticati presso l'Istituto Gaslini fra il 1983 e il 2006; in 14 soggetti è stato evidenziato un NB. Il follow-up medio è stato di 7 anni (range 7mesi-23anni). Al follow-up i dati clinici sono stati analizzati e tutti i soggetti sono stati sottoposti a rivalutazione neurologica; 13 pazienti hanno effettuato una valutazione neuropsicologica completa; in 14 casi è stata eseguita una Risonanza Magnetica Nucleare dell'encefalo.

Risultati. Due pazienti hanno presentato una guarigione neurologica completa dopo l'asportazione chirurgica del NB; 14 soggetti hanno ricevuto terapia steroidea e 8 di loro un trattamento combinato con steroide e IVIg, eseguito per un periodo medio di 16 mesi (range 3-67ms). Quattro pazienti non responsivi hanno ricevuto ACTH o agenti immunosoppressivi. In 5/14 pazienti (36%) si è evidenziato un ritardo mentale e tutti i pazienti studiati (13/13) hanno mostrato vari gradi di sequele neuropsicologiche. In cinque soggetti su 14 (36%) è emersa una atrofia cerebellare alla RMN.

Conclusioni. La sindrome OMA causa sequele che non sono adeguatamente prevenute dai trattamenti attualmente utilizzati. Che richiedono quindi di essere ottimizzati e standardizzati con studi nazionali e sovranazionali.

P004

CARCINOMI RENALI DI TIPO PAPILLARE: L'ESPERIENZA ITALIANA

Indolfi P,¹ Spreafico F,² Collini P,² Bisogno G,³ Cecchetto G,³ Piva L,² Schiavetti A,⁴ Donfrancesco A,⁵ Pession A,⁶ Bernini G,⁷ Pierani P,⁸ Affinita MC,¹ Di Martino M,¹ Siano M,¹ Casale F,¹ per il Progetto TREP AIEOP

¹Servizio Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria, Seconda Università, Napoli; ²Istituto Nazionale Tumori, Milano; ³Dipartimento di Pediatria, Università, Padova; ⁴Università "La Sapienza", Roma; ⁵Ospedale "Bambin Gesù, Roma; ⁶Dipartimento di Pediatria, Università, Bologna; ⁷Dipartimento di Pediatria, Università, Firenze; ⁸Ospedale dei Bambini "G. Salesi", Ancona

Introduzione. Il Carcinoma renale (RCC) in età pediatrica è raro. I bambini con RCC hanno una prognosi simile all'adulto, anche se non è facile comparare i dati. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare le caratteristiche cliniche e la prognosi in un gruppo di pazienti affetti da carcinoma renale di tipo papillare.

Pazienti e Metodi. Tra il gennaio 1973 ed il maggio 2007 sono stati osservati, in 13 centri AIEOP, 61 pazienti, 29 maschi e 32 femmine, affetti da RCC. In questo studio abbiamo arruolato 11 pazienti (18%), 7 femmine e 4 maschi, età mediana 103.5 mesi (range 71-156, seguiti presso 8 centri AIEOP, che presentavano alla diagnosi una istologia di tipo papillare. La sintomatologia di esordio era caratterizzata in 4 pazienti da ematuria macroscopica, associata, in 2 casi, a dolori addominali. In 3 pazienti era presente solo dolore ed in un caso poliglobulia. In 4 pazienti era segnalata una patologia associata: adenoma metanefrico in 2 casi, DIV ed enuresi, rispettivamente, negli altri 2 pazienti. In rapporto al sistema classificativo proposto da Robson gli 11 pazienti sono stati suddivisi in: 6 stadio 1, un paziente stadio 2, tre stadio 3B ed un caso stadio 4.

Risultati. Dopo una mediana di follow-up di 39 mesi (range 2-79 mesi), 8 pazienti (72.7%), 5 stadio 1, il paziente stadio 2 e 2 pazienti stadio 3B, sono vivi ed in continua remissione completa. Tre pazienti (22.7%) sono deceduti, due per progressione di malattia ed uno dopo recidiva peritoneale.

Conclusioni. I risultati del nostro studio, pur necessitando di conferme su più ampia casistica, permettono alcune considerazioni. Il sottotipo istologico di tipo papillare non sembra determinare una prognosi sfavorevole, come precedentemente sottolineato, né una maggiore incidenza di stadi avanzati. Viene confermata la minore incidenza, in età pediatrica, di tale sottotipo rispetto ai RCC a cellule chiare. Sembra evincersi inoltre una netta prevalenza del sesso femminile ed una più frequente segnalazione di patologie associate. È indispensabile studiare meglio sotto il profilo biologico questo sottotipo per meglio comprenderne la storia naturale.

P005

NEUROBLASTOMA NEONATALE LOCALIZZATO CON EVOLUZIONE IN IVS

Ingrasso A, Chiriaco D, Foco M, Schiavetti A

Dipartimento di Pediatria Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Roma, Italia

Introduzione. Un quinto dei neuroblastomi sono diagnosticati in epoca prenatale o nel primo trimestre di vita. L'ecografia in gravidanza ha determinato un incremento della diagnosi di neuroblastoma neonatale. Nella maggior parte dei casi la neoplasia è localizzata e la prognosi favorevole. Recentemente, sono stati segnalati casi di regressione spontanea,

tanto che nelle forme localizzate di piccole dimensioni si consiglia l'osservazione clinica. Riportiamo il caso di un paziente di sesso maschile affetto da neuroblastoma neonatale a decorso clinico anomalo.

Caso clinico. Un'ecografia effettuata durante il terzo trimestre di gestazione evidenzia massa surrenalica sinistra. Alla nascita, avvenuta a termine con parto spontaneo e peso di 3,490 Kg, l'esame ecografico e la successiva TC addome confermarono la neof ormazione surrenalica (3,7x4x3,2 cm). La radiografia dello scheletro risultò negativa e la scintigrafia con MIBG convalidò la presenza della sola localizzazione surrenalica sinistra. Le catecolamine urinarie risultarono negative. All'età di un mese, in altro ospedale, il paziente fu sottoposto ad asportazione totale della neoplasia la cui istologia confermò trattarsi di neuroblastoma. Dopo la chirurgia venne inviato presso il nostro Day-hospital Oncologico per follow-up. Due mesi dopo l'intervento un'ecografia evidenziò ripresa di malattia a livello subdiaframmatico sinistro con comparsa di multiple formazioni epatiche. La scintigrafia con MIBG confermò la presenza delle lesioni. Seppur anomala come presentazione, venne posta diagnosi di neuroblastoma IVs e si optò per un atteggiamento conservativo, con follow up mensile. All'età di 8 mesi un'ecografia documentò l'aumento delle lesioni epatiche, risultate stabili nel controllo del mese successivo. All'età di 11 mesi si osservava riduzione delle lesioni epatiche e scomparsa della lesione primitiva con progressivo miglioramento, fino alla completa regressione anche delle lesioni epatiche, all'età di 20 mesi. Attualmente, il bambino, di 2 anni di età, è senza malattia e in ottime condizioni cliniche.

Conclusioni. Questo caso viene riportato a conferma dell'evoluzione anomala e favorevole del neuroblastoma neonatale.

P006

ATTIVITÀ ANTI-PROLIFERATIVA E ANTI-MIGRATORIA DI DASATINIB SU LINEE CELLULARI DI NEUROBLASTOMA E SARCOMA DI EWING.

Timeus F,¹ Crescenzo N,¹ Fandi A,² Doria A,¹ Foglia L,¹ Bertin D,¹ Cordero di Montezemolo L¹

¹Oncoematologia pediatrica Università di Torino; ²Bristol-Myers Squibb, Lawrenceville, Princeton, USA

Introduzione e obiettivi. Varie evidenze indicano un ruolo del recettore per lo stem cell factor, c-kit, e del recettore per il platelet-derived growth factor, PDGFR, nella proliferazione e sopravvivenza delle cellule di tumori neuroectodermici. Nel presente lavoro abbiamo valutato l'azione del dasatinib, inibitore di varie chinasi tra cui BCR-ABL, SRC chinasi, c-kit e PDGFR, su linee di neuroblastoma (NB) e sarcoma di Ewing (ES).

Metodi. Linee cellulari: NB: SJ-N-KP, SK-N-BE, AF8 e IMR5; ES: PDE02, TC106 e 6647. Condizioni di coltura: in RPMI 1640 + 10% siero bovino fetale in presenza o meno di concentrazioni crescenti di dasatinib. Test di proliferazione: conta cellulare in camera di Burkner, previa colorazione con tripan blu. Valutazione concentrazione inibente il 50% (IC50) mediante programma SPSS 11.5. Test di apoptosi: binding annessina V e propidio ioduro valutato mediante citofluorimetria. Valutazione ciclo cellulare: in citofluorimetria dopo marcatura con propidio ioduro. Test di migrazione: scratch test su tutte le linee. Tutti gli esperimenti sono stati condotti in triplicato.

Risultati. Il dasatinib possiede attività antiproliferativa su tutte le linee studiate, con picco a 24 ore (Tabella). Nelle linee IMR5 (NB) e 6647 (ES) dasatinib 100 nM ha determinato un

aumento medio del 34.8% delle cellule in fase G1/G0 e una riduzione media del 28.1% delle cellule in fase S. Non è stato evidenziata attività pro-apoptotica del farmaco. Dasatinib 100 nM ha inibito la migrazione cellulare in tutte le linee studiate (v. tab.).

Conclusioni. Nonostante le IC50 elevate rispetto ad altri tipi cellulari precedentemente studiati, dasatinib alla concentrazione relativamente bassa di 100 nM possiede rilevante attività biologica sulle linee studiate. L'inibizione della migrazione sembra di particolare interesse nel controllo della metastatizzazione ed è verosimilmente correlata all'azione su c-kit e PDGFR. L'attività citostatica e anti-migratoria di dasatinib ne suggerisce un possibile utilizzo *in vivo* in terapia di associazione con altri farmaci citotossici nel trattamento di NB e ES.

Tabella 1. Attività antiproliferativa (conta in emocitometro dopo esclusione tripan blu su SJ-N-KP, IMR5, PDE02, 6647) e antimigratoria (scratch test) di dasatinib su linee di neuroblastoma (NB) e sarcoma di Ewing (ES).

		IC50 (mM) 24 h	Inibizione proliferazione 24 h Dasatinib 100 nM	Inibizione migrazione a 48 h Dasatinib 100 nM
NB	SJ-N-KP	6.1	29.4±5.7%	33±9.6%
	IMR5	1.4	41.3±11.7%	20±2.1%
	SK-N-BE	-	-	30±1.4%
	AF8	-	-	38±11.3%
ES	PDE02	0.4	35.3±7.6%	42±7.8%
	TC106	-	-	22±8.5%
	6647	19.9	14.0±10.6%	12±2.1%

P007

ATTIVITÀ ANTI-PROLIFERATIVA DI SAQUINAVIR SU LINEE CELLULARI DI NEUROBLASTOMA E SARCOMA DI EWING

Timeus F, Crescenzo N, Doria A, Foglia L, Saglio F, Ricotti E, Cordero di Montezemolo L, Tovo PA

Oncoimmunoematologia pediatrica, Università di Torino, Italia

Introduzione e obiettivi. L'inibitore delle proteasi saquinavir, utilizzato da anni nel trattamento di pazienti HIV positivi, agisce sul proteasoma ed esercita potente attività inibitoria su linee di leucemia mieloide cronica imatinib-resistenti, almeno in parte legata ad inibizione del fattore di trascrizione NFκB. Il neuroblastoma (NB) e il sarcoma di Ewing (ES) presentano tuttora una prognosi poco favorevole negli stadi piu' avanzati, nonostante l'utilizzo di trattamenti molto aggressivi. Da cio' deriva l'interesse per nuovi approcci terapeutici. Nel presente lavoro abbiamo valutato l'azione del saquinavir su linee di NB e ES.

Metodi. Linee cellulari: NB: SJ-N-KP, SK-N-SH, AF8 e IMR5; ES: PDE02, TC106 e 6647. Condizioni di coltura: in RPMI 1640 + 10% siero bovino fetale in presenza o meno di concentrazioni crescenti di saquinavir. Test di proliferazione: conta cellulare in camera di Burkner, previa colorazione con tripan blu. Valutazione concentrazione inibente il 50% (IC50) mediante programma SPSS 11.5. Uptake 3H timidina dopo 48 ore di esposizione a saquinavir 20 µM. Test di apoptosi: binding annessina V e propidio ioduro valutato mediante citofluorimetria. Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) valuta l'attivazione trascrizionale di NFκB dopo esposizione a saquinavir 20 µM per 16 ore e stimolo con Phorbol 11-myri-

state-12-acetate 10 ng/mL e calcio ionoforo 500 ng/mL per 15 minuti.

Risultati. Saquinavir possiede potente attività antiproliferativa dose e tempo-dipendente su tutte le linee studiate (v. tab 1). L'uptake di 3H timidina è risultato inibito del 46% in PDE02 e del 26% in 6647, mentre non abbiamo osservato effetto significativo sulle linee di NB. Saquinavir esercita inoltre modesta attività proapoptotica sulle linee studiate solo a concentrazioni elevate, superiori a 20 microM. EMSA ha dimostrato che saquinavir inibisce l'attività trascrizionale di NFκB.

Conclusioni. Saquinavir esercita attività antiproliferativa su linee di NB e ES a concentrazioni facilmente raggiunte *in vivo* in pazienti trattati per periodi prolungati con effetti collaterali accettabili. Tale azione è collegata ad inibizione dell'attività trascrizionale di NFκB. Saquinavir appare promettente nella terapia di NB e ES, in associazione a farmaci con attività proapoptotica.

Tabella 1. Saquinavir IC50 dopo 24, 48, 72 ore di esposizione. I valori sono espressi in μM.

		24 h	48 h	72 h
NB	SJ-N-KP	11,6	3,1	4,0
	SK-N-SH	8,1	2,2	2,3
	AF8	13,2	4,5	4,5
	IMR5	27,7	4,8	7,2
ES	PDE02	2,5	1,6	1,4
	TC106	6,1	4,8	5,5
	6647	14,6	19,2	6,5

P008

TERAPIA COMBINATA, CHIRURGIA, RADIOTERAPIA E CHEMIOTERAPIA CONVENZIONALE E AD ALTE DOSI NEL TUMORE TERATOIDE/RABDOIDE ATIPICO: ESPERIENZA MONOCENTRICA

Fidani P, De Ioris MA, Cozza R, De Sio L, Ilari I, Serra A, Castellano A, Donfrancesco A

UO Oncologia Pediatrica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù OPBG; IRCCS, Roma, Italia

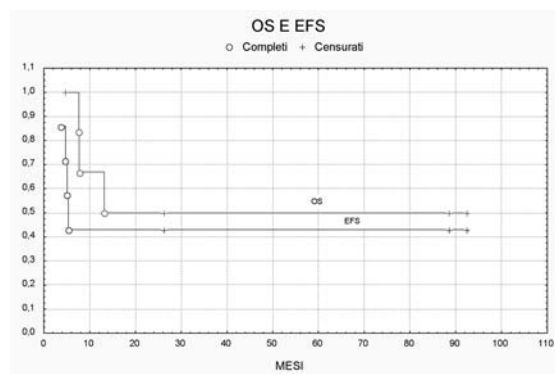
Introduzione ed Obiettivi. Il Tumore Teratoide/Rabdoide Atipico (TTRA) del Sistema Nervoso Centrale è una rara ed aggressiva neoplasia dell'infanzia. Scopo del nostro studio è stato verificare l'efficacia in termini di sopravvivenza di un trattamento intensivo.

Pazienti e Metodi. Negli ultimi 7 anni a tutti i pazienti (pts) affetti da TTRA, 6 diagnosticati presso l'OPBG ed 1 inviato da altro centro per alte dosi, è stata proposta una terapia basata su chirurgia, chemioterapia (CT) convenzionale ed ad alte dosi e radioterapia locale (RT). La CT convenzionale consisteva in 2 cicli di Ifosfamide/Carboplatino/Etoposide(ICE) seguiti da 2 cicli di ICE o 2 di Ciclofosfamide/Etoposide/ Carboplatino/Tiothepa (CECAT), mentre la CT ad alte dosi in 1 ciclo di Etoposide/Thiotepa/Ciclofosfamide(ETC).

Risultati. Sono stati trattati 7 pts (M/F 6/1, età mediana 35 mesi, range 16-104). Un pt presentava metastasi alla diagnosi. Due pts presentavano il tumore primitivo in fossa cranica posteriore e 5 in sede sovratentoriale. La chirurgia alla diagnosi, eseguita in tutti, è stata radicale solo in 3 pts. Dopo i primi 2 cicli di ICE, 1 pt ha presentato progressione di malattia (PM), 4 malattia stabile (MS) e 2 risposta parziale (RP). Dopo

4 cicli di CT, dei 2 pts che hanno proseguito con ICE, 1 presentava MS ed 1 PM e dei 4 pts trattati con 2 cicli CECAT, 3 presentavano PM e 1 remissione completa (RC). Il pt in RC dopo 4 cicli presentava RP dopo 2 cicli. La CT ad alte dosi è stata eseguita in 3 pts con assenza di malattia, 2 in RC dopo 4 cicli e 1 in RC dopo reintervento per PM. La RT locale è stata effettuata in tutti i pts dopo alte dosi. Ad un'osservazione mediana di 13 mesi (range 5-92): 3 pts sono deceduti per malattia e 4 sono vivi - 3 in RC a 26, 88 e 92 mesi dalla diagnosi e uno vivente con malattia a 5 mesi dalla diagnosi. Tutti i pts viventi in RC hanno completato il trattamento proposto. La probabilità stimata di OS e EFS a 5 anni secondo Kaplan Meier è rispettivamente del 50% e 43%.

Conclusioni. Per i pazienti affetti da TTRA, è necessaria una strategia terapeutica combinata. Nella nostra esperienza, la chirurgia e la RT sembrano dimostrare la maggiore efficacia. Il ruolo della CT convenzionale ed ad alte dosi, pur avendo dimostrato efficacia in alcuni pts come deducibile anche dai dati riportati in letteratura, necessita di ulteriore verifica in una più ampia casistica.



P009

RETINOBLASTOMA EXTRA-OCULARE: ESPERIENZA DELL' OSPEDALE PEDIATRICO BAMBINO GESU' (OPBG)

Cozza R, De Ioris MA, Ilari I, Serra A, De Sio L, Fidani P, De Laurentis C, Romano M, Pessolano R, Castellano A, Romano* A, Vadalà P*, Devito R°, Donfrancesco A

UO Oncologia, UO Oculistica*, UO Anatomia Patologica°, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; IRCCS, Roma, Italia

Il Retinoblastoma (RB) rappresenta la più comune neoplasia intra-oculare dell'età pediatrica, ereditaria nel 40% dei casi diagnosticati. La maggior parte dei pazienti presenta una malattia localizzata curabile in più del 90% dei casi. L'estensione extra-oculare è un evento raro ma che, generalmente, si presenta entro 6 mesi dalla diagnosi se il paziente non viene trattato. La prognosi dell'RB extra-oculare è estremamente infausta con un trattamento convenzionale. Negli ultimi 14 anni, sono stati diagnosticati e trattati all'OPBG 79 pazienti affetti da RB, di questi 3 (3.7%) presentavano un'estensione extra-oculare. Un paziente con RB bilaterale sporadico ed invasione liquorale è deceduto 14 mesi dalla diagnosi per una malattia progressiva a livello del sistema nervoso centrale dopo enucleazione bilaterale, radioterapia (RT) locale, differenti schemi di chemioterapia (CT) convenzionale e CT ad alte dosi con etoposide 600 mg/m², thiotepa 750 mg/m² e ciclofosfamide 120 mg/kg (ETC) seguita da reinfusione di cellule staminali periferiche (CSP). Il secondo paziente con un RB trilaterale asincrono familiare è vivo in remissione completa (RC) a 47 mesi dalla diagnosi avven-

do eseguito il protocollo AIEOP SNC 9501 che includeva CT convenzionale ed ad alte dosi seguita da RT locale. L'ultimo paziente, affetto da RB monolaterale sporadico con metastasi liquorali e ossee, è vivo in RC a 43 mesi dalla diagnosi dopo enucleazione, 4 cicli di CT convenzionale (ICE, ifosfamide 9 gr/m²; etoposide 500 mg/m², carboplatino 800 mg/m²) ed CT ad alte dosi con ETC. Il RB extra-oculare rappresenta un'evenienza rara e a prognosi sfavorevole. In linea con le esperienze riportate dai maggiori centri internazionali, riteniamo che una strategia efficace sia basata su un opportuno trattamento locale -anche con utilizzo di RT-, CT convenzionale ed ad alte dosi. Presso l'OPBG, ai pazienti affetti da RB extra-oculare viene proposta una strategia combinata basata sul trattamento locale con o senza RT, 4 cicli di ICE e CT ad alte dosi con ETC.

P010

CHEMIOTERAPIA DI INDUZIONE BASATA SU TOPOTECAN IN PRIMA LINEA NEL TRATTAMENTO DEI NEUROBLASTOMI A PROGNOSI SFAVOREVOLE

Ilaria I, De Ioris MA, Castellano A, Cozza R, De Sio L, De Laurentis C, Fidani P, Jenkner A, Pessolano R, Inserra A^o, Donfrancesco A

UO Oncologia Pediatrica e UO Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; IRCCS, Roma, Italy

Introduzione ed Obiettivi. Lo scopo del nostro studio è stato valutare l'efficacia di un regime chemioterapico di induzione basato sul topotecan nel neuroblastoma a prognosi sfavorevole. Pazienti e Metodi: sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti affetti da neuroblastoma metastatico o neuroblastoma localizzato con MYCN amplificato diagnosticati presso l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù da gennaio 2001 e marzo 2006. Il regime di induzione prevedeva due cicli di topotecan (TPT) 6 mg/m² e ciclofosfamide (CPM) 140mg/kg, seguiti da 2 cicli di ifosfamide 9 g/m², carboplatin 800 mg/m² e etoposide 500 mg/m² (ICE). Dopo la chirurgia sul tumore primitivo, è stato eseguito un quinto ciclo con vincristina 1.5 mg/m², adriamicina 75 mg/m² and CPM 3 g/m². Il protocollo è stato completato da chemioterapia ad alte dosi, radioterapia locale ed acido cis-retinoico per 12 mesi. La valutazione della risposta tumorale locale e dell'invasione midollare con aspirato e biopsia osteomidollare sono state eseguite dopo 2 e 4 cicli, mentre la rivalutazione con scintigrafia MIBG alla fine della fase di induzione.

Risultati. 26 pts, 15M/11F, con età mediana 40 mesi (range 13-159 mesi), sono stati inclusi nello studio. 24/26 erano metastatici. 20/26 presentavano metastasi alla MIBG e 16/26 un'infiltrazione midollare. Dopo due cicli, 14/24 presentavano una risposta parziale (RP) con un tasso di risposta (TR) del 58.3% e una riduzione media del tumore primitivo del 52%. 8/16 pts (50%) presentavano una clearing midollare. Dopo 4 cicli il TR era del 96% sul tumore primitivo con un riduzione media del 75%. Alla fine dell'induzione: 22/26 (84%) pts presentavano almeno una RP, 3 una progressione metastatica, clearing midollare in 12/16 (75%). Complessivamente, una remissione completa a livello metastatico è stata raggiunta in 10/24 (42%) pts con metastasi e in 7/20 (35%) pts con spot metastatici alla scintigrafia MIBG. La tossicità è stata prevalentemente ematologica con un grado 4 CTC nel 100% dei cicli TPT/CPM e nel 96% dei cicli ICE.

Conclusioni. Il regime proposto è fattibile con un'ottima risposta in termini di risposta tumorale e senza decessi tossici. Al termine della fase di induzione il TR è stato del 84% con una risposta completa a livello metastatico del 42% e una clearing midollare nel 75% dei pts trattati.

P011

IDENTIFICAZIONE DI TRE NUOVI GENI ASSOCIATI ALLA PROGRESSIONE TUMORALE NEL NEUROBLASTOMA

Aglio V,¹ Orloff N,¹ Tonini G,² Zollo M,¹ Iolascon A¹

¹Cattedra di Genetica Medica- DBBM Università Federico II and C.E.I.N.G.E., Naples; ²IST, Istituto nazionale per la ricerca sul cancro, Genova, Italy

Introduzione ed Obiettivi. Il Neuroblastoma (NB) è un tumore solido pediatrico responsabile del 15% di morte dei bambini per tumore. Abbiamo deciso di studiare il profilo di espressione di linee cellulari di NB indotte al differenziamento mediante AR al fine di identificare i *master genes* di tale processo ed in particolare analizzare *in vivo* tali geni durante la progressione tumorale.

Metodi. È stato analizzato il profilo di espressione genica mediante chip Affymetrix in due linee cellulari di NB (LAN-5 e SH-SY5Y) trattate con AR per differenti tempi sperimentali. Successivamente 3 geni non noti sono stati caratterizzati funzionalmente mediante overespressione ed RNAi, Western-Blot (WB), Immunofluorescenza (IF) e analisi FACS.

Risultati. I risultati indicano che 477 e 705 geni sono stati trovati regolati in LAN-5 e in SH-SY5Y rispettivamente. Confrontando l'espressione dei geni regolati nelle due linee cellulari soltanto 47 risultano comunemente espressi. Di questi, 6 non noti presentano valore di espressione elevato nelle cellule differenziate e mappano in regioni genomiche alterate nello sviluppo del NB. Anche l'espressione proteica determinata mediante analisi di WB ed IF aumenta durante il differenziamento neuronale. Real-time condotte su 40 pazienti di NB con diverso stadio tumorale dimostrano che tali geni hanno una maggiore espressione, statisticamente significativa, negli stadi 1 e 2 del tumore rispetto agli stadi 3 e 4. Analisi FACS condotte su cellule overesprimenti i geni in esame mostrano un aumento significativo della popolazione nelle fase G0/G1 ed una diminuzione significativa nella fase S rispetto alla popolazione controllo. In accordo con questi dati, analisi FACS effettuate sulle cellule interferite mostrano risultati perfettamente opposti.

Conclusioni. I dati funzionali presentati suggeriscono che le tre proteine, determinando un'arresto nelle fase G0/G1 del ciclo cellulare, potrebbero rappresentare nuovi fattori prodifferenzianti con attività di oncosoppressori nello sviluppo del NB. In accordo con gli studi *in vitro*, l'espressione dei geni *in vivo* diminuisce durante la progressione tumorale in pazienti affetti da NB (l'aumento della casistica è attualmente in corso), identificando tali geni come potenziali target molecolari per futuri approcci terapeutici.

Il progetto è stato finanziato dall'associazione OPEN Oncologia pediatrica e Neuroblastoma.

P012

IL TORCICOLLO IN ETÀ PEDIATRICA: SPESSO UN PROBLEMA NON BANALE

D'Angelo P, Grigoli A, Macaluso A, Trizzino A, Tropia S, Aricò M

U.O. di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo

Introduzione. Il torcicollo, dolore con contrattura muscolare del collo, è frequente nell'adulto come spia di condizioni degenerative (es. artrosi), a carico della colonna cervicale. È inusuale in età pediatrica ove è per lo più secondario a cause infettive o a fatti traumatici. Non bisogna però dimenticare che

occasionalmente condizioni meno banali possono essere causa di *torcicollo*.

Pazienti e metodi. Abbiamo rivisto la casistica di pazienti oncologici per identificare quelli in cui il 'torcicollo' era riportato come sintomo all'esordio.

Risultati. 14 pazienti affetti da neoplasia della regione testacolo avevano esordito con 'torcicollo' isolato e persistente. Solo dopo la comparsa di altri segni o sintomi (nausea e vomito, cefalea, disfagia, convulsioni, inappetenza, calo ponderale o tumefazione clinicamente evidente), sono stati avviati gli accertamenti che hanno portato alla diagnosi, con un ritardo variabile tra 3 settimane e 6 mesi (mediana 3 mesi). La diagnosi era di: medulloblastoma/PNET della fossa cranica posteriore (n=4), astrocitoma pilocitico cerebrali o spinali (n=3), glioma del tronco encefalico (n=2), istiocitosi a cellule di Langerhans della regione cervicale (n=2), neuroblastoma metastatico, sarcoma sinoviale parafaringeo, sarcoma istiocitico metastatico della regione laterocervicale sinistra. In quasi tutti i pazienti il dolore al collo con la limitazione dei movimenti era comparso isolato ed improvviso, senza anamnesi di traumi, febbre o sintomi neurologici. In tutti i casi è stata posta diagnosi di torcicollo miogeno ed è stata consigliata terapia con antinfiammatori o decontratturanti per via generale o topica. In circa la metà di casi è stata effettuata anche una consulenza ortopedica/fisiatrice senza modificazione negli atteggiamenti. Il successivo peggioramento della situazione clinica con comparsa di sintomi ulteriori ha poi determinato il coinvolgimento di ulteriori figure professionali con formulazione del sospetto diagnostico e successivi accertamenti mirati al raggiungimento della diagnosi.

Conclusioni. Alla luce della nostra esperienza il *torcicollo*, che nella maggior parte dei casi ha scarso significato clinico con risoluzione rapida e spontanea, sembra meritevole di attenzione, specie nei casi senza anamnesi di trauma, senza flogosi o linfadenite cervicale acuta, con dolore anche modesto ma persistente oltre pochi giorni. In alcuni casi un grosso ritardo diagnostico può addirittura avere implicazioni nella disseminazione di malattia.

P013

EDEMA E LESIONI INFIAMMATORIE INDOTTI DALLA TERAPIA SOSTITUTIVA CON ORMONE DELLA CRESCITA (GH) IN UNA PAZIENTE TRATTATA PER MEDULLOBLASTOMA

Biassoni V,¹ Pallotti F,² Spreafico F,¹ Seregni E,² Gandola L,³ Martinetti A,² Bombardieri E,² Massimino M¹

¹Oncologia Pediatrica, ²Medicina Nucleare, ³Radioterapia, Istituto Nazionale Tumori di Milano, Italy

Introduzione. Il miglioramento del tasso di sopravvivenza in pazienti affetti da tumori cerebrali dovuto a nuovi strumenti diagnostico-terapeutici ha creato maggiore interesse circa le possibili sequele dei trattamenti, tra le quali quelle più frequenti sono le complicanze endocrine. Il deficit di GH è spesso osservato in seguito a trattamento radiante; in particolare la radioterapia craniospinale adottata nel trattamento del medulloblastoma induce deficit di GH nel 67-80% di casi. La terapia sostitutiva con GH non aumenta il rischio di recidiva/secondo tumore ed è indicata in presenza di deficit ormonale documentato, dopo un anno dal termine del trattamento oncologico, in assenza di un quadro di progressione di malattia e nel contesto di un attento follow-up clinico-radiologico. La letteratura riporta una associazione tra GH e mediatori dell'infiammazione quali citochine, neurotrasmettitori e fattori di crescita vascolari.

Metodi. L'esperienza descritta riguarda una paziente di 7 anni trattata per medulloblastoma metastatico secondo protocollo istituzionale (chemioterapia ad alte dosi sequenziali, radioterapia sul SNC e chemioterapia mieloablattiva), che ha sviluppato deficit di GH a 2 anni dal trattamento oncologico.

Risultati. Una risonanza magnetica effettuata dopo 3 mesi di somatotropina (5 mg/settimana) evidenziava incremento dell'edema, occupante gran parte dell'emisfero cerebrale destro. Per questo e in considerazione della documentata attività proinfiammatoria del GH la terapia sostitutiva è stata sospesa con conseguente riduzione delle suddette alterazioni infiammatorie. La somatotropina è stata quindi re-introdotta a dosaggio inferiore (3 mg/settimana) senza evidenza di ulteriore progressione di tali lesioni.

Conclusioni. Mentre in letteratura è confermata la sicurezza della terapia con GH in termini di rischio di recidiva/secondo tumore, mancano descrizioni di alterazioni infiammatorie e relativi quadri radiologici somatotropina-indotti. Inoltre l'incremento dei mezzi terapeutici per il trattamento delle neoplasie cerebrali ha reso più complesso interpretare i reperti neuroradiologici in quanto non è noto come queste nuove armi terapeutiche e i relativi effetti tardivi possano influenzarli. Questo caso e l'iconografia correlata suggeriscono una stretta associazione tra GH ed attività proinfiammatoria.

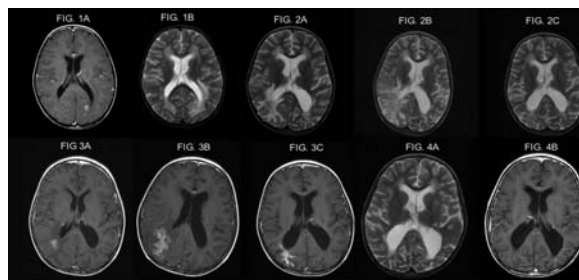


Figura 1 A e B. Immagini assiali T1 e T2 pesate con e senza mezzo di contrasto (mdc) relative alla fine del trattamento oncologico: le aree di enhancement focale rappresentano alterazione flogistica-necrotiche. Figura 2 A-B-C. Immagini assiali T2 pesate ottenute al momento dell'inizio della terapia con GH (A), dopo 3 mesi di terapia sostitutiva (B) e dopo 3 mesi dalla sua interruzione (C). Evidente l'incremento dell'edema che si spinge ad occupare la metà posteriore dell'emisfero cerebrale destro, in aumento rispetto alle immagini relative all'inizio della terapia con GH ed evidentemente ridotto dopo 3 mesi dalla sua sospensione. Figura 3 A-B-C. Le immagini assiali T2 pesate della precedente sequenza sono mostrate dopo iniezione di Gadolinio. L'area infiammatoria è circondata da un orletto periferico, verosimile espressione di vallo leucocitario. Figura 4 A e B Immagini assiali ottenute dopo 15 mesi dalla re-introduzione della terapia con somatotropina a dosi ridotte. Nessuna evidenza di ulteriori aree infiammatorie nel contesto delle note alterazioni post-terapiche.

P014**TERATOMA CON COMPONENTE MALIGNA DI TIPO SOMATICO IN ONCOLOGIA PEDIATRICA: ESPERIENZA AIEOP**

Terenziani M, D' Angelo P, Bisogno G, Boldini R, Cecchetto G, Collini P, Conte M, De Laurentis T, Ilari I, Indolfi P, Inserra A, Piva L, Siracusa F, Spreafico F, Tamaro P, Lo Curto M

Fondazione IRCCS Istituto Tumori, Milano; Dipartimento Universitario Materno Infantile, Ospedale Civico Palermo; Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; IRCCS G. Gaslini, Istituto per l'Infanzia Burlo Garofolo, Trieste

Introduzione e Obiettivi. La definizione di teratoma con componente maligna di tipo somatico (TMTS) si riferisce alla presenza di componente somatica maligna della linea non-germinale in un teratoma. Tale condizione è rara ma rappresenta un fenomeno ben definito in oncologia medica, mentre in ambito pediatrico le segnalazioni sono sporadiche. Abbiamo raccolto i casi pediatrici di TMTS dai maggiori centri AIEOP italiani per descriverne le caratteristiche e il comportamento clinici.

Metodi. 10 pazienti con TMTS (6 F, 4 M) con una età mediana di 11.5 aa (range 0 -28 aa) sono stati trattati sul territorio italiano in un periodo compreso dal 1978 al 2006.

Risultati. Abbiamo osservato 2 casi di tumore testicolare; 2 casi con primitivo sacrococcigeo, 3 tumori ovarici, 2 primitivi retroperitoneali e un TMTS localizzato a un piede. In 6/10 casi la componente TMTS era già presente alla diagnosi sul tumore primitivo, mentre nei rimanenti 4 è stata evidenziata al momento della recidiva o alla chirurgia differita delle localizzazioni metastatiche. La componente somatica è stata la seguente: tumore maligno delle guaine nervose periferiche 1; rabdomiosarcoma 2; neuroblastoma 3, carcinoma 3 e trasformazione maligna multidirezionale in un caso. Tutti i pazienti eccetto uno sono stati sottoposti a exeresi del tumore primitivo; 7/10 presentavano una malattia localizzata e/o localmente avanzata e 3 metastatica. La presenza di neuroblastoma ha indirizzato la scelta terapeutica in tutti e 3 i casi, mentre nei rimanenti la scelta prevalente è stata verso la componente germinale. Sette pazienti hanno presentato una ricaduta/progressione di malattia e solamente uno di questi 7 è vivo e senza evidenza di malattia. Con un follow up mediano di 31 mesi (range 12-120) la sopravvivenza libera da ricaduta e la sopravvivenza globale sono state rispettivamente 30 % e 50%.

Conclusioni. TMTS rappresenta una entità rara in oncologia pediatrica e a differenza della casistica tedesca in cui sono prevalenti i tumori ovarici e la differenziazione in carcinoma, nell'esperienza italiana qui riportata la presentazione clinica e gli istotipi sono notevolmente eterogenei. Vista la rarità di TMTS non è ancora stato raggiunto un consenso nel tipo di approccio terapeutico indicato, che deve tuttavia tenere conto della chemiosensibilità e della diversa aggressività clinica delle componenti istologiche che compongono questi tumori.

P015**INIBIZIONE SPECIFICA DI MYCN E MYC MEDIANTE PNA-NLS ANTI-GENE IN CELLULE DI MEDULLOBLASTOMA UMANO: CARATTERIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTI-TUMORALE**

Camerin C,¹ Tortori A,¹ Purgato S,¹ Serravalle S,¹ Libri V,¹ Corradini R,² Tonelli R,¹ Pession A¹

¹Oncologia ed Ematologia Pediatrica "Lalla Seragnoli", Università di Bologna; ²Dipartimento di Chimica Organica, Università di Parma

Introduzione e obiettivi. Il medulloblastoma (MB) è il più frequente tumore cerebrale maligno nell'infanzia. N-Myc è essenziale durante la neurogenesi per l'espansione rapida della popolazione delle cellule progenitrici neuronali. I topi knock-out per MYCN presentano una riduzione di 6 volte nella massa del cervello. L'elevata espressione di MYCN è stata osservata in MB, prevalentemente nel sottotipo desmoplastico ed anaplastico. L'obiettivo del lavoro è l'analisi *in vitro* dell'attività anti-tumorale dopo inibizione specifica di MYCN e MYC mediante acidi peptido-nucleici anti-gene (PNAs-NLS) in MB.

Metodi. Sono state utilizzate le linee cellulari di MB: DAOY, D283, D341, D556, D425, D384 e ONS-76. Per inibire la trascrizione di MYCN e MYC sono stati utilizzati acidi peptido-nucleici senso (PNAs) con attività anti-gene, coniugati ad un segnale di localizzazione nucleare (NLS) peptidico. Per valutare la specificità dell'attività dei PNAs è stato utilizzato un PNA mutato (PNAmt-NLS). Mediante analisi in RT-PCR real-time e Western Blot si è valutata l'inibizione della trascrizione e della traduzione di MYCN e MYC. La vitalità cellulare è stata valutata con il saggio dell'ATP.

Risultati. Le linee cellulari di MB analizzate esprimono MYCN e MYC sia a livello di mRNA che di proteina. La vitalità cellulare in cellule DAOY e D341 dopo il trattamento con il PNAs-NLS anti-MYCN ed anti-MYC come agenti singoli od in combinazione, ha mostrato una forte riduzione della vitalità cellulare sia dopo inibizione della trascrizione di MYCN che di MYC, mentre l'inibizione combinata dei due oncogeni non ha mostrato un consistente effetto additivo o sinergico. La specificità dell'effetto è stata confermata dalla mancanza di effetto del PNAmt-NLS. L'inibizione dell'mRNA e proteina di MYCN e MYC dopo trattamento con PNA anti-gene specifici in cellule DAOY, ha rivelato una riduzione specifica dell'espressione di MYCN e MYC.

Conclusioni. L'inibizione della trascrizione di MYCN e MYC mediante PNA anti-gene ha mostrato una forte e specifica riduzione dell'espressione di MYCN e MYC ed una consistente attività anti-tumorale in cellule di MB. Ulteriori studi *in vivo* nel modello murino sono in corso per valutare la potenzialità di questa nuova strategia terapeutica per il trattamento di MB con espressione di MYCN e MYC.

P016**EFFETTI DELL'IPPOSSIA SULLA PROLIFERAZIONE DI CELLULE DERIVATE DA TUMORI CEREBRALI E MODULAZIONE OSSIGENO-DIPENDENTE DEI SEGNALI MEDIATI DA BMP E DA NOTCH**

Pistollato F,^{1,2} Chen HL,² Panchision DM,² Basso G¹

¹Centro di Oncoematologia Pediatrica, Dip.to di Pediatria, Università degli Studi di Padova, Italy; ²Center for Neuroscience Research, Children's Research Institute, Children's, National Medical Center, Washington, DC, USA

I tumori cerebrali pediatrici rappresentano una delle principali cause di morte per tumore. Si è visto che una bassa tensione di ossigeno correla positivamente con l'aggressività

tumorale e con una scarsa risposta al trattamento chemioterapico; inoltre in un nostro precedente lavoro si è dimostrato che l'ipossia ha effetti sulla proliferazione e sul mantenimento della staminalità in cellule normali post-natali derivate dalla zona subventricolare (SVZ), fenomeno derivato da un'inibizione del differenziamento astrogliale mediato dalla bane morphogenetic protein-2 (BMP2). Nel presente studio si sono investigati gli effetti mediati dall'ipossia su proliferazione e modulazione della risposta mitogenica, in particolare del pathway di BMP e di Notch, (critici nella determinazione del destino di cellule staminali neurali), in cellule derivate da biopsie di glioblastoma e medulloblastoma pediatrici. Si sono collezionate sei biopsie di High Grade Gloma (HGG) e di tre Medulloblastomi (MDB). Dai risultati sinora ottenuti risulta che cellule di medulloblastoma proliferano solo se mantenute in ipossia, a differenza di cellule di HGG che non sembrano essere così sensibili a differenze nella tensione di ossigeno. Inoltre il trattamento con BMP2 in cellule di GBM determina un'inibizione specifica della crescita con conseguenziale induzione di differenziamento. Il trattamento in vitro di cellule di MDB con un inibitore dell'attivazione proteolitica di Notch, γ -secretase-inhibitor-X, induce un forte differenziamento neuronale in entrambe le condizioni di ossigeno testate, 2% e 20%. Inoltre al 20% di ossigeno le cellule di MDB vanno incontro ad una rapida apoptosi sia nei controlli non trattati sia in presenza di DLL4, un induttore dell'attivazione di Notch, la cui attivazione risulta essere fondamentale al mantenimento dello stadio staminale. In conclusione, l'analisi degli effetti mediati dalla tensione di ossigeno, la modulazione operata dall'ossigeno sull'attivazione e/o inibizione di alcuni pathway molecolari e l'utilizzo di fattori solubili in grado di indurre differenziamento nelle cellule staminali tumorali possono essere potenziali fattori critici al fine di formulare trattamenti più selettivi ed efficaci.

P017

NEUROBLASTOMA IN ETÀ PEDIATRICA: ESPRESSIONE DI GENI SPECIFICI DI STAMINALITÀ

Giuliano M, Squillaro T,¹ Crisci S, D'Angelo V, Casale F, Indolfi P, Melone M,² Romano M, Siano M, Pota E, Fusco C, Cipollaro M,¹ Galderisi U¹

Servizio Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli; ¹Biologia Molecolare Dipartimento di Medicina Sperimentale SUN Napoli; ²Dipartimento di Scienze neurologiche Seconda Università di Napoli

Introduzione. Negli ultimi anni numerose prove sperimentali hanno dimostrato una stretta correlazione tra mutazioni nel genoma delle cellule staminali e insorgenza del cancro. Le cellule staminali, destinate a dividersi periodicamente durante tutta la vita rappresentano un bersaglio ottimale per la trasformazione tumorale, in quanto con maggior frequenza possono essere sottoposte a mutazioni successive, con trasformazione neoplastica. Inoltre le cellule staminali posseggono caratteristiche analoghe alle cellule cancerose quali capacità di autorinnovamento e migratoria ed elevato potenziale proliferativo. Il Neuroblastoma può rappresentare un modello di neoplasia che include, oltre ad un'ampia porzione di cellule differenziate, anche una piccola frazione di cellule staminali. Scopo del nostro studio è stato quello di analizzare in tumori neuroblastici l'espressione di geni specifici di staminalità.

Materiali e Metodi. È stato analizzato tessuto tumorale proveniente da 12 pazienti con Neuroblastomi diagnosticati presso il Servizio di Oncologia Pediatrica della II Università di

Napoli. I campioni bioptici, conservati in RNAlater (Takara) e congelati a -80°C, sono stati processati per l'estrazione contemporanea di Dna, Rna e proteine (Tri-Reagent, Sigma). Dopo l'estrazione di mRNA, è stata eseguita analisi dell'espressione, tramite RT-PCR semiquantitativa, di 13 geni specifici di 'staminalità', tra i quali Nanog, Tcl1 e GDF3.

Risultati e Conclusioni. Dati preliminari hanno evidenziato che il fattore di trascrizione Nanog, presente in diversi tipi di cellule staminali, non è espresso a livelli apprezzabili nei campioni da noi analizzati, mentre di particolare interesse è risultata l'espressione, in alcuni casi estremamente elevata, dell'oncogene Tcl1 e del fattore di trascrizione GDF3. Ci si propone in futuro di valutare, su più ampio campionamento, l'eventuale associazione del 'grado di malignità' del tumore con l'espressione di geni specifici di 'staminalità' e di verificare una possibile correlazione con la prognosi.

Studio supportato dall'Associazione Onlus-OPEN-Salerno

P018

RISULTATI A LUNGO TERMINE DEL TRATTAMENTO DELLA NEFROBLASTOMATOSI IPERPLASTICA: REVISIONE DELLA LETTERATURA

Cozzi F, Schiavetti A, Totonelli G, D'Ambrosio G, Spagnol L, Cozzi DA

Dipartimento di Pediatria Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Roma

Scopo. Il trattamento dei bambini con nefroblastomatosi iperplastica (NI) è ancora controverso. Nel presente studio abbiamo provato a stabilire il rischio di sviluppare tumore di Wilms (TW) nei bambini con NI.

Metodi. Attraverso una ricerca elettronica (Medline, Ovid, Embase), abbiamo eseguito una revisione comprensiva di letteratura in lingua inglese e francese (1990-2006), per identificare i risultati del trattamento a lungo termine dei casi con NI e senza TW alla diagnosi iniziale. Abbiamo analizzato un totale di 53 bambini che rappresentano, oltre il 90 % di tutti i casi di NI riscontrati negli Stati Uniti, ed un totale di 12 bambini da più centri europei.

Risultati. 5 di 6 casi trattati conservativamente, 24 di 43 trattati con chemioterapia adiuvante (CHT), e 3 di 16 trattati con CHT adiuvante e nefrectomia, hanno sviluppato un WT. L'associazione di CHT e nefrectomia (eseguita una errata diagnosi), risulta in una significativa bassa prevalenza di sviluppare WT (18% vs. 55%; $p=0.01$). I 32 bambini che hanno sviluppato TW presentano un alta prevalenza di TW sincro bilaterale (20%), di TW metacrono bilaterale (10%), e di TW anaplastico (27%).

Conclusioni. I risultati del presente studio suggeriscono che nei bambini con NI: 1) il trattamento *wait and see* mostra un alto rischio di sviluppare WT; 2) l'enucleazione dei noduli iperplastici resistenti alla chemioterapia è auspicabile; e 3) la chirurgia conservativa dovrebbe essere considerata non solo per i bilaterali ma anche per l'unilaterale non anaplastico che sviluppi TW.

P019**SARCOMA DI EWING (SE) IN ETÀ PRESCOLARE. CASISTICA DELL'ISTITUTO GASLINI**

Calafiore L,¹ Villa G,² Hanau G,¹ Garaventa A,¹ Haupt R,³ Bagnasco F,³ DeBernardi B¹

¹Dipartimento di Emato-Oncologia Pediatrica, ²U.O. Medicina d'Urgenza; P.S., ³Servizio di Epidemiologia e Biostatistica; Istituto Giannina Gaslini - Genova

Introduzione e obiettivi. Il SE rappresenta il 5% di tumori dell'età pediatrica ed è tra i tumori più comuni nell'adolescente e nel giovane adulto. È diagnosticato raramente in età prescolare.

Metodi. Nel periodo 1980-2007 sono stati trattati presso l'Istituto Gaslini 101 casi di SE, dei quali 23 avevano età inferiore a 6 anni. Dodici erano maschi e 11 erano femmine. L'età mediana alla diagnosi era di 35 mesi (estremi 10 - 72). La localizzazione primitiva era lo scheletro assiale in 18 casi (coste in 7, colonna in 4, scapola in 3, ossa facciali in 2, bacino in 2), gli arti in 5 (femore in 2 casi, omero, tibia e metatarso in 1 caso ciascuno). Sei pazienti presentavano metastasi (polmoni in 3 casi, osso+polmoni, polmoni-pleura-mediastino e osso+midollo in un caso ciascuno).

Risultati. Tutti i pazienti hanno ricevuto polichemioterapia secondo i protocolli in uso. In 8 è stato eseguito un intervento chirurgico, 9 sono stati trattati con radioterapia, 3 con chirurgia e radioterapia. Cinque pazienti hanno ricevuto chemioterapia ad alte dosi seguita da infusione di cellule staminali periferiche, nell'ambito della terapia di prima linea in 3 casi, dopo recidiva in due. Undici su 23 pazienti sono vivi in remissione completa con follow-up mediano di 10 anni (estremi 4-19). Una paziente è tuttora in trattamento. Undici/23 pazienti sono deceduti (6/17 con malattia localizzata; 5/6 con malattia disseminata all'esordio), uno per tossicità chemio-correlata e dieci per progressione di malattia. Il decesso si è verificato tra i 3 ed i 52 mesi dalla diagnosi (mediana 17). Dei 5 pazienti trattati con chemioterapia ad alte dosi (4 con malattia localizzata ed 1 con malattia disseminata), ne è deceduto 1 (paziente con malattia localizzata che aveva effettuato chemioterapia ad alte dosi dopo recidiva). Un secondo tumore in sede irradiata (osteosarcoma) è insorto a 13 anni dal termine del trattamento. La sopravvivenza totale dei 23 pazienti è 50% a 5 anni, e tale resta; quella libera da eventi è 51% a 5 anni, 43% a 10 anni, 29% a 15 anni.

Conclusioni. Questa casistica di casi di SE diagnosticato in età prescolare evidenzia un'alta incidenza di localizzazioni assiali (78%). La giovane età non ha impedito l'utilizzazione dei protocolli vigenti. La sopravvivenza è in linea con quella dei pazienti diagnosticati in età successive.

P020**ANALISI GENOMICA DEL MEDULLOBLASTOMA IN PAZIENTI PEDIATRICI**

Coco S,^{1*} Pezzolo A,^{2*} Capra V,³ Raso A,³ Nozza P,⁴ Longo L,¹ Cama A,⁵ Gambini C,⁴ Pistoia V,² Sandri A,⁶ Basso E,⁶ Aschero S,⁶ Forni M,⁶ Madon E,⁶ Garré ML,⁷ Cinalli G,⁸ Andolfo I,⁹ Zollo M,⁹ Iolascon A,⁹ Tonini GP¹

*autori hanno ugualmente contribuito al presente studio.

¹Oncologia Traslazionale Pediatrica, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST), Genova; ²U.O. Laboratorio di Oncologia, ³U.O. Neurochirurgia, ⁴U.O. Anatomia Patologica, ⁵U.O. Neurochirurgia Pediatrica, ⁷Dip. di Ematologia/Oncologia Istituto G. Gaslini, Genova; ⁶Università di Torino e Ospedale Infantile "Regina Margherita", Torino, ⁸A.O. Santobono e ⁹Università di Napoli e CEINGE Biotecnologie Avanzate, Napoli

Introduzione e Obiettivi. I tumori del sistema nervoso centrale sono le neoplasie più frequenti nei bambini di età inferiore ai 15 anni. Le conoscenze biologiche e i progressi nel campo della neuro-oncologia pediatrica sono ancora limitati rispetto a quelli ottenuti per altri tumori pediatrici. L'obiettivo del presente lavoro è quello di studiare le alterazioni genetiche del medulloblastoma (MB) e di identificare nuovi marcatori prognostici.

Metodi. Nell'ambito di un progetto interregionale finanziato dall'AIRC il nostro gruppo ha eseguito uno dei primi studi italiani sul genoma del MB. I 54 campioni di MB utilizzati in questo studio sono stati reclutati dai seguenti centri: Ospedale Regina Elena di Torino (23 tumori), Istituto G. Gaslini di Genova (21 tumori) e University Federico II e CEINGE di Napoli (10 tumori). Lo studio è stato eseguito su DNA estratto da 40 campioni di tumore per mezzo dell'ibridazione comparativa del genoma su cromosomi in metafase (mCGH). Abbiamo indagato la perdita di eterozigosi (LOH) del 17p su 44 casi mediante PCR con i seguenti microsatelliti: D17S1810, D17S1866, DS17S1828, D17S1791, D17S1875, D17S1529, D17S1353, D17S1803, D17S1879, D17S1528 (Genome Database, <http://www.gdb.org/gdb>) delimitanti la regione 17p13.1-pter.

Risultati. La mCGH ha permesso di identificare extracopie di 17q in 30/40 casi. La delezione 17p è stata osservata in 19 casi. Un aumento delle copie di 17q associato con la delezione 17p è stata osservata in 16 casi suggerendo la presenza di un isocromosoma i(17q). Sono stati, inoltre, identificati i seguenti sbilanciamenti cromosomici: delezione 8p (20 casi), duplicazione 7q (13 casi), delezione 10q25-26 (12 casi), duplicazione 1p (8 casi). In 5 campioni è stata osservata l'amplificazione nelle regioni: 3p21.2-3p21.3 (2 casi), 8q24.1 (MYC locus) (1 caso) e 2p23-pter (MYCN locus) (2 casi). L'analisi mediante FISH interfascica ha permesso di analizzare la struttura dell'i(17q) e di evidenziare che le delezioni osservate in 17p possono avvenire attraverso la formazione di un isocromosoma tipico, oppure per una traslocazione sbilanciata tra due cromosomi 17 portando alla formazione di un isocromosoma apparente. I risultati dell'analisi della perdita di eterozigosi mostrano una frequenza di delezione del 17p nel 40% dei casi (17/42). LOH del 17p copre una regione cromosomica di 32,7 cM. L'analisi preliminare dei dati non mostra una associazione significativa tra 17pdel e la sopravvivenza ma è stata osservata una maggiore frequenza di eventi sfavorevoli (EFS) nei pazienti il cui tumore ha 17pdel.

Conclusioni. Il presente lavoro mostra la prima analisi sul genoma di un congruo numero di casi italiani di MB pediatrico. Tale studio multicentrico fornisce indicazioni per uno studio più dettagliato di alcune regioni cromosomiche osser-

vate frequentemente delete quali 8p e 10q25-26. Si prevede, inoltre, di verificare su un maggior numero di casi l'associazione tra la delezione 17p e la EFS.

P021

TRATTAMENTO DEI GLIOMI MALIGNI NEL BAMBINO MOLTO PICCOLO: RISULTATI DEL PRIMO STUDIO COOPERATIVO AIEOP

Garré ML,¹ Haupt R,¹ Bertolini P,¹ Nozza P,¹ Giangaspero F,⁵ Milanaccio C,¹ Barra S,⁷ Sandri S,² Cama A,¹ La Spina M,³ Burnelli R,⁴ Scarzello G,⁵ Cinalli G,⁸ Gandola L,⁶ Perilongo G,⁹ Massimino M,⁶ per il Gruppo di Neuro-oncologia Pediatrica dell'AIEOP

¹Istituto Scientifico Giannina Gaslini - Genova, ²Ospedale Regina Margherita, Torino, ³Emato-Oncologia Catania, ⁴Ospedale Sant'Orsola Bologna, ⁵Radioterapia, Padova, ⁶Ospedale Santobono Napoli, ⁷Istituto Nazionale dei Tumori Milano, ⁸Clinica Pediatrica Padova, ⁹Radioterapia Istituto Scientifico dei Tumori Genova, ⁸Università La Sapienza, Policlinico Umberto 1°, Roma, Italy

Introduzione. I glomi maligni nei primi anni di vita rappresentano un'evenienza molto rara; si ipotizza che essi rappresentino un'entità peculiare. Questo studio si propone di analizzare i casi inseriti nel primo protocollo cooperativo AIEOP per i bambini affetti da tumori maligni del SNC negli infants (1995) per valutare le peculiarità di questa entità ed il ruolo della chemioterapia.

Metodi. Nel periodo dal 1995 al 2006, sono stati arruolati 17 casi di Gliomi Maligni (WHO grado II e IV); 8 M e 9 F; l'età variava da 3 a 36 mesi (mediana 18); 8 erano di età inferiore a 12 mesi. La strategia terapeutica è stata l'asportazione chirurgica massimale compatibilmente con il rispetto delle funzioni neurologiche, seguita da chemioterapia al fine di evitare od omettere la radioterapia. Il trattamento chemioterapico è stato eseguito in 8 casi secondo protocolli impieganti una chemioterapia standard (5 Baby SFOP, 3 AIEOP SNC9501); 9 secondo il protocollo AIEOP SNC Infants alto rischio includente chemioterapia mieloablattiva.

Risultati. L'istologia è stata: GBL 8 casi (2 variante a cellule giganti); Astrocitoma Anaplastico 4 casi; Oligodendroglioma anaplastico 2 casi; altre varianti 3 casi (1 Glioma maligno non altrimenti classificabile e presentante aspetti astroblastici; 2 Tumori maligni glio-epiteliali); le sedi di interessamento sono state: emisferi cerebrali in 12 casi; fossa posteriore 2 casi; soprasellare 1 caso; spinale 2 casi. Outcome: 9 pazienti sono vivi e liberi da malattia a 18, 24, 26, 30, 64, 72, 72, 80 e 122 mesi dalla diagnosi; solo due di loro hanno ricevuto RT; 1 paziente è morto per complicanze (*multiorgan failure* dopo chemioterapia mieloablattiva); 6 sono deceduti per progressione tumorale ed 1 paziente è deceduto per complicanze infettive, in remissione completa.

Conclusioni. I glomi maligni negli infants tendono a prevalere nel bambino di età inferiore all'anno ed a interessare la sede sopratentoriale. Questa serie limitata numericamente data la rarità di questa entità, conferma che a differenza dei casi insorgenti nel bambino più grande e nell'adulto, la guarigione è possibile in una significativa percentuale di casi. Questo esprime una possibile maggiore chemiosensibilità di questi tumori. La grande eterogeneità delle varianti istologiche e la possibilità di aspetti morfologici di difficile interpretazione

conferma la necessità di indirizzare tutti i casi alla centralizzazione istopatologica e l'adozione di tecniche diagnostiche utili a chiarire in modo più completo la DD verso altri oncotipi (ATRT, Ependimoma anaplastico, Carcinoma dei plessi).

P022

MUTAZIONE GERMINALE R158X DEL GENE INI-1 IN BAMBINO CON TUMORE TERATOIDE/RABDOIDE ATIPICO

Coccoli L, Cavazzana A,¹ Iannelli A,² Bertacca G,¹ Nardi M, Giangaspero F,³ Favre C

U.O. Oncoematologia Pediatrica ¹U.O. Anatomia Patologica ²Cattedra Neurochirurgia Pediatrica Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana; ³Dip. Medicina Sperimentale Università "La Sapienza" Roma, Italy

Il gene hSNF5/INI1 (o SMARCB1) è un gene soppressore tumorale localizzato sul cromosoma 22q11.2. La presenza della mutazione germinale di INI1 porta ad un aumentato rischio di tumori rabdoidi soprattutto del SNC e del rene (*rhabdoid predisposition syndrome* Sevenet, 1999). La penetranza della mutazione di INI1 non è conosciuta.

Case report. Descriviamo il caso di un bambino di 15 mesi che a 10 mesi mostrò vomito persistente e stato soporoso: EEG, ECO, TAC, RMN dell'encefalo evidenziarono una neoplasia in fossa cranica posteriore, occupante il IV ventricolo, a partenza dal tronco encefalico. Il piccolo subì un intervento chirurgico con asportazione della componente esofitica della neoplasia occupante il IV ventricolo. Il decorso post-operatorio fu caratterizzato da una regressione della sintomatologia clinica. L'analisi istologica portò alla diagnosi di tumore teratoide/rabdoide atipico con analisi immunocistochemica negativa per INI1. La successiva analisi molecolare ha evidenziato nell'esone 4 una mutazione puntiforme C>T al codone 158 con formazione di un segnale di stop (R158X). La mutazione è risultata germinale dopo analisi su sangue periferico. Delezioni in questo locus causano nel 90% dei casi la sindrome DiGeorge/Velocardiofaciale (DGS/VCF) caratterizzata da alterazioni cardiache, del palato, delle paratiroidi e del timo con relativa immunodeficienza e una *facies* caratteristica con ipertelorismo, epicanto, radice del naso larga, impianto delle orecchie basso, bocca a *carpa*. Il paziente presenta soltanto la *facies* descritta ma non le altre alterazioni. Sono in corso ulteriori indagini genetiche per verificare la presenza di delezioni al locus 22q11.2 nel bambino e la ricerca della mutazione R158X nei genitori. Attualmente il bambino è sottoposto a chemioterapia (ICE) e a 4 mesi dalla diagnosi il residuo tumorale appare nettamente ridotto alla RMN.

P023**ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI COLTURE CELLULARI DI EPENDIMOMA PEDIATRICO**

Modena P,¹ Facchinetti F,¹ Livio A,¹ Gasparini P,¹ Collini P,¹ Forni M,² Finocchiaro G,³ Giangaspero F,⁴ Genitori L,⁵ Sozzi G,¹ Massimino M¹

¹Fondazione Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano, Italy; ²Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italy. ³Istituto Neurologico C. Besta, Milano, Italy; ⁴Università La Sapienza, Roma, Italy; ⁵Ospedale Meyer, Firenze, Italy

L'ependimoma è una neoplasia gliale rara e rappresenta circa il 10% dei tumori cerebrali infantili, con un picco di insorgenza al di sotto dei tre anni di età. La sopravvivenza a 5 anni libera da malattia è inferiore al 60%, ed è influenzata negativamente dalla presenza di malattia residua dopo la chirurgia, dalla presenza di anaplasia e dall'età inferiore ai 3 anni. Il miglioramento della diagnosi e terapia di questi tumori richiede ingenti sforzi per definire le caratteristiche biologiche dell'ependimoma e per sviluppare appropriati modelli pre-clinici della malattia per studi *in vitro* e *in vivo*. Nell'ambito del progetto inter-regionale AIRC 2005-2007 *Comprehensive diagnosis and treatment for intracranial pediatric ependymoma*, abbiamo identificato marcatori molecolari specifici dell'ependimoma, che possono aiutare la corretta diagnosi differenziale di questo tumore, e alterazioni molecolari associate a specifiche caratteristiche cliniche, quali la localizzazione del tumore, l'età di insorgenza, la tendenza a recidivare. Infine, abbiamo identificato mediante analisi comparativa con tessuti normali e tumori cerebrali diversi dall'ependimoma, un profilo di espressione ependimoma-specifico caratterizzato dalla anomala attivazione di geni appartenenti a percorsi dello sviluppo e del differenziamento del tessuto nervoso, che rappresentano promettenti target terapeutici. Linee cellulari di ependimoma sono rare e ciò limita la fattibilità degli studi funzionali *in vitro* e *in vivo*. Abbiamo messo a punto un protocollo robusto per l'isolamento e la crescita *in vitro* di campioni di ependimoma e finora abbiamo stabilizzato 7 linee cellulari, 2 da tumore primario e 5 da recidive. Abbiamo analizzato le anomalie genetiche, i profili di espressione genica e le caratteristiche proliferative di queste colture cellulari e sono in corso gli studi di risposta ad agenti chemoterapici antitumorali e alla terapia radiante. Queste colture cellulari serviranno anche per studi meccanicistici utili per investigare l'effetto di trattamenti innovativi mirati a colpire i geni/pathways finora identificati come coinvolti nell'ependimoma.

TRAPIANTO

C006

TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE (TCSE) PERIFERICHE T-DEPLETATE DA DONATORE FAMILIARE PARZIALMENTE COMPATIBILE IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA EMOPATIE MALIGNI

Giorgiani G, Zecca M, Bonetti F, Bernardo ME, Di Cesare A, Cugno C, Mina T, Bergami E, Locatelli F

Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Università di Pavia, Pavia

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) T-depletate da donatore familiare parzialmente compatibile (PMFD) rappresenta una valida opzione per il trattamento di emopatie maligne e non maligne, quando non sia disponibile un donatore HLA-compatibile. Lo stato di profonda immunodepressione post-trapianto e l'assenza dell'effetto graft-versus-leukemia (GvL), costituiscono i principali ostacoli alla realizzazione di questo tipo di trapianto. Dal gennaio 1997 ad oggi, 41 bambini affetti da emopatie maligne (LLA, LMA, MDS) sono stati sottoposti a TCSE T-depletate da PMFD presso il nostro Centro. Le cellule staminali emopoietiche (CSE) sono state mobilizzate nei donatori attraverso fattore di crescita granulocitario, raccolte tramite separatore cellulare e sottoposte a selezione positiva delle cellule CD34⁺ (CliniMACs, Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germania). Il numero medio di CD34⁺ infuse è stato pari a 20x10⁶/chilogrammo (Kg) di peso corporeo del ricevente, il numero medio di CD3⁺ infuse pari a 1,3x10⁴/Kg. L'attecchimento dei neutrofil (>0,5x10⁹/L) si è verificato dopo una mediana di 12 giorni (9-16); l'attecchimento delle piastrine (>20x10⁹/L) è stato ottenuto dopo una mediana di 12 giorni (7-20). L'incidenza di GvHD acuta di grado III-IV è stata pari all'8% (3-22), quella di GvHD cronica pari al 18% (8-41). La sopravvivenza libera da malattia (DFS) a 5 anni dal trapianto è stata pari al 44% (26-62), in particolare 64% per LLA e 16% per LMA. La mortalità trapianto-correlata (TRM) è stata del 29% (17-50); mentre l'incidenza di ricaduta del 27% (16-48), 18% per LLA e 44% per LMA. L'impiego di un donatore NK-alloreattivo si associa ad una migliore DFS (62% vs. 17%), in particolare 75% vs. 40% per LLA, 37% vs. 0% per LMA. L'infusione di linfociti T patogeno-specifici, iniziata a partire dal 2005, consente di ridurre l'incidenza di TRM. Il TCSE T-depletate da PMFD consente di guarire una proporzione di bambini affetti da emopatie maligne. In contrasto con gli adulti, i risultati nei bambini con LLA sono incoraggianti. L'effetto favorevole dell'allorreattività-NK si conferma nei pazienti pediatrici, in particolare in quelli affetti da LLA. Approcci di terapia cellulare adottiva giocano un ruolo fondamentale nell'ottimizzazione di questo tipo di trapianto.

C007

INFUSIONE DI CTL ANTI-LEUCEMIA PER IL TRATTAMENTO DELLA RECIDIVA DOPO TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE

Turin I, Montagna D, Maccario R, Montini E, Lisini D, Zecca M, Moretta A, Bonetti F, Panzarella V, Mina T, Caliozna L, Locatelli F

Laboratorio di Immunologia dei Trapianti e Unità di Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università degli Studi di Pavia, Pavia

Introduzione e obiettivi. L'infusione di linee di linfociti T citotossici (CTL) anti-leucemia, di origine del donatore, selettivamente dirette verso i blasti leucemici (BL) del paziente rappresenta un promettente approccio terapeutico, in pazienti in recidiva di malattia dopo trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche (CSE). In questo studio sono riportati i dati relativi all'infusione di CTL anti-leucemia, in cinque pazienti (pz) pediatrici ad alto rischio di ricaduta, poichè trapiantati o non in remissione completa (2 pz) o in 2°/3° remissione (3 pz).

Metodi. CTL anti-leucemia, in grado di lisare *in vitro* i BL del paziente, sono stati generati ed espansi utilizzando terreni di coltura e reagenti GMP, mediante alcuni cicli di stimolazione leucemia-specifica seguiti da espansione rapida antigene indipendente. I pz trattati erano affetti da LMA, LLA e JMML. Le cellule staminali emopoietiche provenivano da: i) donatore da banca HLA-compatibile (pz #1), ii) fratello HLA-identico (pz #4) o iii) donatori familiari parzialmente compatibili (pz #2,3,5). Al momento dell'infusione dei CTL i pz #1 e #5 erano in recidiva clinica, mentre il paziente #2 mostrava un incremento della malattia residua minima. I pz #3 e #4, entrambi affetti da LMA CD33-positiva, in recidiva clinica, sono stati trattati con anti-CD33 allo scopo di ridurre il carico tumorale prima dell'infusione dei CTL.

Risultati. Nei pz #1 e #5, l'infusione di 5x10⁸ e 7.5x10⁸ CTL non ha prodotto nessuna risposta. I pazienti #2, e #3 hanno raggiunto uno stato di chimerismo completo, e sono tuttora in remissione di malattia con un follow up maggiore di 2 anni dopo l'infusione di 2.75 x 10⁸ e 6x10⁹ CTL, rispettivamente. Il pz #4, dopo aver raggiunto uno stato di remissione, ha avuto una recidiva extramidollare mantenendo un chimerismo completo ed è andato in progressione di malattia.

Conclusioni. I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'infusione di grandi quantità di CTL: i) non ha determinato nè insorgenza di malattia del trapianto verso l'ospite nè altre reazioni avverse; ii) ha permesso il ritorno ad uno stato di remissione completa in una quota di pazienti ricaduti dopo trapianto allogenico. In caso di recidiva clinica con alto numero di blasti presenti, la riduzione del carico tumorale può facilitare l'effetto anti-tumorale dei CTL.

P024

ESPANSIONE EX VIVO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE CORDONALI CRIOPRESERVATE PER TRAPIANTO ALLOGENICO: VALIDAZIONE, IN CONDIZIONI GMP, DI UN PROTOCOLLO CLINICO DI FASE I/II

Gunetti M¹, Ferrero I¹, Rustichelli D¹, Berger M¹, Gammaitoni L², Timeus F¹, Piacibello W², Aglietta M², Fagioli F¹

¹S.C. Oncoematologia Pediatrica, Trapianto Cellule Staminali e Terapia Cellulare, Azienda Ospedaliera OIRM-S. Anna, Torino, Italia. ²U.O. di Oncologia Medica, Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro; IRCC- e Dipartimento di Scienze Oncologiche, Università degli studi di Torino, Candiolo, Torino, Italia

Introduzione e obiettivi. In previsione di una futura applica-

zione clinica delle cellule staminali emopoietiche cordonali anche in pazienti adulti, numerosi requisiti devono essere soddisfatti. Dal momento che la maggior parte delle raccolte di sangue cordonale sono congelate in singola sacca e solo un'aliquota può essere espansa, le procedure di congelamento e ricongelamento dei campioni devono essere validati in accordo con le normative europee e italiane di *Buona Pratica di Fabbricazione* (GMP) vigenti. Lo studio presente descrive la validazione *in vitro* ed *in vivo*, di un protocollo clinico di Fase I/II per l'espansione di cellule CD34⁺ di unità cordonali congelate in accordo con le correnti Linee Guida per i prodotti di Terapia Cellulare.

Metodi. Le unità di sangue cordonale selezionate sono state congelate, e il 25% del volume totale della sacca è stato processato per la selezione delle cellule CD34⁺ mediante il sistema chiuso CliniMacs. Il rimanente 75% dell'unità cordonale è stato immediatamente ricongelato. Le cellule CD34⁺ selezionate sono state espanse per 3 settimane in presenza delle seguenti citochine carrier-free: Ligando di c-kit, Ligando di Flt-3-Flk2, Trombopoietina e Interleuchina-6.

Risultati. I risultati *in vitro* dimostrano che questo sistema di coltura induce l'espansione delle cellule CD34⁺ congelate (valore medio di incremento 8,3). I dati *in vivo* dimostrano che dopo tre settimane di coltura i prodotti di terapia cellulare finali mantengono la loro capacità di ripopolamento *in vivo* nel modello murino del topo NOD/SCID. Esperimenti di diluizione limite effettuati inoculando dosi decrescenti di cellule espanse hanno dimostrato che la frequenza delle Scid Repopulating Cells dopo l'espansione è 1:8.034. I controlli di qualità effettuati ad ogni settimana di espansione (sterilità, vitalità, senescenza cellulare e cariotipo) dimostrano come la procedura di espansione in condizioni GMP è sicura per l'applicazione clinica.

Conclusioni. Il nostro studio può aprire nuove opzioni per l'espansione di cellule staminali allogeniche e autologhe al fine di aumentare, non solo la possibilità di trapianto per un maggior numero di pazienti affetti da malattie ematologiche, ma anche per implementare altri protocolli di terapia cellulare mediante cellule staminali emopoietiche espanse.

P025

LA FOTOCHIMIOterapia EXTRACORPOREA (FEC) MIGLIORA LA SOPRAVVIVENZA LIBERA DA MALATTIA DEI BAMBINI CON GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE ACUTA (aGVHD) STEROIDO RESISTENTE

Messina C,¹ Calore E,¹ Calò A,¹ Tridello G,¹ Cesaro S,¹ Pilon M,¹ Varotto S,¹ Taddeo I,¹ Marson P,² Carli M¹

¹Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; ²Servizio immunotrasfusionale, Azienda Ospedaliera - Università di Padova

Introduzione e obiettivi. La GVHD acuta (aGVHD) è la causa principale di morbidità e mortalità dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore di midollo non correlato (TCSE-MUD). Gli steroidi costituiscono il trattamento di prima linea. I pazienti non rispondenti a 7 giorni di terapia steroidea hanno una prognosi sfavorevole. La fotochemioterapia extracorporea sembra costituire una valida terapia di seconda linea per i pazienti a cattiva prognosi. L'obiettivo di questo studio è rappresentato dal confronto tra una popolazione a buona prognosi, quella rispondente al cortisone (GPR), e la popolazione a cattiva prognosi sottoposta ad FEC, come terapia di seconda linea, in termini di numero di episodi infettivi, sopravvivenza totale (ST), sopravvivenza libera da malattia (SLM) e mortalità trapianto correlata a 100 e 180 giorni.

Pazienti e metodi. Da dicembre 1999 ad aprile 2005, 31 bambini sottoposti consecutivamente a TCSE-MUD hanno sviluppato aGVHD grado ≥II-IV. I due gruppi considerati sono confrontabili per le seguenti caratteristiche demografiche: età, sesso, compatibilità HLA, status CMV e sesso donatore/ricevente.

Risultati. Il numero di infezioni nelle due popolazioni è sovrapponibile, mentre le riattivazioni da EBV e CMV sono inferiori nel gruppo FEC. Inoltre la mortalità trapianto correlata a 100 e 180 giorni è del 6% nel gruppo GPR versus 0% nel gruppo FEC. ST e SLM a 2 anni sono state rispettivamente 57% e 67% nel gruppo GPR versus 85% e 87% nel gruppo FEC.

Conclusioni. L'introduzione precoce dell'FEC in un gruppo di pazienti con aGVHD, teoricamente a cattiva prognosi è in grado di annullare il fattore prognostico sfavorevole rappresentato dalla non risposta al cortisone. La sola FEC è in grado di ridurre le riattivazioni virali permettendo la riduzione o sospensione della terapia immunosoppressiva tenendo sotto controllo la aGVHD. Pur con i limiti della scarsa numerosità del campione questi risultati sembrano molto promettenti.

P026

VALUTAZIONE DEL REPERTORIO IMMUNOLOGICO NEI PRIMI 100 GIORNI DOPO TRAPIANTO ALLOGENICO IN PAZIENTI PEDIATRICI.

Abdelrazik H,¹ Morreale G, Terranova MP, Scarso L, Faraci M, Lanino E, Dini G e Di Martino D.

¹Patologia Clinica, Università del Cairo, Il Cairo; Modulo Funzionale TCSE, Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica, IRCCS G. Gaslini, Genova

Introduzione e Obiettivi. Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) prevede il rapido e completo trasferimento del sistema ematopoietico ed immunitario da donatore a ricevente. La maggior parte degli studi sulla ricostituzione immunologica analizza tempi lunghi (6 mesi/1 anno) dopo il trapianto, mentre il nostro obiettivo è di valutare la ripresa del repertorio immunologico, entro i primi 100 giorni dal trapianto allogenico, sia da familiare che da donatore non correlato.

Metodi. In uno studio retrospettivo, abbiamo analizzato 36 pazienti pediatrici sottoposti a trapianto allogenico presso il Modulo Funzionale TCSE dell'IRCCS G. Gaslini: 23 da donatore non correlato e 13 da donatore familiare. Su prelievi di sangue periferico a diversi tempi dopo il trapianto (attecchimento, +30, +60, +90 giorni) abbiamo valutato sia la cinetica di ricostituzione delle cellule T, B e NK mediante citofluorimetria, sia la ricostituzione del repertorio dei linfociti B attraverso l'analisi molecolare con IgHCDR3 fingerprinting e i livelli sierici delle immunoglobuline. Sono stati inoltre analizzati i tempi di attecchimento dei granulociti neutrofilici e delle piastrine.

Risultati. Studi statistici preliminari hanno evidenziato che entro il primo mese dal trapianto, i pazienti sottoposti a TCSE da familiare hanno una ricostituzione immunologica delle cellule B ed NK più rapida rispetto ai pazienti sottoposti a trapianto da donatore non correlato. Al contrario, dopo un mese, non sembrano esserci differenze significative tra i due tipi di trapianto.

Conclusioni. La ricostituzione immunologica post TCSE da donatore familiare appare quindi essere più precoce rispetto a quella da donatore non correlato benché l'incidenza di GvHD acuta non sia differente tra i due gruppi di pazienti. L'approccio retrospettivo e il numero relativamente piccolo di

pazienti rappresentano una limitazione di questo studio. È pertanto indispensabile, per poter trarre conclusioni più significative, un'analisi prospettica della ricostituzione immunologica che includa le correlazioni tra i dati del laboratorio, l'aspetto clinico (GvHD, infezioni) e farmacologico (immunosoppressione).

P027

IL REPERTORIO DEI LINFOCITI B DOPO TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE IN UN PAZIENTE PEDIATRICO CON ANEMIA DI FANCONI: È POSSIBILE UNA CORRELAZIONE CON LA RIATTIVAZIONE DEL CYTOMEGALOVIRUS?

Di Martino D, Terranova MP, Morreale G, Lanino E, Faraci M, De Fazio C, Iannacchino M,¹ Valetto A,² Dini G.

Modulo Funzionale TCSE, Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica, ¹Immunematologia e Medicina Trasfusionale IRCCS G. Gaslini, Genova; ²Dipartimento di Genetica Molecolare. A O S. Chiara, Pisa

Introduzione e Obiettivi. La ricostituzione immunologica (RI) dopo il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) è un processo lento che coinvolge tutti i componenti della risposta immunitaria. Nel trapianto allogenico, la GvHD e le terapie immunosoppressive complicano e ritardano la RI. Inoltre l'immunodepressione nel primo anno dopo TCSE facilita l'insorgenza di infezioni batteriche, fungine e virali tra le quali le più frequentemente osservate sono le riattivazioni da Cytomegalovirus (CMV) e da virus di Epstein-Barr (EBV). In uno studio sulla RI dopo trapianto, in corso presso il laboratorio del Modulo Funzionale TCSE dell'IRCCS Gaslini, uno dei nostri obiettivi è individuare le possibili correlazioni tra la ripresa del repertorio immunologico e l'insorgenza o la riattivazione di infezioni virali.

Metodi e Risultati. Nell'ambito del questo studio è stato selezionato un paziente di otto anni affetto da Anemia di Fanconi (AF), sottoposto a TCSE da donatore non correlato. Durante il periodo tra +60 e +180 giorni il paziente ha presentato diverse riattivazioni da CMV. Abbiamo effettuato un monitoraggio della RI a diversi tempi dopo il trapianto (attecchimento, +30, +60, +90, +180, +365 giorni) attraverso l'analisi molecolare dell'IgHCDR3 fingerprinting e l'analisi immunofenotipica. L'IgHCDR3 fingerprinting permette di evidenziare la clonalità del III° segmento di complementarità con l'antigene della catena pesante delle Immunoglobuline. In un donatore normale si ha una situazione di policlonalità che si riduce ad oligoclonalità (pochi cloni) o monoclonalità in un repertorio di cellule B funzionalmente incompleto. Nel nostro paziente l'IgHCDR3 fingerprinting mostra oligoclonalità con un clone costantemente più espresso nelle IgM e IgG da +60 a +180 giorni post TCSE.

Conclusioni. La contemporaneità della riattivazione virale e l'espansione clonale dei linfociti B sembra suggerire un coinvolgimento di queste cellule nella risposta immunitaria al CMV e fa pensare a una loro selezione da parte dello stesso virus, almeno nei primi tempi dopo il trapianto, quando il sistema immunitario è ancora in fase di ricostituzione. Questa ipotesi è supportata da studi precedenti che indicano un ruolo importante delle cellule B nelle infezioni da CMV. Lo studio sta procedendo su altri pazienti che presentano una riattivazione del CMV post TCSE.

P028

ANALISI QUANTITATIVA DEL CHIMERISMO POST TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE IN PAZIENTI PEDIATRICI SOTTOPOSTI A CONDIZIONAMENTO NON-MIELOABLATIVO.

Di Martino D, Di Duca M,¹ Terranova M.P, Faraci M, Morreale G, Dallorso S, Lanino E

¹Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia, UO di Nefrologia; Modulo Funzionale TCSE, Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica; IRCCS G. Gaslini, Genova

Introduzione e Obiettivi. Il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (TCSE) crea nel paziente trapiantato una chimera dinamica che coinvolge le cellule del donatore e le cellule del ricevente. Una stima accurata del chimerismo su sangue periferico o midollare post TCSE, fornisce un'importante informazione sull'attecchimento e può essere predittiva di un eventuale rigetto o recidiva. Attraverso la valutazione del chimerismo, effettuata su pazienti (Pz) trapiantati presso il Modulo Funzionale TCSE dell'IRCCS G. Gaslini, ci siamo proposti di individuare eventuali differenze chimeriche nei Pz che hanno ricevuto un condizionamento mieloablativo (CM) rispetto a quelli che sono stati trattati con un regime di condizionamento non-mieloablativo (CNM).

Metodi. L'analisi del chimerismo è stata effettuata su 51 Pz: 15 sottoposti a un CNM e 36 ad un CM, attraverso lo studio di microsatelliti STR su DNA genomico da sangue periferico e midollare, mediante l'amplificazione di 9 loci genomici polimorfici che contengono sequenze nucleotidiche ripetute. È stato possibile analizzare e confrontare l'andamento del chimerismo all'attecchimento, a +30, +60, +90 e +180 giorni, per 10 Pz sottoposti a CNM e 20 Pz sottoposti a CM.

Risultati. Dai dati a nostra disposizione, si osserva che nei 10 Pz sottoposti a CNM, nei tempi immediatamente successivi al TCSE (attecchimento, +30) è presente un chimerismo misto con una percentuale di cellule del donatore superiore al 95%. Dopo 90 giorni dal trapianto, 7 di questi Pz hanno raggiunto un chimerismo completo, 2 hanno avuto un rigetto ed uno ha mantenuto un chimerismo misto con una percentuale di cellule del donatore del 75%. Dei 20 Pz sottoposti a CM, 12 raggiungono un chimerismo completo già a +30 giorni mentre gli altri 8 presentano un andamento chimerico analogo a quello dei Pz con CNM.

Conclusioni. L'introduzione dei regimi non mieloablativi in età pediatrica è recente e riguarda prevalentemente i Pz affetti da malattie non neoplastiche. È noto che Pz sottoposti a TCSE dopo CNM, raggiungono un chimerismo completo più tardivamente rispetto a quelli sottoposti a CM. Questi dati preliminari non ci permettono di concludere per una importante diversità fra i due gruppi di Pz. Il maggior utilizzo di CNM nei pazienti pediatrici e il loro follow-up attraverso l'esecuzione dell'analisi dei polimorfismi su un più ampio gruppo di Pz, potranno sicuramente permetterci di analizzare meglio questo aspetto.

P029

CHEMIOTERAPIA AD ALTE DOSI CON ETOPOSIDE, THIOTEPA E CICLOFOSFAMIDE (ETC) NEL SARCOMA DI EWING AD ALTO RISCHIO

Ilari I, Cozza R, Castellano A, De Ioris MA, De Laurentis C, De Sio L, Fidani P, Jenkner A, Pessolano R, Serra A, Donfrancesco A

UO Oncologia Pediatrica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù OPBG IRCCS, Roma, Italia

Introduzione ed Obiettivi. scopo del nostro studio è stato verificare tollerabilità ed efficacia di un protocollo ad alte dosi con ETC in pazienti pediatriche affetti da Sarcoma di Ewing ad alto rischio.

Pazienti e Metodi. da Novembre 1998 ad Aprile 2007, 25 pazienti (pz) - M/F 10/15, età mediana 7.9 anni (1-15.8)-con diagnosi istologica di sarcoma di Ewing/PNET sono stati arruolati nel protocollo locale. 17/25 pz hanno terminato il trattamento. L'età mediana alla CT ad alte dosi era di 7.6 anni (1.6-13.7). Dei 17 pz: 7 pz erano metastatici (4 polmone; 1 polmone, midollo ed encefalo; 1 osso e midollo ed 1 solo midollo osseo), 2 pz presentavano volume tumorale alla diagnosi >200 mL, 4 pz ad alto rischio per sede e 4 pz per necrosi dopo chirurgia <90%. Il regime di condizionamento ETC prevedeva l'associazione di Etoposide 600 mg/mq, Thiotepea 750 mg/mq e Ciclofosfamide 120 mg/Kg.

Risultati. Al consolidamento, dopo induzione, 12 pz presentavano una risposta completa (RC) e 5 una risposta parziale (RP). Dei 10 pz avviati a chirurgia dopo CT di induzione, 7 pz presentavano una necrosi del 100%. Dei 7 pz metastatici, 4 erano in RC dopo CT convenzionale e chirurgia. La tossicità durante CT ad alte dosi è stata prevalentemente ematologica con grado IV CTC in tutti i pz. Il recupero dei neutrofilici sopra 500 si è avuto in media al giorno +10 (range 6-27) e delle piastrine sopra a 50000 al giorno + 19 (range 9-114). Tossicità mucose grado I/II secondo Bearman è stata riportata in 12 pz, tossicità intestinale grado I/II in 3, tossicità epatica grado II in e polmonare grado I in 1. Nessun decesso tossico dovuto al trattamento. Ad un follow up mediano di 47 mesi (range 13-108), 12 pz sono vivi -10 con RC e 2 pz vivi con malattia- e 5 pz deceduti per malattia. 6 pz -4 con metastasi alla diagnosi- hanno presentato una recidiva ad una mediana di 12 mesi dalla diagnosi (range 9-67) e 12 mesi dal trapianto (range 2-60). Le probabilità di sopravvivenza complessiva OS e libera da eventi EFS secondo Kaplan-Meier sono a 3 anni rispettivamente del 74% e 68% e a 6 anni del 67% e 54%.

Conclusioni. il consolidamento con ETC è fattibile con una tossicità accettabile in pz affetti da Sarcoma di Ewing ad alto rischio. La sopravvivenza complessiva della popolazione risulta soddisfacente. Tali risultati preliminari vanno confermati in una più ampia casistica.

P030

CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI ISOLATE DA LIQUIDO AMNIOTICO DIFFERENZIANO IN CELLULE NEURONALI

Rustichelli D,¹ Mareschi K,¹ Ferrero I,¹ Manetta T,¹ De Fazio R,¹ Anselmino A,¹ Morterra G,¹ Gunetti M,¹ Comunanza V,² Carbone E,² Fagioli F¹

¹S.C. Onco-Ematologia Pediatrica, Trapianto Cellule Staminali e Terapia Cellulare, Azienda Ospedaliera OIRM-S.Anna, Torino, Italia; ²Dipartimento di Neuroscienze, Università degli studi di Torino, Italia

Introduzione e obiettivi. Il liquido amniotico contiene cellule staminali (CS) che per la loro origine ontogenetica, sono dotate di alto potenziale proliferativo e differenziativo. Scopo del nostro lavoro è stato quello di mettere a punto una metodica per l'isolamento di cellule staminali mesenchimali (CSM) multipotenti e di valutare le loro caratteristiche immunofenotipiche e la capacità di differenziare in senso osteoblastico, condrocitico, adipocitico e neuronale.

Metodi. I campioni di liquido amniotico sono stati prelevati da donne sottoposte ad amniocentesi di routine per la diagnosi prenatale effettuata al secondo trimestre di gestazione.

I campioni sono stati centrifugati e messi in coltura in α -MEM addizionato con il 10% di siero fetale bovino. Durante l'espansione *in vitro* è stata valutata la crescita cellulare, l'immunofenotipo, l'espressione genica di marcatori staminali quali Oct-4, Nanog e Rex-1, la lunghezza del telomero e il potenziale differenziativo. Per il differenziamento in senso neuronale è stato utilizzato un terreno utilizzato per il mantenimento dei progenitori neuronali: il Neural Progenitor Maintenance Medium (NPMM) (Cambrex Biosciences, Belgium).

Risultati. A partire da 28 campioni di liquido amniotico sono state allestite 26 colture primarie. Le cellule ottenute dai campioni (N=4) dove il contenuto di liquido amniotico era superiore a 6 mL mostravano aspetto fibroblastico con elevato potenziale proliferativo ed espressione di marcatori tipici delle CSM. Erano, infatti, positive per il CD90, CD105, CD29, CD44, CD166. La lunghezza del telomero non variava durante l'espansione e l'analisi molecolare evidenziava la presenza di mRNA codificanti per geni di staminalità. Inoltre le CSM isolate da liquido amniotico differenziavano in osteoblasti, condroblasti, adipociti, mentre in NPMM esprimevano marcatori neuronali e presentavano canali del Sodio e del Calcio.

Conclusioni. Tutti questi dati dimostrano che il liquido amniotico è una importante fonte di cellule staminali multipotenti con un potenziale proliferativo elevato e in grado di differenziare nei citotipi di origine mesodermica e in cellule neuronali. La loro elevata plasticità le rende candidate ideali per la terapia cellulare.

P031

LA PLACENTA: UNA FONTE ALTERNATIVA DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI

Manetta T, Rustichelli D, Mareschi K, Ferrero I, De Fazio R, Anselmino A, Morterra G, Gunetti M, Fagioli F

S.C. Onco-Ematologia Pediatrica, Trapianto Cellule Staminali e Terapia Cellulare, Azienda Ospedaliera OIRM-S.Anna, Torino, Italia

Introduzione e obiettivi. La placenta rappresenta una fonte alternativa di cellule staminali dotate di elevata plasticità. Obiettivo del nostro lavoro è stato quello di mettere a punto una metodica per l'isolamento di cellule staminali mesenchimali (CSM) e di analizzarne le caratteristiche immunofenotipiche e le capacità differenziate.

Metodi. I campioni di placenta sono stati prelevati da donne sottoposte a parto cesareo programmato. I frammenti anatomici di circa 1 cm³ sono stati digeriti in una soluzione di Phosphate Buffer Solution (PBS), penicillina, streptomycin claritromicina, collagenasi I e dispasi per circa un'ora a 37°C. La reazione enzimatica è stata bloccata con un terreno di coltura (α -MEM con aggiunta di Fetal Bovine Serum 10%) pari a 10 volte il volume della soluzione utilizzata digestione tissutale, filtrata e lisata. Le cellule sono state coltivate in α -MEM con aggiunta di Fetal Bovine Serum 10% e staccate ogni sette giorni con tripsina per 10 minuti a 37°C in presenza di CO₂.

Durante l'espansione *in vitro* è stata valutata la crescita cellulare, l'immunofenotipo, e il potenziale differenziativo.

Risultati. A partire da 6 campioni di placenta sono state allestite 5 colture primarie, tutte espansive *in vitro*. Le cellule ottenute presentavano aspetto fibroblastico con un potenziale proliferativo elevato esprimevano marcatori tipici delle CSM quali il CD 90, CD 105, CD 29, CD 44, CD 73. L'incremento della crescita cellulare dopo cinque passaggi di espansione delle CSM isolate da midollo osseo prelevato da donatori sani era 3.6±2.3 e in quelle isolate dalla placenta era di 17.1±1.7.

(cumulative population doubling PD) (Figura 1). Le cellule differenziavano in osteoblasti, condroblasti, adipociti.

Conclusioni. I nostri risultati preliminari dimostrano che la placenta contiene cellule staminali mesenchimali facilmente isolabili ed espandibili con un potenziale proliferativo più elevato rispetto a quelle isolate da midollo osseo.

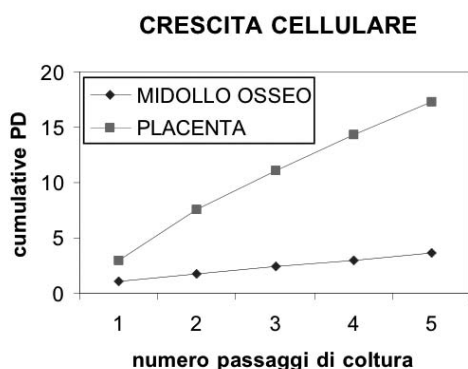


Figura 1. Crescita cellulare.

P032

IL TRAPIANTO APOIDENTICO NELLA TALASSEMIA. ESPERIENZA DEL CENTRO DI CAGLIARI

Sanna MA, Badiali M, Addari MC, Orofino MG, Piroddi A, Rizzo GF, Puxeddu E, Deidda A, Argiolu F

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie Università degli Studi; Centro Trapianti CSE Ospedale per le Microcitemie Cagliari

Introduzione. Il trapianto aploidentico di cellule staminali rappresenta un trattamento alternativo per circa il 70% dei pazienti con malattie ematologiche maligne senza donatore HLA identico. Nella Talassemia il trapianto aploidentico è ancora in fase sperimentale. Riportiamo la nostra esperienza in due bambini talassemici, trapiantati dalla madre aploidentica.

Casistica e metodi. Caso 1. Paziente di sesso maschile di 15 anni, esegue irregolare terapia chelante, presenta importante emosiderosi epatica e cardiopatia ipocinetica da sovraccarico marziale. Assenza di donatore HLA identico familiare e non familiare. Si avvia al trapianto da madre aploidentica. Terapia di condizionamento: Bu 14 mg/Kg, TT 10 mg/kg, Flu 30 mg/mq, ATG 3,75 mg/kg x2. Infonde 16.2×10^6 /kg di CD34⁺, selezionate positivamente col sistema CliniMacs da PBSC della madre, dopo due cicli di mobilizzazione con G-CSF. Caso 2. Paziente di sesso maschile di 12 anni, intrasfondibile per auto ed alloimmunizzazione, presenta fibrosi ed emosiderosi epatica. Assenza di donatore HLA identico familiare e non familiare. Si avvia al trapianto da madre aploidentica. Terapia di condizionamento: Bu 14 mg/Kg, EDX 200 mg/kg, ATG 3,75 mg/kg x2; infusione di 32×10^6 /kg di CD34⁺, selezionate positivamente col sistema CliniMacs da PBSC della madre, dopo un ciclo di mobilizzazione con G-CSF.

Risultati. Il primo paziente, che aveva ricevuto una dose più bassa di CD34⁺, va incontro a rigetto. Attualmente è vivo con talassemia. Il secondo paziente è vivo, con attecchimento allogenico completo e stabile dopo 7 mesi dal trapianto. Ha manifestato GvHD acuta cutanea di I grado e riattivazione del CMV.

Conclusioni. 1. Al momento attuale il trapianto aploidentico per la Talassemia è un approccio sperimentale da proporre, in assenza di un donatore HLA identico, quando, non essendo possibile effettuare correttamente la terapia trasfusionale e/o ferrochelante, è prevedibile una prognosi severa a breve termine. 2. Il buon esito del trapianto aploidentico dipende in gran parte dalla quantità delle CD34⁺ infuse. L'infusione intraossea delle CD34⁺ potrebbe impedire l'insuccesso dovuto ad una quantità di cellule non ottimale. 3. Il ritardo della ricostituzione immunologica nel trapianto aploidentico, legato alla deplezione dei T linfociti, e, di conseguenza, le infezioni precoci e tardive, rimangono tuttora dei problemi che limitano il successo di questo tipo di trapianto. A questo scopo la immunoterapia adottiva con l'utilizzo di cellule regolatrici e/o di linfociti T citotossici patogeni-specifici appare particolarmente promettente.

LEUCEMIE E LINFOMI

C008

ANALISI DEL PROFILO FOSFOPROTEOMICO DELLE B-ALL PEDIATRICHE CON REVERSE PHASE PROTEIN ARRAYS

Accordi B,¹ Espina V,² Milani G,¹ Te Kronnie G,¹ Liotta LA,² Petricoin Iii EF,² Garaci E,³ Basso G¹

¹Laboratorio di Oncoematologia Pediatrica, Università degli Studi di Padova, Italia; ²Center for Applied Proteomics and Molecular Medicine, George Mason University, VA, USA; ³Istituto Superiore di Sanità, Italy

Introduzione e obiettivi. La prognosi delle Leucemie Linfoblastiche Acute Pediatriche è notevolmente migliorata negli ultimi anni, ma il 30% dei pazienti ancora ricade o resiste alle cure. Questo significa che ci devono essere delle alterazioni nel metabolismo della cellula tumorale, in particolare nelle vie di trasduzione del segnale, non ancora identificate che non vengono quindi mirate dalle attuali terapie. Il nostro studio si propone di ottenere queste informazioni utilizzando l'innovativa tecnica dei Reverse Phase Protein Arrays che permettono di descrivere il profilo fosfoproteomico, e quindi lo stato di attivazione, dei blasti leucemici. L'identificazione delle vie di trasduzione del segnale attivate in modo aberrante può offrire la possibilità di individuare nuovi target molecolari per farmaci inibitori delle chinasi.

Metodi. Abbiamo utilizzato i Reverse Phase Protein Arrays per studiare il profilo fosfoproteomico di 120 pazienti pediatrici affetti da B-ALL. I blasti dell'esordio, isolati tramite Ficoll, sono stati lisati e immobilizzati su vetrini ricoperti di nitrocellulosa. Ogni vetrino è stato incubato con un diverso anticorpo (92 in totale), e il segnale ottenuto è stato quantificato grazie ad un software specifico. Abbiamo così confrontato i diversi sottogruppi di pazienti allo scopo di identificare le fosfoproteine attivate in modo differente.

Risultati. Il primo risultato interessante è emerso dal confronto tra i pazienti non traslocati e quelli riarrangiati per il gene MLL. In questi pazienti, caratterizzati da un outcome sfavorevole, è risultata iperattivata un'intera via che, attraverso la produzione di ossido nitrico, porta all'attivazione di Bcl-2. L'attivazione di Bcl-2 conferisce alla cellula tumorale resistenza all'apoptosi, e questo potrebbe contribuire alla scarsa risposta alla terapia osservata in questi pazienti.

Conclusioni. Le proteine attivate in modo aberrante identificate nei pazienti MLL riarrangiati potrebbero rappresentare nuovi target per farmaci inibitori delle chinasi già utilizzati in altri contesti clinici o in via di sviluppo. La scoperta dei meccanismi molecolari alla base della resistenza potrebbe quindi risultare importante per disegnare terapie personalizzate e migliorare la stratificazione dei pazienti e la prognosi.

C009

SIGNIFICATO DEL MONITORAGGIO DELLA MALATTIA RESIDUA MINIMA NEL FOLLOW-UP DI PAZIENTI PEDIATRICI LLA

Fabbri G,¹ Paganin M,¹ Polato K,¹ Nardo D,¹ Cazzaniga G,² Biondi A,² Basso G¹

¹Laboratorio di Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Padova (Pd); ²Centro Ricerca M. Tettamanti, Università di Milano-Bicocca, Ospedale San Gerardo, Monza (MI), Italy

Scopi. La ricaduta di LLA è definita conta di blasti $\geq 25\%$

(midollare) o $\geq 5\%$ (combinata) in un prelievo midollare successivo a quello della remissione completa (RC). La morfologia ha una sensibilità limitata e la sua potenzialità nel prevedere la recidiva nel tempo è inesistente. Scopo di questo studio è valutare se il monitoraggio molecolare della MRD nel corso del follow up evidenzia livelli critici di malattia predittivi di ricaduta.

Metodi. Abbiamo analizzato retrospettivamente, tramite Real-Time PCR per i riarrangiamenti genici di Ig e TCR, i livelli di MRD di campioni midollari postconsolidamento disponibili, ottenuti durante e un anno dopo lo stop della terapia, di 109 pazienti LLA pediatrici: 55 non ricaduti, provenienti dal centro di Oncoematologia Pediatrica di Padova e 54 ricaduti, provenienti anche da altri centri AIEOP.

Risultati. 52/109 pazienti hanno presentato uno o più TP positivi per MRD (in 31 non quantificabili ed in 21 quantificabili) nel corso del follow-up: 40/52 sono poi ricaduti (76,9%) e 12/52 sono in RC. In 11 di questi pazienti in RC i livelli di MRD sono risultati ai limiti della sensibilità della tecnica e considerati positivi ma a livello non quantificabile. In 7/11 la positività individuata ad un TP non si è mantenuta nei TP successivi durante il follow-up. Negli altri 4 la MRD è risultata positiva non quantificabile allo stop e/o un anno dopo lo stop della terapia. In un solo paziente dei 12 in RC si è riscontrata una positività quantificabile per MRD, tornata poi a livelli non quantificabili nelle ultime fasi della terapia. Dei 52 pazienti positivi per MRD nel corso del follow-up 21 hanno presentato uno o più TP con livelli quantificabili di malattia: 20 di essi sono ricaduti (95,2%). Il tempo medio intercorso tra la ricaduta molecolare (prelievo positivo quantificabile per MRD) e quella clinico-morfologica è stato di 5 mesi.

Conclusioni. I nostri dati indicano che una positività per MRD nel corso del follow-up di pazienti in remissione morfologica è altamente predittiva di ricaduta (76,9%), praticamente certa quando tale positività risulti quantificabile (95,2%). I pazienti che presentano malattia molecolare quantificabile sono dunque candidati ad una terapia alternativa, come il TMO, in quanto destinati inevitabilmente a recidivare, anche se apparentemente in remissione completa.

C010

STRATIFICAZIONE SECONDO MALATTIA RESIDUA MINIMA MEDIANTE PCR QUANTITATIVA DEI RIARRANGIAMENTI SOMATICI DEI GENI PER IL RECETTORE T PER L'ANTIGENE E PER IMMUNOGLOBULINE NEL PROTOCOLLO INTERNAZIONALE MULTICENTRICO AIEOP-BFM ALL2000 PER LA LEUCEMIA ACUTA LINFOLASTICA PEDIATRICA: ANALISI DELLA FATTIBILITÀ E RISULTATI DI LABORATORIO

Cazzaniga G,^{1*} Flohr T,^{2*} Schrauder A,^{2*} Paganin M,³ Konrad M,⁴ van Der Velden V,⁵ Spinelli M,³ Panzer-Grumayer R,⁴ Stanulla M,⁶ Sutton R,⁷ Koehler R,⁸ Zimmermann M,⁶ Gadner H,⁴ Maserà G,¹ Schrappe M,² Van Dongen JJM,⁵ Bartram CR,⁹ Conter V,¹ Valsecchi MG,¹ Basso G,³ Biondi A¹ a nome dell'International BFM Study Group (I-BFM-SG). *uguale contributo.

¹Clinica Pediatrica e Centro Ricerca Tettamanti, Monza, Italy; ²Kiel, Germany; ³Emato-Oncologia Pediatrica, Padova, Italy; ⁴Vienna, Austria; ⁵Rotterdam, The Netherlands; ⁶Hannover, Germany; ⁷Zurich, Switzerland; ⁸Sydney, Australia; ⁹Heidelberg, Germany

La quantificazione della Malattia Residua Minima (MRM) è il metodo più sensibile per valutare la risposta alla terapia, uno dei principali predittori di sopravvivenza nella Leucemia Acuta Linfoblastica (LAL) pediatrica. L'aggiornamento a 10 anni dello studio retrospettivo I-BFM-SG ha mostrato risultati

stabili: la sopravvivenza libera da eventi nel gruppo a rischio Standard (MRM-SR) è di 93%, 74% nel gruppo a rischio intermedio (MRM-IR) e 16% per il gruppo ad alto rischio (MRM-HR). Sulla base di questi studio, nel protocollo multicentrico AIEOP-BFM ALL 2000, condotto in collaborazione tra Italia (AIEOP), Germania (BFM-G) e Austria (BFM-A), i pazienti sono stati stratificati soprattutto sulla base del risultato di MRM, ottenuto utilizzando PCR quantitativa dei riarrangiamenti somatici di T-cell Receptor e Immunoglobuline, dopo la fase di Induzione (d33, TP1) e Consolidamento (d78, TP2). Da Settembre 2000 a Ottobre 2005, la ricerca di marcatori per MRM è stata condotta su 3341 pazienti: 2365 pazienti (71%) possedeva 2 o più marcatori clonali sensibili ($\leq 10^{-4}$), 671 (20%) mostravano invece un solo marcatore sensibile; 217 (6%) pazienti possedevano marcatori con sensibilità inferiore, mentre in 88 (3%) non è stato possibile identificare marcatori di clonalità. La stratificazione basata su MRM è stata possibile in 2594 pazienti (78%): 40% sono stati classificati come MRM-SR (2 marcatori sensibili e MRM negative ad entrambi I TP), 8% sono risultati MRM-HR (MRM $>10^{-3}$ al TP2), e 52% come MRM-IR. I rimanenti 823 pazienti sono stati classificati solamente sulla base delle caratteristiche cliniche (remissione clinica, risposta al prednisone, presenza di traslocazioni a prognosi negativa): HR (n=108), IR (n=715). In conclusione, la stratificazione basata principalmente sulla MRM, con criteri stringenti di sensibilità e accuratezza, è stata possibile in quasi l'80% dei pazienti di questo protocollo internazionale e multicentrico.

C011

L'ANALISI INTEGRATA DEL PROFILO GENOTIPICO E DI ESPRESSIONE IN LAL PEDIATRICHE NON CLASSIFICATE GENETICAMENTE IDENTIFICA NUOVE ANOMALIE GENICHE.

Cazzaniga G,¹ Bungaro S,¹ Campo Dell'Orto M,² Zangrande A,² Basso D,³ Lo Nigro L,⁴ Leszl A,² Bicciato S,³ Basso G,² Te Kronnie G,² Biondi A¹

¹Centro Ricerca Tettamanti, Clinica Pediatrica Università di Milano-Bicocca, Monza; ²Laboratorio di Emato-Oncologia Pediatrica, Università di Padova, Padova; ³Dipartimento di Processi Chimici dell'Ingegneria, Università di Padova, Padova; ⁴Centro di Riferimento Regionale di EmatoOncologia Pediatrica di Catania, Italy

Introduzione. Circa il 20% delle LAL pediatriche non possono essere classificate sulla base di marcatori genetici rilevabili con tecniche di citogenetica classica o di biologia molecolare. Obiettivi: i) Identificare anomalie cromosomiche criptiche in LAL pediatriche a cariotipo normale o non classificate geneticamente, attraverso l'analisi del profilo genomico di LOH e di variazione del contenuto genico (CNC) mediante SNP arrays. ii) Integrazione delle caratteristiche genotipiche e dei profili di espressione del clone leucemico per identificare geni regolati e meglio comprendere l'elevata eterogeneità biologica e clinica della malattia.

Metodi. Sono stati analizzati 29 pazienti che hanno soddisfatto i seguenti criteri di inclusione: a) diagnosi di LAL a precursori B; b) DNA index 1; c) negatività all'analisi di RT-PCR per t(4;11), t(12;21), t(9;22), t(1;19); d) cariotipo normale o non eseguibile; e) profilo di espressione non associato ad alcuno dei sottogruppi genetici di LAL. Tutti i pazienti analizzati sono arruolati nel protocollo AIEOP-LAL2000. Il DNA genomico dell'esordio di malattia è stato analizzato con la piattaforma Affymetrix GeneChip Mapping 100K SNP array allo scopo di identificare regioni genomiche di LOH e CNC. In parallelo è stata eseguita l'analisi del profilo di espressione

attraverso la piattaforma Affymetrix HG-U133Plus2, nel contesto dello studio internazionale MILE (Roche).

Risultati. La maggior parte dei casi analizzati (24/29, 83%) ha mostrato anomalie genomiche. Le anomalie più rilevanti sono risultate la delezione dei geni CDKN2A/9p21 (7/29, 24%) e TEL/12p13 (3/29, 10%) e l'amplificazione intracromosomica del cromosoma 21 (iAMP21) (3/29, 10%). Per identificare la variazione dell'espressione di geni direttamente o indirettamente alterati dalle più ricorrenti anomalie cromosomiche individuate, abbiamo combinato ed integrato i dati di genotipo e di espressione genica generati mediante analisi di microarray sugli stessi campioni di esordio di malattia. SMAD1 e JAG1 sono emersi come geni differenzialmente espressi nei casi con delezione di CDKN2A e TEL, rispettivamente.

Conclusioni. I risultati dimostrano la potenzialità di integrare profili genomici e di espressione di pazienti con leucemia per identificare aberrazioni nascoste e nuovi meccanismi coinvolti nell'eziopatogenesi della LAL.

P033

CLOFARABINA NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA: ANALISI COSTO-EFFICACIA NELLA PROSPETTIVA DEL SSN ITALIANO

Pession A,¹ Martini N,¹ Berto P²

¹Oncologia ed Ematologia Pediatrica "Lalla Seragnoli", Clinica Pediatrica-Bologna; ²PBE Consulting, Italy

Introduzione. Nonostante il sensibile miglioramento dei risultati ottenuti attraverso l'applicazione di regimi polichemioterapici utilizzati per la terapia della Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA), il 25% circa dei pazienti presenta, tuttavia, una recidiva di malattia o una forma refrattaria (LLA-RR): questa quota di pazienti rappresenta da sola la quarta neoplasia più grave; frequente dell'età pediatrica. Negli studi clinici registrativi l'efficacia di clofarabina (EMEA orphan-drug status Feb-2002) è stata dimostrata in termini di remissione duratura della malattia e di prolungata sopravvivenza nei bambini affetti da ricadute multiple e resistenti; anche nei pazienti in cui la remissione completa o parziale non è raggiunta, si verifica una sostanziale cito-riduzione ed un significativo miglioramento clinico che offre maggiori possibilità di procedere con un trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE).

Obiettivo. Calcolare il rapporto costo-efficacia di clofarabina (CLO) vs. Best Supportive Care (BSC) in bambini affetti da LLA-RR, nella prospettiva del SSN Italiano.

Materiali e metodi. Lo studio si basa su un modello ad albero decisionale in cui vengono valutati costi (in Euro 2006) ed esiti (anni di vita salvati - LYG) per una coorte di bambini affetti da LLA-RR, trattati con CLO o BSC, nella prospettiva del SSN. La risposta alla terapia, la probabilità di ricevere TCSE e la sopravvivenza dei pazienti trattati con CLO, sono stati tratti dallo studio CLO-212 (Jeha S, et al. JCO, 24(12), 2006); i dati di input del modello per il braccio BSC sono stati derivati da due database dai quali sono stati estratti 71 pazienti trattati con BSC (comparabili ai soggetti trattati con CLO nel trial). Per la valutazione dei costi, un ciclo di trattamento è stato computato come comprendente 2 ricoveri per chemioterapia (DRG-405) e calcolando un totale di 27 fiale/paziente di CLO al prezzo SSN. Il costo degli eventi avversi non è stato stimato poichè rientra nella tariffa DRG. Il costo di gestione dei pazienti trattati con BSC è stato tratto dalla letteratura (Guest JF, et al. European Journal of Cancer Care;(15)65-73,2006). Il costo del TCSE è stato valorizzato alla tariffa del DRG 481.

Risultati e conclusioni. Il trattamento con CLO rispetto a BSC

genera costi incrementali pari ad Euro 62.782/paziente con un aumento di sopravvivenza globale pari a 2,32LYG. Questo si traduce in un costo incrementale per LYG vs. BSC di Euro 27.013, ovvero Euro 2.251/mese di vita guadagnato, che si situa all'interno del range calcolato per i farmaci oncologici in Italia (Messori A, *et al.* Pharmacoeconomics Italian Research 5:53-67, 2003).

P034

EFFETTO DELLE COMUNICAZIONI DEI MEDICI SULLA SINTOMATOLOGIA DEL GENITORE IN MOMENTI CRUCIALI DELL'ITER TERAPEUTICO DI BAMBINI AFFETTI DA LLA

Tremolada M,¹ Axia G,¹ Bonichini S,¹ Pillon M,² Varotto S,² Carli M²

¹Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova; ²Clinica di Oncematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Italy

Introduzione e scopi. Vi sono numerosi studi che indagano la tipologia di comunicazione della diagnosi, per il consenso informato e per la randomizzazione nel protocollo di cura (Clarke *et al.*, 2004; Kodish *et al.*, 2004; Massimo *et al.*, 2005; Eder *et al.*, 2007). Non sono presenti studi che indagano l'effetto delle comunicazioni dei medici durante l'iter terapeutico di bambini con LLA (AIEOP LLA 2000). Questo studio si propone di valutare la sintomatologia del genitore dopo le comunicazioni delle prima risposta del bambino al cortisone (giorno +8) e della sua risposta dopo il primo blocco della Induzione (giorno +33) e metterla in relazione anche ai fattori socio demografici della famiglia.

Metodi. I partecipanti allo studio sono 78 genitori di bambini con leucemia (età media = 37,16; DS = 5,6), di cui 66 madri e 12 padri e il 68,9% con circa 25-35 ore di lavoro in media a settimana. Le valutazioni avvengono in due momenti della terapia: durante la seconda settimana di ospedalizzazione (T1) e nel secondo mese di terapia (T2). Al T1 viene somministrata una batteria di questionari per valutare la sintomatologia depressiva, di arousal e fisica del genitore (BSI-18, CCSS) e il suo funzionamento cognitivo (Problem Scale, CCSS). In tale occasione vengono anche raccolte le informazioni mediche in termini di n° di blasti al giorno +8. Al T2 viene valutata nel genitore la presenza di sintomi da trauma (check-list DPTS, CCSS) e vengono nuovamente trascritti il n° di blasti al giorno +33.

Risultati. Un modello di regressione ($R(e)2=0,12; p=0,014$) identifica il n° di blasti al giorno +8 ($\beta=0,29$) come predittore dei sintomi fisici del genitore al T1. Il n° dei blasti al giorno +8 ($\beta=0,27$) insieme con le ore lavorative in media del genitore ($\beta=0,26$) sono invece fattori predittivi dei sintomi di arousal del genitore al T1 ($R(e)2=0,17; p=0,016$). Le ore lavorative in media del genitore ($\beta=0,40$) predicano anche i problemi di tipo cognitivo nel genitore al T1 ($R(e)2=0,18; p=0,005$).

Conclusioni. Le comunicazioni dei blasti al giorno +8 influenzano la sintomatologia fisica e di arousal del genitore, mentre la quantità di ore lavorative del genitore influenza il suo funzionamento cognitivo. La comunicazione del n° blasti al giorno +33 non è associata ai sintomi da trauma nel genitore. Nella gestione di questo tipo di comunicazione al genitore è utile tener conto di tali effetti psicologici.

P035

EFFETTO DELLE REAZIONI PSICOLOGICHE DEL BAMBINO AFFETTO DA LLA AL CORTISONE SULLA SINTOMATOLOGIA DEL GENITORE DURANTE LA RE-INDUZIONE

Tremolada M,¹ Axia G,¹ Bonichini S,¹ Pillon M,² Carli M²

¹Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova; ²Clinica di Oncematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova

Introduzione e scopi. In letteratura è risaputo che come conseguenza dell'assunzione dei cortisonici vi siano alterazioni nel comportamento e nell'umore del bambino malato di leucemia (Hochhauser *et al.*, 2005; Eiser *et al.*, 2006). Scopo dello studio è quello di valutare l'effetto delle reazioni del bambino al cortisone sulla sintomatologia del genitore durante la fase terapeutica della Re-induzione.

Metodi. I partecipanti allo studio sono 78 genitori di bambini con leucemia (età media = 37,16; DS = 5,6), di cui 66 madri e 12 padri. Durante la fase della Re-induzione, a circa 6 mesi dalla comunicazione della diagnosi, viene somministrata al genitore una batteria di questionari per valutare la sua sintomatologia depressiva, di arousal e fisica (BSI-18, CCSS), i suoi sintomi di ansia (STAI) o da trauma (check-list DPTS, CCSS) e il suo funzionamento cognitivo (Problem Scale, CCSS). Inoltre viene fatto compilare al genitore una check-list di possibili effetti psicologici del cortisone sul bambino (questionario creato ad hoc in seguito a uno studio pilota) per avere un punteggio complessivo delle alterazioni psicologiche del bambino al cortisone. In tale occasione vengono anche raccolte le informazioni mediche (n° di giorni di ospedalizzazione, tipo di leucemia) e quelle socio-demografiche delle famiglie.

Risultati. Un modello di regressione ($R(e)2=0,30; p=0,002$) identifica gli effetti del cortisone ($\beta=0,30$) e le ore lavorative in media del genitore ($\beta=0,35$) come predittori a livello concorrente dei sintomi depressivi del genitore al T1. Gli effetti del cortisone ($\beta=0,34$) insieme con l'età puntuale del genitore ($\beta=-0,24$) sono invece fattori predittivi dei sintomi di arousal del genitore ($R(e)2=0,22; p=0,003$). Le ore lavorative in media del genitore ($\beta=0,45$) predicano anche i problemi di tipo cognitivo nel genitore ($R(e)2=0,23; p=0,009$).

Conclusioni. I giorni di ricovero non influenzano la sintomatologia del genitore a 6 mesi, bensì gli effetti del cortisone sul bambino, indicatori di sintomi di arousal e depressivi nel genitore. La quantità di ore lavorative del genitore influenza il suo funzionamento cognitivo a 6 mesi dalla diagnosi. In tal senso è utile creare degli specifici programmi di supporto al genitore che si prende cura del bambino durante questa difficile fase di terapia steroidea.

P036

PREDITTORI POST-DIAGNOSI DELLO SVILUPPO MOTORIO DEL BAMBINO CON LEUCEMIA IN ETÀ PRE-SCOLARE DOPO 12 MESI DI TERAPIA

Tremolada M,¹ Axia G,¹ Bonichini S,² Pillon M,² Carli M²

¹Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova; ²Clinica di Oncematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova

Introduzione e obiettivi. Da riscontare in letteratura sono le notevoli differenze esistenti tra i bambini affetti da leucemia e i pari sani nelle performance generali di apprendimento, socializzazione ed emotività soprattutto in pazienti sotto i 6 anni di età (Adamoli *et al.*, 1997). Non sono, però, presenti studi che monitorino lo sviluppo psicologico del bambino nel

corso dell'iter terapeutico e i suoi predittori. Questo studio si propone di identificare i predittori precoci nello specifico dello sviluppo motorio del bambino dopo 12 mesi di terapia.

Metodi. Il campione è costituito da 39 bambini con leucemia (età media=4,81 anni, DS=0,04), 18 maschi e 21 femmine, e dai loro genitori. A una settimana dalla diagnosi (T1) vengono svolte delle interviste in profondità col genitore (EFI-C, Tremolada *et al.*, 2005) per valutare l'adattamento del bambino e della sua famiglia durante il primo ricovero in ospedale. A un anno dalla diagnosi (T2) viene svolta un'intervista strutturata al genitore (Scale Vineland) per valutare alcune aree di sviluppo del bambino, tra cui le sue Abilità Motorie, e viene controllata la sintomatologia d'ansia e di depressione del genitore stesso. Dalle cartelle cliniche vengono inoltre trascritte alcune informazioni come il n° di giorni di ricovero e il tipo di leucemia.

Risultati. Dopo 12 mesi di terapia il 69,2% dei bambini sembra soffrire di un ritardo di sviluppo di almeno 3 mesi nell'area della Abilità motorie sia grossolane che fini. Non è stata riscontrata una relazione significativa tra lo stato psicologico del genitore e lo sviluppo motorio del bambino. Un modello di regressione ($R(e)2=0,42$; $p=0,011$) identifica la Fiducia nello staff pediatrico da parte del genitore ($\beta=0,41$) dopo la diagnosi e il n° dei giorni di ricovero ($\beta=-1,60$) come i predittori delle Abilità motorie del bambino a 12 mesi dalla diagnosi.

Conclusioni. Questo studio rileva che i primi 12 mesi di terapia hanno un effetto sullo sviluppo motorio del bambino. Tale sviluppo è predetto dal numero di giorni di ricovero a livello concorrente, ma anche, a livello predittivo, dalla fiducia che il genitore manifesta per lo staff pediatrico già dal momento del post-diagnosi. Programmi di intervento fisioterapico e psicologico possono essere proposti per i bambini più a rischio ed è utile verificare entro quanto tempo il bambino riesca a riprendere le sue funzioni normali.

P037

RUOLO DEL POLIMORFISMO DI METILEN-TETRAIDROFOLATOREDDUTASI (MTHFR-C677T) SULLA SENSIBILITÀ AL METHOTREXATE NELLE LEUCEMIE LINFOBLASTICHE ACUTE (LLA) DELL'ETÀ PEDIATRICA

Casale F, Crisci S, D'Angelo V, Francese M,¹ Romano M, Fusco C, Affinità MC, Pota E, Di Pinto D, Gargiulo E, Pascarella C, Russo M, Indolfi P

Servizio di Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli; ¹Laboratorio di Ematologia Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli

Introduzione. Mutazioni dell'enzima MTHFR, anche se rare, possono determinare una riduzione dell'attività enzimatica (<20%) con conseguente iperomocisteinemia, omocistinuria e bassi livelli plasmatici di acido folico. È stato identificato un polimorfismo genetico comune dovuto alla sostituzione, a livello del nucleotide 677, di una citosina (C) con una timina (T) (C677T), responsabile degli elevati livelli plasmatici di omocisteina. È stato anche segnalato, *in vitro*, che tale polimorfismo inciderebbe sull'efficacia del Methotrexate, farmaco cardine nella terapia delle LLA. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare, *in vivo*, la frequenza e l'eventuale influenza della mutazione sulla sensibilità al Methotrexate in bambini con LLA.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati nello studio 52 LLA, 32 maschi, di età compresa tra 3 mesi e 14 anni, diagnosticati e seguiti presso il Servizio di Oncologia Pediatrica della Seconda Università di Napoli. L'analisi del genotipo di MTHFR, eseguita alla diagnosi in tutti i campioni, si è avvalsa del-

la metodica PCR-RFLP, messa a punto da Frost e collaboratori e modificata, permettendo la identificazione di genotipi normali (CC), alterati in eterozigosi (CT) ed in omozigosi (TT). Come gruppo di controllo sono stati utilizzati 70 campioni random di bambini sani, di pari età, tutti provenienti dall'area geografica campana. Per l'analisi della frequenza di tale genotipo e la valutazione, in rapporto ai diversi genotipi, dei pazienti in continua remissione versus i pazienti recidivati, è stato utilizzato il X2 test.

Risultati. La distribuzione di MTHFR nei pazienti rispetto ai casi controllo è stata di: CC→36.5% vs 39%, CT→48% vs 50%, e TT→15.5% vs non mostrando differenze statisticamente significative. I risultati dall'analisi univariata hanno evidenziato, invece, che i pazienti con variante allelica TT presentavano un rischio di recidiva significativamente più elevata (7/8=87.5%) ($p=0.025$).

Conclusioni. I nostri dati, anche se necessitano di essere confermati su più ampia casistica e con un più lungo follow-up sembrano dimostrare che il polimorfismo C677T di MTHFR, pur non mostrando una maggiore frequenza di distribuzione nelle LLA pediatriche, sia correlato ad una ridotta sensibilità al Methotrexate e conseguente maggior rischio di recidiva.

P038

PTX3 E LE INFEZIONI FUNGINE INVASIVE: RUOLO NELLA DIAGNOSI E NEL MONITORAGGIO DELLA RISPOSTA CLINICA NEI BAMBINI IMMUNOCOMPROMESSI

Migliavacca M, Biagi E, Col M, Silvestri D,¹ Peri G,² Mantovani A,² Biondi A, Rossi MR

Clinica Pediatrica, Università di Milano-Bicocca, Ospedale San Gerardo, Monza (Milan), Italia; ¹Dipartimento di Statistica, Università di Milano-Bicocca, Monza, Italia; ²Istituto Clinico Humanitas, Rozzano, Italia

Introduzione e obiettivi. La proteina Pentraxina 3 (PTX3) è stata recentemente scoperta come facente parte di una super famiglia di proteine di fase acuta coinvolte nella risposta immunitaria primaria ai comuni patogeni. Il primo obiettivo del nostro studio è quello di trovare un range di normalità per i livelli plasmatici di PTX3 in una popolazione pediatrica di bambini sani e monitorarne le variazioni durante gli episodi infettivi che si verificano nei pazienti pediatrici affetti da leucemia acuta in chemioterapia. Infatti, assunto che i pazienti affetti da leucemia acuta dato il loro alto grado di immunosoppressione hanno un rischio aggiuntivo di sviluppare un'infezione fungina, abbiamo focalizzato la nostra attenzione sulle infezioni opportunistiche polmonari per valutare se la PTX3 possa agire come un marker precoce sia nella diagnosi che nel decorso clinico della patologia. I livelli di PTX3 sono stati monitorati in correlazione a quelli del marker tradizionale di infiammazione, la PCR, che è stata quindi usata come controllo.

Pazienti e metodi. Abbiamo studiato 10 pazienti affetti da leucemia acuta (LLA (5), recidiva di LLA (3) e LMA (2)) affetti da possibili (7) e probabili (3) infezioni fungine polmonari (in un solo caso con concomitante localizzazione splenica) secondo i criteri dell'EORTC, diagnosticati tra Ottobre 2004 e Novembre 2006 alla Clinica Pediatrica dell'Ospedale San Gerardo di Monza. Abbiamo monitorato i livelli di PTX3 e PCR all'esordio dell'infezione, prima della terapia antifungina e settimanalmente per 6 settimane. In un gruppo controllo abbiamo rilevato i livelli di PTX3 in 23 bambini sani e in 38 pazienti con evidenza di comune infezione batterica acuta o virale. Per analizzare i livelli di PTX3 abbiamo usato un test immunoenzimatico ELISA.

Risultati e conclusioni. Nella popolazione pediatrica sana di controllo i livelli plasmatici di PTX3 sono risultati inferiori a 2ng/mL (media 1.88ng/mL; mediana 1.54ng/mL), in accordo con i livelli descritti per gli adulti sani. Durante un'infezione virale o batterica, i livelli di PTX3 sono risultati aumentare, raggiungendo una media di 5.82ng/mL (mediana 3.62ng/mL). Questa differenza è risultata statisticamente significativa (p -value <0.0001). Il livello di PTX3 nei pazienti affetti da leucemia acuta all'esordio di un'infezione polmonare fungina è risultato statisticamente più elevato di quello rilevato nel gruppo di controllo sano (mediana 19.41ng/mL versus 1.54ng/mL rispettivamente, p -value=0.0006) e nel gruppo con infezioni di altre origini (mediana 3.62ng/mL; p -value=0.01). L'aumento dei livelli di PTX3 durante lo sviluppo di un'infezione fungina e la conseguente riduzione, dopo l'inizio di una terapia antifungina suggerisce la rilevanza di PTX3 come marker precoce di infezione fungina e come indicatore di evoluzione e di risposta alla terapia. In conclusione, PTX3 può rappresentare un importante strumento aggiuntivo che può essere usato nel sospetto di una infezione fungina nei pazienti immunocompromessi allo scopo di corroborare la diagnosi, di monitorare più efficacemente l'evoluzione della malattia e, quando necessario, ottenere una scelta più adeguata di una terapia antifungina mirata.

P039

UNA NUOVA FORMA DI LEUCEMIA LINFOLASTICA ACUTA T-LINEAGE (LLA-T) DEL BAMBINO? UN CASO DI RECIDIVA DI MALATTIA RESISTENTE TRATTATA CON IMATINIB MESYLATE (GLIVEC®).

Lo Nigro L, Mirabile E, Poli A, Bottino D, Munda S, Samperi P, Licciardello M

Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica; Azienda Policlinico; Università di Catania

Introduzione. La prognosi nei bambini con LLA-T è migliorata grazie ai recenti protocolli. Alcuni casi però continuano a presentare recidiva o malattia resistente ai trattamenti convenzionali, e pertanto necessitano di una migliore caratterizzazione allo scopo di trovare nuovi targets per una terapia specifica. Le analisi immunofluorimetriche e molecolari forniscono nuove informazioni riguardanti fenotipi aberranti, traslocazioni cromosomiche e mutazioni che coinvolgono geni codificanti protein-kinasi. Recenti evidenze hanno mostrato l'espressione asincrona di specifici antigeni come CD117/cKit e la presenza di geni di fusione dell'ABL1, considerati potenziali target sensibili alla terapia con Imatinib Mesylate.

Materiali e Risultati. Presentiamo qui il caso di un bambino, Mauriziano, di 4 anni, affetto da LLA-T caratterizzata alla diagnosi da iperleucocitosi, massa mediastinica e splenomegalia. Il piccolo è stato arruolato nel protocollo AIEOP 2000, durante la fase di Induzione. Il bambino è risultato PGR, ha eseguito il braccio MR-2 e la radioterapia craniale prevista. Durante la fase di Mantenimento ha presentato leucocitosi e splenomegalia, riferibili ad una recidiva precoce isolata (BM), caratterizzata da morfologia simil-mieloide, espressione aberrante degli antigeni CD10, CD13 e CD117/cKit. L'analisi del cariotipo era 47,XY,+8,del(11)(q13q23), senza coinvolgimento di MLL. Il bambino ha eseguito due cicli di IDA-ARAC recuperando sempre con blasti. In relazione ai dati biologici abbiamo disegnato una terapia di salvataggio con Imatinib Mesylate in associazione con VP16 e Ciclofosfamide. È stata osservata una rapida riduzione dei blasti periferici e della splenomegalia. Il bambino ha pertanto raggiunto una remissione

parziale senza recupero piastrinico mantenuta per 5 mesi. Dopodiché ha presentato una seconda recidiva caratterizzata dall'assenza di espressione del CD2, CD10, CD13 e cKit. Il bambino è poi deceduto per progressione di malattia.

Conclusioni. Il nostro caso ha beneficiato di una terapia 'tailored' con Imatinib mesylate in associazione alla chemioterapia convenzionale. Sugeriamo di estendere le nostre analisi ad altri casi di LLA-T che presentano le medesime caratteristiche clinico-biologiche allo scopo di modificare i trattamenti di seconda linea.

P040

ANALISI DEI CASI DI LAM CON RIARRANGIAMENTO DELLA BANDA 11Q23/GENE MLL TRATTATI CON IL PROTOCOLLO AIEOP LAM 2002-01: PRESENTAZIONE CLINICA E RISPOSTA AL TRATTAMENTO.

Lo Nigro L,¹ Leszl A,² Basso G,² Putti C,² Rizzari C,³ Locatelli F,⁴ Santoro N,⁵ Luciani M,⁶ Menna G,⁷ Fagioli F,⁸ Micalizzi C,⁹ Di Tullio MT,¹⁰ Frascella E,² Biondi A,³ Testi AM,¹¹ Zecca M,⁴ Pession A¹². CSS AIEOP LANL

¹Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica Azienda Policlinico, Università di Catania; ²Clinica Pediatrica, Università di Padova; ³Clinica Pediatrica, Ospedale Nuovo San Gerardo, Monza; ⁴Clinica Pediatrica - Policlinico San Matteo Pavia; ⁵Clinica Pediatrica Bari; ⁶Ospedale Bambino Gesù, Roma; ⁷Centro di Napoli Pausillipon; ⁸Clinica Pediatrica Torino; ⁹Istituto G. Gaslini Genova; ¹⁰Centro di Napoli Università Federico II; ¹¹Istituto di Ematologia La Sapienza Roma; ¹²Clinica Pediatrica, Ospedale S. Orsola, Bologna

Background. La Leucemia Acuta Mieloide (LAM) con riarrangiamento della banda cromosomica 11q23/gene MLL è caratterizzata da una prognosi variabile in relazione ai protocolli di cura applicati.

Obiettivo. Analisi dei dati relativi alla presentazione clinica ed alla risposta al trattamento dei casi di LAM con riarrangiamento 11q23/gene MLL trattati con il vigente protocollo AIEOP.

Risultati. Nel periodo gennaio 2001 - dicembre 2005 sono stati diagnosticati ed arruolati 30 bambini, 50% Maschi. 19 casi (63%) avevano un'età ≤3 anni; 4 su 6 adolescenti (>10 anni) non hanno mostrato organomegalia alla diagnosi. Il numero medio dei globuli bianchi alla diagnosi è stato di 55.960/mm³. La distribuzione FAB è stata: M5 22 casi (73%); M4 3 casi; M7 e Dendritiche 2 casi, rispettivamente; M1 un caso. L'analisi citogenetica ha dimostrato in 14 casi che l'alterazione della banda 11q23 è risultata isolata. La distribuzione dei cromosomi (Chr) coinvolti è stata: Chr9 otto casi (26%), Chr10 sette casi, Chr19 cinque casi, Chr6 quattro casi, ChrX tre casi, cromosomi 1, 4, 17 un singolo caso, rispettivamente. La risposta al trattamento è stata: 26 casi hanno raggiunto la remissione completa (RC), 21 dopo il 1° ICE, e 5 dopo il 2° ICE, rispettivamente; un caso è deceduto prima di intraprendere il trattamento; un altro è deceduto durante la fase di induzione; un caso ha mostrato una Primary Induction Failure (PIF) ed un altro malattia persistente al sistema nervoso centrale (SNC). Dei 26 casi in RC, 5 non hanno eseguito alcuna procedura trapiantologica (1 deceduto in RC; 2 recidivati in terapia; 2 per scelta del Centro). Dei 21 casi che sono stati sottoposti a Trapianto di Midollo Osseo (TMO) 12 hanno eseguito l'Autologo e 9 l'Allogeneico in 1a RC. Nei 26 casi in RC, si sono verificate 9 recidive (35%), con due recidive in terapia, che riguardavano entrambi i casi con t(6;11). Dei 9 casi recidivati 6 sono poi morti per Progressione di Malattia.

Conclusioni. Sebbene siano stati analizzati pochi casi, si con-

ferma che la LAM con riarrangiamento 11q23/gene MLL è caratterizzata da una percentuale di recidive in linea con quella degli altri soggetti HR. Tuttavia è necessario eseguire un'analisi su una popolazione più numerosa allo scopo di verificare il ricorso a strategie di studio (MRD) e trattamento specifiche per questo subset di casi.

P041

DESCRIZIONE ED EVOLUZIONE DEL DISAGIO EMOTIVO IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA DURANTE L'ITER TERAPEUTICO E CONFRONTO CON UN GRUPPO DI PAZIENTI OFF THERAPY

Taormina C, Balsamo F, Trizzino A, Grigoli A, Caselli D, Aricò M

U.O. Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo

Obiettivi. Cercare di comprendere il vissuto, il 'senso e il significato' che una patologia oncoematologica può avere nel corso dell'età evolutiva descrivendo la condizione emotiva di questi bambini nelle varie fasi di terapia.

Metodi. 45 soggetti, di età compresa tra i 7 e i 14 anni, a vari livelli di terapia (induzione, mantenimento, fuori terapia) con diagnosi di patologia Oncoematologica da almeno 2 mesi e che frequentavano regolarmente il Reparto, sono stati analizzati con strumenti specifici: un'intervista semi-strutturata per la raccolta di alcuni dati anamnestici, le PM di Raven, il test delle storie disegnate di Trombini, il CDS di Lang e Tisher, volto a valutare i vissuti di inadeguatezza durante l'età evolutiva, il QSA di Busnelli e Dall'aglio e Faina.

Risultati. Tutte le valutazioni hanno evidenziato le caratteristiche principali dei vissuti emotivi (livelli di ansia elevati sia per il bambino che per il genitore, riduzione dello slancio vitale e della curiosità), e come la sofferenza psicologica di ogni paziente diminuisce col progredire dei risultati terapeutici. Rispetto tutti gli indici utilizzati però si è visto come questo stato di disagio viene misurato nuovamente in molti pazienti off-therapy.

Conclusioni. Il supporto non deve solo riguardare le varie fasi dell'iter terapeutico, ma anche le fasi successive; i soggetti esaminati in stop terapia che ormai da mesi non frequentavano più regolarmente la struttura, rilevano un disagio rilevante, sia attraverso il test grafico proiettivo sia attraverso le dimensioni ansia e depressione.

P042

ANOMALIE CROMOSOMICHE CLONALI IN TROMBOCITOPENIA CONGENITA AMEGACARIOCITICA (CAMT, OMIM #604498)

Morerio C,¹ Panarello C,¹ Tassano E, Rapella A,¹ Dufour C,¹ Zecca M,² Maserati E,³ Pasquali F³

¹Dipartimento di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, IRCCS Istituto G. Gaslini, Genova, ²Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia, ³Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università dell'Insubria, Varese

La trombocitopenia congenita amegacariocitica (CAMT) è un disordine autosomico recessivo del midollo osseo (MO) caratterizzato da megacariociti assenti o ridotti, bassa conta piastrinica e pancitopenia progressiva. È causata dalla mutazione del gene MPL, che codifica per il recettore della trombopoietina. Raramente i pazienti sono stati indagati citogeneticamente ed è stato descritto solo un caso di CAMT associato a monosomia 7 (Steele *et al.*, 2005). Riportiamo 5 pazien-

ti con CAMT provenienti da famiglie non correlate, che presentano mutazioni del gene MPL. L'analisi citogenetica e la FISH con sonde centromeriche per i cromosomi 7 e 8 fu effettuata su MO a vari intervalli. Nessun paziente presentava anomalie alla diagnosi, in due pazienti, in una indagine successiva, comparve rispettivamente un clone con monosomia 7 ed uno con trisomia 8. Sebbene le anomalie cromosomiche acquisite riscontrate in pazienti CAMT sono caratteristiche delle mielodisplasie, solo un paziente con CAMT e MDS, ma senza dati citogenetici è stato riportato in letteratura (King *et al.*, 2005), noi suggeriamo due possibili spiegazioni. In pazienti CAMT lo sviluppo di MDS potrebbe essere un evento atteso ma la breve aspettativa di vita e il trapianto di cellule staminali, unico trattamento terapeutico possibile, ne impediscono la comparsa e di conseguenza le anomalie cromosomiche clonali potrebbero indicare l'avvio del processo displastico. Alternativamente le mutazioni del gene MPL potrebbero causare instabilità cromosomica inducendo lo sviluppo di un clone anomalo caratterizzato dalle anomalie cromosomiche tipiche delle MDS: questo è il caso anche di altre malattie con disfunzioni del MO come la sindrome di Shwachman, FPD/AML, anemia di Fanconi e altre neutropenie congenite. Probabilmente il clone anomalo rimarrebbe quiescente nel MO e il rischio di sviluppare una MDS sarebbe correlato alla sua espansione. In ogni caso, nelle CAMT, il monitoraggio citogenetico del MO sarebbe auspicabile.

P043

IL DNA INDEX HA VALORE PROGNOSTICO NELLA LLA DEL BAMBINO TRATTATA CON CHEMIOTERAPIA INTENSIVA TIPO BFM. RISULTATI FINALI DEL PROTOCOLLO AIEOP-LLA-95

Aricò M, Valsecchi Mg, Rizzari C, Barisone E, Biondi A, Casale F, Locatelli F, Lo Nigro L, Baronci C, Messina C, Micalizzi C, Parasole R, Pession A, Santoro N, Testi Am, Silvestri D, Basso G, Maserà G, Conter V

per la "Associazione Italiana di Ematologia Oncologia Pediatrica" (AIEOP)

Obiettivo. Descrivere i risultati a lungo termine dello studio AIEOP-LLA-95, condotto da Maggio 1995 e Agosto 2000. Gli obiettivi dello studio comprendevano: 1. riduzione di terapia nel rischio standard (SR) e 2. intensificazione nel mantenimento nel rischio intermedio (IR) come domande randomizzate; 3. intensificazione nel rischio alto (HR). 4. studio del valore prognostico del DNA Index (DI) in questo contesto.

Pazienti e metodi. 1.744 pazienti sono stati arruolati, 115 nel SR, 1385 nel IR, e 244 nell'HR. I criteri di stratificazione erano i seguenti: SR: DI tra ≥ 1.16 e < 1.60 , età 1-5 anni, GB $< 20.000/mm^3$, non-T, nessun criterio da HR all'esordio; HR almeno uno dei seguenti criteri: prednisone poor response (PPR); Ph⁺; età < 1 anno con fenotipo CD10-negativo o t(4;11); mancata RC al giorno +43. IR: tutti i rimanenti. Terapia: BFM modificata come segue: SR: no antracicline nel protocollo I; HD-MTX, 2 gr/mq; IR: HD-MTX, 2 gr/mq (LLA-T or interessamento extramidollare: 5 gr/mq), random per pulses VCR+DEXA in mantenimento; HR: I intero, 3 "blocchi", protocollo II ripetuto, mantenimento con pulses VCR/PDN.

Risultati. EFS e SUR a 10 anni globale: 72.5% (SE 1.3) e 83.6% (0.9); SR: 85.0% (3.4) e 95.5% (2.0); IR: 75.1% (1.5) e 87.5% (0.9); HR: 51.0% (3.2) e 57.2% (3.3). I pazienti con DI favorevole hanno avuto una EFS più favorevole sia nell'IR [83.8 (2.7) vs 73.9 (1.7)] che nell'HR [67.8 (9.4) vs 49.6 (3.5)]. Dei 6 pazienti con DI < 0.8 solo 1 rimane in CR.

Conclusioni. Un DI favorevole identifica in tutte le fasce di

rischio pazienti che mostrano un rischio di recidiva inferiore e che comunque non sembra manifestarsi oltre 5 anni dall'esordio.

P044

PROTOCOLLO AIEOP LAM 2002/01: RISULTATI PRELIMINARI

Masetti R, Rondelli R, Putti C, Rizzari C, Locatelli F, Santoro N, Luciani M, Menna G, Fagioli F, Lo Nigro L, Micalizzi C, Di Tullio MT, Basso G, Frascella E, Biondi A, Testi AM, Zecca M, Pession A.

CSS AIEOP LANL

Obiettivo. Analisi preliminare del Protocollo AIEOP LAM 2002/01, relativa ad arruolamento, stratificazione, risposta all'induzione, trapianto, OS (Overall Survival), EFS (Event Free Survival), DFS (Disease Free Survival) e tossicità dei casi arruolati al 30/06/2006. Risultati: Arruolati 188 pazienti in 42 mesi da 33/42 centri aderenti. 175/188 i casi (93%) eleggibili, tutti valutabili. Per caratteristiche molecolari e risposta al primo ciclo di induzione, 26/175 (15%) risultano SR (rischio standard), e 149 (85%) HR (alto rischio). La distribuzione per età in anni è: <2 24%, 2-10 41%, >10 35%; per FAB: M0 10%, M1 18%, M2 22%, M4 17%, M5 20%, M6 1%, M7 11%. La EFS a 4 anni peggiore è delle M1 (42%), quella migliore è delle M0 (70%), delle M7 è 46%. La media dei globuli bianchi all'esordio è 46.000/mmc. Il 5% dei casi è SNC positivo. FLT3 e NPM risultano positivi nel 14% e 5% dei casi rispettivamente. Su 175 valutabili, 145 casi (82%), hanno raggiunto la RC (remissione completa): 140 al termine del I ICE e 5 dopo il II ICE. Il 9% dei pazienti (tutti ad HR) ha presentato una Primary Induction Failure. I pazienti morti in induzione sono pari al 5% (tutti HR). Dei 145 casi in RC, 35 (23%) sono recidivati (4 SR e 31 HR). 43 casi risultano deceduti: 11 in induzione (2 prima di cominciarla), 24 dopo recidiva e 8 in RC continua (CCR). I casi vivi in CCR risultano pari a 102/175 (70%). Sono 96 i trapianti in I RC: 52 autologi (41 purgati con mafosfamide, 11 non purgati) con una EFS a 3 anni dal trapianto del 64%, 44 allogenici di cui 21 sibling (EFS 77%), 16 identici non correlati (EFS 84%), 7 non identici correlati (EFS 38%). A 4 anni, la OS è pari al 64% (SR: 95%, HR: 58%), la EFS al 53% (SR: 82%, HR: 48%) e la DFS al 62% (SR: 82%, HR: 57%). La EFS a 4 anni dei pazienti FLT3-ITD positivi è 38% rispetto al 49% dei negativi. La tossicità extra-midollare, (di grado 3-4 secondo OMS), ha interessato 1/4 dei casi, concentrata nelle due fasi di induzione, riguardando in particolare l'apparato gastrointestinale, la cute e le complicanze infettive. Conclusioni: L'arruolamento annuo è in linea con l'atteso. Buona la percentuale di RC (80%) già dopo il I ciclo ICE. OS, EFS e DFS a 4 anni risultano globalmente superiori a quelle riscontrate nelle generazioni di protocolli AIEOP precedenti.

P045

CLONAGGIO ED ESPRESSIONE DEL CDNA ORTOLOGO DI MLL IN ZEBRAFISH (DANIO RERIO)

Germano G,¹ Robinson BW,² Song Y,² Balice-Gordon R,² Argenton F,³ Felix CA,² Basso G¹

¹Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Padova, Italy; ²Division of Oncology, Abramson Research Center, The Children's Hospital of Philadelphia, Department of Pediatrics, University of Pennsylvania, PA, USA; ³Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Italy.

Introduzione. MLL (Mixed Lineage Leukemia) è una oncoproteina che risulta geneticamente alterata in particolari sottotipi di leucemie acute. L'attività della proteina MLL si esplica durante l'embriogenesi modulando sia l'espressione dei geni omeotici che il differenziamento e la proliferazione dei progenitori ematopoietici. Lo zebrafish (*Danio rerio*) è oggi considerato uno dei modelli più rilevanti per la biologia cellulare dello sviluppo normale e patologico. Una caratteristica fondamentale dello zebrafish è quella di presentare embrioni trasparenti che permettono l'osservazione *in vivo* di tutte le fasi dell'embriogenesi di un vertebrato. In aggiunta i processi genetici che controllano l'ematopoiesi sono ben conservati e i tumori che sviluppano in zebrafish sono istologicamente simili a quelli umani.

Scopo. Caratterizzare il gene MLL omologo in zebrafish (*zmll*) e utilizzare questo sistema modello per studiare la leucemia indotta dalle proteine MLL di fusione.

Metodi. Primers specifici per ZMLL sono stati disegnati dopo analisi *in silico* utilizzando le principali banche dati ESTs e genomiche di zebrafish (www.ncbi.nlm.nih.gov, www.ensembl.org/Danio_rerio) e analisi di allineamento e filogenesi mediante il programma ClustalW (www.ebi.ac.uk/clustalw/). Tutti i prodotti di PCR sono stati clonati, sequenziati e analizzati mediante blastp (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) e l'algoritmo CDART (www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/lexington/lexington.cgi). L'espressione del trascritto *zmll* è stato valutato mediante PCR quantitativa in embrioni raccolti durante le 2, 6, 8, 10, 16, 24, 72 ore dopo fertilizzazione (hpf) e nell'adulto.

Risultati. Mediante long-distance PCR è stato ottenuto un prodotto di PCR di circa 12kb che dopo clonaggio e sequenziamento ha rivelato una sequenza in-frame codificante per una proteina *zmll* predetta di 4,137 amminoacidi. La proteina *zmll* mostra una identità amminoacidica del 45.7% con la proteina MLL umana conservando i più importanti domini funzionali. Dall'analisi di espressione genica si rileva un alto livello di mRNA durante le fasi iniziali dello sviluppo embrionale (dalle 2 alle 16 hpf), per poi decrescere ed aumentare significativamente nello stadio di adulto.

Conclusioni. Questi risultati dimostrano che la proteina MLL è altamente conservata tra le diverse specie, confermano il suo ruolo durante l'embriogenesi e suggeriscono una possibile funzione nell'adulto. Zebrafish è risultato un sistema modello in cui approfondire le funzioni del gene MLL e il suo ruolo nel processo leucemogenico.

P046**LINFOMA DI BURKITT (LB) IN BAMBINI CON HIV**

Caruso R,¹ Funari D,¹ Pansini V,¹ Bernardi S,² Livadiotti S,² Martini AM,² Pontrelli G,² Lombardi A¹

Ospedale Bambino Gesù, Roma; ¹Divisione di Ematologia, ²Divisione di Immunoinfettivologia

Introduzione. I pazienti con infezione da HIV hanno un rischio più elevato, rispetto alla popolazione normale, di sviluppare un LB; dopo l'introduzione della terapia antiretrovirale, in associazione a vari regimi di chemioterapia, la prognosi è migliorata e l'EFS/OS tendono ad avvicinarsi a quelli dei bambini HIV negativi.

Metodi. Dal 1992 ad oggi sono giunti alla nostra osservazione quattro pazienti affetti da LB associato ad HIV a trasmissione materno-fetale: 3 come prima manifestazione di malattia, 1 come secondo tumore. Tutti di sesso maschile, avevano, all'esordio, rispettivamente 120, 95,58 e 212 mesi, con grave immunodepressione e valori di viremia HIV > 500.000 copie/mL (bDNA) (CDC C3). Due bambini erano in stadio II (Murphy), uno in stadio III ed uno in stadio IV per SNC positivo. Tutti sono stati trattati secondo i protocolli AIEOP LNH (92 e 97), tre con riduzione del MTX, in associazione a terapia antiretrovirale secondo i regimi terapeutici del momento.

Risultati. Tutti i bambini hanno raggiunto la Remissione Completa con buona tolleranza alla chemioterapia, uno ha presentato tossicità epatica e neurologica dopo il primo ciclo di chemioterapia. Attualmente tutti sono vivi e in prima Remissione Completa rispettivamente a 180, 144, 60 e 6 mesi dall'esordio.

Conclusioni. I Linfomi non Hodgkin (LNH) rappresentano il 65-83% dei tumori HIV correlati, l'incidenza in età pediatrica è 100 volte più alta rispetto alla popolazione sana. Il LB rappresenta il 40% dei LNH in corso di AIDS. L'uso della terapia antiretrovirale ha migliorato la prognosi di questi pazienti riducendo la tossicità ematologica, il numero di infezioni opportunistiche intercorrenti e aumentando la compliance alla chemioterapia. Pertanto l'HIV positività non deve essere criterio di esclusione dai protocolli pediatrici utilizzati per i LNH ed in particolare per i LB HIV negativi.

P047**NUOVI DATI SULLA ROBUSTEZZA DEL PATTERN D'ESPRESSIONE GENICA NELLE LEUCEMIE: CONFRONTO DI TRE DISTINTI METODI D'ESTRAZIONE DELL'RNA**

Campo Dell'Orto M,¹ Zangrando A,¹ Trentin L,¹ Li R,² Liu W,² te Kronnie G,¹ Basso G,¹ Kohlmann A²

¹Università di Padova, Laboratorio of Oncoematologia, Dipartimento di Pediatria, Italia. ²Roche Molecular Systems, Inc., Department of Genomics and Oncology, Pleasanton, CA, USA.

Introduzione e obiettivi. Molte neoplasie, anche ematologiche, sono state classificate tramite microarray gene expression (MAGE) che potrebbe essere, nel prossimo futuro, un nuovo strumento per lo studio dei tumori. Nonostante ciò, sono ancora molti i dubbi sulla sua efficienza nella diagnosi di laboratorio. In particolare, la qualità dell'RNA di partenza, è un grande problema e non è stato spiegato quale sia l'effetto di diversi metodi d'estrazione sul profilo d'espressione genica. All'interno del MILE study, abbiamo analizzato tre diverse metodologie per isolare l'RNA studiando 27 pazienti rappresentativi di nove sottotipi di leucemia acuta (LA) pediatrica.

Metodi. Metodo A: lisi delle cellule mononucleate leucemiche, omogeneizzazione del lisato e isolamento dell'RNA totale; metodo B: metodo TRizol; metodo C: metodo TRizol seguito dalla purificazione dell'RNA totale. Per ciascun campione (24) i metodi sono stati analizzati in triplicato e per tre campioni sono stati fatti replicati tecnici di ciascun esperimento (HG-U133 Plus 2.0).

Risultati. I campioni leucemici della stessa classe ed estratti con metodi diversi, hanno MAGE comparabile, dimostrando così che diverse metodiche per l'isolamento dell'RNA non alterano la globale distribuzione del segnale. Analisi non supervisionata: i pazienti clusterizzano prima in base alle repliche d'estrazione, poi al tipo di leucemia e in fine alla linea leucemica. Le B-LAL sono separate da T-LAL e LAM, rispecchiando le caratteristiche biologiche delle leucemie e l'effetto secondario del metodo d'estrazione dell'RNA. Analisi supervisionata: i pazienti clusterizzano in base alla presenza o meno di particolari traslocazioni come già riportato in recenti studi.

Conclusioni. Le biologia delle LA pediatriche pesa più della variabilità tra diversi protocolli per l'estrazione dell'RNA. Inoltre, il metodo A che dall'analisi dei replicati tecnici, è risultato più preciso e riproducibile, genera un maggior numero di geni differenzialmente espressi tra le classi di leucemia analizzate. Il metodo A quindi, associato ad un protocollo standardizzato per l'analisi di microarray, contribuisce alla robustezza dei dati MAGE ed è facilmente applicabile nella pratica di laboratorio.

P048**VALUTAZIONE DELL'ESPRESSIONE DEL GENE HTERT IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA LEUCEMIA ACUTA: DATI PRELIMINARI**

Giannelli R, Bulleri M, Di Quirico D, Fiori B, Favre C

Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, U.O. Oncoematologia Pediatrica, Pisa

Introduzione e obiettivi. La telomerasi è un enzima ribonucleoproteico che permette la sintesi de novo delle estremità telomeriche la cui attivazione è stata dimostrata nella quasi totalità delle neoplasie di diversa origine istologica. Lo scopo di questo studio è quello di analizzare, tramite PCR quantitativa, il livello di espressione del gene della trascrittasi inversa della telomerasi umana (hTERT) nelle leucemie acute in età pediatrica per valutare la possibilità di utilizzare tale gene come marker prognostico.

Metodi. In questo studio abbiamo quantificato l'espressione di hTERT in 15 campioni di sangue periferico di 4 pazienti affetti da leucemia linfoblastica acuta (LLA) e 1 affetto da Linfoma. Il prelievo è stato effettuato il giorno della diagnosi e nelle varie fasi della terapia. La quantificazione è stata effettuata mediante Real time RT-PCR con lo strumento ABI Prism 7900 HT utilizzando un saggio Premade (hTERT-TaqMan® Gene Expression Assays Applied Biosystem).

Risultati. In tre pazienti affetti da LLA emerge un'elevata espressione di hTERT alla diagnosi seguita da una sensibile riduzione già dopo il primo ciclo chemioterapico. Per un paziente è stata confermata la tendenza alla riduzione con l'avanzamento della terapia mentre in due pazienti, nei quali sono stati rilevati livelli di malattia minima residua >1(10)-2 al giorno +78 di terapia, è stata osservata una contemporanea ripresa dell'espressione di hTERT. Nel paziente affetto da linfoma l'espressione di hTERT è risultata bassa sia alla diagnosi che durante la terapia. Nei controlli sani si è sempre rilevata una bassa espressione

Conclusioni. I risultati preliminari indicano che l'espressione di hTERT potrebbe essere associata alla patogenesi delle leucemie acute e potrebbe anche avere un ruolo nel monitoraggio della malattia minima residua durante la terapia. Per confermare queste osservazioni è necessario analizzare un numero maggiore di pazienti.

P049

RISULTATI A LUNGO TERMINE OTTENUTI NEI BAMBINI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (LLA) AD IMMUNOFENOTIPO T ARRUIOLATI NEI PROTOCOLLI AIEOP LLA 91 E 95

Rizzari C, Conter V, Valsecchi MG, Aricò M, Barisone E, Basso G, Biondi A, Casale F, Citterio M, De Rossi G, Lo Nigro L, Locatelli F, Messina C, Micalizzi C, Parasole R, Pession A, Rondelli R, Santoro N, Silvestri D, Testi AM, Masera G

Comitato Scientifico e di Studio per la Leucemia Linfoblastica Acuta dell'AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica)

Obiettivo. Valutare i risultati a lungo termine ottenuti nei protocolli AIEOP-LLA 91 e 95 nei bambini con LLA-T.

Pazienti e trattamento. Nei protocolli 91 e 95 sono stati reclutati rispettivamente 1192 e 1744 pazienti; di questi, rispettivamente, 129 (10,9%) e 191 (11,0%) presentavano un immunofenotipo T. In entrambi i protocolli i pazienti con LLA-T non erano eleggibili alla fascia a rischio standard. Il trattamento era caratterizzato, nei pazienti a rischio intermedio (MR), da: induzione (protocollo IA+IB), consolidamento (HD-MTX a 5g/mq \times 4), reinduzione (protocollo II) e mantenimento (6-MP/MTX); nei pazienti a rischio alto (HR) da: induzione (fase IA nel 91 e fase IA+IB nel 95); blocchi intensivi (n=9 nel 91 ed n=3 nel 95); reinduzione (nessuna nel 91, protocollo II somministrato due volte nel 95), mantenimento (6-MP/MTX; con pulsos di VCR/PDN solo nel 95). Il trattamento profilattico sul SNC nei pazienti MR consisteva, dopo la dose all'esordio di IT-MTX, di TIT protratte nel protocollo 91 per tutti i pazienti e nel protocollo 95 per i pazienti con GB <100.000/mmc alla diagnosi; i pazienti MR con GB \geq 100.000/mmc nel protocollo 95 venivano trattati con TIT (10 dosi) e radioterapia craniale (RTC, 18Gys). Tutti i pazienti ad HR venivano sottoposti a RTC. La durata del trattamento era di 24 mesi. La mediana di follow-up nei protocolli 91 e 95 era di 8,5 e 7,3 anni, rispettivamente.

Risultati. Nei protocolli 91 e 95 i pazienti a MR erano, rispettivamente, 61 (46,9%) e 124 (64,9%) mentre i pazienti a HR erano 69 (53,1%) e 67 (35,1%). L'EFS (SE) globale ottenuto a 8 anni nei pazienti con LLA-T nei protocolli 91 vs 95 è stato rispettivamente: overall 37,1% (4,3) vs 64,1% (3,6); MR 49,6% (6,5) vs 71,3% (4,3); HR 26,1% (5,3) vs 50,5% (6,1); prednisone good responders (PGR) 42,5 (5,1) vs 69,5% (4,3); prednisone poor responders (PPR) 31,8 (9,9) vs 51,5% (6,6); MR+GB <100,000/mmc 59,9% (7,2) vs 74,7% (5,1); MR+GB \geq 100,000/mmc 8,3 (8,0) vs 65,9% (7,1); HR+GB <100,000/mmc 51,1% (4,9) vs 67,2% (4,8); HR+GB \geq 100,000/mmc 21,3 (5,2) vs 60,8% (5,3).

Conclusioni. I dati qui riportati confermano che i risultati nei pazienti con LLA-T sono migliorati nel protocollo 95 soprattutto grazie all'intensificazione del trattamento (fase IB e doppio protocollo II) nei pazienti ad HR (soprattutto con PPR) ed all'uso della RTC nei pazienti MR con GB \geq 100.000/mmc alla diagnosi.

P050

MONITORAGGIO DELLA MALATTIA RESIDUA MINIMA (MRM) IN PAZIENTI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (LAL) DI TIPO S3-S4 TRATTATI CON IL PROTOCOLLO AIEOP LAL REC 2003

Paganin M,¹ Zecca M,² Fabbri G,¹ Polato K,¹ Biondi A,³ Conter V,³ Rizzari C,³ Locatelli F,² Basso G¹

¹Laboratorio di Onco-Ematologia, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Italia; ²Laboratorio di Immunologia dei Trapianti e Pediatria Emato-Oncologica, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Università di Pavia, Pavia, Italia; ³Centro Ricerche Leucemie Infantili M. Tettamanti, Clinica Pediatrica Università Milano-Bicocca, Monza, Italia

Introduzione. La quasi totalità dei pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta raggiunge la remissione completa continua ma esiste ancora un 20% di questi che va incontro ad una recidiva di malattia. L'EFS dei recidivati varia tra il 5% e il 70%. Il protocollo di trattamento delle recidive di LLA attualmente in uso in Italia (AIEOP LAL REC 2003) prevede la stratificazione dei pazienti in classi di rischio: basso-medio (S1-S2) e alto (S3-S4) in base all'immunofenotipo, al tempo e alla sede di ricaduta. In questo studio abbiamo valutato il valore prognostico della malattia residua minima durante il trattamento chemioterapico nei pazienti S3-S4.

Materiali e metodi. Sono stati studiati 46 pazienti. Per ogni paziente è stato analizzato il profilo di clonalità con PCR di screening e l'analisi heteroduplex dei riarrangiamenti Ig/TCR; è stata analizzata la malattia residua minima (MRM) attraverso RQ-PCR in diverse fasi della terapia: dopo 3-5 settimane (TP1), dopo 6-8 settimane (TP2) e le 9-16 settimane (TP3) post-ricaduta. Successivamente al trattamento chemioterapico iniziale a blocchi intensivi previsto dal protocollo, la maggior parte dei pazienti che ha raggiunto la remissione morfologica, indipendentemente dai risultati di MRD, è stato sottoposto ad un trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore, familiare o non consanguineo.

Risultati. 35/46 pazienti sono stati analizzati al TP1. A questo TP post-induzione 14 pazienti risultano altamente positivi (MRM>10⁻³) e 21 negativi o con bassi livelli di malattia (MRM<10⁻³); l'EFS risulta rispettivamente 14% e 47% (p-value = 0,01). In totale 46 pazienti sono stati analizzati ad almeno uno dei prelievi previsti durante il follow-up (TP1, TP2 o TP3) e l'EFS dei pazienti che hanno MRM<10⁻³ in almeno uno dei prelievi è risultato del 50% mentre i pazienti con MRM>10⁻³ hanno un EFS del 10% (p= 0,005).

Conclusioni. I nostri dati indicano che l'analisi di MRM già nelle prime fasi della terapia post-ricaduta è un importante indicatore predittivo di outcome dei pazienti S3-S4. La risposta molecolare precoce misurata dall'MRM potrebbe essere d'aiuto nelle decisioni di trattamento specialmente in questa classe di pazienti con bassa possibilità di sopravvivenza e che potrebbero essere avviati a terapie sperimentali.

P051

IL FATTORE DI TRASCRIZIONE ICER INDUCE APOPTOSI NELLE HL60 MODULANDO L'ATTIVITÀ DI CREB

Pigazzi M, Manara E, Basso G

Università di Padova, Dipartimento di Pediatria, Clinica di Oncematologia Pediatrica, Padova, Italy

Introduzione. Il fattore di trascrizione cAMP response element binding protein (CREB) è diventato recentemente un interessante target di studio nella leucemia acuta. In partico-

lare, CREB è upregolato in pazienti affetti sia da leucemia mieloide che linfoide, è associato a un alto rischio di ricaduta e alla trasformazione neoplastica attraverso la upregolazione dei suoi geni target. La nostra osservazione che la sovra espressione di CREB nella leucemia correla con la bassa espressione del suo inibitore cAMP inducibile early repressor (ICER), ha aperto nuove prospettive che ICER potrebbe essere un importante gene target. ICER è noto riconoscere la stessa sequenza consenso di CREB, CRE, nei promotori dei geni target e reprimere la trascrizione in altri tessuti.

Metodi. È stato costruito un vettore di espressione per ICER e inserito stabilmente in HL60. È stato condotto lo studio dell'espressione di una serie di geni target di CREB attraverso dei low density array in RQ-PCR. Mediante l'analisi dell'attività di un gene reporter è stato valutato il ruolo di ICER nel riconoscere lo stesso promotore di CREB. L'immunoprecipitazione cromatinica è stata condotta per l'individuazione di geni regolati da CREB e ICER nel tessuto leucemico. L'effetto della downregolazione genica è stato investigato anche a livello proteico mediante western blot. Infine, è stata valutata l'apoptosi indotta da Etoposide nella linea stabilizzata con ICER per vederne l'eventuale effetto biologico.

Risultati. L'introduzione di ICER nelle HL60 rende le cellule leucemiche significativamente più sensibili all'etoposide, bloccando il ciclo cellulare in fase G2 e mandando velocemente le cellule in apoptosi. ICER inoltre diminuisce la capacità clonogena delle HL60. In particolare, ICER downregola i geni target di CREB riconoscendo il medesimo promotore. La modulazione della trascrizione si ripercuote anche a livello proteico, identificando così una serie di nuovi geni nella leucemia finora non indagati.

Conclusioni. L'induzione di ICER *in vitro* modula l'attività cellulare delle HL60. ICER potrebbe divenire un nuovo bersaglio terapeutico. La comprensione del pathway CREB/ICER potrebbe fornire nuove conoscenze sulla leucemogenesi.

P052

STUDIO FARMACOGENOMICO DELLA RESISTENZA ALLA CLOFARABINA IN PAZIENTI PEDIATRICI DI LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA

Formica S,¹ Astolfi A,¹ Franzoni M,¹ Melchionda F,¹ Pession A¹

¹Oncologia ed Ematologia Pediatrica "Lalla Seragnoli", Clinica Pediatrica, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

Introduzione. La leucemia è la principale forma tumorale in età pediatrica. Oggi circa l'80% dei pazienti pediatrici con Leucemia Acuta Linfoide (LAL) guarisce definitivamente, mentre per i pazienti refrattari alle terapie di prima linea la prognosi rimane infausta ed è richiesto lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. La Clofarabina è un farmaco di nuova generazione, un analogo purinico che in studi pre-clinici e clinici è risultato un efficace strumento terapeutico in pazienti pediatrici di LAL refrattari o recidivati.

Obiettivi. Questo lavoro si propone di valutare l'efficacia della Clofarabina su blasti di pazienti pediatrici di LAL e di identificare i profili genetici associati alla risposta o resistenza al trattamento.

Materiali e metodi. L'efficacia della Clofarabina è stata valutata *in vitro* su blasti di LAL di lineage T e B con il saggio di vitalità WST-1. La sensibilità è stata misurata in termini di concentrazione del farmaco associata al 70% di mortalità cellulare (LC70). Per identificare i profili genetici di risposta o resistenza al trattamento, è stato analizzato il profilo di espressione genica dei blasti dei pazienti alla diagnosi con Gene-

Chip Affymetrix.

Risultati. Sono stati identificati casi di sensibilità (mediana LC70: 0.041 microg/mL; range: 0.006-0.17 microg/mL) e di resistenza alla Clofarabina (mediana LC70: 88.5 microg/mL; range: 13.7 -105.3 microg/mL). I casi di LAL-T sono risultati mediamente più resistenti dei LAL-B (mediana LC70: 6.96 vs 0.035 microg/mL). Il quadro clinico dei pazienti suggerisce che la sensibilità al farmaco non sia associata ad alterazioni genetiche note, alla stratificazione del rischio in base alla MRD e alla risposta al prednisone. Lo studio di espressione genica ha permesso di identificare 90 geni espressi in maniera differenziale fra pazienti resistenti e sensibili (p value < 0.005). Tali geni sono coinvolti nel metabolismo dei farmaci (metabolismo delle purine, del glutamato e degli xenobiotici mediato da CYP450), nelle vie di trasmissione del segnale JAK-STAT e MAPK e nell'apoptosi.

Conclusioni. I risultati ottenuti aprono nuove prospettive per l'identificazione precoce dei pazienti di LAL responsivi o refrattari alla Clofarabina. L'estensione dello studio ad altri casi di LAL e LAM permetterà di confermare la *signature* genetica associata alla resistenza al farmaco.

P053

IPERGLICEMIA DURANTE TERAPIA DI INDUZIONE IN PAZIENTI PEDIATRICI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA: CASISTICA DI SINGOLO CENTRO

Farinasso L,¹ Parodi E,¹ Renga D,¹ Galletto C,¹ Saracco P,¹ Sacchetti C,² Saglio F,¹ Barisone E,¹ Bertorello N,¹ Rivetti E,¹ Cordero di Montezemolo L¹

¹Dipartimento di Onco-Ematologia Pediatrica, Università degli Studi di Torino e ASL OIRM-Sant'Anna; ²SCDU Diabetologia Pediatrica, Università degli Studi di Torino

Introduzione. Pochi sono i dati relativi all'incidenza di iperglicemia dovuta all'associazione di corticosteroidi e L-Asparaginasi nella fase di induzione in pz pediatrici con LLA.

Obiettivi. Valutare l'incidenza di iperglicemia protratta richiedente terapia insulinica e di valori isolati di glicemia basale superiori a >100 mg/dL in pz con LLA in induzione e verificare eventuale correlazione con glicemia basale alla diagnosi, indice di massa corporea (BMI), stadio puberale, familiarità per diabete mellito (DM) tipo I e II, tipo di corticosteroide (desametasone, DXM o prednisone, PDN).

Metodi. In pz consecutivamente diagnosticati per LLA tra ottobre 2005-maggio 2007 presso Dipartimento Onco-Ematologia di Torino e trattati secondo protocollo AIEOP 2000 e R2006, abbiamo valutato retrospettivamente: stadio puberale, peso, altezza, BMI e relativo centile alla diagnosi, familiarità per DM in prima e seconda generazione, glicemia basale alla diagnosi (T0, prima del trattamento), al gg+15 (T1, dopo 1 somministrazione di L-Asp) e al gg+29 (T2, dopo 5 somministrazioni di L-Asp).

Risultati. Arruolati 46 pz (28 M e 18 F); età mediana alla diagnosi 4 anni (range 1-16 anni); 25 trattati con DXM, 21 con PDN; 9 con familiarità per DM tipo I,II o gestazionale. Hanno presentato iperglicemia protratta richiedente terapia insulinica 2/46 (Insulina Rapida prima di colazione, pranzo, cena; Intermedia prima di coricarsi). Pz 1) M, 13aa/6mesi, pubere, PDN, BMI 50°-75° centile, familiarità per DM II in linea materna e paterna; Pz 2) M, 2 anni/5 mesi, prepubere, DXM, BMI 10°, non familiarità per DM. Entrambi con glicemia T0 normale. Abbiamo riscontrato valori isolati di glicemia basale >100 mg/dL a T0 in 12/46, BMI>85° in 1/12; a T1 in 6/46 (3DXM, 3PDN; familiarità per DM II in 2/6. BMI >85° in 1/6); a T2 in 3/46 (2DXM, 1PDN; familiarità per DM II in 1/3; BMI

>85° in 3/3). Tutti hanno seguito modesta restrizione di zuccheri a rapido assorbimento; i 2 pz con iperglicemia protratta hanno eseguito automonitoraggio glicemico. La mediana della glicemia a T0, T1 e T2 è risultata sovrapponibile nei pz trattati con DXM e PDN (tab 1; $p>0.05$).

Conclusioni. I risultati preliminari non evidenziano differenze nell'incidenza di iperglicemia in pz trattati con PDN o DXM. È necessario studio prospettico su ampia casistica per valutare fattori predisponenti la comparsa di scompenso iperglicemico.

Tabella.

	Glicemia mediana		
	T0	T1	T2
Tutti i pazienti	86	78	71
Pazienti trattati con PDN	85	80	65
Pazienti trattati con DXM	87	78	74

P054

RISPOSTA IMMUNOLOGICA UMORALE ANTI-ALK 'IN VIVO' NEI LINFOMI ANAPLASTICI A GRANDI CELLULE (ALCL) PEDIATRICI

Mussolin L,¹ Bonvini P,¹ Pillon M,¹ Tridello G,¹ Buffardi S,² Conter V,³ Lombardi A,⁴ Garaventa A,⁵ Aricò M,⁶ Rosolen A¹

¹Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera- Università di Padova, Padova; ²Ospedale Pausilipon, Napoli; ³Clinica Pediatrica, Ospedale S. Gerardo, Monza; ⁴Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ⁵Ematologia Pediatrica, Istituto Gaslini, Genova; ⁶Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo;

Introduzione e obiettivi. L'aberrazione cromosomica più frequente nel Linfoma Anaplastico a Grandi Cellule (ALCL) è la t(2;5)(p23;q35) che dà origine al gene di fusione NPM-ALK attivo dal punto di vista trascrizionale. La proteina di fusione NPM-ALK è un antigene associato al tumore (TAA) capace di provocare un'immunità umorale *in vivo* anti-ALK in pazienti affetti da ALCL. Scopo del nostro lavoro è stato a) determinare la presenza di anticorpi anti-ALK alla diagnosi nel siero di pazienti affetti da ALCL trattati all'interno dei protocolli AIEOP LNH-97 e ALCL-99 b) valutare se il titolo anticorpale (TA) correla con la presenza di malattia minima disseminata (MMD) e la prognosi.

Metodi. Il siero alla diagnosi di 33 pazienti affetti da ALCL ALK positivi, è stato testato mediante un saggio immunocitochimico per valutare la presenza di anticorpi anti-ALK. Cellule COS-7, transfettate transientemente con un vettore di espressione per NPM-ALK, sono state incubate per 30' con diluizioni crescenti di plasma dei pazienti (al fine di definire il TA) e successivamente marcate con immunoperossidasi. Il midollo osseo (BM) alla diagnosi della maggior parte dei pazienti (27) è stato inoltre studiato mediante Real-Time PCR per determinare il numero di copie di trascritto NPM-ALK eventualmente presenti.

Risultati. Il 91% dei pazienti presentava una positività anticorpale anti-ALK nel siero all'esordio e di questi il 44% (12/27) presentavano MMD a livello midollare. Non abbiamo osservato alcuna associazione tra il TA e l'appartenenza al gruppo di rischio (Standard risk vs High risk), mentre quasi tutti i pazienti con MMD appartenevano al gruppo di rischio alto (10/12) e possedevano, nella maggior parte (75%), TA elevato. La PFS per i due gruppi di pazienti (TA elevato vs basso) non è risultata significativamente diversa, possibilmente per la casi-

stica ancora limitata, anche se abbiamo osservato una tendenza verso una PFS migliore per i pazienti con TA elevato. La determinazione del TA eseguito entro un anno dalla diagnosi ha mostrato un notevole decremento della risposta anticorpale in 15/20 pazienti, mentre in 5 il TA è rimasto invariato.

Conclusioni. La maggior parte dei pazienti ALCL ALK positivi studiati presenta elevato TA e ciò si associa ad una prognosi tendenzialmente migliore. Lo studio esteso ad una casistica più ampia potrà meglio stabilire le eventuali implicazioni terapeutiche e prognostiche.

P055

ANALISI DELLA SOPRAVVIVENZA DEI PAZIENTI AFFETTI DA LINFOMA NON HODGKIN A CELLULE B (LNH B) CON LOCALIZZAZIONE SNC: RISULTATI DEL PROTOCOLLO NAZIONALE AIEOP LNH 97

Pillon M, Mussolin L, Lombardi A, Garaventa A, Piglione M, Buffardi S, Lippi A, Giuliano M, Sala A, Santoro N, Mura R, Nardi M, Lo Nigro L, Cellini M, Varotto S, De Santis R, Zanazzo GA, d'Amore ES, Rosolen A

Clinica di Oncoematologia pediatrica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova. Per il CSS AIEOP LNH

Introduzione ed obiettivi. Dai dati riportati in letteratura risulta che i pazienti affetti da LNH B con localizzazione al sistema nervoso centrale (SNC pos) abbiano una prognosi significativamente peggiore rispetto ai pazienti ad alto rischio SNC negativi (neg) ed agli altri gruppi di rischio. Scopo del lavoro è l'analisi della sopravvivenza dei pazienti con LNH B SNC pos. trattati nel protocollo AIEOP LNH 97, gruppo R4, confrontandola con quella dei pazienti SNC neg., gruppo R4, e con quella degli altri gruppi di rischio.

Metodo. Analisi della sopravvivenza inter e intra gruppo (Kaplan-Meier, log-rank test). Il protocollo prevede 4 gruppi di rischio (R1-R4) suddivisi in base a stadio, valore di LDH, sede midollare (BM) o SNC. Il trattamento per il gruppo di rischio R4 consiste in una prefase, seguita da 6 cicli di chemioterapia di 5 giorni ciascuno. Ogni ciclo prevede 1 rachi-centesi (a tre farmaci) se SNC neg o 3 rachi-centesi (2 a due farmaci e 1 a tre farmaci) a giorni alterni se SNC pos, senza RT craniale. Sono escluse dall'analisi le LLA B.

Risultati. Da ottobre 1997 a gennaio 2007 sono stati trattati 319 pazienti con LNH B (R1 14; R2 118; R3 72; R4 SNC neg 99; SNC pos 16) ottenendo una OS e una EFS di 91% e 87%, rispettivamente, e una EFS per gruppo di 100%, 95%, 85% e 77%, rispettivamente ($p<0.001$). Nel gruppo R4, i pazienti SNC pos. (15 M/1 F, età mediana 8.8 anni) hanno una sopravvivenza sovrapponibile a quella dei pazienti SNC neg (OS 79% vs. 82% e EFS 80% vs. 76%, $p=ns$), mentre hanno una sopravvivenza migliore rispetto ai pazienti SNC neg ma con BM pos. e LDH>1000UI/L (EFS 80% vs. 51%, $p=ns$). Sedi alla diagnosi: 8/16 massa intracranica, 6/16 coinvolgimento nervi cranici, 6/16 blasti nel liquor, 5/16 orbita, 3/16 oculare, combinate con seni paranasali/rinofaringe (9), addome (6), torace (2), testicolo/egato/reni/osso (9), BM (3). La RC è stata ottenuta in 14/16 casi; nessuna recidiva. Tre/16 sono deceduti, 2 per PM e 1 per sepsi in I RC.

Conclusioni. Nella nostra casistica, i pazienti SNC pos. hanno una sopravvivenza migliore rispetto a quella riportata da altri gruppi collaborativi. A questo risultato potrebbe aver contribuito il tipo di profilassi del SNC adottato, diverso da quello BFM e FAB. Nel protocollo LNH97 la localizzazione SNC non spiega la ridotta sopravvivenza del gruppo R4; altri fattori vanno cercati per giustificare la peggiore prognosi di questo gruppo.

P056**ANALISI COMPARATIVA DELLA TOSSICITÀ E DELLA SOPRAVVIVENZA NEI DUE PROTOCOLLI NAZIONALI AIEOP LNH92 E LNH97 PER I LINFOMI LINFOLASTICI**

Pillon M, Mainardi C, Tridello G, Mussolin L, Garaventa A, D'Angelo P, Tettoni K, Giraldo E, Grotto P, Conter V, Burnelli R, Consarino R, Arcamone GP, Zecca M, Bertolini P, Mascarin M, Pierani P, ZanESCO L, Rosolen A

Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera, Università di Padova, per il CSS AIEOP LNH

Introduzione e obiettivi. L'analisi del protocollo AIEOP LNH92 per i LNH non-B ha rilevato un elevato numero di episodi di tossicità ematologica, epatica e gastrointestinale (GI) di III-IV grado WHO, concentrati nella parte finale della fase di Induzione della RC (post antracicline), causando modulazione eccessiva dei farmaci e ritardo di inizio del Consolidamento. La conseguente minore dose-intensità della terapia era potenziale causa di minore sopravvivenza rispetto a quella di altri gruppi collaborativi. Con l'obiettivo di migliorare la sopravvivenza e di ridurre la tossicità, è stato elaborato il protocollo AIEOP LNH97 che prevedeva modifiche maggiori della fase di Induzione (diversa modalità di somministrazione e dose di antracicline, oltre che di L-Asparaginasi e ciclofosfamide), aggiunta della fase di Reinduzione (per lo stadio III-IV) e semplificazione del Mantenimento. Scopo del lavoro è l'analisi comparativa della sopravvivenza e della tossicità nei due protocolli consecutivi LNH92 e 97.

Metodi. Analisi comparativa della sopravvivenza tra i due protocolli, mediante Kaplan-Meier e log-rank test, e degli episodi di tossicità - ematologica, epatica e GI- di III-IV grado, in Induzione e Consolidamento, mediante Mann-Whitney test. Analisi descrittiva della tossicità in Reinduzione, per il protocollo LNH97.

Risultati. Nel protocollo LNH92, 48/55 pazienti erano valutabili per tossicità in Induzione, con 52, 41 e 15 episodi di tossicità ematologica, epatica e GI, rispettivamente, contro 81, 35 e 25 episodi dei 101/101 pazienti valutabili del LNH97 ($p=0.02$, $p=0.001$, $p=0.3$). Nel Consolidamento, i 48 pazienti valutabili del protocollo LNH92 hanno sofferto 64, 16 e 1 episodio di tossicità ematologica, epatica e GI, a fronte di 125, 32 e 21 episodi dei 99/101 pazienti valutabili del LNH97 ($p=0.7$, $p=0.6$, $p=0.02$). Nel protocollo LNH97, la Reinduzione è stata caratterizzata da 124, 27 e 18 episodi di tossicità ematologica, epatica e GI presentati da 86/101 pazienti valutabili. Il protocollo AIEOP LNH97 ha una sopravvivenza a 5 anni migliore rispetto al protocollo LNH92 (OS 81% vs.74%, EFS 74% vs.69%, $p=ns$)

Conclusioni. Il protocollo LNH97 ha mostrato una minore tossicità ematologica ed epatica in Induzione, ed una maggiore sopravvivenza.

P057**INDICAZIONI ALL'USO E PROFILO DI TOSSICITÀ DELLA DOXORUBICINA LIPOSOMIALE NON PEGILATA (MYOCET®) IN EMATOLOGIA ED ONCOLOGIA PEDIATRICA**

Morello W*, Fagioli F, Favre C, Garaventa A, Ladogana S, Rizzari C, Sperli D, Pession A

Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna

Introduzione e obiettivi. L'uso della Doxorubicina, antibiotico antraciclinico tra i più efficaci in Tumori Solidi (TS) Leucemie Acute Linfoblastiche (LAL) e Mieloidi (LAM), è limitato da una specifica tossicità cardiaca che compare in una considerevole percentuale di pazienti per dosi cumulative superiori a 400 mg/mq. La sua formulazione liposomiale non pegilata (Myocet) ne riduce l'accumulo nel tessuto miocardico e le oscillazioni della concentrazione plasmatica, migliorandone l'indice terapeutico.

Metodi. Per valutare le indicazioni all'uso di Myocet in una popolazione pediatrica ed individuarne lo spettro di tossicità sono stati valutati 33 pazienti d'età mediana (min-max) 9 (0.5-25) anni, affetti da malattie ematologiche maligne o TS, in prima diagnosi o recidiva, trattati in 7 centri AIEOP con Myocet in associazione ad altri chemioterapici o in monoterapia.

Risultati. 33 pazienti, 20 LAL, 9 LAM, 3 TS e 1 affetto da Linfoma Non Hodgkin, 6 alla diagnosi 27 alla recidiva, sono stati trattati con dose mediana (min-max) di Myocet di 150 (0-610) mg/mq. Uno solo ha sviluppato un evento avverso severo (sepsi). Neutropenia di grado 3-4 è stata riscontrata in 28 casi, trombocitopenia di grado 3-4 in 27; 14 pazienti hanno sviluppato mucosite di grado 3-4, 6 infezioni di grado 3-4; altri effetti collaterali riscontrati comprendono tossicità gastrointestinale, nausea e vomito. La dose mediana (min-max) precedente di antracine era 240 (0-610) mg/mq. In nessun paziente è stata documentata tossicità cardiaca, valutata con ecocardiogramma successivo al trattamento.

Conclusioni. Attualmente la principale indicazione all'uso di Myocet in ambito pediatrico rimane la profilassi della tossicità cardiaca in pazienti con LAL o LAM in fase di recidiva precedentemente trattati con antracicline. Nella popolazione studiata Myocet è risultato sicuro in termini di tossicità cardiaca con profilo di tossicità prevalentemente midollare e gastrointestinale. È perciò ipotizzabile l'ampliamento delle indicazioni all'uso di Myocet anche a pazienti non pretrattati con antracicline soprattutto in presenza di difetti o patologie cardiache.

EMATOLOGIA E COAGULAZIONE

C012

MUTAZIONI CHE DETERMINANO ALTERAZIONI DELLO SPLICING DELL'M-RNA SONO I DIFETTI GENETICI PIU' FREQUENTI NEI PAZIENTI CON FHL3

Cannella S, Santoro A, Trizzino A, Bruno G, De Fusco C, Micalizzi C, Putti C, Conter V, Pende D, Notarangelo LD, Griffiths GM, Aricò M

Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo; Divisione di Ematologia I, A.O. V. Cervello, Palermo; Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale Pausillipon, Napoli; Onco Ematologia Pediatrica I.G. Gaslini, Genova; Onco Ematologia Pediatrica, Padova; Istituto Scientifico per la Ricerca sul Cancro, Genova; Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova, Italy; Division of Immunology, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston; Sir William Dunn School of Pathology, Oxford, UK

Introduzione. Nei pazienti con Linfoistiocitosi emofagocitica familiare definita FHL3 sono state descritte mutazioni del gene MUNC 13-4. Solo due delle mutazioni descritte sono responsabili di un'alterazione dello splicing del gene. Queste mutazioni si localizzano nelle giunzioni esone/introne o nel sito di riconoscimento U1. Il ruolo patogenetico di mutazioni che determinano siti alternativi di splicing è attualmente l'obiettivo della ricerca in varie patologie umane, con un numero crescente di mutazioni causa di malattia direttamente legate ad un processo di splicing aberrante. In alcuni casi, come ad esempio per ATM e NF1, le sostituzioni nucleotidiche che alterano i siti di splicing costituiscono più del 50% delle mutazioni patogenetiche. In questo studio abbiamo documentato come le mutazioni del gene MUNC 13-4 che danno luogo ad errori di splicing rappresentano la maggioranza delle mutazioni patogenetiche osservate nei pazienti FHL3.

Metodi. Abbiamo sequenziato il DNA genomico dei 32 esoni e delle regioni introniche adiacenti del gene MUNC 13-4, in tutti i pazienti HLH in cui era stata posta diagnosi secondo i criteri correnti, ed in cui erano state escluse mutazioni del gene PRF1. Abbiamo inoltre clonato e sequenziato il cDNA e l'RNA di alcuni pazienti selezionati per comprendere meglio il ruolo delle sostituzioni nucleotidiche sospettate di alterare lo splicing.

Risultati. Abbiamo identificato 33 famiglie con FHL3. Di queste, 21 (64%) avevano almeno una mutazione responsabile di un errore di splicing. Abbiamo osservato 9 differenti mutazioni di questo tipo: solamente 2 di esse erano già state descritte da altri gruppi; 2 erano già state incluse in un nostro recente lavoro (Santoro *et al.*, JMG 2006), mentre 5 non erano mai state descritte in precedenza.

Conclusioni. Gli errori di splicing sono frequenti in pazienti con FHL3. Questo dato ha implicazioni nella scelta della strategia di analisi delle famiglie con sospetta FHL, in quanto l'analisi delle mutazioni ristretta alle regioni esoniche codificanti può non mettere in evidenza mutazioni egualmente patogenetiche che interessano i siti di splicing. La identificazione del difetto genetico ha implicazioni cliniche immediate dal punto di vista terapeutico, di indicazione al TCSE e nella consulenza genetica e diagnosi prenatale.

C013

MUTAZIONI SEVERE DEL GENE MUNC 13-4 SONO ASSOCIATE AD UN'ESORDIO PRECOCE DI FHL3

Trizzino A, Cannella S, Santoro A, Bruno G, De Fusco C, Micalizzi C, Putti C, Conter V, Pende D, Notarangelo LD, Griffiths GM, Aricò M

Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo; Divisione di Ematologia I, A.O. V. Cervello, Palermo; Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale Pausillipon, Napoli; Onco Ematologia Pediatrica I.G. Gaslini, Genova; Onco Ematologia Pediatrica, Padova; Istituto Scientifico per la Ricerca sul Cancro, Genova; Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova; Division of Immunology, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston; Sir William Dunn School of Pathology, Oxford, UK

Introduzione. Nei pazienti affetti da Linfoistiocitosi emofagocitica familiare di tipo FHL3 sono state recentemente descritte mutazioni del gene MUNC 13-4. In questo gruppo di pazienti, sono disponibili informazioni limitate riguardo la correlazione tra genotipo e fenotipo, a causa del numero esiguo di pazienti riportati sino ad oggi. In questo studio abbiamo analizzato la nostra coorte di pazienti FHL3 per stabilire la correlazione tra l'impatto funzionale della mutazione e l'età di esordio della malattia.

Metodi. In tutti i pazienti affetti da HLH, diagnosticati secondo i criteri correnti, ed in cui non erano state messe in evidenza mutazioni del gene della perforina, abbiamo sequenziato dal DNA genomico i 32 esoni e le regioni introniche adiacenti del gene MUNC 13-4. Sono stati diagnosticati come FHL3 tutti quei pazienti in cui sono state messe in evidenza mutazioni bialleliche confermate anche nei genitori. Sono state definite mutazioni severe quelle che danno luogo ad uno stop prematuro o ad un frameshift della sequenza, mentre sono state definite missense quelle mutazioni che determinano la sostituzione di un singolo nucleotide. Questo dato è stato messo in correlazione con l'età di esordio della patologia, ed è stata successivamente verificata la significatività statistica con il test T di student. Inoltre è stato fatto un confronto con l'età alla diagnosi di nostri pazienti con FHL2 dovuta a due mutazioni severe del gene PRF1.

Risultati. Dei 29 pazienti FHL3, 16 (55%) avevano due mutazioni severe, 6 (21%) avevano due mutazioni missense, ed i rimanenti 7 avevano una mutazione severa ed una missense. L'età alla diagnosi variava da 1 mese a 17.8 anni con una mediana di 6.4 mesi. I 16 pazienti con due mutazioni severe avevano una età mediana alla diagnosi di 3 mesi (range, 0.9-11.7 anni), significativamente inferiore a quella dei 13 pazienti che presentavano almeno una mutazione missense (età mediana 94.7 mesi; range, 1 mese-17.8 anni). I 16 pazienti con FHL2 da mutazioni severe di PRF1 avevano una età alla diagnosi significativamente inferiore ($p < 0.001$).

Conclusioni. L'età alla diagnosi dell'FHL3 è significativamente minore nei pazienti con due mutazioni severe del gene MUNC 13-4, che non consentono l'espressione residua di proteina funzionale. Al contrario, l'età alla diagnosi può essere ritardata sino all'adolescenza o alla giovane età adulta, in quei pazienti in cui due mutazioni missense consentono l'espressione di quote residue di proteina funzionale. Questo aspetto ha implicazioni cliniche rilevanti nel sospetto di FHL in pazienti oltre i primi anni di vita o addirittura giovani adulti.

C014**POLIMORFISMI DEL GENE GLUTATIONE S-TRANSFERASI E FERRO CARDIACO NELLA TALASSEMIA MAJOR**Origa R,¹ Satta S,¹ Cipollina MD,¹ Perseu L,² Galanello R¹¹Ospedale Regionale Microcitemie, ASL Cagliari, 2a Clinica Pediatrica Università degli Studi di Cagliari; ²Istituto Neurogenetica e Neurofarmacologia, CNR, Selargius (Cagliari), Italy

Introduzione e obiettivi. La cardiopatia da accumulo di ferro è ancora la prima causa di morte nei pazienti affetti da talassemia trasfusione-dipendente. La risonanza magnetica permette di identificare precocemente il sovraccarico di ferro cardiaco, consentendo di prevenire con un'adeguata terapia chelante la cardiopatia clinica e riducendo significativamente la morbilità e la mortalità ad essa legate. Il ferro cardiaco non correla con il ferro epatico e con la ferritina misurata al momento della risonanza, ma con una storia di chelazione insufficiente. Tuttavia, in alcuni casi, la risonanza magnetica evidenzia la presenza di ferro cardiaco nonostante una chelazione ottimale sin dai primi anni di vita, suggerendo la possibile influenza di fattori genetici. Wu *et al.* (2007) hanno rilevato un'associazione significativa tra il genotipo null del gene GSTM1 (enzima della famiglia glutation-S-transferasi con attività antiossidante) e la presenza di ferro miocardico. Scopo dello studio è valutare se il genotipo null di GSTM1 sia fattore predisponente all'accumulo di ferro cardiaco in pazienti con buona compliance alla terapia chelante.

Pazienti e Metodi. La frequenza dei genotipi wild e null di GSTM1 in 24 pazienti con talassemia major e grave accumulo di ferro cardiaco (T2* < 10 msec) non atteso sulla base della storia della chelazione (ferritina media 1360±268 ng/mL) è stata confrontata con quella di 26 talassemici con sovraccarico di ferro atteso per la scarsa compliance alla terapia (ferritina media 4724±1530 ng/mL) e con 26 controlli sani. La definizione del genotipo GSTM1 è stata eseguita con PCR multiplex (Wu *et al.*, 2007).

Risultati. GSTM1 null era presente nel 66.7% dei pazienti talassemici con accumulo di ferro cardiaco inatteso, nel 34.6% di quelli con accumulo di ferro atteso ($p=0.02$) e nel 38.4% dei controlli sani ($p=0.04$).

Conclusioni. La presenza del genotipo null di GSTM1 può spiegare l'accumulo di ferro cardiaco in pazienti con talassemia major adeguatamente chelati sin dai primi anni di vita. Ulteriori studi sono necessari per comprendere i meccanismi che sottendono alla associazione tra polimorfismi del gene GSTM1 e predisposizione all'accumulo di ferro cardiaco.

P058**TERAPIA CON ERITROPOIETINA RICOMBINANTE NELLA PICNOCITOSI INFANTILE**Amendola G,¹ Di Concilio R,¹ D'Urzo G,¹ Amendolara M,¹ Danise P,² Perrotta S,³ Nobili B³¹U.O.C. di Pediatria e Neonatologia e ²Patologia clinica, Ospedale "Umberto I", Nocera Inferiore, (SA); ³Dipartimento di Pediatria, Seconda Università Napoli, Italy

La picnociosi infantile è caratterizzata da anemia emolitica neonatale transitoria e presenza, all'osservazione dello striscio periferico, di eritrociti distorti, con proiezioni spinose della membrana cellulare, denominati 'picnocioti'; il decorso clinico è usualmente severo. Riportiamo due casi di picnociosi infantile, che mostrarono anemizzazione grave richiedente terapia trasfusionale e, in uno dei due, elevata e persistente

iperbilirubinemia, dovuta alla co-eredità della sindrome di Gilbert, trattata con tre cicli di fototerapia. La persistenza di emolisi e di picnocioti, unite ad inappropriata risposta eritropoietica (aumentata, ma non adeguata, risposta reticolocitaria con 'normali' livelli di eritropoietina) determinarono progressiva caduta dei livelli di Hb; per evitare ulteriori trasfusioni, fu deciso, con il consenso dei genitori, un tentativo terapeutico con eritropoietina ricombinante (1000 U/kg/settimana) e supplementazione di ferro. La terapia, protratta per 6 e 4 settimane rispettivamente, determinò rapido incremento dei valori di Hb, in assenza di effetti collaterali. I pochi dati della letteratura (Tuffy *et al.* 1959, Eyessette-Guerreau *et al.* 2006) confermano il decorso severo e la necessità di trasfusioni e/o exsanguino-trasfusioni nella maggior parte dei pazienti. L'efficacia della terapia con eritropoietina nella anemia del prematuro e nella sferocitosi neonatale severa, hanno indotto alla terapia descritta, che è stata effettuata, a nostra conoscenza, per la prima volta e con successo nella picnociosi infantile. In conclusione si ribadisce la necessità dell'osservazione dello striscio periferico nei casi di anemia emolitica neonatale inspiegata per diagnosticare questa non rara affezione neonatale; l'uso precoce della terapia con eritropoietina ricombinante può evitare o diminuire la necessità della terapia trasfusionale in questi pazienti.

P059**VALUTAZIONE FUNZIONALE DEI PROGENITORI EMPOIETICI CIRCOLANTI IN PAZIENTI CON SINDROME DI NOONAN.**Timeus F,¹ Crescenzo N,¹ Doria A,¹ Foglia L,¹ Baldassarre G,² Silengo M,² Rossi C,³ Ferrero GB,² Cordero di Montezemolo L¹¹Oncoematologia Pediatrica e ²Dipartimento di Pediatria, Università di Torino; ³Genetica Medica, Università di Bologna, Italy

Introduzione e obiettivi. La sindrome di Noonan (NS) è una patologia multisistemica associata in circa il 50% dei casi a mutazioni in eterozigosi del gene PTPN11, che codifica per SHP-2, fosfatasi non recettoriale coinvolta nella via di RAS/MAPK. Mutazioni somatiche di questo gene sono descritte in mielodisplasie, leucemie mieloidi e linfoblastiche acute e in circa il 35% delle leucemie mielomonocitiche croniche giovanili (JMML). Rari casi di mutazioni germinali di PTPN11 sono state osservate in pazienti NS che hanno sviluppato leucemia o sindrome mieloproliferativa transitoria. Le mutazioni di PTPN11 descritte nelle leucemie differiscono in genere da quelle descritte in NS, conferendo un maggiore vantaggio proliferativo, in particolare una iper-risposta al GM-CSF.

Metodi. Pazienti: 16 pazienti affetti da NS, di cui 11 positivi per mutazione di PTPN11. Due pazienti con JMML isolata, di cui uno positivo per mutazione di PTPN11

Culture cellulari: CFU-GM da cellule mononucleate di sangue periferico, senza stimoli e con GM-CSF a concentrazioni scalari. Conta cellule CD34⁺ circolanti e loro indice apoptotico: in citofluorimetria con tripla marcatura per CD34, CD45, annessina V, gating sequenziale secondo ISHAGE. Statistica: test non parametrico di Kruskal-Wallis.

Risultati. Nei pazienti JMML abbiamo osservato iper-risposta al GM-CSF e elevata conta di CD34⁺ circolanti con basso indice apoptotico (media CD34⁺=120±68.3/microl, apoptosi=4.8±3.4%). In 10 pazienti NS mutati non si osservavano differenze nella conta assoluta delle CD34⁺ rispetto ai NS non mutati e ai controlli normali, mentre vi era una significativa riduzione dell'indice apoptotico (9.0±1.9% nei mutati contro

18.6±5.9% nei controlli, $p=0.02$). Il paziente 12 presentava isolata ipersensibilità al GM-CSF, il paziente 11 iper-risposta al GM-CSF, alta conta CD34⁺ (51/microl) e basso indice apoptotico (10.4%) associati a monocitosi e lieve displasia midollare.

Conclusioni. Le correlazioni tra trasformazione leucemica e mutazioni di PTPN11 sono complesse, suggerendo il ruolo di eventi molecolari successivi. La NS è un modello unico in cui il follow-up dell'attività funzionale dei progenitori emopoietici circolanti potrebbe rappresentare una metodica poco invasiva, utile nell'evidenziare precocemente una risposta iperproliferativa.

Tabella 1. Mutazioni PTPN11, risposta al GM-CSF, conta assoluta di CD34⁺ circolanti e indice apoptotico in 16 pazienti NS e 2 JMML. Nel paziente 3 con mutazione Gly503Glu, descritta anche in leucemie, non si osservava iper-risposta al GM-CSF. Nel paziente 11 era presente monocitosi in ripetuti controlli (conta assoluta > 2500/mm³), con note displastiche all'aspirato midollare e assenza di splenomegalia.

Paziente	Mutazione	Iper-risposta	CD34/ μ L a GM-CSF	% Annexina V	
	1	Gly 464 Ala	NO	-	-
	2	Gly 503 Arg	NO	4,5	8,8
	3	Gly 503 Glu	NO	4,3	14,8
	4	Asn 308 Ser	NO	6,2	12,0
NS	5	Leu 262 Asp	NO	-	-
MUTATI	6	Met 504 Val	NO	-	-
	7	Leu 261 His	NO	2,9	10,0
	8	Leu 261 His	NO	4,8	0
	9	Leu 261 His	NO	17,5	10,0
	10	Phe 285 Ile	NO	3,8	7,9
	11	Phe285Ser	SI'	51,0	10,4
	12		SI'	18,6	29,8
NS	13		NO	2,6	27,7
NON	14		NO	2,5	8,0
MUTATI	15		NO	16,2	8,8
	16		NO	-	-
JMML	17		SI'	135,3	3,3
	18	Glu 76 Gly	SI'	44,0	12,1

Δ

P060

NEUTROPENIA AUTOIMMUNE: UN PROBLEMA DIAGNOSTICO IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA

Farruggia P, Lanza T,¹ Porretti L,² Trizzino A, Tropia S, Grioli A, Russo D, Aricò M

Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo; ¹Istituto G. Gaslini, Genova; ²Ospedale Maggiore-Policlinico, Milano

La neutropenia autoimmune (AIN), nella sua forma primitiva, è la più comune forma di neutropenia dell'infanzia (incidenza annuale di 1/100.000), a decorso usualmente benigno ed autolimitante. Rappresenta un problema frequente per un centro di oncematologia pediatrica e va distinta dalla forma secondaria, più rara ed associata ad altre malattie autoimmuni.

Metodi. Descriviamo la casistica di AIN del centro di Palermo nel periodo gennaio 2002-giugno 2007. La diagnosi è stata effettuata tramite determinazione degli anticorpi antineutrofilo indiretti in citofluorimetria o in immunofluorescenza,

ritenendo la presenza dei soli anticorpi diretti non sufficientemente specifica per l'eccesso di falsi positivi.

Risultati. Sono stati identificati 12 pazienti (M/F=7/5). L'età media alla diagnosi è 11.5 mesi, perfettamente in linea con i dati della letteratura, dove l'età all'esordio è quasi sempre < 3 anni di vita. Lo stesso accade per il numero di neutrofili all'esordio (nel 58% <500/mm³ e nel 42% fra 500 e 1000/mm³) e la durata media di malattia che, nei guariti, è stata pari a 17 mesi. Solo due casi hanno sviluppato infezioni severe: una bambina due volte (polmonite; ascesso alla coscia che ha richiesto drenaggio chirurgico), la seconda una volta (bronco-polmonite); anche questo è in linea con la letteratura che riporta nelle due casistiche più ampie fino ad ora pubblicate infezioni gravi rispettivamente nel 12 e 22% dei casi. È però meritevole di attenzione come ben 5 dei nostri 12 pazienti siano stati ricoverati per patologie infettive (8 ricoveri complessivi), in altre U.O. prima della definizione diagnostica. Una sola paziente dopo FUP lungo (6.5 anni) è ancora neutropenica. L'aspirato midollare non è stato eseguito in 6/12 pz. È infine da sottolineare come 3/12 pazienti mostrassero altri segni di autoimmunità, sebbene solo in un caso ciò avesse un corrispettivo clinico (citopenia autoimmune trilineare ed epatite autoimmune).

Conclusioni. La AIN è una patologia che può portare a ricoveri ospedalieri anche se infezioni severe si verificano in una minoranza di casi. La diagnosi permette di rassicurare i genitori e ridurre l'intensità di ulteriori indagini. I nostri dati suggeriscono l'utilità della effettuazione in questi pazienti di uno screening per autoimmunità.

Tabella 1. La neutropenia autoimmune

Sesso	N/mm ³ esordio	Età esordio	Durata	Guarito	Infezioni	Ricoveri per infezione	Autoimmunità associata
M	800	3 mesi e_	3 mesi	Si	IVU (1)	No	No
M	400	4 mesi	44 mesi	Si	Otiti (6), Alte vie	No	No
F	300	3 anni e 6 mesi	24 mesi	Si	Polmonite (1), Alte vie	1	No
M	400	6 mesi	18 mesi	Si	Piodermite (1)	No	No
M	700	2 anni e 4 mesi	10 mesi	Si	Piodermite, recidivante, afte recidivanti	No	Antitireo- perossidasi +, TCI +
M	700	2 mesi	3 mesi	Si	Bronchiolite (1)	1	No
F	300	3 mesi	>6 anni e_	No	Ascesso sottocutaneo (1), Polmonite (1)	2	ANA +
F	300	2 anni	>10 mesi	No	No	No	AEA, PTI, Epatite
F	600	9 mesi	>11 mesi	No	No	No	No
M	400	10 mesi	>18 mesi	No	Piodermite recidivante	No	No
F	500	4 mesi	>6 mesi	No	Diarrea da rotavirus (1), alte vie	1	No
M	300	3 mesi e_	>5 mesi	No	Bronchioliti (2), IVU (1)	3	No

Tra parentesi il numero di episodi

P061**ANEMIA APLASTICA DA MUTAZIONE DEL GENE TERC: CORRELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO ED EFFETTO DELLE CITOCHINE MIELOSOPPRESSIVE SUI PROGENITORI MIDOLLARI**

Pigullo S,¹ Lanciotti M,¹ Ferretti E,² Corcione A,² Svahn J,¹ Caridi G,³ Burlando O,¹ Van Lint MT,³ Dini G,¹ Dufour C¹

¹Unità Operativa Onco-Ematologia Pediatrica, ²Laboratorio di Oncologia, ³Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia, Istituto Giannina Gaslini, Genova. ⁴Dipartimento di Ematologia, Ospedale S. Martino, Genova.

Introduzione e obiettivi. Il gene TERC codifica per la componente ad RNA del complesso della telomerasi. Mutazioni in eterozigosi di questo gene sono state individuate in pazienti con forme di Discheratosi Congenita (DC) di tipo autosomico dominante e in pazienti con anemia aplastica (AA). Precedentemente abbiamo identificato, in 120 pazienti con AA, due individui con mutazione TERC. L'obiettivo di questo studio è quello di valutare, *in vitro* su BM, l'effetto di citochine mielosoppressive (TNF- α e IFN- γ) nei pazienti mutati e di estendere l'analisi di mutazione del gene TERC ai familiari.

Metodi. Il DNA dei pazienti e dei familiari è stato estratto, amplificato mediante PCR, ed analizzato con sequenziamento diretto. Le cellule midollari sono state incubate con anticorpi anti TNF- α e IFN- γ ed analizzate in citofluorimetria. I progenitori midollari sono stati coltivati in metil-cellulosa con e senza anticorpi anti TNF- α e/o IFN- γ .

Risultati. Paziente 1: esordio all'età; di 14 anni con AA non grave. La sua mutazione, c53T>A determina un cambiamento nella sequenza stampo del telomero. La stessa mutazione è stata identificata nel fratello più giovane, asintomatico, HLA identico e candidato alla donazione di midollo. La mamma non è mutata e non è stato possibile estendere l'analisi al padre, deceduto per leucemia all'età di 46 anni. L'espressione di TNF- α e di IFN- γ è superiore rispetto ai controlli. *In vitro*, l'inibizione di TNF- α e di IFN- γ , ha causato un rilevante incremento della crescita di BFU-e, assente nei controlli normali.

Paziente 2: esordio a 47 con AA grave. La mutazione c210C>G determina una modificazione della struttura terziaria dell'RNA di TERC. Lo studio del gene non è stato esteso alla famiglia perchè; non disponibile. L'espressione di TNF- α e di IFN- γ è risultata paragonabile a quella dei controlli e l'inibizione delle citochine non dà incremento della crescita di BFU-e.

Conclusioni. Lo studio dei due pazienti ha rivelato una correlazione tra gravità di malattia all'esordio e tipo di mutazione. Le citochine mielosoppressive sembrano avere un ruolo nell'insufficienza midollare in uno dei pazienti mutati. L'analisi dei familiari indica l'utilità; dello studio del gene TERC al fine di individuare portatori asintomatici, escluderli come donatori di midollo e impostare un adeguato protocollo di sorveglianza.

P062**ETEROZIGOSI COMPLESSA DEL GENE ELA2 IN UN CASO DI NEUTROPENIA CONGENITA SEVERA (SCN)**

Lanciotti M,¹ Caridi G,² Pigullo S,¹ Lanza T,¹ Dufour C¹

¹Laboratorio di ematologia, ²Laboratorio di fisiopatologia dell'uremia, istituto G. Gaslini, Genova

Introduzione e obiettivi. Il gene ELA2 codifica per l'elastase, una proteasi specifica dei neutrofili. Mutazioni in eterozigosi di questo gene sono presenti in circa il 50% delle neutropenie

congenite severe (SCN) e in molti casi di neutropenie cicliche (CN). In questo studio riportiamo il raro fenomeno genetico di una paziente con SNC, che ha poi sviluppato mielodisplasia e leucemia mieloide acuta, in cui abbiamo riscontrato 2 mutazioni, di cui 1 de novo ed una ereditata dalla mamma asintomatica, oltre ad una variante intronica del gene ELA2.

Metodi. Il gene ELA2 è stato amplificato da DNA della paziente e dei familiari tramite PCR ed analizzato mediante sequenziamento diretto su ABI PRISM 3100. Paternità e maternità; sono state confermate con lo studio di microsatelliti specifici.

Risultati. Le mutazioni del gene ELA2 trovate nella paziente sono: g.2192 G>A nell'esone 3, con cambio aminoacidico Val53Met, de novo, già descritta in un caso di neutropenia ciclica. g.2240 G>A nell'esone 3, con cambio aminoacidico Val69Met, ereditata dalla mamma asintomatica. È stata inoltre riscontrata una variante intronica IVS3-22G>A, anch'essa de novo. La mutazione g.2240 G>A e la variante intronica non sono riportate in letteratura e neanche classificate come polimorfismi da SNP database.

Conclusioni. Finora sono state riportate più di 50 mutazioni del gene ELA2, molte delle quali sono *de novo*. La presenza di doppie mutazioni in questo gene è stata descritta in due soli casi (1 SCN e 1 CN), confermando la rarità di questo fenomeno. La correlazione genotipo-fenotipo non sempre è possibile, e diverse ipotesi sono state fatte sul possibile meccanismo con cui le mutazioni di ELA2 provocano la malattia. La particolarità di questo caso può essere di aiuto nel migliorare la comprensione del meccanismo patogenetico delle neutropenie congenite severe. Lo studio di come questa eterozigosi complessa possa aver influito sulla proteina è in corso.

P063**LA TROMBOCITEMIA ESSENZIALE IN ETÀ PEDIATRICA**

Ladogana S, Ciliberti A, De Santis R, Maruzzi M, Miglionico L, Pastore M, Spirito A, Colaizzo D,¹ Grandone E,¹ Minervini M,² Perla G,² Scalzulli P²

¹Struttura Complessa di Oncoematologia Pediatrica, ²Laboratorio di Ricerca, ³Struttura Complessa di Ematologia; Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo

La trombocitemia essenziale (TE) è una delle sindromi mieloproliferative croniche (SMC) ed è un'entità ben nota negli adulti. La storia naturale dell'emopatia è notevolmente cambiata in questi ultimi anni in seguito al miglioramento dell'approccio diagnostico-terapeutico, ad una più accurata diagnosi differenziale con le altre SMC, ad un esteso uso di studi biologici (cariotipo, FISH, bcr/abl) e di determinati marcatori (mutazione di JAK2 V617F, espressione di PRV-1 RNA). In età pediatrica la TE, come le altre SMC, a parte la leucemia mieloide cronica, pone ancora problemi riguardo la reale incidenza, i criteri diagnostici e, soprattutto quando trattare un paziente con una TE e come trattarlo conoscendo la storia naturale della malattia e i rischi connessi ai trattamenti convenzionali e al non trattamento. La letteratura specifica è scarsa e le indicazioni terapeutiche vengono mutate dalla storia naturale e dai trattamenti dei giovani adulti mancando all'uopo linee guida condivise. La nostra esperienza, relativa agli ultimi 7 anni, si riferisce a 9 pazienti con TE. La diagnosi è stata formulata seguendo i criteri WHO del 2001, abbiamo inoltre valutato le culture spontanee da sangue periferico e cercato la mutazione del JAK2 V617F, mutazione mai trovata nei nostri pazienti.

All'esordio è stato sempre seguito un follow up clinico laboratoristico, trattando con terapia medica solo i pazienti in evidente e franca progressione (piastrine >1500000); abbiamo trattato solo 2 pazienti de novo con TE estremamente sintomatici e con un numero di piastrine di 2900000 e 3100000. 2 pazienti con TE sono in osservazione, senza terapia. I 7 pazienti trattati (in 5 dei quali il trattamento è stato iniziato dopo un periodo di osservazione di 4-9 mesi per evidente progressione di malattia) hanno un'età media al trattamento di 10a e 7m (7a,6m-15a,6m), con un numero medio di piastrine di 2019000 (1750000-3100000). Il trattamento praticato è stato omogeneo in tutti i casi ed ha previsto un priming con idrossiurea prima di passare all'interferone α ricombinante somministrato con escalating dose. Si è avuta estrema variabilità nella risposta clinica, risposta ottenuta in tutti i pazienti, con compliance al trattamento non sempre buona (INF più volte ridotto/sospeso per intolleranza e ripreso, con successo, sempre con modalità di somministrazione con escalating dose). Nessuna tossicità extraematologica con l'interferone. Un paziente ha sospeso definitivamente l'INF per intolleranza dopo 5 anni. Dal Febbraio 2007 abbiamo iniziato ad utilizzare l'Anagrelide, un composto imidazochinazolinico che agisce nella fase post mitotica dello sviluppo dei megacariociti. È un farmaco pressochè privo di effetto leucemogeno, con possibilità di effetti collaterali legati al suo effetto inotropo positivo e vasodilatativo che tende ad autolimitarsi ma che ne consiglia l'utilizzazione nell'ambito di studi clinici e di Registri per la valutazione del farmaco. Le risposte preliminari nei nostri pazienti sono decisamente positive. Sentita l'esigenza di un miglior approccio globale alle Trombocitemie Essenziali ed alle altre Sindromi Mieloproliferative Croniche in età pediatrica.

P064

ANALISI DI MUTAZIONE DEL GENE DEL COMPLESSO DELLA TELOMERASI GAR1 IN PAZIENTI CON ANEMIA APLASTICA

Pigullo S,¹ Santamaria G,² Caridi G,³ Lanza T,¹ Svahn J,¹ Riso M,⁴ Dini G,¹ Dufour C,¹ Lanciotti M¹

¹Unità Operativa Onco-Ematologia Pediatrica, ²Laboratorio di Genetica Molecolare, ³Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia, ⁴Serv. di Immuno-Ematologia e Medicina Trafusionale, Istituto Giannina Gaslini, Genova

Introduzione e Obiettivi. Il complesso della telomerasi è costituito da una componente proteica (TERT), una componente ad RNA (TERC) e da proteine accessorie che stabilizzano e regolano il funzionamento del complesso (Dyskerin, NHP2, NOP10 e GAR1). Mutazioni nei geni del complesso della telomerasi e delle proteine accessorie sono state riscontrate in pazienti con anemia aplastica (AA) (TERT, TERC) e con Discheratosi congenita (TERC, DKC1, NOP10). Obiettivo di questo lavoro è lo studio di mutazione del gene GAR1 in una popolazione italiana di 108 pazienti (74 pediatrici e 34 adulti) affetti da AA al fine di valutare un suo possibile coinvolgimento in questa patologia.

Metodi. Il DNA estratto da sangue periferico o da midollo dei pazienti e dei controlli è stato amplificato mediante PCR ed analizzato al DHPLC. I campioni con picco di eluzione alterato sono stati sequenziati mediante ABI prism 3100.

Risultati. Nessuna mutazione del gene GAR1 (GenBank NM_018983) è stata riscontrata nel nostro campione di pazienti con AA. L'analisi dei 108 pazienti con AA e in 160 controlli normali ha evidenziato la presenza dei seguenti polimorfismi:

Esone 1: 5' UTR-148-/T (refSNP ID rs11433030)

Esone 2: c.376 T>C sinonimo (refSNP ID: rs2276326). Inoltre, in due pazienti e in un controllo normale abbiamo individuato una variante c.386A>T non sinonima p.H28L, questa variante non è riportata in Genbank

Esone 3: IVS3-46C>T.

Esoni 4,5,6: nessun polimorfismo né varianti

Esone 7: 3'UTR + 1228C>G (refSNP ID: rs10365)

La maggior parte di queste varianti sono comuni nella popolazione Caucasica e descritti come non patologici, la frequenza di questi polimorfismi nei nostri campioni è paragonabile a quella riportata in GenBank. La variante c.386A>T non è riportata in letteratura e determina il cambio amminoacidico p.H28L, questa variante è stata riscontrata in due pazienti con AA severa, ma anche in un controllo normale (di 24 anni), questo fa presupporre che si tratti di un raro polimorfismo presente nella popolazione.

Conclusioni. Nel nostro campione di 108 pazienti con aplasia midollare non sono state riscontrate mutazioni del gene GAR1. Riteniamo pertanto improbabile che questo gene possa essere coinvolto nel meccanismo che porta all'insorgenza di questa patologia.

P065

EFFICACIA DEL TRATTAMENTO CON IG ANTI-D ENDOVENA NELLE PTI

Parodi E, Rivetti E, Quarello P, Renga D, Garbarini L, Saglio F, Vallero S, Foglia L e Ramenghi U

Divisione di Ematologia, Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Università degli Studi di Torino

Obiettivi. Valutare l'efficacia e gli effetti collaterali del trattamento con i.v. Ig anti-D in pazienti pediatrici Rh positivi con PTI sintomatica.

Metodi. Nel periodo marzo 2005-maggio 2007, 12 pazienti con PTI (5 M, 7 F, età mediana alla diagnosi: 8,2 anni, range 1,5-17), sono stati trattati con i.v. Ig anti-D (Rhopylac, ZLB Behring) al dosaggio di 50 microgr/kg (n=7) e 75 microgr/kg (n=5), previa medicazione con clorfeniramina. Nove sono stati trattati ad una mediana di 15 mesi (range 8-56) dall'esordio della PTI; 3 a 2 mesi dalla diagnosi in quanto sintomatici e refrattari al trattamento convenzionale. I 12 pazienti hanno ricevuto da 1 a 3 cicli di infusione per un totale di 21 cicli valutabili. Abbiamo considerato risposta positiva un incremento di piastrine >50.000/mmc (giorno +7, giorno +28 dall'infusione); recidiva nuova discesa dei livelli piastrinici con sintomi tali da richiedere trattamento farmacologico. Per decremento di Hb intendiamo la differenza tra il valore Hb pre-trattamento e valore più basso osservato durante il follow up.

Risultati. Risposta è stata osservata in 10/12 pazienti; in tutti il valore di piastrine >50.000/mmc è stato raggiunto entro 7 giorni dall'infusione; ulteriore incremento delle piastrine dopo la prima settimana è stato osservato solo in 3 di questi. In 4 i valori di piastrine hanno superato le 150.000/mmc.

Nei 10 responders l'incremento mediano dei livelli piastrinici al giorno +7 è stato di 88.000/mmc. Recidiva è stata osservata in 9/10 pazienti, ad una mediana di 35 giorni (range 21-60) dall'infusione. Una paziente è tuttora in remissione, ma ciò potrebbe essere attribuito al naturale decorso della malattia, caratterizzata da guarigioni tardive. Effetti collaterali: 1 paziente ha presentato lieve dispnea; il decremento mediano di Hb osservato su 21 cicli di infusione è stato di 0.8 g/dl (range 0-2,1 g/dl).

Conclusioni. I dati confermano l'efficacia delle i.v. Ig anti-D in pazienti pediatrici Rh positivi con PTI cronica sintomatica.

In tutti i pazienti la terapia è risultata ben tollerata, con emolisi lieve e non clinicamente significativa. Riteniamo pertanto che la somministrazione di i.v. Ig anti-D, anche se non in grado di risolvere la patologia, debba essere presa in considerazione prima di effettuare trattamenti più aggressivi (Rituximab o splenectomia).

P066

SUCCESSO DELLA TERAPIA ESTRO-PROGESTINICA IN UN CASO DI SEVERA EMORRAGIA GASTROINTESTINALE IN GRAVE PIASTRINOPENIA CRONICA

Pastore M, Ciliberti A, De Santis R, Maruzzi M, Miglionico L, Spirito A, Ladogana S

Struttura Complessa di Oncoematologia Pediatrica; Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza; San Giovanni Rotondo (FG)

In letteratura vi sono diverse segnalazioni dell'utilizzo dell'associazione estro-progestinica nei sanguinamenti intestinali sostenuti da angiodisplasie o lesioni vascolari multiple e diffuse non trattabili endoscopicamente né chirurgicamente. Noi riportiamo il caso di una paziente, P.B., di anni 10, affetta da grave sanguinamento gastrointestinale per piastrinopenia cronica trattata con successo con terapia estro-progestinica. All'età di 2 anni alla paziente veniva diagnosticata una porpora trombocitopenica idiopatica trattata con steroidi, immunoglobuline, farmaci immunosoppressori quali azatioprina, ciclosporina, ciclofosfamide e ciclosporina senza successo. È stato intrapreso anche un trattamento con Rituximab per 3 mesi mentre la conta piastrinica rimaneva sempre al di sotto di 10000/mmc. Per questo motivo la piccola è stata valutata per l'inserimento in lista di attesa di trapianto di midollo osseo allogenico da donatore volontario. P.B. giungeva a ricovero per una grave emorragia digestiva che ha richiesto supporto trasfusionale con 12-14 unità di sangue a settimana, è stato iniziato trattamento con steroidi, immunoglobuline e supporto piastrinico in aggiunta alla somministrazione di somatostatina endovena per 15 giorni senza alcun risultato clinico e con immutato fabbisogno trasfusionale. Veniva eseguito esame endoscopico con videocapsula che evidenziava multiple *red lesion* diffuse all'intero piccolo intestino. È stato iniziato trattamento ormonale, con associazione progesterone 1,25 mg ed etinilestradiolo 0,05 mg per os; dopo la prima settimana di trattamento il fabbisogno trasfusionale si riduceva a 2 unità per settimana nelle prime tre settimane per poi richiedere solo una unità di emazie al mese. Un successivo controllo endoscopico sempre con videocapsula ha mostrato una netta regressione delle lesioni mucose prima segnalate, mentre la conta piastrinica non subiva alcuna modificazione rimanendo costantemente al di sotto di 10000/mmc. Il trattamento proseguiva per 4 mesi con completa risoluzione del quadro emorragico. Come effetto collaterale si assisteva alla comparsa di lievi caratteri sessuali secondari, regrediti alla sospensione della terapia ormonale. Nei successivi 14 mesi di follow up non si è avuto ripresa del sanguinamento intestinale. Noi concludiamo che anche in età pediatrica, in paziente con grave emorragia digestiva a rischio di vita refrattaria a tutti i trattamenti a disposizione, la terapia ormonale può rappresentare un'opzione terapeutica da considerare.

P067

STUDIO DEL PROFILO DI ESPRESSIONE GENICA DI PAZIENTI AFFETTI DA ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS

Trentin L,¹ Campo Dell' Orto M,¹ Accordi B,¹ Zangrando A,¹ Trizzino A,² Cannella S,² Santoro A,² Basso G,¹ Te Kronnie G,¹ Aricò M²

¹Laboratorio di Oncoematologia, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; ²Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo

Introduzione ed obiettivi. L'istiocitosi a cellule di Langerhans (LCH) è una malattia rara causata dall'accumulo e dalla proliferazione incontrollata delle cellule di Langerhans. Dal punto di vista clinico l'LCH si può manifestare sia come malattia multisistemica, simile al linfoma, che localizzata. Nel primo caso si ha un coinvolgimento di più distretti e la malattia è associata ad una prognosi severa; nel secondo caso l'LCH si manifesta prevalentemente a livello di singoli tessuti e la prognosi è assai favorevole. La patogenesi dell'LCH è tuttora oscura; l'evidenza di clonalità ha spinto alcuni autori a ritenerla un tumore, ma questa visione non è condivisa. Volendo identificare quali fossero i profili di espressione genica associati ai diversi fenotipi di LCH, abbiamo analizzato 26 pazienti affetti da LCH impiegando la tecnologia degli array ad oligonucleotidi su piattaforma Affymetrix.

Metodi. L'RNA totale è stato estratto a partire da campioni di sangue periferico, purificato ed ibridizzato su Affymetrix HG-U133 Plus 2.0 microarrays. L'analisi statistica dei profili di espressione genica è stata condotta secondo due diversi approcci: analisi non-supervisionata e supervisionata mediante comparazione di classe (SAM) e predizione di classe (PAM).

Risultati. L'analisi non supervisionata ha evidenziato come i pazienti con LCH abbiano un profilo d'espressione genica che permette di distinguerli da un'ampia coorte di pazienti leucemici. Inoltre, all'interno della sola coorte dei pazienti LCH, i campioni si suddividono in tre gruppi principali. Le analisi di comparazione e di predizione di classe hanno individuato, rispettivamente, 2433 e 1590 sonde in grado di separare i tre sottogruppi di pazienti LCH.

Conclusioni. L'analisi dell'espressione genica di un gruppo clinicamente eterogeneo di 26 pazienti con LCH ha permesso di evidenziare la presenza di tre distinti profili di espressione genica che caratterizzano in modo peculiare i campioni presi in esame.

P068

VARIABILITÀ DEL GENE DELTA GLOBINICO

Sollaino MC,¹ Perseu L,² Desogus MF,¹ Demartis FR,¹ Congiu R,¹ Galanello R¹

¹Ospedale Regionale Microcitemie, ASL Cagliari, 2a Clinica Pediatrica Università degli Studi di Cagliari; ²Istituto Neurogenetica e Neurofarmacologia, CNR, Selargius (Cagliari)

Introduzione e obiettivi. La popolazione mediterranea è caratterizzata da una larga variabilità genetica a carico del gene δ globinico. Delle 45 mutazioni finora identificate 17 danno luogo ad una δ talassemia, 28 sono invece mutazioni strutturali che generano varianti della HbA2. Tale variabilità ha una sostanziale rilevanza nello screening dei portatori di β talassemia. Infatti l'HbA2 aumenta caratteristicamente (4-6%) negli eterozigoti per β talassemia e la presenza concomitante di δ talassemia, riducendo l'HbA2, può renderne difficile l'identificazione. In questo studio abbiamo valutato la variabi-

lità molecolare del gene δ globinico in Sardegna.

Pazienti e Metodi. Durante lo screening per β talassemia su 5306 campioni consecutivi abbiamo selezionato 73 soggetti con valori di HbA2 inferiori al 2%, escludendo quelli con microcitosi. In tutti i soggetti è stata eseguita l'analisi molecolare del gene δ globinico (digestione con HaeIII del gene δ amplificato, sequenziamento).

Risultati. Su 73 campioni esaminati 49 (67%) hanno presentato una mutazione nel gene δ globinico: 38 cd 27 G→T (Hb Yalouza), 8 cd 4 C→T, 1 cd 16 G→C (HbA2 B2), 1 cd 142 C→A (HbA2 Fitzroy), 1 cd 133 G→A (non descritta). La frequenza dei portatori con mutazioni a carico del gene δ globinico è 0.9% e la frequenza genica 0.0046.

L'HbA2% media nei soggetti con mutazione è 1.68 ± 0.18 mentre nei soggetti senza mutazione è 1.81 ± 0.16 ($p = n.s.$).

Conclusioni. Le mutazioni nel gene δ globinico sono relativamente frequenti ed eterogenee in Sardegna. La mutazione più comune (79.2 % del totale) è risultata essere l' HbA2 Yalouza, in analogia a quanto riscontrato in altre regioni (Sicilia, Cipro). Tutte le mutazioni identificate sono localizzate nelle porzioni esoniche del gene δ e danno luogo a varianti strutturali che si manifestano con valori ridotti di HbA2. In base alla frequenza di portatori di β talassemia (10.3 %) e di varianti del gene δ (0.9%) la frequenza attesa dei doppi eterozigoti è 0.023%. Le mutazioni del gene δ globinico devono essere tenute in considerazione nei programmi di prevenzione della β talassemia, per evitare falsi negativi nell'identificazione delle coppie a rischio.

P069

NEUTROPENIA CRONICA GRAVE DA MUTAZIONE DEL GENE HAX 1

Cipollina MD,¹ Satta S,¹ Borgna C,² Galanello R¹

¹Ospedale Regionale Microcitemie, ASL Cagliari, ^{2a}Clinica Pediatrica Università degli Studi di Cagliari; ²Clinica Pediatrica-Università degli Studi di Ferrara

Introduzione e obiettivi. La neutropenia cronica grave comprende un gruppo eterogeneo di disordini ereditari dei neutrofilii caratterizzati da una marcata riduzione del loro numero (in genere $<0.5 \times 10^9/L$) e da infezioni batteriche gravi e ricorrenti. Nel 60% dei pazienti è dovuta a mutazioni in eterozigosi a carico del gene dell'elastasi (ELA2); in rari casi sono state riscontrate mutazioni nel gene GFI 1. Recentemente è stata identificata in alcune famiglie, compresa la famiglia originariamente descritta da Kostmann, una mutazione in omozigosi nel gene HAX 1, che codifica una proteina mitocondriale con funzioni nel segnale di traduzione e nel controllo del citoscheletro. Riportiamo un caso di neutropenia cronica grave dovuto a mutazione nel gene HAX 1.

Pazienti, Metodi, Risultati. A.N. (10 mesi), nata da genitori consanguinei di origine Pakistana, ha presentato fin dalla nascita ripetuti e gravi episodi infettivi (onfalite, congiuntivite purulenta, otite media suppurata, sepsi). Il numero assoluto di neutrofilii è risultato in diversi controlli sempre inferiore a $0.4 \times 10^9/L$. L'aspirato midollare ha evidenziato un arresto maturativo a livello promielocita-mielocita. Le indagini virologiche (TORCH, Parvovirus B19) sono risultate negative, così come la ricerca di anticorpi antineutrofilii. La sequenza del gene ELA2 nella paziente è risultata normale. L'analisi del DNA del gene HAX 1 ha evidenziato l'omozigosi per una sostituzione nucleotidica C→T, in posizione 256 (R86X), che determina uno stop codon prematuro nel secondo esone. I genitori sono risultati eterozigoti per la stessa mutazione.

Conclusioni. Sono state finora descritte tre diverse mutazio-

ni a carico del gene HAX 1: W44X, R86X, Q190X. Quest'ultima è stata trovata in 3 pazienti di origine svedese, R86X in un paziente iraniano, W44X in 19 pazienti di origine medio-orientale (Turchia, Iran, Libano). L'analisi del gene HAX 1 deve essere eseguita in pazienti con neutropenia cronica grave se lo studio del gene ELA2 risulta normale.

P070

ACCUMULO DI FERRO IN PEDIATRIA

Longo F, Roggero S, Boetti T, Alba L, Piga A

Centro Microcitemie, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università degli Studi di Torino

Introduzione. Le concentrazioni di ferritina sierica in condizioni normali correlano in maniera lineare con il ferro dei depositi. In caso di sovraccarico severo, tale correlazione perde forza. Vari fattori quali emolisi, infiammazione, carenza di vitamina C, epatopatia, ed infezioni possono influire sui livelli sierici di ferritina, limitandone il valore predittivo. Obiettivi: quantificare la concentrazione del ferro epatico (LIC) in pazienti pediatrici con patologie ereditarie o acquisite predisponenti all'accumulo di ferro e valutarne la correlazione con i valori di ferritina.

Metodi. La LIC è stata valutata in maniera non invasiva tramite biosusciometria magnetica SQUID. Grazie ad opportuni accorgimenti (riduzione delle dimensioni del cuscino ad acqua, sistema di acquisizione dati più veloce) è stato possibile misurare bambini anche molto piccoli.

Risultati. Sono stati eseguiti 2061 esami SQUID in 911 pazienti (vedi tabella allegata); 491 erano maschi e 420 femmine con un'età media al 1° SQUID di 11.1 ± 4.6 anni (range 0.0- 18.0). La mediana della concentrazione di ferro epatico e quella della ferritina sierica sono risultate di $1339 \pm 1137 \mu g/g$ w.w. (range 0.0- 7328) e $1577 \pm 1409 \mu g/L$ (range 2.0-9027) rispettivamente; La LIC e la ferritina erano correlate ($r=0.7$; $p<0.001$) ma non la LIC e l'età; la correlazione più alta è stata riscontrata nelle malattie oncologiche.

Conclusioni. Nella popolazione pediatrica la correlazione tra la ferritina e la LIC è risultata più alta rispetto a quanto riportato in letteratura per popolazione adulta.

Diagnosi	N	Età* [anni]	M/F [N]	LIC, [^] [$\mu g/g$ fegato]	Ferritina, [^] [$\mu g/L$]
Sindromi talassemiche	582	11.8±4.5 (0.2-18.0)	305/277	1586±1114 (156-7328)	1923±1356 (31-9027)
Sindromi drepanocitiche	67	9.9±4.6 (2.2-17.9)	41/26	845±772 (126-3571)	966±844 (17-3022)
Malattia da emoglobina H	8	9.8±5.4 (8.6-17.0)	2/6	658±280 (356-1053)	171±123 (67-338)
Emocromatosi	22	9.5±5.2 (0.2-16.2)	16/6	491±714 (100-2536)	44±796 (9-3137)
Malattie oncologiche	141	10.3±3.7 (2.6-18.0)	78/63	629±750 (58-3926)	104±1001 (14-4880)
Malattie ematologiche	75	9.1±5.2 (0.0-17.9)	39/36	201±1325 (0-5207)	1429±1575 (2-8126)
Malattie rare	16	9.5±4.7 (2.3-18.0)	10/6	448±516 (104-1698)	741±744 (34-1776)
TOTALE	911	11.1±4.6 (0-18)	491/420	1339±1137 (0-7328)	1577±1408 (2-9027)

P071**CARATTERIZZAZIONE FUNZIONALE DI UNA VARIANTE (E417X) DEL GENE EPO-R IN UNA FAMIGLIA ITALIANA CON POLICITEMIA FAMILIARE CONGENITA PRIMITIVA**

Perrotta S,* Rossi F,* Ferraro M,* Ronzoni L,^o Amendola G,^{^^} Cucciola V,[^] De Vito L,[^] Citarella S,* Scudieri AC,[^] Nobili B,* Della Ragione F[^]

*Dipartimento di Pediatria e [^]Biochimica, Seconda Università di Napoli, Napoli, Italia; ^oDipartimento di Medicina Interna, IRCCS, Università di Milano, Italia; ^{^^} Oncoematologia Pediatrica, Noce-
ra Inferiore, Salerno, Italia

Le policitemie raggruppano una serie di patologie aventi come denominatore comune l'aumento della massa eritrocitaria nel sangue periferico. Esse possono essere primarie (policitemia familiare) o secondarie a patologie congenite (emoglobine a bassa affinità per l'ossigeno, disordini del metabolismo del 2,3-difosfoglicerato, policitemia di Chuvash) o acquisite (disordini epatici, polmonari, cardiaci). La policitemia primaria familiare congenita (PFPC) è una patologia proliferativa a carico dei progenitori della serie eritroide tipicamente a trasmissione autosomica dominante, caratterizzata clinicamente da elevata massa eritrocitaria e concentrazione dell'emoglobina, ipersensibilità dei progenitori eritroidi all'eritropoietina (EPO), bassi livelli di EPO circolanti, normale dissociazione dell'emoglobina dall'ossigeno e assenza di progressione verso la leucemia. L'EPO è un ormone glicoproteico che stimola la proliferazione e la differenziazione dei globuli rossi. La sua produzione da parte del rene è stimolata dalla riduzione della tensione di ossigeno nel sangue periferico. L'EPO agisce andandosi a legare alla parte N-terminale del dominio extracellulare del suo recettore (EPOR) presente sui precursori eritroidi (cellule BFU-E e cellule CFU-E) a livello midollare. In risposta all'EPO si ha l'omodimerizzazione del recettore e l'attivazione della chinasi JAK2. Tale attivazione porta alla fosforilazione di alcune delle otto tirosine presenti nel dominio citoplasmatico di EPOR con conseguente attivazione del pathway di trasmissione del segnale. Tra i trasduttori del segnale riveste un ruolo particolare STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5) che, quando fosforilato, dimezza e trasloca nel nucleo dove va a legarsi ai suoi specifici elementi responsivi e induce la trascrizione dei geni bersaglio. Alcune fosfatasi specifiche, in particolare SHP1 (src homology-2 containing protein tyrosine phosphatase-1) funzionano come regolatori negativi di tali processi di *signalling* a valle dei recettori. La fosfatasi SHP-1, legandosi alla tirosina in posizione 429 della proteina EPOR inibisce la proliferazione cellulare, defosforilando JAK2 e spegnendo conseguentemente l'attivazione della trasduzione del segnale. Il gene codificante l'EPOR è costituito da otto esoni e 508 amminoacidi che vanno a formare un dominio extracellulare, una porzione transmembrana unica ed un dominio citoplasmatico con le funzioni molecolari descritte. Il gene EPOR appare pertanto un candidato importante per lo studio delle basi genetiche della PFPC. Attualmente, sono state descritte dieci mutazioni del gene EPOR, otto delle quali danno come risultato funzionale il troncamento della proteina. Queste ultime alterano il complesso meccanismo di regolazione mediato da EPOR producendo e risultano in una attivazione costitutiva del recettore ed un segnale continuo per la proliferazione e differenziazione cellulare. Di recente abbiamo identificato un ragazzo di otto anni la cui anamnesi familiare ha messo in evidenza la presenza di una eritrocitosi nel padre, nella sorella ed in alcuni zii e cugini paterni. I livelli di EPO sierica erano ai limiti bassi in tutti i pazienti ed i progenitori eritroidi del proban-

do presentavano una ipersensibilità all'EPO. Il sequenziamento del gene EPOR ha portato all'identificazione, in corrispondenza dell'esone 8, di una nuova mutazione nonsense in posizione 1249 (GAG->TAG; E417X) che risultava in una proteina priva di 92 amminoacidi all'estremità C-terminale. L'analisi della struttura/funzione del recettore suggerisce che la perdita del dominio citoplasmatico dovrebbe impedire il legame di SHP-1 nella regione necessaria al processo di regolazione negativa del segnale di EPOR. Studi mediante RT-PCR hanno dimostrato che nei precursori eritroidi si esprimono sia l'allele normale che quello mutato. Il prossimo obiettivo è la dimostrazione che la proteina tronca si localizza anch'essa a livello delle membrane ed è funzionale. A questo scopo abbiamo sviluppato una metodologia per immunoblotting in grado di identificare EPOR attraverso anticorpi diretti verso l'estremità NH2 della proteina. Tali anticorpi dovrebbero identificare contemporaneamente sia la proteina normale che quella alterata. L'analisi di questa variante rappresenterebbe la prima dimostrazione sui precursori eritroidi dell'effetto a livello trascrizionale e proteico di mutazioni nonsense del domain citoplasmatico dell'EPOR responsabili di PFPC.

P072**EFFETTI DEL SOVRACCARICO DI FERRO SU PROLIFERAZIONE E DIFFERENZIAMENTO DELLE CELLULE MESENCHIMALI STAMINALI DA MIDOLLO OSSEO UMANO**

Perrotta S,¹ Passaro I,² Rossi F,¹ Di Feo A,² Di Pinto D,¹ Perrotta A,¹ Costantino V,¹ Della Ragione F,² Locatelli F,³ Nobili B,¹ Oliva A²

¹Dipartimento di Pediatria e ²Biochimica, Seconda Università di Napoli, Napoli, Italia; ³Oncoematologia Pediatrica, IRCCS, Policlinico San Matteo, Università di Pavia, Italia

L'osteoporosi è una condizione patologica dello scheletro caratterizzata da una riduzione della densità minerale dell'osso con conseguente aumento della fragilità dell'osso e del rischio di fratture. Essa è associata generalmente all'invecchiamento, ma esistono anche forme primitive e secondarie come ad esempio conseguenti a Talassemia Major ed Intermedia.

Allo scopo di verificare se nella patogenesi dell'osteoporosi associata alla β -talassemia possa avere un ruolo il sovraccarico di ferro, abbiamo messo a punto una metodica di isolamento, a partire da campioni di midollo osseo di donatori sani, di colture di cellule mesenchimali staminali (MSC), cellule multipotenti da cui derivano vari tipi cellulari tra cui anche le cellule osteoprogenitrici. Abbiamo preparato una banca di MSC a partire da campioni di midollo osseo di numerosi soggetti: ciascuna preparazione cellulare è stata caratterizzata mediante citofluorimetria impiegando un ampio pannello di anticorpi monoclonali. Su tale modello cellulare abbiamo analizzato gli effetti del ferro: in particolare siamo andati a valutare gli effetti di un eccesso marziale sulla velocità di crescita; sulla sintesi del collagene di tipo I; sui livelli di specifici markers del fenotipo osteoblastico, la fosfatasi alcalina e l'osteocalcina; sulla capacità di mineralizzazione della matrice extracellulare. Per analizzare gli effetti del ferro sulla proliferazione cellulare, abbiamo incubato le MSC in presenza di citrato disodico (controlli) o citrato ferrico (trattati) compresi in un intervallo di concentrazioni da 20 a 200 micromolare e ne abbiamo valutato l'incorporazione di timidina marcata. Dai dati ottenuti risultava evidente un incremento proliferativo, che era sia tempo- che dose-dipendente. Al fine di analizzare l'effetto mitogeno del metallo, siamo andati a valuta-

re, mediante immunoblotting, i livelli di alcune importanti componenti proteiche del ciclo cellulare. I risultati ottenuti ci hanno permesso di ipotizzare che la stimolazione della proliferazione è legata ad un incremento del contenuto delle cicline D1 ed E. Per quanto riguarda la sintesi del collagene di tipo I, i risultati ottenuti con le varie popolazioni cellulari hanno mostrato che i livelli di questa proteina risultavano notevolmente inferiori rispetto ai corrispondenti controlli. Su piastre gemelle veniva valutata l'espressione della fosfatasi alcalina, marker precoce del differenziamento osteoblastico, sia in termini di attività che di livelli proteici. I dati ottenuti dimostravano che l'attività della fosfatasi alcalina di cellule sottoposte al sovraccarico di ferro aumentava, rispetto ai controlli, su alcune popolazioni cellulari e rimaneva sostanzialmente invariata in altri casi: un analogo profilo si riscontrava nelle rispettive bande proteiche evidenziate tramite immunoblotting. L'effetto del sovraccarico di ferro sulla capacità osteogenica delle MSC è stata analizzata andando a dosare i livelli di calcio: le colture trattate con il ferro mostravano dei livelli di calcio notevolmente più bassi, rispetto ai controlli. Il metodo von Kossa dava risultati in linea con i precedenti. Infine siamo andati a dosare con un saggio immunoenzimatico l'osteocalcina, la proteina più abbondante della matrice ossea ed anche il solo prodotto genico espresso esclusivamente dalle cellule della linea osteoblastica. I risultati ottenuti nei diversi esperimenti hanno mostrato una diminuzione della quantità di OC secreta dalle cellule sottoposte al sovraccarico di ferro.

In conclusione i risultati finora ottenuti hanno dimostrato che il sovraccarico marziale, soprattutto se associato ad un deficit di acido ascorbico, è in grado di determinare un aumento della proliferazione degli osteoprogenitori non associata alla corrispondente sintesi di collagene e quindi alla formazione di una matrice osteoide normale, che, anche in presenza di una normale attività della fosfatasi alcalina, non può comunque dare origine ad una matrice ossea in grado di andare incontro a mineralizzazione. Possiamo pertanto ipotizzare che il sovraccarico di ferro che caratterizza la Talassemia Major può avere un ruolo cruciale nel determinismo dell'osteoporosi del paziente talassemico.

P073

PROPRIETÀ IMMUNOMODULATORIE DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI (MSC) DERIVATE DA CORDONE OMBELICALE (CB)

Dorotea L,^{1,2} Gabelli M,² Magro E,² Destro R,^{1,2} Messina C,^{1,2} Gazzola MV,^{1,2} Carli M,¹ Zanesco L¹

¹Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Università di Padova; ²Banca del Sangue di Cordone di Padova

Le MSC da midollo osseo (BM) appaiono molto promettenti per il trattamento della GVHD grazie alle loro peculiari caratteristiche immunologiche: esse infatti non vengono riconosciute come estranee da linfociti alloigenici, e sembrano esercitare un effetto immunosoppressivo sulla proliferazione linfocitaria. Tali proprietà non sono ancora state studiate per le MSC da CB. Pertanto l'obiettivo di questo lavoro è stato la valutazione dell'effetto immunomodulante delle CB-MSC in confronto alle già note proprietà delle MSC da BM. Le MSC sono state ottenute mediante i seguenti metodi: a) selezione immunologica negativa per i campioni di CB e b) separazione su gradiente di densità per i BM. Successivamente le cellule sono state risospese in terreno di coltura composto da α MEM e 20% di siero fetale bovino (FBS). Le MSC da BM e CB sono state seminate in coltura in dosi scalari (10^5 , 5×10^4 , 10^4) con linfociti alloigenici (PBL) stimolati con fitoemoagglu-

tinina (PHA) e colture linfocitarie miste (MLR). La proliferazione linfocitaria è stata rilevata mediante incorporazione di timidina triziata. Dai nostri esperimenti è emerso che le CB-MSC non funzionano da APC e posseggono una buona capacità immunomodulante sulla proliferazione linfocitaria indotta da mitogeno (PHA), comparabile a quello ottenuto con le MSC da BM ($p < 0.01$) (Figura 1a). Inoltre l'effetto immunosoppressivo è risultato strettamente dose dipendente. Risultati analoghi sono stati osservati nelle MLR (Figura 1b), soprattutto per le CB-MSC, con le quali alla dose più bassa (10^4 MSC, 1:10 MSC:PBL) si è ottenuta in media una stimolazione della crescita linfocitaria, mentre per le BM-MSC l'effetto a quella dose è nullo.

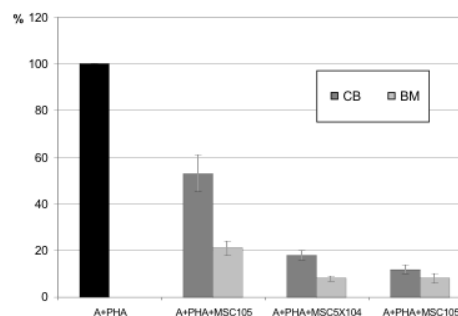


Fig. 1a) Modulazione della proliferazione linfocitaria indotta da mitogeni (PHA) con dosi scalari di MSC derivate da CB e BM. I dati sono espressi come percentuale della massima risposta linfocitaria (A+PHA), media \pm SEM

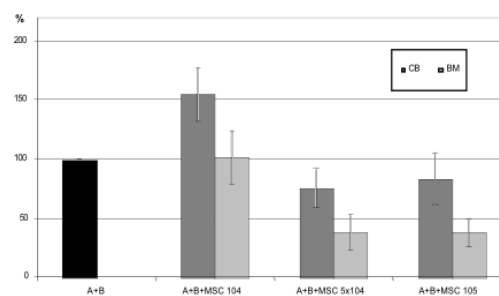


Fig. 1b) Modulazione della proliferazione linfocitaria indotta da linfociti alloigenici (MLR) con dosi scalari di MSC derivate da CB e BM. I dati sono espressi come percentuale della massima risposta linfocitaria (A+B), media \pm SEM

In conclusione le CB-MSC hanno dimostrato *in vitro* di eludere la risposta linfocitaria alloigenica e di possedere proprietà immunomodulatorie strettamente dose dipendente, più marcate con i linfociti stimolati da mitogeni. Nonostante siano necessari ulteriori studi per stabilire la dose ottimale per l'inibizione delle MLR, tali dati aprono la strada ad un nuovo utilizzo delle banche di sangue di cordone come sorgente di MSC alloigeniche già espanse e di pronta disponibilità per il trattamento della GVHD.

P074

PORFIRA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA (PTI): TERAPIA CON ALTE DOSI DI DESAMETASONE NEI BAMBINI E NEGLI ADOLESCENTI

Amendola A, Palumbo G, Moleti ML, Testi AM, D'Angiò M, Rea M, De Vellis A, Tomei G, Foà R, Giona F

Ematologia-Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università Sapienza, Roma

L'efficacia delle alte dosi di desametasone (DEXA) nel trattamento della PTI refrattaria o ricorrente, è stata riportata in letteratura ma i risultati sono controversi. Per valutare l'efficacia e la tolleranza delle alte dosi di DEXA, abbiamo trattato 59 pazienti di età <20 anni con PTI, in diverse fasi di malattia. Dei 59 pazienti, 37 sono stati arruolati in uno studio monocentrico (gruppo 1) che prevedeva il DEXA alla dose di 30 mg/m²/die (max 40 mg) per 4 giorni consecutivi ogni 28 giorni per un massimo di 6 cicli; 22 sono stati arruolati in uno studio pilota multicentrico GIMEMA (gruppo 2), che prevedeva il DEXA al dosaggio di 20 mg/m²/die (max 40 mg) per 4 giorni consecutivi ogni 14 giorni per 4 cicli. Gruppo 1: dei 37 pazienti (19 maschi e 18 femmine, con età mediana al trattamento di 12 anni), 16 non erano stati pretrattati (13 all'esordio di malattia), 16 erano refrattari (1 splenectomizzato), 5 avevano avuto multiple recidive. La mediana delle piastrine (PLT) al momento della terapia era di 10.000/mm³ e 30 pazienti presentavano sintomatologia emorragica (WHO <=3). Gruppo 2: tutti e 22 i pazienti (13 maschi e 9 femmine, con età mediana di 6 anni) erano all'esordio di malattia. La mediana delle piastrine era di 7.000/mm³ e tutti i pazienti presentavano una sintomatologia emorragica (WHO <=3). La risposta è stata valutata dopo due cicli e al termine del trattamento previsto ed è stata considerata completa (RC) se PLT >=150.000/mm³, parziale (RP) se le PLT erano >50 <150.000/mm³; non risposta (NR) se le PLT erano <50.000/mm³ nello studio monocentrico ed <30.000/mm³ nello studio multicentrico. **Risultati.** Gruppo 1: dopo il II ciclo, dei 16 pazienti non pretrattati, 9 hanno ottenuto una RC (56%) e 7 una RP (44%); a completamento dei 6 cicli, 10 (62,5%) hanno ottenuto una RC e 6 (37,5%) una RP; dei 16 rispondenti, 10 (69%) continuano a mantenere la risposta (RC+RP) dopo un follow-up (FUP) mediano di 114 mesi (range 77-128). Dei 16 pazienti refrattari, 2 hanno ottenuto una RC dopo il II ciclo (12%), 5 una RP (32%) e 9 una NR (56%); al termine dei 6 cicli, 4 (25%) hanno ottenuto una RC, 6 (37,5%) una RP e 6 (37,5%) una NR; di questi 5 (31%) sono persistentemente rispondenti dopo un FUP mediano di 127 mesi (range 117-131). Dei 5 pazienti con recidive multiple, 4 (80%) hanno ottenuto una RC dopo il II ciclo e 1(20%) una RP; a completamento dei 6 cicli, 3 (60%) conservavano la RC e 2 (40%) risultavano in RP; 4 di questi 5 (80%) conservano la risposta dopo un FUP mediano di 130 mesi (range 111-136). Gruppo 2: dei 22 pazienti, dopo il II ciclo, 16 (73%) hanno ottenuto una RC, 4 (18%) una RP e 2(9%) una NR; dopo il completamento dei 4 cicli, 16 continuavano ad essere in RC (73%), 2 (10%) conservavano una RP e 4 (18%) sono risultati NR. I 16 con RC e 1 paziente con RP continuano ad essere rispondenti dopo un FUP mediano di 54,5 mesi (range 46-68). In considerazione di questi risultati, le alte dosi di DEXA per un totale di 2 cicli potrebbero essere valutate nei pazienti di età <20 anni con PTI all'esordio, in confronto ad altre terapie, e/o utilizzate nelle recidive di pazienti con PTI.

ALTRO

C015

SVILUPPO COGNITIVO, MOTORIO E INTERAZIONE DURANTE IL GIOCO IN PICCOLI PAZIENTI CON PATOLOGIA TUMORALE

Capello F,¹ Scrimin S,¹ Pillon M,³ Putnik D,² Bornstein MH,² Levrero P,⁴ Dufour C,⁴ Carli M,³ Axia G¹

¹Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova; ²National Institute of Child Health and Human Development, Bethesda, MD; ³Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; ⁴Ospedale Pediatrico Gaslini, Genova

Introduzione e obiettivi. Lo scopo del lavoro è di comprendere se il tumore nei primi tre anni di vita può influenzare l'interazione di gioco madre-bambino e quindi lo sviluppo delle abilità cognitive, motorie e d'interazione del piccolo paziente. Pochi studi hanno valutato le conseguenze a lungo termine del tumore in tenera età (Kaleita, Reaman, MacLean, Sather, e Whitt, 1999) e non ci sono studi prospettici sui bambini diagnosticati nei primi tre anni di vita.

Metodi. 33 bambini malati (leucemia=59,5%, tumori solidi=40,5%) tra i 9 e i 40 mesi di età (17 maschi e 16 femmine) e le loro madri sono stati valutati, a circa tre mesi dall'inizio delle terapie, nelle loro capacità di gioco e confrontati con un gruppo di controllo di bambini sani appaiati per sesso ed età. L'età media, uguale per i due gruppi, alla valutazione è di 20,55 (DS=7,90, range 10-42 mesi). Ai bambini e alle loro madri è stato chiesto di giocare liberamente con un set standard di giochi per 10 minuti (Bornstein, 1997). La sessione è stata videoregistrata e codificata attraverso codici osservativi continui, escludenti ed esaustivi. Sono stati valutati i sintomi di ansia e DPTS nelle madri e controllati i fattori socio-demografici oltre ai fattori legati alla malattia.

Risultati. I risultati principali mostrano nei piccoli pazienti un livello di sviluppo motorio e cognitivo, rilevato attraverso il gioco, significativamente inferiore rispetto a quello dei controlli, $F(1,66)=5,29, p=.025$. Esiste una forte correlazione tra i comportamenti di gioco materni e quelli del bambino nel gruppo dei sani e quasi nessuna relazione nel gruppo dei malati (Figura 1). Lo stato psicologico materno e le specifiche variabili mediche del bambino non risultano legate alla modalità di gioco.

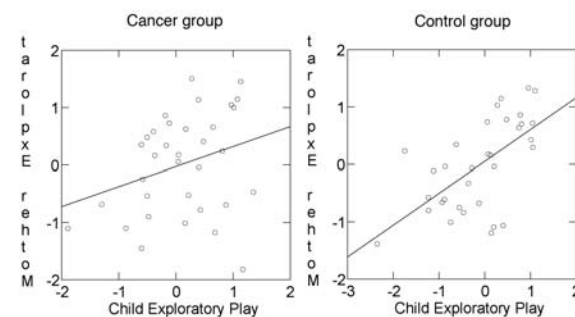


Figura 1. Pattern di correlazione tra i comportamenti di gioco esplorativo del bambino e le dimostrazioni materne di gioco esplorativo nei due gruppi di soggetti.

Conclusioni: I piccoli pazienti rispetto ai controlli mettono in atto di comportamenti di gioco più semplici e primitivi,

mostrando uno sviluppo motorio e cognitivo meno avanzato. Inoltre c'è una mancanza di relazione nella interazione di gioco madre-bambino nei piccoli pazienti. Queste differenze nello stile cognitivo, motorio e nell'interazione in così tenera età tra i piccoli pazienti e i controlli merita una particolare attenzione clinica e la pianificazione di specifici interventi, date le ripercussioni che questo potrebbe avere sullo sviluppo psicologico successivo.

C016

IL DOCUMENTO DI ERICE: QUANDO CONSIDERARE GUARITI E COME SEGUIRE NEL TEMPO I SOGGETTI FUORI TERAPIA DOPO UN TUMORE CONTRATTO IN ETÀ PEDIATRICA

Haupt R,¹ Maserà G,² D'Angio GJ,³ Byrne J, Cometa A,⁵ Chesler M,⁶ Favara Scacco C,⁷ Gibson F,⁸ Massaglia P,⁹ Massimo L,¹ Micalizzi C,¹ Pastore G,¹⁰ Reaman G,¹¹ Serrafiero Bovini MP,⁶ Spinetta JJ,¹² Valsecchi Mg,² Veerman AJF,¹³ Penn A,¹⁴ Jankovic M,² Per I-bfm-sg Eltec

¹Istituto G. Gaslini, Genova; ²Università di Milano-Bicocca, Ospedale San Gerardo, Monza; ³University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA; ⁴Boyer Research Institute, Drogheda, Ireland; ⁵IRCCS S. Matteo, Pavia; ⁶International Confederation of Childhood Cancer Parent Organization (ICCCPO); ⁷Clinica Pediatrica Università di Catania; ⁸UCL Institute of Child Health and Great Ormond Street Hospital for Children NHS Trust, London UK; ⁹Clinica Pediatrica Università di Torino; ¹⁰Ospedale di Novara; ¹¹The George Washington University, Washington, DC, USA; ¹²San Diego State University, San Diego, CA, USA; ¹³Vrije Universiteit Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; ¹⁴Frenchay Hospital, Bristol, UK

Obiettivi. Discutere su quando la parola guarigione può; essere usata in oncologia pediatrica. Confrontarsi sull'utilità; e modalità del follow-up a distanza.

Metodi. Oncologi, psicologi, infermiere, epidemiologi, genitori e soggetti guariti provenienti da 13 paesi europei si sono riuniti per stilare questo documento.

Risultati.

- Il concetto di guarigione da tumore pediatrico si riferisce solo alla malattia iniziale, indipendentemente dall'eventuale rischio o presenza di invalidità grave; o effetti collaterali delle terapie.

- I genitori ed il bambino devono essere informati circa la diagnosi fatta, il programma terapeutico e le potenzialità di guarigione.

- I fuori terapia e le loro famiglie hanno il diritto di essere informati, sia per voce che in scritto, circa il fatto di essere guariti; oltre che di eventuali rischi di effetti tardivi.

- Ogni centro oncologico pediatrico dovrebbe fornirsi di un ambulatorio multi-specialistico dei fuori terapia. Quando il guarito diventa adulto, può essere indirizzato ad un centro specialistico adeguato che possa organizzare il follow-up a lungo termine.

- La consulenza sulle problematiche a lungo termine deve essere basata sull'evidenza scientifica. I risultati di tali ricerche devono essere comunicati alle persone che vi hanno collaborato, ed utilizzati nel disegno dei nuovi programmi di follow-up.

- Alcuni guariti sono a rischio di sviluppare condizioni cliniche che possono richiedere supporto medico, psicologico o sociale. Il sistema sanitario deve farsi carico di queste situazioni.

- I membri della famiglia devono essere incoraggiati ad essere coinvolti nella discussione su progetti futuri, oltre che nella programmazione di eventuali interventi psico-sociali per il bambino.

- La Società deve essere informata sul fatto che i tumori pediatrici sono guaribili. I guariti devono avere accesso a istruzione, lavoro, e assistenza sanitaria uguali a quelle dei loro pari età grave.

- La comunità internazionale si deve fare carico di disuguaglianze tra le nazioni nel tipo di trattamenti somministrati e nelle percentuali di guarigione.

Conclusioni. Questo documento verrà tradotto in tutte le lingue dei firmatari e verrà fatto circolare tra i media, il personale sanitario e tutte le famiglie in modo da aumentare la consapevolezza della curabilità dei tumori pediatrici.

C017

SINGOLA SOMMINISTRAZIONE DI PEG-G-CSF 100 MCG/KG NEL TRATTAMENTO DELLA NEUTROPENIA CHEMIOINDOTTA E NELLA MOBILIZZAZIONE DI PROGENITORI EMOPOIETICI CIRCOLANTI CD34⁺ IN PAZIENTI DI ETÀ PEDIATRICA

Dallorso S,¹ Berger M,² Caviglia I,¹ Emanuelli T,¹ Scarso L,¹ Fagioli F,² Haupt R¹

¹IRCCS Gaslini (Genova); ²Ospedale Regina Margherita (Torino)

Introduzione. Il trattamento della neutropenia chemioindotta e la raccolta di progenitori da sangue periferico (CPSP) avvengono attraverso la somministrazione giornaliera di G-CSF. Il legame del G-CSF ad una molecola di polietilenglicole (PEG) ne aumenta il tempo di permanenza in circolo rendendo l'aumento dei neutrofili il principale meccanismo di eliminazione, per cui è sufficiente una singola somministrazione di PEG-G-CSF per ottenere gli stessi effetti di ripetute somministrazioni di G-CSF.

Obiettivi. Valutare l'efficacia di una singola dose di PEG-G-CSF (100 mcg/kg dal giorno + 3) nella neutropenia chemioindotta e nella mobilizzazione di CPSP, in pazienti pediatrici affetti da neoplasie maligne. Abbiamo valutato: durata della neutropenia di grado 4, incidenza e caratteristiche della neutropenia febbrile, caratteristiche della mobilizzazione (CD34⁺ circolanti >20/mL). Metodi. Criteri di inclusione: diagnosi di tumore solido o linfoma non leucemizzato, Karnofsky >50. Criteri di esclusione: aplasia dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche, aspettativa di vita <4 settimane. Emocromo a giorni alterni sino a Neutrofili >0.5/mm³ e poi quotidiano con monitoraggio CD34.

Risultati. Nel periodo Agosto 2005-Ottobre 2006 28 bambini che hanno ricevuto almeno 1 dose di PEG-G-CSF sono stati arruolati nello studio.

Diagnosi. Neuroblastoma (14), Osteosarcoma (6), Sarcoma di Ewing (2), Medulloblastoma (2), Nefroblastoma (2), Germinoma (1), non-Hodgkin linfoma (1). Neutrofili >0.5/mm³ sono stati raggiunti ad una mediana di 9 giorni (6-12) dalla terapia. Sono stati documentati 12 episodi febbrili (di origine sconosciuta in 11, microbiologicamente documentata in 1). Dei 26 cicli valutati per la mobilizzazione, 18 hanno presentato un valore di CD34>20/mL (mediana 67, estremi 20-682) con durata mediana della mobilizzazione di 5 giorni (estremi 4-9).

Conclusioni. la modalità di somministrazione del PEG-G-CSF è vantaggiosa e può aumentare la compliance specialmente in età pediatrica. Il recupero ematologico è sovrapponibile a quello ottenuto con il G-CSF. Si osserva una maggiore durata di livelli ematici di CD34 tali da consentire una migliore programmazione per la leucoferesi. Considerando la formulazione rivolta a pazienti adulti è necessario un confronto economico con il G-CSF.

C018**ANALISI DELLA CORRELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO IN PAZIENTI CON MUTAZIONI DEL GENE WASP**

Notarangelo LD, Giliani S, Moratto D, Mazza C, Fappani L, Vielmi V, Soresina A, de Martiis D, Shiha K, Cavagnini S, Corti A, Boccacci S, Grassi V, Brusati M, Cossu F,¹ Cornelli PE,² Rabusin M,³ Loffredo P,⁴ Jankovic M,⁵ Ladogana S,⁶ Scommegna S,⁷ Lazzareschi I,⁸ De Mattia D,⁹ Mazzolari E, Porta F

Clinica Pediatrica e Istituto di Medicina Molecolare A. Nocivelli, Università degli Studi di Brescia, ¹Ospedale Microcitamico, Cagliari, ²Divisione di Ematologia, Ospedali Riuniti, Bergamo, ³Clinica Pediatrica, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, ⁴Divisione Pediatrica Ematologia, Ospedale Pausilipon, Napoli, ⁵Clinica Pediatrica, Ospedale Nuovo San Gerardo, Monza, ⁶Divisione di Pediatria, Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza, S. Giovanni Rotondo, ⁷Dipartimento di Pediatria, Ospedale S. Camillo, Roma, ⁸Oncologia Pediatrica, Policlinico Gemelli, Roma, ⁹U.O. Pediatria F. Vecchio, Università di Bari, Italy

Introduzione e obiettivi. Mutazioni a carico del gene WASP (Wiskott-Aldrich Syndrome Protein) esitano in tre fenotipi clinici distinti: la Sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS) la Piastrinopenia Isolata X recessiva o intermittente (XLT, I-XLT) e la neutropenia/mielodisplasia X recessiva. Il gene WASP codifica per la proteina citoscheletrica WASp. Il presente lavoro ha lo scopo di valutare la correlazione genotipo-fenotipo in pazienti con mutazioni a carico del gene WASP e fenotipo WAS/XLT attraverso la caratterizzazione molecolare e l'analisi di espressione della proteina.

Pazienti e metodi. Sono stati inclusi tutti i pazienti pervenuti alla nostra osservazione con fenotipo WAS o XLT. L'analisi di mutazione è stata effettuata attraverso PCR (Polymerase chain reaction), DHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography) e sequenza diretta. L'espressione della proteina WASp nei linfociti e nelle piastrine dei soggetti affetti è stata condotta attraverso marcatura intracitoplasmatica seguita da analisi citofluorimetrica.

Risultati. Sono risultati eleggibili 43 pazienti, 28 con fenotipo WAS e 15 con fenotipo XLT. Nel gruppo WAS si è evidenziata una prevalenza di mutazioni di tipo severo (inserzioni/delezioni e mutazioni nonsense). Nel gruppo XLT sono state riscontrate 9 mutazioni missenso (7 delle quali a carico degli esoni 1 e 2) e una mutazione di splicing. L'espressione della proteina WASp è stata valutata in 13 pazienti XLT e 13 pazienti WAS. Nell'ambito dei pazienti WASp+, 11 presentavano un fenotipo XLT (11/13); nel gruppo WASp- 11 pazienti avevano un fenotipo WAS (11/13). La correlazione tra espressione della proteina e fenotipo clinico è risultata statisticamente significativa ($p < 0.001$).

Conclusioni. Mutazioni missenso negli esoni 1-2 si associano a fenotipo XLT. La valutazione di espressione della proteina costituisce il miglior marcatore predittivo di fenotipo clinico.

C019**TERAPIA GENICA DELLA SINDROME DI WISKOTT-ALDRICH**

Aiuti A.,¹ Marangoni F.,^{1,2} Scaramuzza S.,¹ Panaroni C.,¹ Bosticardo M.,¹ Trifari S.,¹ Locci M.,¹ Draghici E.,¹ Galy A.,³ Naldini L.,^{1,2} Chiesa R.,¹ Dupré L.,^{1,4} Villa A.,^{1,5} Roncarolo Mg^{1,2}

¹Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica, (HSR-TIGET); ²Università Vita-Salute San Raffaele Milano; ³Généthon UMR CNRS 8115, Evry, France; ⁴INSERM U563, Toulouse, France; ⁵Istituto di Tecnologia Biomediche, Segrate, Milano.

Introduzione. La sindrome di Wiskott Aldrich (WAS) è una immunodeficienza severa caratterizzata da frequenti infezioni, trombocitopenia, eczema e da un aumentato rischio di sviluppare malattie autoimmuni e linfomi. La terapia genica potrebbe rappresentare un trattamento alternativo al trapianto di CSE allogeneo qualora un donatore HLA-identico non sia disponibile. Lo scopo del presente studio era di investigare l'efficacia e la non tossicità di tale trattamento nei modelli preclinici, in preparazione di un protocollo clinico di terapia genica.

Metodo. La trasduzione di cellule ematopoietiche WAS-/- è stata eseguita con un vettore lentivirale codificante la proteina WAS sotto il controllo del promotore endogeno lungo 1.6 kb. Le CSE murine trasdotte con il vettore lentivirale sono state trapiantate in topi WAS-/- irradiati sub-letalmente. Le cellule ematopoietiche umane (linfociti, CD34⁺) sono state coltivate *in vitro*.

Risultati. Nel modello di topi WAS-/- è stato ottenuto un attecchimento di cellule WASP+ del 30% nelle cellule mieloidi, e del 50% e 75% rispettivamente nelle cellule B e T, indicando un vantaggio selettivo per i linfociti con il gene sano. Dopo la terapia genica è stata osservata una normalizzazione della proliferazione e della produzione di citochine dopo stimolazione del TCR in linfociti T splenici. Il follow up ematologico e l'analisi istopatologica non hanno mostrato insorgenza di tumori derivanti dalle cellule trasdotte. Non è stata osservata alcuna over-espressione di WASP, e la sopravvivenza a lungo termine dei topi trattati è risultata paragonabile a quelli dei topi di controllo. Dopo trasduzione con il vettore lentivirale i linfociti T ottenuti da pazienti WAS hanno mostrato una correzione della proliferazione al TCR e della produzione di IL-2, mentre nelle cellule dendritiche sono state corrette le alterazioni del citoscheletro. L'analisi dei cloni T generati da pazienti ha dimostrato che la presenza di 1-2 copie del vettore è sufficiente e necessaria per correggere il difetto funzionale. Infine abbiamo dimostrato che la trasduzione di cellule CD34⁺ conduce alla espressione di WASP in cellule differenziate, senza comportare alterazioni della crescita o della capacità di differenziamento in linfociti o cellule mieloidi.

Conclusioni. Nel presente studio abbiamo dimostrato la correzione del difetto immunologico nel modello preclinico, in assenza di fenomeni di tossicità, fino a 12 mesi dopo la terapia genica. I risultati di questi studi rappresentano il prerequisito essenziale per il disegno di un trial clinico di terapia genica per la WAS, basato sul trapianto di cellule CD34⁺ autologhe trasdotte, in associazione ad un condizionamento ad intensità ridotta.

P075**IMPIEGO DELL'ANTICORPO MONOCLONALE ANTI-CD20 (RITUXIMAB) NEL TRATTAMENTO DI MALATTIE SEVERE CORRELATE AD INFEZIONE DA EPSTEIN-BARR VIRUS (EBV)**

Giraldi E, Provenzi M, Cornelli P, Ravasio E, Morali L, Ruggeri M, Foglia C, Cavalleri L, Codazzi D,¹ Rambaldi A,² Notarangelo LD,³ Torre G

U.O. Pediatria, ¹Terapia Intensiva Pediatrica, ²Ematologia, Ospedali Riuniti Bergamo, ³Clinica Pediatrica, Università Brescia, Italy

L'infezione primaria da EBV, generalmente benigna, può, occasionalmente, provocare malattie severe, quali mononucleosi infettiva (MI) fulminante, linfoma, ayglobulinemia ed aplasia severa, spesso ad esito infausto in pz affetti da sd linfoproliferativa X-recessiva (XLP). In considerazione degli incoraggianti risultati ottenuti grazie all'impiego dell'Ab monoclonale anti CD20 nel trattamento di LNH-B e PTLT, in gran parte EBV-correlate, dal 2001 presso il nostro centro sono stati trattati con Rituximab 3 casi di malattie sostenute da EBV ad andamento aggressivo, nell'ipotesi che una rapida riduzione dei LB potesse migliorarne l'outcome. A.V. (M,7a) ha presentato una drammatica MI con febbre, tonsillite occludente, spiccata epatospleno/adenomegalia, elevato LDH sierico (7881 U/L), CID, encefalopatia epatica seguita da MOF e coma. La malattia da EBV si è manifestata in T.A. (M, 1a) con un'ingravescente encefalopatia demielinizante a localizzazioni multiple ed impronta epilettogena, preceduta da protratta ipertensione, intenso rash, epatite e pancitopenia. A.G. (M, 6a), con anamnesi di LNH-B recidivato e MI, è giunto alla nostra osservazione per ematemesi in malattia linfoproliferativa, B-CD20⁺ EBV⁺, a localizzazione esofagea/mediastinica. In tutti elevati livelli ematici di EBV-DNA (da 2.564 a 143.000 Geq/10 (e)5 MN). In T.A. e A.G. diagnosi di XLP per mutazioni a carico del gene SH2D1A. Considerato il quadro clinico life-threatening e la correlazione con EBV sono state somministrate da 4 a 8 dosi di Rituximab (375 mg/m (e)2 settimanale x 4, quindi ogni 21 gg). Terapia sostitutiva con Ig e profilassi per pneumocistosi effettuate fino a recupero immunologico (5/6 mesi). Sin dalla prima dose di Rituximab si è osservato rapido miglioramento clinico, drastica riduzione dei LB circolanti e della viremia, fino a sua completa negativizzazione. In tutti completo controllo della malattia: in T.A. restituito ad integrum del danno cerebrale; scomparsa della massa tumorale in A.G. Quest'ultimo, però, dopo 7 mesi ed in attesa di alloTMO, ha sviluppato LNH-T cerebrale. In nessuno complicanze infettive severe. Questa strategia terapeutica si è dimostrata altamente efficace nel controllo di malattie severe da EBV, a prognosi sfavorevole, sicura e ben tollerata. Tuttavia, i pz con accertata XLP devono essere avviati rapidamente ad alloHSCT visto l'elevato rischio di ricorrenza di neoplasie e/o di condizioni morbose potenzialmente fatali.

P076**SINDROME LINFOPROLIFERATIVA X-RECESSIVA (XLP): DALLA MONONUCLEOSI INFETTIVA SEVERA A DISORDINI LINFOPROLIFERATIVI A LOCALIZZAZIONE INUSUALE**

Giraldi E, Provenzi M, Morali L, Ravasio E, Cornelli P, Ruggeri M, Foglia C, Cavalleri L, Casotti V, Caffi L,¹ Codazzi D,² Mazzolari E,³ Notarangelo LD,³ Torre G

U.O. Pediatria, ¹Neuropsichiatria infantile, ²Terapia Intensiva Pediatrica, Ospedali Riuniti, Bergamo ³Clinica Pediatrica, Università Brescia, Italy

La sd linfoproliferativa X-recessiva (XLP) rappresenta una

rara immunodeficienza (ID) congenita, dovuta a mutazioni del gene SAP, caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche scatenate da EBV: a) mononucleosi infettiva (MI) fulminante; b) disordini linfoproliferativi, poli/monoclonali, per lo più B-cellulari; c) dis/ayglobulinemia; d) aplasia severa. A più di 20 anni dalla sua prima segnalazione, la XLP rimane ancora oggi gravata da elevata morbilità e mortalità (fino all'80%), con unica possibilità di cura nell'alloHSCT. Descriviamo 2 casi di XLP in bambini (maschi, 1-6 anni), con anamnesi familiare negativa. T.A. ad 1 anno MI ad andamento rapidamente evolutivo: ipertensione, intenso rash, polimesadenia, epatomegalia, epatite (AST 818, ALT 953, γ -GT 1126, FA 759 U/L), aumentato LDH sierico (1689 U/L), linfo-monocitosi, neutro/piastripenia, anemia, disgamaglobulinemia. La sierologia EBV (IgM VCA+) confermava una MI. Seguiva una meningoencefalite demielinizante diffusa (tronco ed emisferi cerebrali) responsabile di stato di male epilettico e SIADH. L'analisi quantitativa EBV era positiva su liquor e sangue periferico (EBV-DNA 143.000 Geq/10 (e)5 MN). A.G. a 6 anni giunto al nostro centro per copiosa ematemesi. In anamnesi: a 3a LNH-B ileo-cecale recidivato; a 5a MI. EGDS e RMN: neoformazione esofagea (4 x 3 cm) parzialmente vegetante, scavata ed ulcerata; PET: intensa captazione. Istologia: disordine linfoproliferativo, monomorfo, B-CD20⁺, EBV+. PCR per EBV su sangue: 2.564 Geq/10 (e)5 MN. Posta diagnosi di XLP su base immunologica (deficit IgG, elevate IgA-IgM, aumento LT CD8⁺ e ridotta attività NK) e molecolare (mutazioni gene SH2D1A). Nei 2 casi il Rituximab (375 mg/m(e)2/settimanale per 4/8 dosi) ha condotto a regressione di malattia. A distanza di 7 mesi A.G. ha, però, presentato infiltrati polmonari multipli, compatibili con malattia granulomatosa, e LNH-T cerebrale frontale. I pz, successivamente, sono stati sottoposti ad alloHSCT. Il sospetto di XLP deve sorgere ogniqualvolta bambini di sesso maschile si presentino con malattie severe secondarie ad EBV e/o con linfomi EBV-correlati, rari in età pediatrica e solitamente complicanze di immunodeficienze congenite o acquisite. Sebbene in caso di XLP la localizzazione più frequente di LNH-B sia il tratto ileo-cecale, a volte possono essere interessati altri distretti quali l'esofago, potenzialmente fatale per elevato rischio di perforazione, ed il SNC.

P077**TRATTAMENTO FARMACOLOGICO PER GLI ANGIOMI PERICOLOSI PER LA VITA**

Castellano A, Serra A, Ilari I, Fidani P, Jenkner A, Donfrancesco A

Divisione di Oncologia, IRCCS Bambino Gesù, Roma, Italy

Introduzione ed obiettivi. Gli angiomi sono i più comuni tumori dell'infanzia presenti alla nascita che per la modalità di insorgenza si evidenziano intorno all'anno di età. La caratteristica specifica degli angiomi è la loro capacità di autorisoluzione e quindi le loro potenzialità di danno sono legate ad eventi in corso di proliferazione che vanno da ulcerazioni, ostruzione o compressione di organi nobili con conseguente rischio di vita. L'uso degli steroidi è ormai noto nel trattamento degli angiomi che non vanno incontro a risoluzione spontanea ma in alcuni casi particolari tale trattamento potrebbe non essere sufficiente. Per tale motivo proponiamo una terapia che tenendo in considerazione le condizioni cliniche del bambino, la rapidità di crescita dell'angioma e l'età, passi attraverso un trattamento farmacologico composto da vincristina, interferone e ciclofosfamide.

Metodi. Nel nostro istituto abbiamo trattato 2 bambine (età all'esordio 20 giorni) con angioma life-threatening (angiomi del tratto cervico mediastinico di cui uno con interessamento encefalico). Entrambe le bambine hanno presentato dispnea e necessitato di assistenza respiratoria artificiale all'esordio. Sono state quindi sottoposte a terapia steroidea con transitorio beneficio; si è quindi deciso di iniziare terapia antituberculosa con Vincristina 1- 1.5 mg/m² ev, unica dose settimanale per 20 settimane.

Risultati. La rivalutazione al termine della terapia è stata eseguita con RMN che in entrambe i casi ha mostrato un arresto nella progressione di malattia. In uno dei due casi però la lesione angiomatosa ha ripreso la sua evoluzione dopo interruzione del trattamento; la piccola è stata quindi sottoposta a terapia con Interferone Pegilato 0.5-1.5 mgr/kg/die sottocute, unica dose settimanale per 7 mesi. Dall'inizio le lesioni hanno dimostrato stabilizzazione e regressione accertata sia clinicamente che con RMN, in seguito però hanno subito ulcerazioni e progressione cutanea per cui il trattamento è stato sostituito da Ciclofosfamide 10 mg/kg/die per os, per 4 giorni, ogni 21 giorni per 4 cicli con visibile e subitaneo beneficio. Entrambe le bambine sono ancora in trattamento.

Conclusioni. Al di là di tali scelte terapeutiche ci sentiamo di intravedere l'introduzione di farmaci inibitori dell'angiogenesi (bevacizumab) in alcuni particolari casi selezionati.

P078

SINDROME TRMA: FOLLOW-UP DI 3 PAZIENTI

Azzalli M,¹ Pedretti S,¹ Orzan E,² Borgna-Pignatti C¹

¹Clinica Pediatrica, Azienda Universitario-Ospedaliera S. Anna di Ferrara; ²Unità Operativa di Otorinolaringoiatria-Centro Multidisciplinare per l'ipoacusia infantile, Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Introduzione e obiettivi. La TRMA (Thiamine-Responsive Megaloblastic Anemia) o Sindrome di Rogers è una patologia a trasmissione autosomica recessiva, le cui prime manifestazioni cliniche si hanno nell'infanzia: anemia megaloblastica, diabete mellito ed ipoacusia neurosensoriale possono associarsi a pancitopenia, degenerazione retinica, atrofia ottica, malformazioni cardiache. Il gene responsabile, SLC19A2, codifica per una proteina con funzione di trasportatore ad alta affinità per la tiamina (THTR-1). L'approccio terapeutico consiste nella somministrazione di tiamina cloridrato a dosaggi variabili da 25-200 mg/die. Noi riportiamo il follow-up a 18 anni di tre pazienti, di cui una in terapia dai primi anni di vita. Tutte e tre sono state caratterizzate geneticamente e incluse nella prima descrizione della mutazione responsabile della sindrome. Le pazienti 1 e 2 alla diagnosi erano affette da diabete insulino-dipendente, grave ipoacusia neurosensoriale, ridotta acuità visiva con pallore bilaterale della papilla ottica, segni di degenerazione pigmentaria della retina ed anemia megaloblastica. La paziente 3 all'età di 3 anni manifestò un innalzamento della glicemia, spia della presenza della malattia e pertanto iniziò il trattamento con tiamina.

Metodi. A tutte le pazienti sono stati effettuati: esami ematochimici, valutazione diabetologica, oftalmologica, audiologica.

Risultati. Le pazienti presentano una macrocitosi ben responsiva al trattamento con tiamina. Nelle pazienti 1 e 2 il metabolismo glucidico, l'ipoacusia e l'atrofia ottica non sembrano essere stati responsivi a lungo termine al trattamento farmacologico, iniziato tardivamente. La paziente 3 rappresenta il primo caso mai descritto trattato con tiamina prima dello sviluppo della sintomatologia clinica conclamata: la

ragazza non ha fino ad ora sviluppato diabete e presenta una compromissione dell'acuità visiva di assai minore entità rispetto alle pazienti 1 e 2. L'andamento dell'ipoacusia è invece sovrapponibile.

Conclusioni. È importante tenere presente la sindrome TRMA nella diagnosi differenziale di ipoacusia neurosensoriale, diabete ed anemia variamente associati, in modo da iniziare una terapia precoce. In pazienti con anamnesi familiari positive è possibile l'esecuzione di analisi genetiche in epoca prenatale o neonatale allo scopo di poter instaurare un trattamento con tiamina fin dai primi giorni di vita.

P079

DISAGIO PSICOLOGICO DEI FRATELLI: ANALISI DI 4 ANNI DI ATTIVITÀ IN ONCOLOGIA PEDIATRICA

Camera F, Pinto A, Gallo S, Parlato G, Barbutto C, Orlando S
Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione. Numerose ricerche sottolineano quanto la malattia oncologica in età evolutiva coinvolga l'intero nucleo familiare e che i fratelli del bambino malato sembrano manifestare il più alto disadattamento tra i membri della famiglia. Il disagio dei fratelli si manifesta in tutte le fasi di malattia e, se sottovalutato, può a lungo termine determinare l'insorgenza di sintomi da PTSD.

Obiettivi e Metodi. In un'ottica di prevenzione del disagio e per implementare la presa in carico globale del piccolo paziente e della sua famiglia, da 4 anni il Servizio Psicologico del Dipartimento di Oncologia ha predisposto uno spazio di counseling per accogliere le richieste relative alle problematiche dei fratelli dei piccoli pazienti.

Risultati. L'esame della casistica afferita al Servizio Psicologico dal 2002 al 2006 (327 pazienti) mostra segnalazioni per 180 fratelli. Il tipo di intervento è stato nel 38% dei casi diretto (colloquio clinico, osservazione comportamentale) e nel 62% indiretto (consulenze ai genitori centrate sui fratelli). Le problematiche rilevate sono sia psicologiche [40%], sia psicosociali [60%]. Le richieste sono avvenute in tutte le fasi del percorso sin dalla comunicazione della diagnosi. In particolare nella fase di follow-up OT aumentano le richieste dei genitori, sia quale elemento riparativo, sia per il ripristino di una maggiore capacità di investimento emotivo sul figlio sano.

Conclusioni. L'attivazione di uno spazio per i fratelli ha favorito la possibilità di far emergere difficoltà di frequente sottovalutate e che non arrivavano spontaneamente all'attenzione dello staff medico e psicologico; ha permesso di salvaguardare nella mente dei genitori quello spazio di pensiero vitale al mantenimento di una relazione con i figli sani; ha fornito un supporto per fronteggiare le numerose difficoltà psicologiche e relazionali. Il Servizio, quindi, si propone di amplificare l'attenzione sui fratelli dei piccoli pazienti e strutturare, con metodologie adeguate (setting individuali, gruppi omogenei, terapia familiare) un percorso supportivo-terapeutico che li accompagni durante l'intero iter della malattia, dalla comunicazione della diagnosi alla guarigione (e purtroppo in alcuni casi alla morte).

P080**ESPRESSIONE E FUNZIONALITÀ DEI LINFOCITI B IN PAZIENTI CON UNA DIAGNOSI INIZIALE DI IPOGAMMAGLOBULINEMIA TRANSITORIA DELL'INFANZIA**

Moschese V,¹ La Rocca M,¹ Graziani S,¹ Avanzini MA,² Carsetti R,³ Marconi M,² Di Cesare S,¹ Chini L,¹ Soresina AR,⁴ Bossi G,² Trizzino A,⁵ Consolini R,⁶ Cardinale F,⁷ Martino S,⁸ Pignata C,⁹ Zecca M,¹⁰ Putti C,¹¹ Rossi P,^{1,3} Plebani A,⁴ per il CSS-ID/AIEOP. *Coordinatore del CSS-ID/AIEOP

¹Centro Interdisciplinare di Pediatria Specialistica, Allergologia ed Immunologia, Policlinico Tor Vergata, Università di Tor Vergata, Roma; ²Clinica Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ³Ospedale Pediatrico Bambin Gesù; Roma; ⁴Clinica Pediatrica, Spedali Civili, Brescia; ⁵Oncematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ⁶Clinica Pediatrica, Università di Pisa; ⁷Clinica Pediatrica III, Università di Bari; ⁸Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁹Unità Specialistica di Immunologia, Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi di Napoli; ¹⁰Oncematologia Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ¹¹Clinica di Oncematologia Pediatrica, Università di Padova, Italy

Introduzione ed obiettivi. Nell'ambito del CSS-ID AIEOP/THI abbiamo valutato gli aspetti immunologici di pazienti con diagnosi iniziale di Ipotammaglobulinemia Transitoria dell'Infanzia (THI) in relazione alla normalizzazione o meno dei valori di IgG al fine di identificare potenziali markers predittivi della sua storia naturale.

Metodi. Il pattern delle sottopopolazioni di cellule B memory, IgM memory B cells (IgM⁺IgD⁺CD27⁺) e switched memory B cells (IgD⁺IgM⁻CD27⁺), e la produzione *in vitro* delle immunoglobuline (sIVIgP) sono stati valutati nei pazienti con diagnosi iniziale di THI ed età compresa tra 12 - 36 mesi, alla diagnosi (14 pazienti con THI confermata a posteriori e 6 con Ipotammaglobulinemia persistente) ed al follow up (10 pazienti con THI e 9 con Ipotammaglobulinemia persistente).

Risultati. Lo studio delle cellule B memory nei pazienti con THI ha rilevato un incremento delle IgM e switched memory B cells con l'età, analogamente ai controlli. Una significativa riduzione delle IgM e delle switched memory B cells è stata rilevata al follow-up nei pazienti con Ipotammaglobulinemia persistente rispetto ai controlli (8.6% e 5% verso 14.3% e 12%; $p < 0.001$). La ridotta espressione delle switched memory B cells nei pazienti con Ipotammaglobulinemia (4.25% verso 7.4% dei controlli; $p < 0.05$) era presente già alla diagnosi. La sIVIgP nel tempo è stata testata in 13 pazienti alla diagnosi e in 24 al follow up. Dopo stimolazione si è osservato un aumento della produzione di tutti gli isotipi di Ig, con aumento 'overtime' dalla diagnosi al follow up dei valori delle IgG nei bambini con THI (diagnosi: mediana 65 mcg/mL/106 CD19⁺; follow up: mediana 196 mcg/mL/106 CD19⁺). Nei bambini con Ipotammaglobulinemia è stata osservata una significativa riduzione della sIVIgG al follow up (mediana 79 mcg/mL/106 CD19⁺; controlli: mediana 238.5 mcg/mL/106 CD19⁺, $p < 0.02$).

Conclusioni. Il riscontro di una ridotta espressione e funzionalità delle cellule B memory in pazienti con diagnosi iniziale di THI e persistenza dell'ipotammaglobulinemia supporta il ruolo predittivo/prognostico di questi correlati immunologici nell'evoluzione verso forme permanenti di immunodeficienza.

P081**EFFICIENZA DI INFEZIONE DELLE CELLULE STAMINALI DEL LIQUIDO AMNIOTICO MEDIANTE UTILIZZO DI VETTORI ADENOVIRALI**

Piccoli M,¹ Grisafi D,² Pozzobon M,¹ Bollini S,¹ Marangoni P,¹ Carli M,¹ Zanesco L,¹ Scarpa M,² De Coppi P,^{1,3} Tomanin R²

¹Laboratorio per il trapianto e lo studio delle cellule staminali, Clinica di Oncematologia Pediatrica, Università di Padova; ²Laboratorio di terapia genica, Centro per le malattie rare e Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; ³Dipartimento di Chirurgia Pediatrica, Università di Padova, Italy

Introduzione. Cellule staminali multipotenti possono essere ricavate da differenti fonti sia di origine fetale che adulta; negli ultimi anni molti lavori hanno dimostrato la possibilità di isolare cellule progenitrici dal liquido amniotico. L'amniocentesi è una tecnica oramai largamente accettata per la diagnosi prenatale e prevede bassi rischi sia per la madre che per il feto. Di conseguenza le cellule staminali dal liquido amniotico (AFS cells) rappresentano un ottimo candidato per le applicazioni terapeutiche. Inoltre, come veicolo per la terapia genica e cellulare, le AFS cells possono essere modificate con un gene terapeutico e iniettate per via sistemica o direttamente nel tessuto di interesse per esprimere la proteina target. L'obiettivo di questo lavoro è quello di studiare la possibilità di transdurre le cellule staminali dal liquido amniotico con vettori adenovirali e di confrontare l'infettività di queste cellule con quella delle staminali mesenchimali.

Metodi. Abbiamo descritto per la prima volta che l'infezione delle AFS cells con bassi dosaggi di un adenovirus di prima generazione (AdHCMVspLacZ and AdHCMVVEGFP) rivelano un'alta efficienza di transduzione. In confronto alle cellule staminali mesenchimali gli amniociti possono essere infettati con dosaggi di virus da 40 a 80 volte inferiori (5 pfu/cell vs 200-400 pfu/cell), suggerendo così la presenza di un alto numero di recettori adenovirali sulla superficie delle AFS cells.

Risultati. Abbiamo dimostrato che l'infezione e l'espressione di due differenti marcatori, LacZ e EGFP, non hanno effetti sul fenotipo delle AFS cells che mantengono l'espressione di antigeni staminali come l'OCT4 e l'SSEA4. Le AFS cells inoltre, mantenute in coltura per diversi giorni continuano ad esprimere il transgene per almeno 2 settimane. Inoltre se coltivate in condizioni di differenziamento mesenchimale sono in grado di transdifferenziare in osteociti e adipociti esprimendo geni di linea specifici.

Conclusioni. Questi risultati preliminari suggeriscono che l'adenovirus potrebbe essere uno strumento utile per ingegnerizzare una popolazione staminale pluripotente e che questa fonte di cellule staminali potrebbe essere utilizzata in trattamenti terapeutici ad ampio raggio.

P082**MIGRAZIONI IN BAMBINI REGISTRATI DAI CENTRI AIEOP CON MOD.1.01 NEL PERIODO 1989-2005**

Dama E,¹ Rondelli R,² Pastore G,^{1,3} Pession A,² CSD di Epidemiologia e Biostatistica dell'AIEOP

¹Registro dei Tumori Infantili del Piemonte. Servizio di epidemiologia dei tumori del Centro per l'Epidemiologia e la Prevenzione Oncologica (CPO) Piemonte - Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista e Università degli Studi di Torino, Torino; ²Unità di Oncologia ed Ematologia Pediatrica "Lalla Seràgnoli", Università di Bologna, Bologna; ³SCDU Pediatria, Dipartimento di Scienze Mediche, A.S.O. Maggiore della Carità di Novara, Novara, Italy

Introduzione e obiettivi. Obiettivo dello studio è l'aggiornamento delle valutazioni sulle migrazioni sanitarie tra i casi di tumore pediatrico curati presso i centri AIEOP, includendo i bambini registrati nella banca dati Mod.1.01 fino al 2005.

Metodi. Nello studio sono stati inclusi 18441 pazienti con diagnosi in età 0-14 anni tra il 1989 e il 2005, escludendo i casi di Istiocitosi benigna, Leucemia Acuta Mieloblastica Secondaria e Nefroma Mesoblastico. È stata valutata la concordanza (indice K di concordanza pesato per categorie ordinali) tra l'area geografica di residenza (Nord, Centro, Sud e Isole) al momento della diagnosi e l'area del Centro AIEOP che ha preso in carico il bambino. Per ogni regione sono stati stimati i seguenti indicatori: rapporto tra soggetti residenti trattati e soggetti residenti (esprime la tendenza di una regione a trattare i casi); rapporto tra soggetti non residenti trattati e soggetti non residenti (tendenza di una regione ad attirare casi); rapporto tra soggetti residenti non trattati e soggetti non trattati (carico di casi di una regione sulle altre regioni). Tutte le analisi sono state eseguite stratificando per periodo di diagnosi (1989-93, 1994-97, 1998-01, 2002-05) e tipo tumorale (Leucemie, linfomi, mielodisplasie e istiocitosi maligne; tumori solidi).

Risultati. Nel periodo 1989-05 per tutti i tipi tumorali l'indice di concordanza k è risultato essere pari a 0.63, corrispondente ad un accordo sostanziale (Landis e Koch, 1977) tra l'area di residenza al momento della diagnosi del bambino e l'area geografica di appartenenza del Centro AIEOP. L'accordo è risultato essere sostanziale per i bambini diagnosticati con leucemie, linfomi, mielodisplasie o istiocitosi maligne (k=0.74, 0.77, 0.73, 0.79, rispettivamente nei periodi: 1989-93, 1994-97, 1998-01, 2002-05) e moderato per i bambini con tumori solidi (k=0.41, 0.48, 0.49, 0.53). Le regioni delle aree meridionali e insulari mostrano una minor tendenza a trattare ed attirare casi, particolarmente evidente per i bambini con tumori solidi.

Conclusioni. Il 20% dei bambini migra rispetto alla propria area di residenza per raggiungere un centro AIEOP di diagnosi e/o trattamento. La spinta migratoria è più marcata per le aree meridionali e insulari. Tale fenomeno, particolarmente evidente per i bambini con tumori solidi, ha mostrato un'attenuazione nel tempo.

P083**ANSIA E STRATEGIE DI COPING IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA: GESTIONE E ADATTAMENTO DI UN GRUPPO DI GENITORI AL LUNGO ITER TERAPEUTICO**

Taormina C, Maniaci G, Balsamo F, Trizzino A, Tropia S, Grigoli A, Russo D, Caselli D, Aricò M

U.O. Oncematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. di Cristina", Palermo, Italy

Obiettivi. Spesso si pensa che i genitori dei pazienti affetti da malattia onco-ematologica allontanandosi dall'evento diagnostico, sviluppino un maggiore adattamento e maggiore accettazione della malattia. Scopo dello studio è la valutazione del livello di ansia di un gruppo di genitori, ma soprattutto le caratteristiche e le strategie da loro messe in atto nel tentativo di gestire, col trascorrere del tempo dalla diagnosi, la malattia del proprio figlio.

Metodi. È stata condotta un'indagine su 30 genitori di bambini leucemici, e 30 soggetti come gruppo di controllo. Tutti i soggetti di età compresa tra 25 e 45 anni vivono la realtà della patologia neoplastica e dei trattamenti chemioterapici almeno da otto mesi. L'indagine è stata svolta attraverso l'utilizzo di due questionari: il COPE, e lo STAI-Y.

Risultati. I due gruppi mostrano delle differenze significative soprattutto rispetto alle dimensioni $Umorismo$ $\&\#61531;t(58) = -1.99; \alpha\&\#61603;05\&\#61533;$ e $Dedicarsi alla religione$ $\&\#61531;t(58) = 2.24; \&\#61537;\&\#61603;05\&\#61533;$. Inoltre è stato riscontrata una elevata differenza significativa rispetto alla scala ansia di stato dello STAI-Y $\&\#61531;t(58) = 3.42; \alpha\&\#61603;05\&\#61533;$.

Conclusioni. I risultati sembrano descrivere come anche a distanza di molti mesi dalla diagnosi, i genitori di bambini leucemici vivono livelli elevati di ansia situazionale. La misura del coping indica inoltre (che mostra l'insieme di strategie mentali e comportamentali che sono messe in atto per fronteggiare una certa situazione, nonché le strategie messe in atto per gestire le emozioni e dello stress derivati dal contatto con i problemi) come verrebbero gradualmente privilegiate strategie non attive, in maniera generalizzata, per far fronte ai problemi (locus of control esterno) e un conseguente affidarsi a fattori esterni (persone, fortuna, coincidenze) anche per la gestione di quelle situazioni di vita che non sono direttamente collegate alla patologia del figlio.

P084**INFEZIONI DA PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTENTE: STUDIO COOPERATIVO NEI CENTRI ONCOEMATOLOGICI PEDIATRICI**

Caselli D, Cesaro S, Tropia S, Tridello G, Marinello S, Trizzino A, Ziino O, Aricò M

Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini, Palermo; Oncematologia Pediatrica, Padova; Servizio di Malattie Infettive dell'Ospite Pediatrico Immunocompromesso, Padova, Italy

Introduzione e obiettivi. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) è un patogeno opportunistica capace di causare infezioni invasive gravi in pazienti immunodepressi. È ubiquitario, può sopravvivere in molti ambienti ed è intrinsecamente resistente a molti antibiotici ed antisettici. In Europa PA è uno dei germi patogeni più frequentemente isolati (29%) nelle rianimazioni, è il primo tra i Gram-negativi e può colonizzare i pazienti ospedalizzati. Infezioni da PA multiresistenti sono estremamente difficili da trattare ed associate ad un'alta mortalità; sono causa di epidemie nosocomiali e si stanno diffondendo tra i

pazienti più vulnerabili come quelli con Fibrosi cistica o in chemioterapia antitumorale. Non esistono studi della frequenza e gravità del problema in Italia ed in particolare nei pazienti oncoematologici pediatrici.

Metodi. Il CSD AIEOP-infezioni ha iniziato uno studio retrospettivo sulle infezioni da PA diagnosticate nei centri AIEOP nel periodo 2000-2007. È stata distribuita una scheda raccolta dati che include l'antibiogramma del ceppo isolato. Viene definito come caso di infezione da PA multiresistente (PAM) ogni paziente non affetto da fibrosi cistica, con un isolamento di PA resistente o intermedio ad almeno 3 classi diverse di antibiotici (penicilline anti-pseudomonas, chinolonici, cefalosporine di III-IV generazione, carbapenemici, aminoglicosidi, tetracicline). La raccolta dati è iniziata nel giugno 2007.

Risultati. Sono stati raccolti finora 25 casi osservati in pazienti di età compresa tra 8 mesi e 15 anni, con le seguenti diagnosi: LLA (10), LMA (7), Tumore solido (6), linfoma (2). In 11 casi (44%) si tratta di PAM. La mortalità complessiva è del 48% (12/25), ma la mortalità dei ceppi PAM è dell'83% (10/12). Quattro casi si sono verificati in pazienti sottoposti ad auto-TMO, 4 ad allo-TMO. In 8 pazienti si è verificato shock; 3 pazienti erano colonizzati prima della terapia e in 8 erano presenti lesioni perineali.

Conclusioni. Questi dati preliminari evidenziano che il problema delle infezioni da PAM è presente ed importante nei centri pediatrici italiani. Lo studio fornirà dati epidemiologici rilevanti e permetterà di evidenziare eventuali correlazioni con la patologia di base e la fase di terapia, con implicazioni nei confronti della strategia terapeutica.

P085

STUDIO OSSERVAZIONALE DECENNALE SULL'INCIDENZA E CARATTERISTICHE DELLE CANDIDEMIE IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA

Marinello S,¹ Tridello G,² Penazzato M,¹ Rossi L,³ Carli M,² Cesaro S²

¹Servizio di Malattie Infettive dell'ospite immunocompromesso. Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; ²Clinica di Oncologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Azienda Ospedaliera di Padova; ³Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Introduzione. Le sepsi da *Candida* spp. rappresentano la seconda causa di micosi nei pazienti oncoematologici. Riportiamo i risultati di uno studio prospettico sull'incidenza e caratteristiche delle candidemie.

Pazienti e metodi. Sono stati analizzati gli episodi di batteriemia e fungemia febbrile relativi al periodo 1.1.95-28.02.2007. I dati raccolti riguardavano il tipo di ceppo isolato dal sangue e le caratteristiche cliniche dell'episodio.

Risultati. 257 pazienti (164 M, 93 F, età mediana 6.6 a.) affetti da leucemia o mielodisplasia 136 (53%), linfoma 37 (14%), tumore solido 79 (31%) e altra patologia ematologica non maligna 5 (2%) hanno presentato 352 episodi di batteriemia o fungemia, di cui 183 con neutropenia grave (PMN<500 x 10⁹/l). Il CVC era presente in 282 (80%) episodi. Nel 60% degli episodi era in atto una profilassi antimicotica. L'emocoltura è risultata positiva per un un germe Gram-positivo in 231 episodi (65.6%); per un germe Gram-negativo in 113 (32.1%) episodi e in 34 episodi (9.7%) per un fungo o lievito. La rimozione del CVC si è resa necessaria nel 19% degli episodi. Gli episodi di candidemia sono stati 26 di cui 19 (10%) nel periodo '95-'00 e 7 (5%) nel periodo '01-'07. I ceppi isolati sono: 5 *Candida albicans*, 21 *Candida non-albicans*, di cui 7 *C.parapsilosis*, 6 *C. guillemontii*, 4 *C. famata*, 1 *C. sake*, 1

C. lusitanae, 1 *C. glabrata* e 1 *C. spp* (non identificata). Il CVC è stato rimosso in 15 dei 22 (68%) pazienti con CVC e candidemia. La mortalità a 30 giorni associata a candidemia è stata dell'8% (2/26). La candidemia è risultata più frequente nei pazienti con tumore solido (12%), rispetto ai pazienti affetti da leucemia o linfoma (6%), $p=0.04$.

Conclusioni. Le candidemie sono in diminuzione negli ultimi anni e i ceppi isolati sono prevalentemente ceppi di *Candida non-albicans*. Questo dato è probabilmente correlabile con l'introduzione di nuovi farmaci antifungini usati sia in profilassi che in terapia empirica. La mortalità associata a candidemia è risultata più bassa rispetto ai dati riportati per gli adulti. La prevalenza di *Candida non-albicans* potrebbe diminuire l'efficacia dell'uso in profilassi o in terapia del fluconazolo nei pazienti oncoematologici.

P086

RISULTATI DEFINITIVI DELLO STUDIO PROSPETTICO MULTICENTRICO DI SORVEGLIANZA DEGLI EFFETTI COLLATERALI NELL'UTILIZZO DELLE IMMUNOGLOBULINE PER VIA ENDOVENOSA.

Soresina A, Rondelli R, Quinti I, Agostini C, Spadaro G, Marzollo R, Martino S, Pietrogrande MC, Putti C, Trizzino N, Moschese V, Consolini R, Pession A, Ugazio AG, Plebani A

per il Comitato Strategico e di Studio Immunodeficienze (CSS ID) AIEOP

Introduzione e obiettivi. Le immunoglobuline (Ig) sono la terapia cardine di immunodeficienze primitive (IDP) con difetto anticorpale e di altre condizioni con difetto anticorpale secondario, come alcuni tumori. In letteratura numerosi sono i lavori su indicazioni e tollerabilità di Ig per via endovenosa (IVIG) con diversa incidenza e gravità di eventi avversi (ADR: adverse drug reactions) a seconda delle casistiche. Obiettivo del nostro studio multicentrico osservazionale è stato di valutare in modo prospettico longitudinale la tollerabilità del prodotto IVIG Kedrion, che rappresenta oltre l'80% del mercato nazionale di IVIG, essendo in gran parte fornito dalle Regioni nel programma nazionale di autosufficienza di emoderivati.

Metodi. Lo studio è stato proposto ai 57 Centri del CSS ID AIEOP: durata prevista 18 mesi, 6 mesi di arruolamento e 12 mesi di follow-up per ogni paziente (pz). Sono stati valutati e inseriti via internet nella banca dati specifica numero di pz con ADR durante e nelle 24 ore dopo infusione, numero e gravità di ADR osservate in un anno dall'arruolamento di ogni pz, incidenza di ADR e incidenza di ADR/pz/anno.

Risultati. Durante i 6 mesi di arruolamento, da Giugno a Dicembre 2005, sono stati arruolati 192 pz (84 femmine, 108 maschi) da 10 dei 57 Centri. A Dicembre 2006 è stata chiusa la raccolta dei dati di follow-up. Dei 192 pz arruolati, 178 pz erano in IVIG prima dello studio e in anamnesi risulta che 32/178 (18%) hanno presentato in passato ADR lievi/moderate alle IVIG e sono premedicati. Considerando i 160 pz non premedicati: 119 pz (74%) sono affetti da IDP, 22(14%) da tumori con difetto umorale e 19(12%) da altre patologie con deficit anticorpale secondario. A Dicembre 2006 sono stati registrati 1480 trattamenti con una mediana di velocità di infusione delle IVIG di 80 mL /h. Il tempo cumulativo di osservazione è stato di 87 anni e si sono osservate 7 ADR lievi (febbre, cefalea) in 7 pz (4,4%): 3 ADR lievi durante infusione in 3 pz (2 con IDP; 1 con uveite); 4 ADR lievi post infusione in 4 pz con IDP. L'incidenza ADR risulta essere 4,4% e l'incidenza ADR/pz/anno 0,0005.

Conclusioni. Rispetto a quanto finora segnalato in letteratura questo studio rappresenta lo studio prospettico condotto sulla casistica più numerosa, dimostrando un'incidenza molto bassa di ADR alle IVIG e nettamente inferiore a quanto noto.

P087

RISOLUZIONE DI UNA FISTOLA PILONIDALE CON APPLICAZIONE DI GEL PIASTRINICO, IN PAZIENTE CON LEUCEMIA LINFOLASTICA ACUTA IN CHEMIOTERAPIA

Sau A,¹ La Barba G,¹ Pulini S,¹ D'Arcangelo L,¹ Onofrillo D,¹ Salutari P,¹ Striani M,² Fioritoni G¹

¹U.O. Ematologia Clinica, ²Dipartimento di Medicina Trasfusionele, Ospedale Civile Spirito Santo, Pescara, Italy

Introduzione e obiettivi. L'impiego locale del gel piastrinico (GP) rappresenta una valida metodica terapeutica per stimolare e accelerare la riparazione dei tessuti; l'efficacia si avvale della presenza dei fattori di crescita contenuti nei granuli piastrinici (PDGF, TGF- β , IGF I e II, EGF, FGFb) che mimano la fisiologica guarigione delle ferite e i processi di riparazione tissutale. L'impiego del GP è attualmente esteso a diverse discipline chirurgiche (ortopedia, cardiocirurgia, chirurgia plastica e maxillo-facciale) ed al trattamento di tessuti cutanei lesi, in particolare ad andamento cronico, indipendentemente dalla natura della lesione (traumatica, vascolare, neuropatica, diabetica). In questo studio è stata valutata l'efficacia del GP omologo nel trattamento di una fistola pilonidale.

Metodi. Una paziente di 9 anni in seconda recidiva di leucemia linfoblastica acuta, dopo 4 anni dal trapianto allogenico da donatore HLA-compatibile non correlato, in trattamento secondo protocollo AIEOP LLA REC 2003 S2, ha presentato, durante la fase di mielodepressione post-chemioterapia, 2 episodi consecutivi di sepsi da germi Gram-negativi verosimilmente a partenza da una fistola pilonidale. Dopo la completa sterilizzazione della fistola mediante medicazioni giornaliere con acqua ossigenata e rifamicina, è stato intrapreso un trattamento con applicazioni locali settimanali di gel piastrinico omologo, ripetuto 4 volte, secondo questo schema: 1° giorno applicazione del GP, 4° giorno rimozione del gel e medicazioni giornaliere della fistola con soluzione fisiologica e idrogel ionico.

Risultati. Dopo la prima applicazione è stata ottenuta una riduzione della sintomatologia dolorosa con miglioramento del processo flogistico. La paziente ha proseguito il trattamento chemioterapico senza complicanze infettive sistemiche e/o locali. Al termine delle 4 settimane la fistola risultava completamente guarita (Figura 1).

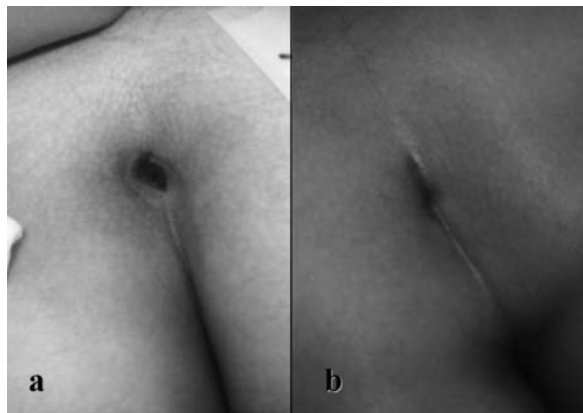


Figura 1. a) esordio; b) guarigione.

Conclusioni. L'impiego dell'emocomponente, evitando alla paziente l'intervento chirurgico, ha consentito di rispettare il piano di trattamento richiesto per la malattia ematologica. Inoltre la possibilità di praticare le applicazioni di GP in regime di day-hospital ha ridotto i giorni di degenza con un netto miglioramento della qualità di vita della paziente.

P088

STUDIO DI FATTIBILITÀ DI UN REGISTRO TUMORI REGIONALE INFANTILE IN CAMPANIA: ANALISI PRELIMINARE DELLE FONTI INFORMATIVE

Fusco M,¹ Cecere F,² Vitale A,³ Femiano P,⁴ Spinosa E,⁵ Casale F,⁶ Giuliano M,⁶ Poggi V,⁷ Menna G,⁷ Pession A⁸

¹Registro Tumori Regione Campania; ²AORN Ruggi D'Aragona Salerno; ³AO Moscati Avellino; ⁴AO San Sebastiano Caserta; ⁵AO Rummo Benevento; ⁶AOU SUN Napoli; ⁷AORN Santobono-Pausillipon Napoli; ⁸AO Sant'Orsola Bologna, Italy

Introduzione e obiettivi. La Regione Campania è la seconda regione italiana per numero di bambini, 1.104.054 nella fascia di età 0 - 15 anni, il 19% della popolazione generale. Obiettivo dello studio è verificare l'attendibilità di due fonti informative, le SDO e i Mod. 1.01 AIEOP, per la realizzazione di un Registro Tumori Infantili Regionale.

Metodologia. Target di riferimento: numero dei casi di incidenza rilevati dal Registro Tumori Campano; L'analisi ha riguardato il periodo 1997/2004 ed i bambini in età 0/15 anni residenti nell'area del Registro; sono stati rilevati: 1. il numero delle SDO relative ai primi ricoveri con codice di diagnosi di dimissione 140.0 / 208.9 (ICD IX); 2. il numero dei Mod. 1.01 AIEOP. I casi derivati da ciascuna fonte sono stati confrontati con i casi di incidenza osservati nello stesso periodo dal R.T.

Risultati. A fronte dei 158 casi di incidenza rilevati dal Registro per l'intero periodo - tasso di incidenza oncologica annuo 170 x 1.000.000- sono state rilevate: 1. n° 572 SDO di primo ricovero per neoplasia; l'analisi ha evidenziato che 414 SDO (72 % del totale) non avevano un caso corrispondente presso il Registro; di esse il 58 % presentava un errore nell'anagrafica (nome, nascita, residenza); il 24 % si riferiva a casi prevalenti; il 17 % presentava diagnosi discordanti (maligne contro incerte o benigne). Se le SDO per primo ricovero fossero state trattate come 'casi incidenti' si sarebbe determinata una sovrastima dell'incidenza di circa il 268%; 2. n° 117 Mod. 1.01 AIEOP con una sottostima di circa il 30 % rispetto all'incidenza osservata.

Conclusioni. 1. La notevole discrepanza rilevata tra le SDO per primi ricoveri ed incidenza osservata è dovuta essenzialmente alla mancanza in Regione Campania di una Anagrafe Regionale Unica; 2. la sottostima dei casi di incidenza evidenziata dai Mod.1.01 AIEOP rende evidente la mancata, o parziale compilazione degli stessi da parte di alcune strutture di ricovero; 3. I notevoli limiti evidenziati dalle due fonti informative le rendono, al momento, non esaustive e/o fuorvianti se considerate come fonti uniche per la registrazione oncologica; restano comunque fondamentali per un Registro Tumori Infantili purchè siano associate alle altre fonti informative correnti di un Registro Tumori e se gestite con la stessa metodologia di ricerca e validazione dei casi.

P089**L'ARTE TERAPIA COME SUPPORTO DURANTE LA FASE TERMINALE IN BAMBINI CON NEOPLASIA**

Italia S, Favara Scacco C

Centro di Riferimento Regionale di Ematologia pediatrica, Azienda Ospedaliera Universitaria, Policlinico, Catania, Italy

Introduzione e obiettivi. Un bambino si definisce in fase terminale quando la malattia non risponde più a nessuna forma di trattamento. Al fine di evitare l'Accanimento Terapeutico si è soliti intraprendere una cura Palliativa. Nonostante le difficoltà che i genitori hanno a prenderne coscienza, anche i bambini più piccoli sviluppano consapevolezza del percorso che hanno intrapreso. Attivano sentimenti molto diversi in base all'età e alle caratteristiche del singolo individuo. L'elemento comune osservato è invece il bisogno di elaborazione e chiarimento. Il supporto psicologico diventa fondamentale e l'arte terapia (AT), nella sua componente simbolico-non verbale permette l'espressione di vissuti troppo difficili altrimenti da esternare.

Metodi. Lo studio comprende 20 bambini in fase terminale di età compresa tra 3 e 17 anni affetti da Leucemia Linfoblastica Acuta, Neuroblastoma, Rhabdomyosarcoma, Leucemia Mieloide Acuta, diagnosticati presso il Nostro Centro. Sono state utilizzate varie tecniche di AT: l'espressione grafica libera per esprimere, attraverso i materiali, le emozioni; la costruzione di un calendario permanente, per fornire un senso di continuità e controllo sul tempo; il collage per tagliare rilasciando rabbia e incollare 'i pezzi' per consentire un senso di integrazione.

Risultati. Tutti i pazienti hanno utilizzato le tecniche creative durante tutto il ricovero, riferendo sensazioni di benessere. Inoltre, anche i genitori hanno riferito l'utilità dell'intervento perchè attraverso il mezzo non verbale viene permesso ai loro figli di esprimere ciò che loro non osavano affrontare.

Conclusioni. L'AT, applicata durante la fase terminale, si è dimostrata efficace nel facilitare l'espressione simbolica di paure, confusione, rabbia e temi inerenti la morte altrimenti troppo paurosi o complessi da affrontare sia per il bambino che per i suoi genitori.

P090**CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO CITOCHINICO IN ANEMIA APLASTICA ACQUISITA**Svahn J,¹ Ferretti E,¹ Van Lint M,² Longoni D,³ Pillon M,⁴ Iori AP,⁵ Bagnasco F,¹ Ramenghi U,⁶ Bacigalupo A,² Locasciulli A,⁷ Misuraca A,⁸ Lanciotti M,¹ Pigullo S,¹ Lippi A,⁹ Burlando O,¹ Pistoia V,¹ Corcione A,¹ Dufour C,¹ for the Marrow Failure Study Group of the AIEOP¹Istituto G. Gaslini Genova; ²Ospedale S. Martino, Genova; ³Ospedale San Gerardo Monza; ⁴Università di Padova; ⁵Università La Sapienza Roma; ⁶Ospedale Regina Margherita Torino; ⁷Ospedale San Camillo Roma; ⁸Ospedale Pausillipon Napoli; ⁹Ospedale Meyer Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. Abbiamo studiato il comportamento di TNF- α , IFN- γ e IL-4, effettori importanti nella patogenesi dell'Anemia Aplastica Acquisita (AAA), in pz trattati con IS combinata e valutato l'effetto *in vitro* del blocco di TNF- α e IFN- γ sulla crescita di BFU-e in pz AAA con malattia attiva (MA= all' esordio o non responsivi all'IS) e con MALATTIA NON ATTIVA (MNA= responsivi all'IS).

Metodi. Un primo gruppo di 59 pz (età 15;2-56 anni), di cui

42 con MA e 31 MNA. fu testato in citofluorimetria una sola volta per espressione di TNF- α , IFN- γ e IL-4 nei CD3⁺ midollari. Di 59 pz, in 29 (età 22, 2-45 anni), di cui 15 in MA e 14 in MNA, fu testato *in vitro* l'effetto del blocco con Ac specifici di TNF- α e/o IFN- γ . In un secondo gruppo di 21 pazienti (età 10,2-32 anni) fu valutata longitudinalmente in citofluorimetria l'espressione di TNF- α , IFN- γ e IL-4 nei CD3⁺ midollari alla diagnosi e dopo terapia IS (WP SAA EBMT Protocol). Di questi 21 pz, 12 erano Responsivi e 9 Non Responsivi all'IS.

Risultati. Primo gruppo: Non vi era differenza nell'espressione di IFN- γ e IL-4 nei CD3⁺ in pz con MA e MNA. TNF- α era non significativamente più espresso nelle cellule CD3⁺ dei pz MA. Il blocco di TNF- α e IFN- γ ha aumentato le BFU-e nei pz MA e MNA ma non nei controlli. Ciò indica che nel midollo di pazienti MNA residua una carica citochinica negativa ed ha spinto ad investigare, nel secondo gruppo, la cinetica di queste citochine. Secondo gruppo. L'espressione di TNF- α e IFN- γ alla diagnosi non era differente nei Responders e nei Non Responders. Dopo IS invece l'espressione di TNF- α e IFN- γ nei Responders è significativamente più bassa, ma non vi è differenza nei Non Responsivi. IL-4 è più bassa dopo IS nei Non Responsivi.

Conclusioni. 1. TNF- α e IFN- γ , sovra-espressi nel midollo di pazienti AAA sia in MA sia in MNA, diminuiscono maggiormente nei pazienti Responsivi rispetto ai Non Responsivi all'IS; 2. TNF- α e IFN- γ permangono nel midollo anche dei pazienti Responsivi all'IS. Ciò può contribuire alla recidiva; 3. La ridotta espressione di IL-4 può contribuire alla malattia per non controbilanciare la polarizzazione Th1 nei pazienti Non Responsivi; 4. TNF- α e IFN- γ si confermano fattori critici del danno midollare in AAA. Ciò suggerisce di rafforzare la terapia IS con anticorpi anti citochine che possono ridurre il rischio di recidiva.

P091**LE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI (MSC) DERIVATE DA MIDOLLO OSSEO NON VANNO INCONTRO A TRASFORMAZIONE NEOPLASTICA DOPO CULTURA IN VITRO A LUNGO TERMINE E NON ESPRIMONO ATTIVITÀ TELOMERASICA**Bernardo ME,¹ Cometa AM,¹ Villa R,² Novara F,³ Avanzini MA,¹ Moretta A,¹ Maccario R,¹ Daidone MA,² Zaffaroni N,² Zuffardi O,³ Locatelli F¹¹Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Fondazione Policlinico San Matteo, Università di Pavia, Pavia, Italy; ²Dipartimento di Oncologia Sperimentale, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano, Italy; ³Biologia Generale e Genetica Medica, Università di Pavia, Italy

Le conoscenze acquisite sulle cellule staminali mesenchimali (MSC) hanno aperto la strada al loro uso clinico. Recentemente è stato descritto che le MSC espanse *in vitro* possono andare incontro a trasformazione in senso neoplastico. Scopo dello studio è stato valutare la suscettibilità alla trasformazione neoplastica delle MSC umane isolate *in vitro* da midollo osseo (MO). Le MSC sono state ottenute da MO di 10 donatori e propagate *in vitro* fino al raggiungimento della fase di senescenza o del passaggio (P) 25. Le MSC senescenti sono state monitorate per 8-12 settimane, al fine di osservare l'eventuale comparsa di crescita incontrollata. Le MSC sono state caratterizzate dal punto di vista morfologico, immunofenotipico e della capacità differenziativa a differenti tempi della coltura. La caratterizzazione genetica delle MSC è stata effettuata con array-Comparative Genomic Hybridization (CGH) e cariotipo in diverse fasi della coltura. Contemporaneamente

neamente le MSC sono state testate per l'espressione di attività telomerasica (AT), dei trascritti di hTERT e dei meccanismi alternativi di allungamento dei telomeri (ALT). Sulle MSC di 5 donatori è stata determinata la lunghezza dei telomeri a passaggi precoci ed avanzati della coltura. Tra i diversi donatori è stata osservata una notevole variabilità in termini di capacità proliferativa e di durata dell'espansione *in vitro*. Tutte le MSC hanno conservato il caratteristico aspetto morfologico, l'immuno-fenotipo e la capacità differenziativa in senso osteoblastico ed adipocitario per l'intera durata della coltura. Si è osservato un progressivo decremento della capacità proliferativa fino al raggiungimento della fase di senescenza, non seguita da ripresa della crescita. Gli esperimenti di array-CGH e il cariotipo hanno evidenziato l'assenza di riarrangiamenti cromosomici. AT e trascritti di hTERT non erano presenti nei campioni testati. A conferma dell'assenza di AT, la lunghezza dei telomeri si riduceva progressivamente durante la coltura. ALT non sono stati evidenziati nelle MSC studiate. Le MSC derivate da MO non vanno incontro a trasformazione neoplastica *in vitro* e conservano le proprie caratteristiche immuno-biologiche; le MSC sono, pertanto, idonee all'impiego *in vivo* in approcci di terapia cellulare.

P092

RUOLO DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DA LIQUIDO AMNIOTICO NELLA TERAPIA GENICA E CELLULARE

Bolda F,¹ Bosi A,¹ Baffelli R,¹ Berta S,¹ Rigosa C,¹ Gaspar HB,³ Porta G,² Pasquali F,² Porta F,¹ Lanfranchi A¹

¹Centro di Terapia Cellulare e Genica delle Oncoemopatie Infantili, Laboratorio Cellule Staminali, Dipartimento di Pediatria, Spedali Civili di Brescia, Brescia. ²Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università dell'Insubria, Varese, Italy; ³Department of Clinical Immunology, Great Ormond Street Hospital NHS Trust, London, UK

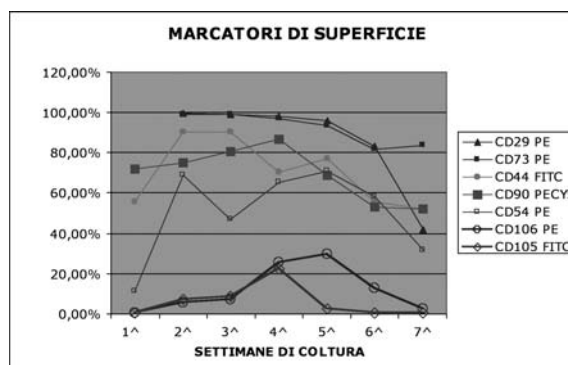
Introduzione e obiettivi La richiesta di nuove strategie terapeutiche biologiche è in crescente espansione, soprattutto per patologie attualmente senza cura come malattie genetiche e degenerative del sistema scheletrico. L'utilizzo di cellule staminali mesenchimali (MSCs) per la cura di queste patologie è già stato sperimentato. Le MSCs sono una popolazione cellulare pluripotente; se adeguatamente indirizzate possono dare origine a cellule con caratteristiche di vari tessuti come quello osseo, cartilagineo o adiposo, solo per citare alcuni esempi. Studi recenti hanno riportato che il liquido amniotico (LA) è una valida fonte di MSCs, e che queste cellule possono essere un ottimo target per la correzione genetica di difetti molecolari. Questo studio è volto a isolare ed espandere MSCs da LA allo scopo di testare la loro capacità di transfezione.

Metodi. Le cellule utilizzate per questo lavoro sono state ricavate da una parte del LA normalmente destinato all'analisi del cariotipo. Sono state coltivate in terreno specifico per MSCs per 7 settimane, analizzate in citometria a flusso e in Real time PCR per valutare l'espressione di specifici marcatori.

Risultati. Le MSCs derivanti da LA (AFMSCs) sono state isolate ed espanse con successo. Sono state analizzate per valutare la presenza di marcatori di superficie e la loro espressione genica dalla prima alla settima settimana di coltura. L'analisi citofluorimetrica ha evidenziato un picco dell'espressione dei marcatori mesenchimali (CD73, CD106, CD54, CD90, CD29, CD44, CD105) in quarta settimana (Figura 1). I livelli di espressione genica degli stessi sono comparabili con i dati

citofluorimetrici. Risultati preliminari hanno mostrato che le AFMSCs sono facilmente transfettabili essendo in grado di integrare il vettore con una buona efficienza.

Conclusioni. I risultati ottenuti con tecniche immunoistochimiche e molecolari hanno evidenziato la presenza di MSCs multipotenti nel LA. Questo lavoro ha dimostrato la possibilità di selezionare, espandere e differenziare le MSCs ottenute da amniociti. È già stato dimostrato che le AFMSCs possono essere differenziate in tessuto osseo e cartilagineo, quindi un grande potenziale per la terapia genica e cellulare di difetti genetici a carico di tessuti connettivi in cui un intervento precoce può essere risolutivo.



P093

MONITORAGGIO POST TRATTAMENTO DI 10 PAZIENTI AFFETTI DA DEFICIT DI ADENOSIN DEAMINASI

Baffelli R, Boldo F, Berta S, Bosi A, Rigosa C, Porta F, Lanfranchi A

Centro di la Terapia Cellulare e Genica delle Oncoemopatie Infantili, Laboratorio Cellule Staminali, Dipartimento di Pediatria, Spedali Civili di Brescia, Brescia, Italy

Introduzione e obiettivi. Il deficit di Adenosin Deaminasi (ADA) è una malattia autosomica recessiva causata da un difetto nella *via di salvataggio delle purine* che si traduce in elevati livelli di Adenosina (Ado) e 2'-Deossadenosina (dAdo). L'accumulo di questi metaboliti, tossici per le cellule del sistema immunitario, è alla base dell'immunodeficienza. Lo scopo di questo studio è la valutazione dell'andamento clinico dei pazienti (pz) sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCT) o a terapia enzimatica sostitutiva (TES) con Peg-ADA. Quindi, vengono quantificati periodicamente i metaboliti di tutti i pz e per quelli sottoposti a HSCT viene effettuata anche l'analisi molecolare di chimerismo.

Metodi. L'analisi prende in esame 10 pz diagnosticati presso il nostro centro: 4 pz sono stati sottoposti a HSCT e 7 pz a TES. La quantificazione dei metaboliti tossici viene eseguita sui globuli rossi in HPLC. La valutazione dell'attecchimento post HSCT viene effettuata sulle popolazioni linfocitarie periferiche.

Risultati. La diagnosi, enzimatica e molecolare, dei 10 pz è stata effettuata in media nei primi 3 mesi di vita. I pz sottoposti a TES hanno iniziato la somministrazione di Peg-ADA in media dopo 2 settimane dalla diagnosi, mentre gli altri 4 pz sono stati sottoposti a HSCT entro 3 mesi dalla diagnosi. Cinque pz sono trattati con Peg-ADA da più di 8 anni e i livelli medi dei metaboliti sono: Ado 1.234 micromol/mL RBC (range di normalità 1.179+0.360 micromol/mL RBC) e dAdo 0.005

micromol/mL (0.004+0.001 micromol/mL). Il pz trattato da 2 anni e mezzo presenta normali livelli di Ado (1.455 micromol/mL) e ancora alti di dAdo (0.034 micromol/mL). I pz sottoposti a HSCT presentano livelli di Ado nella norma (1.126 micromol/mL RBC) ma di dAdo piuttosto elevati (0.045 micromol/mL); per 3 di questi pz il HSCT è stato effettuato da meno di 5 anni. L'attecchimento post HSCT è caratterizzato da un chimerismo misto nei linfociti periferici; la percentuale di donatore nelle cellule T risulta essere in media superiore al 95% mentre le cellule B presentano una più bassa % di don, in media il 56%.

Conclusioni. Il dosaggio di Ado e dAdo e l'attecchimento post HSCT sono strumenti importanti per la valutazione dell'andamento clinico nei pazienti con deficit di ADA sottoposti a terapia sostitutiva o HSCT.

Paziente	Terapia	Età alla diagnosi (mesi)	Età all'inizio della terapia (mesi)	Follow up dopo terapia (mesi)	Attecchimento Post-HSCT (% DON)	Metaboliti tossici mmol/mL RBC	
						Ado	dAdo
PC	PEG-ADA	4.3	4.5	113		1.032	0.007
FR	PEG-ADA	3.7	3.8	125.2		1.062	0.004
PK	PEG-ADA	5.0	5.0	96		1.253	0.004
AA	PEG-ADA	1.7	1.8	112		1.153	0.008
TD	PEG-ADA Prenatale		0.3	116.7		1.671	0.008
CM	PEG-ADA	1.0	2.0	30		1.455	0.034
FS	HSCT - MS	6.2	7.0	118.7	Linf. T 96.4% Linf. B 90.3%	0.509	0.005
TY	HSCT - MS	1.7	1.8	53.5	Linf. T 85.1% Linf. B 49.3%	1.178	0.017
AE	HSCT - MUD	3.7	7.2	42	Linf. T 100% Linf. B 55.2%	1.483	0.064
GV	HSCT - MS	4.0	4.3	31.8	Linf. T 100% Linf. B 29.9%	1.334	0.096

P094

LA SEDAZIONE PALLIATIVA IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA

De Carolis G,* Menconi M, Casazza G, Biondi S, Bertacca L, Meniconi M, Favre C

* U.O. Terapia Antalgica, U.O. Oncoematologia Pediatrica Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana, Pisa, Italy

La sedazione palliativa è definita come *la decisione, in situazioni molto specifiche, di indurre deliberatamente e di mantenere un sonno profondo senza deliberatamente provocare la morte*. La riduzione dello stato di coscienza in situazioni specifiche costituisce uno strumento terapeutico per il sollievo dei sintomi refrattari, altrimenti incontrollabili, nella fase terminale della malattia, con la possibile ma non ricercata conseguenza di accelerare il processo del morire. Il nostro studio comprende n. 10 pz oncologici (età 3-17 aa), sottoposti a trattamento palliativo nel periodo 11/05-02/07. Di questi, n. 8 sono stati sottoposti a sedazione per una condizione di insufficienza respiratoria associata ad agitazione psicomotoria; in 2 casi era presente una sintomatologia algica refrattaria alle appropriate terapie antidolorifiche. Sempre vi è stato un coinvolgimento decisionale dei familiari, oltre che del paziente, quando vi era un certo grado di consapevolezza. I farmaci utilizzati (Propofol 1-4 mg/kg/h in 3 pz, Midazolam 0,03-0,06 mg/kg/h in 4 pz.) sono stati somministrati in infusione continua (i.c.) e.v. In tutti si associava Morfina 0,03-0,06 mg/kg/h. in i.c. e.v. Lo studio ha valutato le modalità di sedazione, tipologia e dosaggio dei farmaci impiegati. Il tempo tra l'inizio della sedazio-

ne e la morte è risultato compreso tra le 6 e le 92 ore. In tutti i pz si è ottenuta la remissione dello stato di agitazione psicomotoria, della sintomatologia algica e una significativa riduzione della dispnea. La decisione di attuare una sedazione è del tutto giustificata dalla necessità di controllare sintomi altrimenti intrattabili, ed alleviare la sofferenza del malato. Rimane fondamentale tenere in considerazione l'opinione dei genitori, coinvolti in un processo decisionale che scaturisce dall'instaurazione di un rapporto circolare medico-paziente-familiari. Diventa necessario creare uno spazio di comunicazione, discussione e preparazione all'evenienza prospettata, per garantire la consapevolezza di una scelta maturata attraverso una comunicazione aperta, veritiera e un rapporto medico-paziente profondo.

P095

ATTUALI INDICAZIONI ALL'USO E PROFILO DI TOSSICITÀ DELLA DOXORUBICINA LIPOSOMIALE NON PEGILATA (MYOCET®) IN EMATOLOGIA ED ONCOLOGIA PEDIATRICA

Morello W,* Fagioli F °, Favre C °, Garaventa A ^, Ladogana S, # Rizzari C, § Sperli D **, Pession A *

* Oncologia ed Ematologia "Lalla Seràgnoli" Clinica Pediatrica Policlinico Sant'Orsola-Malpighi Bologna, Italy; ° Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; " Centro di Oncoematologia Pediatrica e TMO Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana Ospedale S. Chiara, Pisa, Italy; ^Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica Istituto "G. Gaslini", Genova; #Divisione di Pediatria Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo, Italy; § Clinica Pediatrica Ospedale S. Gerardo, Monza; **Unità Operativa Pediatria Azienda Ospedaliera Annunziata, Cosenza, Italy

Introduzione e obiettivi. L'uso della Doxorubicina, antibiotico antraciclico tra i più efficaci in Tumori Solidi (TS), Leucemie Acute Linfoblastiche (LAL) e Mieloidi (LAM), è limitato da una specifica tossicità cardiaca che compare in una considerevole percentuale di pazienti per dosi cumulative > 400mg/mq. La sua formulazione liposomiale non pegilata (Myocet) ne riduce l'accumulo nel tessuto miocardico e le oscillazioni della concentrazione plasmatica, migliorandone l'indice terapeutico.

Metodi. Per individuare le indicazioni all'uso del Myocet in una popolazione pediatrica e definirne lo spettro di tossicità sono stati valutati 33 pazienti d'età mediana (min-max) 9 (0.5-25) anni, affetti da malattie ematologiche maligne o TS, in prima diagnosi o recidiva, trattati in 7 centri AIEOP con Myocet in associazione ad altri chemioterapici o in monoterapia.

Risultati. 33 pazienti, 20 LAL, 9 LAM, 3 TS e 1 affetto da Linfoma Non Hodgkin, 6 alla diagnosi 27 alla recidiva, sono stati trattati con dose mediana (min-max) di Myocet di 150 (0-610) mg/mq. Uno solo ha sviluppato un evento avverso severo (sepsi). Neutropenia di grado 3-4 è stata riscontrata in 28 casi, trombocitopenia di grado 3-4 in 27, 14 pazienti hanno sviluppato mucosite di grado 3-4, 6 infezioni di grado 3-4; altri effetti collaterali riscontrati sono tossicità gastrointestinale, nausea e vomito. La dose mediana (min-max) precedente di antracine era 240 (0-610) mg/mq. In nessun paziente è stata documentata tossicità cardiaca, valutata con ecocardiogramma successivo al trattamento.

Conclusioni. La principale indicazione all'uso di Myocet in ambito pediatrico rimane la profilassi della tossicità cardiaca in pazienti con LAL o LAM in fase di recidiva precedentemente trattati con antracine. Nella popolazione studiata Myocet è risultato sicuro in termini di tossicità cardiaca con profilo di tos-

sicità prevalentemente midollare e gastrointestinale. È perciò ipotizzabile l'ampliamento delle indicazioni all'uso del Myocet anche a pazienti non pretrattati con antracicline soprattutto in presenza di difetti o patologie cardiache.

P095

ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS: 40 ANNI DI ESPERIENZA MONOCENTRICA

Postini A*, Pagano M*, Berta M*, Andreacchio A°, Corrias A#, Linari A^, Peretta P°, Santoro B**, Brach Del Prever A*

*Div. Oncoematologia Pediatrica - Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza dell'Università; °Div. Ortopedia Pediatrica; #Div. Endocrinologia Pediatrica; ^Serv. Anatomia e Istologia Patologica; °°Div. Neurochirurgia Pediatrica; **Serv. Radiologia; Osp. Inf. Regina Margherita, Torino, Italy

L'istiocitosi a cellule di Langerhans (ICL) si presenta con un'ampia variabilità clinica sin dall'esordio, in funzione della possibilità di coinvolgimento di numerosi organi ed apparati. Si è voluto rivedere l'esperienza maturata negli ultimi 40 anni presso l'Oncoematologia Pediatrica di Torino. Dal giugno 1968 al maggio 2007 sono stati seguiti presso il nostro Centro 118 pazienti con diagnosi di ICL: 77 maschi (65%) e 41 femmine (35%), con età alla diagnosi 12 giorni-15 anni (mediana 49 mesi). In 87/118 pazienti (74%) la sede primitiva di malattia coinvolgeva un unico sistema: 55/87 casi (63%) presentavano localizzazione ossea monofocale, 17/87 (20%) ossea multifocale, 12/87 (12%) cutanea, 3/87 pazienti (3%) linfonodale. Il restante 26% aveva esordio multisistemico, in 16/31 erano coinvolti organi 'a rischio' (midollo osseo, fegato, milza, polmone). La diagnosi è stata confermata dal riscontro istopatologico in 107/118 casi (91%); nei restanti 11 la diagnosi è stata clinico-radiologica. In 53 pazienti la diagnosi è stata posta prima del 1991 (non era previsto trattamento standardizzato): 4 sono stati seguiti con follow-up clinico-strumentale, 5 sono stati sottoposti a curettage, in 11 (21%) è stato effettuato curettage + telecobaltoterapia; 33 (62%) sono stati trattati con chemioterapia. Dal 1991 sono stati diagnosticati 65 casi: 17 arruolati nel protocollo LCH 1, 17 in LCH 2, 31 in LCH 3. Nel complesso il 26% ha effettuato solo follow-up; il 52% curettage; i restanti pazienti chemioterapia. Complessivamente 20/118 pazienti (17%) hanno presentato recidiva di malattia (2 con malattia monofocale alla diagnosi, 6 multifocale ossea, 3 monosistemica cute/linfonodi, 9 multisistemica). A 3-291 mesi (mediana 44) dalla diagnosi, 109/118 pazienti (92%) sono vivi: 90 sono in 1(e) remissione completa (RC), 9 in 2(e) RC, 6 in 3-4(e) RC; 4 pazienti sono in trattamento per recidiva; 9/118 pazienti (8%) sono deceduti per malattia (8 per progressione, 1 per recidiva). In 14 pazienti è insorto diabete insipido: 3 presentavano malattia monofocale, 4 multifocale, 7 multisistemica: in 7/14 era presente almeno una lesione cranica. In 7 casi è stato riscontrato deficit di GH, in 2 ipotiroidismo. In un paziente ad esordio monosistemico all'età di 3 mesi, è insorta a 15 anni dalla diagnosi, in 4(e) RC, degenerazione spino-cerebellare progressiva, con quadro neuroradiologico di atrofia a carico di mesencefalo e ponte.

P096

VARIABILITÀ FENOTIPICA DI ALTERAZIONI DEL GENE RMRP

Giliani S, Pegoiani E, Vairo D, Fappani L, Forino C, De Martiis D, Cavagnini S, Notarangelo LD, Notarangelo LD, Mazzolari E

Clinica Pediatrica e Istituto di Medicina Molecolare A. Nocivelli, Università degli Studi di Brescia, Italy

Introduzione e obiettivi. Il gene RMRP (Ribonuclease Mitochondrial RNA Processing) codifica per la componente in RNA del complesso RNasi MRP, con funzione endoribonucleasica. Alterazioni in questo gene sono state associate alla Displasia Metafisaria tipo McKusick(CHH). Le manifestazioni di CHH sono generalmente bassa statura, e condrodisplasia metafisaria; la malattia è pleiotropica. In alcuni casi il fenotipo clinico è caratterizzato anche da immunodeficienza. Recentemente sono state descritte alterazioni del gene RMRP in pazienti affetti da sindrome di Omenn (OS) con alterazioni scheletriche. Per questo motivo abbiamo analizzato pazienti con immunodeficienza per i quali non erano state identificate mutazioni nei geni noti.

Pazienti e metodi. Sono stati inclusi nello studio: un paziente affetto da displasia metafisaria tipo McKusick, pazienti affetti da SCID o da OS con difetto genetico non noto. Per l'analisi sono state utilizzate tecniche di PCR e sequenza diretta, oltre ad analisi di RT-PCR, Real-Time PCR e trasduzione del segnale.

Risultati. Sono stati analizzati 20 pazienti appartenenti a 17 famiglie. In 6 di questi (appartenenti a 4 famiglie) sono state riscontrate alterazioni nel gene RMRP. Da un punto di vista clinico questi pazienti sono classificabili nel seguente modo: CHH, OS senza coinvolgimento scheletrico, CID senza coinvolgimento scheletrico. In una famiglia sono presenti due sorelle con SCID con deficit di CD4 ed un fratello con fenotipo clinico unicamente scheletrico. Le alterazioni sono state riscontrate sia nella regione regolatoria che nella regione trascritta. Alcune delle mutazioni sono già descritte in casi di CHH. In uno dei pazienti sono state evidenziate due alterazioni a carico del promotore. Questa condizione veniva considerata incompatibile con la vita. Abbiamo quindi analizzato i livelli di espressione di RMRP mediante Real-Time PCR verificando come alterazioni a carico del promotore consentano una residua espressione del gene.

Conclusioni. Abbiamo caratterizzato alcune alterazioni del gene RMRP, definendo l'impossibilità di effettuare una correlazione genotipo-fenotipo. Sono stati inoltre caratterizzati i primi casi di pazienti con difetti in RMRP non affetti da alterazioni scheletriche.

P098

ATASSIA E NEURODEGENERAZIONE SPINOCEREBELLARE A 15 ANNI DALLA DIAGNOSI IN UN CASO DI ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS (ICL) PLURIRECIDIVATO

Pagano M*, Postini A*, Berta M*, Peloso A#, Boffi P#, Aricò M^, Brach Del Prever A*

*Div. Oncoematologia Pediatrica - Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza dell'Università - Osp. Inf. Regina Margherita - Torino; #Div. Neuropsichiatria Infantile - Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza dell'Università - Osp. Inf. Regina Margherita - Torino; ^Div. Oncoematologia Pediatrica - Osp. dei Bambini 'G. Di Cristina' - Palermo, Italy

Introduzione. Il coinvolgimento SNC nei pazienti con ICL è

stato riconosciuto sin dai primi casi di malattia riportati in letteratura. Le complicanze SNC, classificabili come 'tumore-simili' o 'neurodegenerative-simili', si presentano nel 5% circa dei casi. Le tumore-simili corrispondono ad una infiltrazione granulomatosa intracranica con possibile ipertensione, deficit neurologici focali ed ormonali. La neurodegenerazione associata a ICL è una complicanza poco frequente e nota, che conduce a disabilità grave e completa dipendenza. La patogenesi è tuttora sconosciuta: è stato ipotizzato che si tratti di effetti neurologici tardivi della diffusione sistemica dell'ICL o sia su base autoimmune.

Caso clinico. Nel giugno 1991 giunse alla nostra attenzione un lattante di 3 mesi con ICL muco-cutanea, (tronco, inguine, cuoio capelluto e cavo orale): fu trattato secondo il protocollo LCH 1, con Vinblastina (VLB) e 6-Mercaptopurina per 6 mesi. Nell'ottobre 1991 fu osservata recidiva alla teca cranica (occipitale e temporale destro) e nel luglio 1992 recidiva cutanea, con RC al termine del trattamento. A 6 mesi dallo stop-terapia comparvero nuove lesioni cutanee, discontinuità ossea a livello della lamina cribrosa dell'etmoide, poliuria e polidipsia, con diagnosi di diabete insipido in 3(e) recidiva: il paziente fu sottoposto a trattamento sostitutivo con DDAVP e nuovamente a VLB settimanale. Dal settembre 1993 si rese necessario un periodo di terapia con valproato per episodi di convulsioni febbrili con anamnesi familiare positiva; fu proseguito quindi follow-up neuropsichiatrico. All'età di 13 anni, comparvero disprassia e progressivi disturbi comportamentali, con atti aggressivi, violenti, anticonservativi, episodi di fuga e vagabondaggio, eloquio povero, abuso di alcolici; erano evidenti deficit di equilibrio, deambulazione a base allargata e tendenza a sbandare nella marcia, parola scandita, dismetria, ipertonno arti inferiori, clono e Babinski bilaterali. All'RM encefalo si evidenzia una globale diminuzione del volume di mesencefalo e ponte da atrofia, senza attuali significative alterazioni a carico della fossa posteriore. Date le notevoli difficoltà relazionali, il paziente è stato affidato ad una comunità. Questa rara complicanza a lungo termine dell'ICL ha decorso rapidamente progressivo, senza peraltro possibilità di una terapia realmente efficace.

P099

CURE INTENSIVE PER IL BAMBINO CON PROBLEMI ONCOLOGICI: RISULTATI PRELIMINARI DELLA SURVEY ITALIANA 2003-2005

Piastra M,¹ Tomesello A,¹ Zorzi G,¹ Stoppa F,² Serafini G,³ Salvo I,⁴ Conti G,¹ Pietrini D,¹ Locatelli F³

¹Università Cattolica, Policlinico Gemelli, Roma; ²IRCCS Bambino Gesù, Roma; ³Policlinico Universitario S.Matteo, Pavia; ⁴Ospedale Buzzi, Milano, Italy

Introduzione e Obiettivi. Il ricorso alle cure intensive durante il trattamento della patologia neoplastica nel bambino è stimato nelle differenti casistiche attorno al 10%. Nel 2006 si è costituita la Segreteria Scientifica Intersocietaria *Cure intensive per il bambino con problemi oncologici* allo scopo di approfondire ed uniformare l'approccio al bambino oncologico in terapia intensiva nella realtà italiana. Attualmente è in corso uno studio che consiste in una prima fase retrospettiva che analizza i dati provenienti da Centri AIEOP sull'utilizzazione degli strumenti diagnostico-terapeutici nel campo dell'intensività pediatrica.

Metodi. L'indagine retrospettiva si riferisce ai pazienti di età compresa tra 0 e 17 anni con patologia neoplastica ammessi al ricovero nelle Terapie Intensive Pediatriche afferenti al progetto nel periodo compreso tra gennaio 2003 e dicembre 2005.

Risultati. Nel periodo in esame sono stati identificati, in una

fase preliminare dello studio, 800 pazienti ricoverati in 12 Centri. Di questi pazienti 501 (62.6%) sono stati ammessi nel periodo postoperatorio ad interventi per la rimozione della neoplasia (in massima parte neoplasie endocraniche), mentre 299 (37.3%) sono stati ammessi per cause mediche. La mortalità complessiva registrata nel triennio è pari al 9% sul totale dei ricoveri effettuati; nel postoperatorio è inferiore all'1%, mentre nelle indicazioni mediche sale al 22.4%. Tra le categorie a maggior rischio sicuramente le sepsi (54.2%) e l'insufficienza respiratoria (22.3%).

Conclusioni. I risultati preliminari riportati nello studio sono sovrapponibili a quanto riferito in letteratura. Dal punto di vista dell'assistenza intensiva si rileva tuttavia una scarsa applicazione del monitoraggio emodinamico avanzato e delle tecniche di ventilazione alternative, quali la ventilazione non-invasiva e la ventilazione ad alta frequenza oscillatoria; è inoltre poco diffuso l'intervento farmacologico sul sistema dell'emostasi. Alla luce dei dati riportati si ritiene indispensabile individuare linee guida condivise sia sull'indicazione alla terapia intensiva sia sui protocolli più frequentemente applicati la cui efficacia potrà essere valutata in una successiva fase prospettica.

P100

SURVIVORS: VALUTAZIONI SULLA POSSIBILE CONTINUITÀ DI CURA OLISTICA

Favara Scacco C, Carciotto T, Pistorio L, La Spina M

Emato-Oncologia Pediatrica Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Catania, Italy

Introduzione e obiettivi. I Survivors vanno valutati e seguiti periodicamente per l'alto rischio di recidiva e/o d'effetti collaterali alle chemioterapie. Nel nostro Centro, in un'ottica di cura olistica, assieme ai follow-up medici esecutivi effettuiamo valutazioni degli aspetti psicologici. In quest'ambito, l'assenza di modelli d'intervento validati ha stimolato il bisogno di progettazione con l'obiettivo di: garantire continuità del *cure and care*, individuare il significato profondo che si nasconde dietro una richiesta, livello d'adattamento, definire una chiave di lettura condivisibile d'intervento e diffusione scientifica.

Metodi. Dalla valutazione quantitativa dei dati raccolti alla WAIS-R, WISC-R, SAFA, siamo passati alla valutazione qualitativa-descrittiva, privilegiando l'uso del Colloquio Clinico. In una valutazione cognitivo-affettiva si privilegia il facilitare una presa di coscienza e l'espressione dei 'bisogni' nei survivors e nei loro genitori.

Risultati. Dalle osservazioni focalizzate su aree specifiche, risulta imprescindibile l'inclusione dei genitori (G) nell'intervento sui survivors (S). S: Area-Cognitiva, nella norma. Nell'Area-del-Sè emergono, difficoltà nell'assumere un'identità sana; fissazione-regressione ad uno stadio inadeguato all'età cronologica; difese dalla *negazione* alla *rimozione*; eccessivo investimento-disinvestimento sul corpo; influenza della malattia sull'autostima. Area-Adattivo-Relazionale, difficoltà nella progettualità; influenza della malattia sulle relazioni profonde. G: iperprotettivi; paura di recidive e difficoltà ad accettare la malattia come porzione di vita reale ma conclusa.

Conclusioni. La valutazione dei survivors costituisce un campo di ricerca-intervento complesso che offre un doppio contributo: supportivo-espressivo nel presente e di riflessione sugli interventi utilizzabili durante la cura. Survivors e genitori riferiscono l'utilità dell'intervento rivelatosi funzionale alla *separazione* dalla malattia e dall'ambiente di cura; alla ricomposizione della storia personale e familiare includendone l'evento malattia grazie anche ai chiarimenti sulla diagnosi laddove i survivors non li avevano mai ricevuti.

DATI PER LETTI

LO01

PRB2/P130: UN NUOVO CANDIDATO NELLA GENESI DEL RETINOBLASTOMA

Acquaviva A,¹ Onnis A,² Luzzi A,² Carugi A,² Toti P,²
Tosi P,² Giordano A,^{2,3} De Falco G.^{2,3}

¹Dipartimento di Pediatria, Ostetricia e Medicina della Riproduzione - Università di Siena; ²Dipartimento di Patologia Umana ed Oncologia, Università di Siena; ³Sbarro Institute for Cancer Research & Molecular Medicine, Biolife Science Building Suite 333, Temple University Philadelphia, USA.

Introduzione e obiettivi. Il retinoblastoma (RB) è un raro tumore oculare che origina in cellule della retina. Questa neoplasia ha un'incidenza di 1 su 20,000 nati vivi, senza variazioni razziali, geografiche o di livello di industrializzazione. Il RB si presenta in forma ereditaria e non: la forma ereditaria costituisce il 40% dei casi ed è caratterizzata da una ereditarietà autosomica dominante. I pazienti (pz) sviluppano il tumore in entrambi gli occhi (RB bilaterale), mostrando spesso più di un focus per occhio (RB bilaterale multifocale) e sono caratterizzati da una predisposizione a sviluppare tumori in qualsiasi sede corporea per tutta la vita. Circa il 60% dei pz sviluppa il RB in un solo occhio (RB unilaterale) e si manifesta come un tumore sporadico, senza storia familiare per questo tipo di tumore. Mutazioni di entrambi gli alleli del gene RB1 sono necessarie perché si sviluppi il tumore. In pz con RB sporadico unilaterale, le 2 mutazioni del gene RB1 che inducono il tumore rappresentano un evento somatico e nessuna di esse è presente nel DNA delle cellule germinali. Al contrario, pz affetti da RB bilaterale sono eterozigoti per mutazioni del gene RB1, che possono essere state sia ereditate o sono insorte de novo in cellule parentali germinali o nel corso dello sviluppo embrionale. Durante la prima infanzia questi pz sono predisposti a sviluppare il RB perché una mutazione dell'allele sano determina un'inattivazione biallelica del gene RB1, iniziando pertanto lo sviluppo del focus tumorale. Sta diventando evidente che, sebbene queste alterazioni rappresentino un evento chiave nella genesi del RB, non sono sufficienti da sole per lo sviluppo del tumore ed altre alterazioni, di tipo genetico o epigenetico, devono insorgere. La possibilità che ulteriori mutazioni di altri geni oncosoppressori possano insorgere nei casi di RB sporadico è supportata da studi recenti che evidenziano che la perdita di funzione della proteina pRb/p105 porta a instabilità genomica e predispone al cancro, aumentando il tasso di mutazioni del DNA. Un possibile candidato alla formazione del RB è il gene RB2/p130, omologo del gene RB1, che codifica per la proteina pRb2/p130 ed è un membro della famiglia di geni del RB. L'inattivazione della sua funzione biologica, dovuta a meccanismi genetici o epigenetici o all'interazione con proteine virali, è stata descritta in tumori di diversi organi. Il coinvolgimento di pRb2/p130 nello sviluppo del RB è stato recentemente ipotizzato. Abbiamo dimostrato che l'espressione di pRb2/p130 è spesso diminuita in tumori primari di RB e sembra inoltre correlare con l'indice apoptotico (AI) del tumore, dal momento che tumori che non esprimono pRb2/p130 hanno un AI più basso di quelli in cui l'espressione di questa proteina è più alta o normale. Questo suggerisce che pRb2/p130 possa avere un effetto pro-apoptotico in campioni di RB *in vivo*. Inoltre, l'analisi mutazionale effettuata in casi di RB sporadico e familiare ha rivelato che il gene RB2/p130 è spesso mutato in casi di RB sporadico, e che le mutazioni insorgono prevalentemente nell'esone 1. L'iper-

metilazione delle regioni CpG del gene RB2/p130 è stata anche descritta come un meccanismo alternativo di inattivazione della proteina pRb2/p130 in questi tumori. Questi risultati suggeriscono che il gene RB2/p130 possa cooperare con il gene RB1 per la formazione del RB.

Metodi e risultati. Per studiare i meccanismi molecolari alla base del RB, sono stati raccolti campioni di sangue dai pz e dai loro familiari per controllare l'espressione dei geni regolatori del ciclo cellulare che costituiscono il 'pathway' del RB, a livello di mRNA e proteine. I nostri risultati preliminari suggeriscono che alterazioni di altri geni possano insorgere in pz con RB, rinforzando l'ipotesi che altri fattori, in aggiunta al gene RB1, contribuiscono alla formazione del tumore.

LO02

NEUROBLASTOMA (NB) DISSEMINATO NEL PRIMO ANNO DI VITA: RISULTATI PRELIMINARI DEL PRIMO STUDIO EUROPEO

Di Cataldo A, Bertuna G, D'Amico S, Cuzzubbo D,
Licciardello M

Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica. Policlinico Universitario di Catania

Introduzione e obiettivi. Nel primo anno di vita il NB metastatico si presenta come stadio 4s o stadio 4. Il primo, costituito da un piccolo tumore primitivo e metastasi a cute, fegato e midollo osseo, spesso regredisce spontaneamente, mentre il secondo può ottenere la guarigione solo con la chemioterapia. Vi sono quindi pazienti di stadio 4 anche solo perché si presentano con un grosso tumore o con lesioni ossee captanti la MIBG senza conferma radiografica: nell'ipotesi che in questi pazienti, come nello stadio 4s, la malattia potesse regredire senza chemioterapia, la SIOP Europe NB ha attivato lo studio INES 99.

Metodi. Dal 1999 al 2004 in 9 nazioni europee gli infant con NB disseminato MYCN non amplificati erano eleggibili per i trials 99.2 e 99.3. Il trial 99.3 includeva pazienti con metastasi cerebrali, polmonari ed ossee rilevate dalla MIBG e confermate da radiografia e prevedeva 4-8 cicli di chemioterapia; gli altri casi, eleggibili nel trial 99.2, ricevevano chemioterapia solo in presenza di sintomi gravi.

Risultati. I 133 casi del trial 99.2 erano così divisi: 1) gruppo A, 90 casi di stadio 4s: tra i 50 pazienti non trattati 7 hanno avuto progressione di malattia, con 2 decessi, mentre dei 40 trattati 9 hanno avuto progressione, con 5 decessi; 2) gruppo B, 27 casi con grosso tumore: nessun evento tra i 16 pazienti trattati, due progressioni tra gli 11 non trattati. Tutti i bambini sono vivi in remissione; 3) gruppo C, 16 casi con MIBG positiva sullo scheletro non confermata da radiografia: si sono registrate 2 recidive in uno dei 5 casi non trattati e in uno degli 11 trattati. Tutti i pazienti sono vivi in remissione. Dei 48 pazienti del trial 99.3, sei hanno presentato progressione, e 2 di questi sono morti per malattia. Nel trial 99.2 la sopravvivenza complessiva (OS) a 3 anni è stata 95.7% (CI 91.9-99.5), mentre quella libera da eventi (EFS) è stata 88.2% (CI 82.5-93.8), con un follow up mediano di 36 mesi, range 0-84. Nel trial 99.3 la OS a 4 anni è stata 95.74%, mentre la EFS 87.26%, con follow-up mediano di 36 mesi.

Conclusioni. In entrambi i gruppi OS ed EFS sono eccellenti. Possiamo affermare che pazienti di stadio 4 per lesione ossea evidenziata solo con MIBG o per grosso tumore hanno elevata probabilità di guarigione senza chemioterapia come quelli di stadio 4s.

L003**STENOSI DEL TRATTO GASTROINTESTINALE COME EFFETTO TARDIVO DEL TRATTAMENTO ANTINEOPLASTICO**

Schiavetti A, Ingrosso A, Chiriaco D, Totonelli G, D'Ambrosio G, Cozzi D

Dipartimento di Pediatria Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Introduzione. La fibrosi del tratto gastrointestinale è una rara complicanza tardiva del trattamento antineoplastico, in particolare radioterapico e/o chirurgico e può interessare qualsiasi tratto. La sintomatologia clinica è aspecifica e può essere misconosciuta e sottovalutata.

Caso 1. Stenosi esofagea: ragazzo di 19 anni, con disfagia grave, vomito dopo i pasti, pirosi e calo ponderale. All'età di 8 anni fu trattato per linfoma di Hodgkin (stadio IIa) con 6 cicli COPP-ABVD, presentò una recidiva (stadio IIIb) 5 anni dopo la fine del trattamento e ricevette ulteriori 8 cicli COPP-ABVD con RT sopradiaframmatica (20 Gy) e sottodiaframmatica (36 Gy). Sei anni dopo accusò calo ponderale e incapacità ad alimentarsi e fu posta diagnosi di anoressia nervosa. L'esofagogramma e l'endoscopia, eseguiti in seguito, evidenziarono invece megaesofago con stenosi serrata del tratto distale e grave esofagite. Il pz fu quindi sottoposto a duplicazione del fondo gastrico con due dilatazioni esofagee intraoperatorie, con remissione della sintomatologia.

Caso 2. Stenosi ileo distale: Ragazza di 18 anni con occlusione intestinale acuta. All'età di 30 mesi venne diagnosticato RMS alveolare della coscia destra, stadio II, trattato con chirurgia totale, RT e CHT secondo il protocollo AIEOP 88. Dopo 2 mesi presentò recidiva linfonodale a livello della pelvi di destra e fu trattata con chirurgia totale, RT (40 Gy) sui linfonodi lombo-aortici, e 8 cicli di CHT (carboplatino/etoposide/epirubicina). Una seconda recidiva multipla linfonodale fu trattata, a scopo palliativo, con etoposide a basse dosi, con il quale si ottenne una remissione completa duratura documentata con RMN e intervento chirurgico di biopsie multiple. La ragazza, fuori terapia, durante il follow-up lamentava spesso dolori addominali di ndd (RMN addome-pelvi sempre negativa). L'episodio di occlusione intestinale acuta si è verificato 13 anni dopo la sospensione delle cure. È stata quindi eseguita laparotomia esplorativa con resezione dell'ultima ansa ileale risultata stenotica.

Conclusioni. I disturbi gastrointestinali in giovani adulti trattati per tumore in età pediatrica devono essere interpretati anche alla luce di possibili stenosi indotte dal trattamento, in particolare quello radioterapico e/o chirurgico.

L004**PROTOCOLLO PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DEL RETINOBLASTOMA AIEOP RB 05: ANALISI AD INTERIM (15.6.2007)**

Acquaviva A,¹ Cozza R,² Hadjistilianou T,³ Bomarzo A,⁴ Carli M,⁵ Petris MG,⁵ Midena E,⁶ Donfrancesco A,² Garré ML,⁷ Priolo G,⁸ Pession A,⁹ Sandri A,¹⁰ Bernini G,¹¹ Di Cataldo A,¹² Reibaldi A,¹³ Devito R,¹⁴ Alaggio R,¹⁵ Toti P,¹⁶ Scarsello G,¹⁷ Balistreri A,¹⁸ Indolfi P¹⁹

¹Clinica Pediatrica-Università di Siena, ²Div. Pediatria-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (OPBG) Roma, ³Clinica Oculistica-Università di Siena, ⁴Div. di Oculistica OPBG Roma, ⁵Clinica Pediatrica-Università di Padova, ⁶Clinica Oculistica Università di Padova, ⁷Div di Pediatria IGG Genova, ⁸Div di Oculistica IGG Genova, ⁹Clinica Pediatrica Università di Bologna, ¹⁰Clinica Pediatrica

Università di Torino, ¹¹Clinica Pediatrica Università di Firenze, ¹²Clinica Pediatrica Università di Catania, ¹³Clinica Oculistica Università di Catania, ¹⁴Anatomia Patologica OPBG Roma, ¹⁵Anatomia Patologica, Università di Padova, ¹⁶Anatomia Patologica, Università di Siena, ¹⁷Radioterapia Università di Padova, ¹⁸Dipartimento di Chirurgia e Bioingegneria, Università di Siena, ¹⁹Clinica Pediatrica, I Università di Napoli

Introduzione. Il protocollo di diagnosi e terapia del retinoblastoma AIEOP RB 05 si propone i seguenti più importanti obiettivi: 1) Migliorare lo standard diagnostico e terapeutico per il retinoblastoma in Italia, avviando uno studio prospettico su una popolazione di pazienti (pz) omogenea per diagnosi, criteri di stadiazione, terapia e criteri di risposta alla terapia; 2) Verificare l'efficacia della chemioterapia antineoplastica nel ritardare l'eventuale enucleazione e nel ridurre a) la percentuale di pz enucleati e b) la percentuale di metastasi tardive; 3) Verificare il ruolo della chemioterapia nel prevenire metastasi nei pz enucleati con fattori istoprognostici ad alto rischio, confrontando i risultati con un gruppo storico di controllo; e) Valutare l'importanza prognostica di fattori clinico-strumentali alla diagnosi; f) Valutare i patterns oftalmoscopici di regressione neoplastica prospetticamente per perseguire migliore correlazione tra le morfologie osservate e le variabili sede del tumore, dimensioni del tumore, tipo ed entità del trattamento. Gli Autori presentano una parziale analisi ad interim relativa a 63 pz diagnosticati nel periodo 1.1.2006-15.6.2007.

Pazienti e risultati. 8 centri dal 1.1.2006 al 15.6.2007 hanno diagnosticato/trattato 63 pz così distribuiti Siena (45), Roma Bambino Gesù (12), Genova (2), Padova (2), Torino (1), Bologna (1), Firenze (1), Catania (1). 10/63 sono pz non sono italiani (10 greci, 1 eritreo, 1 albanese). Distribuzione per sesso: Maschi n. 38 (60,3%) e Femmine 25 (39,7%). Distribuzione per lateralità: Unilaterali 45 (71,5%) e Bilaterali 18 (28,5%). Caratteristiche degli Unilaterali: 45 pz di cui 29 maschi (64,4%) e 16 femmine (35,6%). Range di età alla diagnosi: 2-97 mesi; Età media alla diagnosi: 21,2 mesi. Sono stati enucleati alla diagnosi 30/45 pz (66,6%) e 15/45 sono stati trattati con terapia conservativa. Caratteristiche dei Bilaterali: 18 pz di cui 9 maschi e 9 femmine. Range di età alla diagnosi: 1-47 mesi; Età media alla diagnosi: 10,76 mesi. Sono stati enucleati alla diagnosi 6/18 pz (33,3%), mentre 12/18 sono stati trattati conservativamente. Sopravvivenza: tutti i pz sono attualmente vivi.

Conclusioni. Nella coorte dei nostri pz è stata rilevato un eccesso di maschi e in particolare un eccesso di maschi unilaterali. Ancora molto elevata la percentuale di pz unilaterali enucleati alla diagnosi per malattia molto avanzata: ciò è in parte giustificabile con la più elevata età media alla diagnosi. Viceversa è molto confortante l'alta percentuale di pz bilaterali, diagnosticati più precocemente e risultati eleggibili per un trattamento di tipo conservativo. Gli Autori sottolineano il ruolo rilevante che possono avere i pediatri nel sorprendere più tempestivamente una neoplasia maligna le cui probabilità di guarigione dipendono in larga misura dalla precocità della diagnosi.

L005**COMPARS DI METASTASI AL MUSCOLO ILEO-PSOAS IN PAZIENTE A TRE ANNI DALLA DIAGNOSI DI OSTEOSARCOMA OSTEOLASTICO**

Shiha K, Tettoni K, D'ippolito C, Soresina R Marzollo R, Zanola S, Brusati M, Boccacci S, Cavagnini S, Schumacher RF, Porta F

Onco-Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini, Spedali Civili Brescia

Nel maggio 2004 giunge alla nostra osservazione una bimba di 9 anni dal Senegal amputata a livello del 3^a prossimale del femore dx 4 mesi prima per condrosarcoma. La revisione istologica del pezzo operatorio presso il nostro Centro deponeva per Osteosarcoma Osteoblastico (OS) High Grade. La stadiazione mostrava residui di malattia al moncone e metastasi polmonari bilaterali. Iniziava terapia secondo protocollo ISG/OS-1, conclusa nell'aprile 2005 con buona risposta. In Gennaio 2005 s eseguiva inoltre asportazione di nodulo polmonare, negativo per malattia. A 15 mesi dallo stop terapia si rilevava di nodulo polmonare al lobo superiore dx, asportato chirurgicamente il cui esito deponeva per lesione secondaria di OS, con margini chirurgici liberi ed infiltrazione perivascolare. Iniziava quindi trattamento con Gemcitabina ed Oxaliplatino. La rivalutazione dopo 2 cicli non mostrava lesioni polmonari né al moncone. Per scelta della famiglia la terapia è stata interrotta. A 4 mesi dallo stop, lesioni polmonari dubbie e disuria dopo caduta. Rx bacino negativo. Per algia addominale e rilievo obiettivo di sospetta massa addominale eseguiva ecografia addominale che mostrava la presenza di voluminosa lesione in emiaddome dx; alla TC massa emiaddome dx (8.6cmx6.6 cmx11cm) a verosimile partenza dal muscolo ileo-psyas di dx. Alla PET venivano evidenziate lesioni captanti a livello della lesione addominale (captazione disomogenea) e della VI costa di dx; negativo il parenchima polmonare. Veniva eseguita biopsia della massa addominale, complicata da rottura intraoperatoria della lesione, il cui esito istologico era compatibile con metastasi muscolare di OS. La paziente ha attualmente ripreso la chemioterapia con Gemcitabina e Oxaliplatino. Conclusioni: l'osteosarcoma osteoblastico è un tumore che presenta una buona risposta alla chemioterapia ma che mostra anche un' elevata percentuale di recidive. Esse sono prevalentemente descritte a livello del parenchima polmonare, tuttavia l'aumentato numero dei pazienti che sopravvivono per lunghi periodi dopo chemioterapia di prima e seconda linea fa sì che l'incidenza di sedi di lesioni metastatiche non comuni sia in aumento, suggerendo quindi che nessun organo può essere considerato esente dalla comparsa di lesioni secondarie di OS.

L006**UN DIFFICILE CASO DI DIAGNOSI DI EMANGIOENDOTELIOMA KAPOSIFORME NEONATALE**

Tettoni K, Corti A, Grassi V, Shiha K, Boccacci S, Brusati M, Cavagnini S, Facchetti F,² Ekema G,¹ Schumacher RF, Porta F

Oncoematologia pediatrica, ¹Chirurgia Pediatrica, Ospedale dei Bambini, ² servizio di Anatomia e Istologia Patologica-Spedali Civili Brescia

Descriviamo il caso clinico di una neonata giunta alla nostra osservazione all'età di 1 mese per angioma del braccio sx e della parete toracica interna sx neonatale ingravescente con piastrinopenia severa (S. di Kasabach-Merritt). Per l'estensio-

ne della lesione la piccola veniva inizialmente trattata con prednisone senza successo quindi, dopo circa un mese, veniva eseguita biopsia della lesione compatibile con angioma, con aspetti *hobnail*. L'andamento clinico e la presenza di piastrinopenia severa suggeriva una accurata rivalutazione del reperto biotico in cui venivano ritrovate rare aree di emangioendotelioma kaposiforme quindi, dopo circa 6 settimane di terapia con prednisone, veniva aggiunta terapia con vincristina settimanale (0.05 mg/kg/dose) e progressivamente ridotto fino alla sospensione lo steroide. Dopo poche dosi si assisteva alla normalizzazione della conta piastrinica ed a progressiva riduzione della lesione dell'avambraccio. Rivalutazioni periodiche con RM hanno mostrato progressiva riduzione delle lesioni. La valutazione dello Rx dell'avambraccio sx a 11 mesi dalla diagnosi ha mostrato maggior sviluppo di ulna e radio rispetto alle controlaterali ed incremento endostale; esse risultano deformate con ulna incurvata dorso-medialmente. La piccola ha eseguito VCR per 44 settimane. La lesione residua appare nettamente ridotta rispetto all'esordio. L'accrescimento statuto-ponderale e psicomotorio è regolare e non vi sono segni severi di neuropatia periferica. Conclusioni: l'emangioendotelioma kaposiforme è un tumore vascolare raro, a basso grado di malignità, cutaneo o viscerale, frequente durante l'infanzia. Si può associare a trombocitopenia grave e coagulopatia da consumo. Va sempre sospettata in caso di voluminosi angiomi associati a queste. La diagnosi si basa sui rilievi istologici tipici positivi al marcatore linfatico D2-40. Nelle forme pediatriche associate alla sindrome di Kasabach-Merritt, le alternative sono la terapia farmacologica (corticoterapia sistemica, vincristina, interferone α 2b), l'embolizzazione terapeutica, l'escissione chirurgica e la radioterapia (non applicabile in bambini piccoli). La prognosi dipende dalla cronicità delle lesioni e dalle complicazioni.

L007**POLIMORFISMO DI METILEN-TETRAIDROFOLATEREDUTTASI (MTHFR-C677T) E RISCHIO RELATIVO DI NEOPLASIA IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA NEOPLASIE SOLIDE O LEUCEMIE LINFOBLASTICHE ACUTE (LLA)**

Casale F, Crisci S, Francese M,¹ D'Angelo V, Ferrara M,² Affinita MC, Savarese R, Pascarella C, Russo M, Gargiulo E, Siano M, Di Martino M, Giuliano M, Indolfi P

Servizio di Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli

¹Laboratorio di Ematologia Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli; ²Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli

Introduzione. Mutazioni dell' enzima MTHFR, anche se rare, possono determinare una riduzione dell'attività enzimatica (<20%) con conseguente iperomocisteinemia, omocistinuria e bassi livelli plasmatici di acido folico. È stato identificato un polimorfismo genetico comune dovuto alla sostituzione, a livello del nucleotide 677, di una citosina (C) con una timina (T) (C677T), responsabile degli elevati livelli plasmatici di omocisteina. Negli ultimi anni il ruolo dell'iperomocisteinemia sempre più spesso è stato correlato alle neoplasie dell'adulto. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare la frequenza e l'influenza della mutazione C677T di MTHFR sul rischio relativo di neoplasia in un gruppo di bambini affetti da neoplasie solide o LLA.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati nello studio 114 bambini, 54 maschi, di età compresa tra 3 mesi e 15 anni, 62 neo-

plasie solide (37 T. di Wilms, 6 NB, 5 RMS, 1 T. rabdoide renale, 2 Ca. renali, 1 PNET, 1 Osteo., 6 S.di Ewing, 3 TCG maligni) e 52 LLA, diagnosticati e seguiti presso il Servizio di Oncologia Pediatrica della II Università di Napoli. L'analisi del genotipo di MTHFR, metodica PCR-RFLP, (Frost, modificata), ha permesso la identificazione di genotipi wild-type (CC), in eterozigosi (CT) o in omozigosi (TT). Come gruppo di controllo sono stati utilizzati 70 campioni random di bambini sani, di pari età, dell'area geografica campana. Per l'analisi della frequenza dei genotipi è stato utilizzato il chi2 test mentre per la valutazione del rischio relativo di neoplasia l'Odds Ratio (OR), considerato positivo per $OR > 1$.

Risultati. La percentuale di distribuzione di MTHFR, rispetto ai casi controllo, è risultata essere rispettivamente di: CC=26.6% vs 39%; CT:51.3% vs 50% e TT: 22.1% vs 11%. Non differenze statisticamente significative rilevate sia per frequenza che OR relativamente alle LLA. Nell'ambito delle neoplasie solide invece il genotipo TT è risultato significativamente più frequente rispetto al genotipo CC ($p < 0.05$) ed una $OR > 1$, nei genotipi CT e TT, significativamente più elevata ($p = 0.0024$).

Conclusioni. Il nostro studio dimostra che il polimorfismo C677T non ha un ruolo nel rischio di LLA, mentre è correlato, nei tumori solidi, ad un maggiore frequenza del genotipo TT ed un più elevato rischio relativo di neoplasia nei pazienti con genotipo alterato (CT o TT).

LO08

I SECONDI TUMORI IN ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA: UN AMPIO SPETTRO DI CONDIZIONI. ESPERIENZA DEL CENTRO AIEOP DI PALERMO

D'Angelo P, Caselli D, Farruggia P, Grigoli A, Macaluso A, Russo D, Trizzino A, Tropa S, Ziino O, Aricò M

Unità Operativa di Oncematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", A.R.N.A.S., Palermo

Introduzione. I progressi nel trattamento delle neoplasie dell'età pediatrica hanno determinato un notevole miglioramento nella prognosi, ma hanno incrementato il rischio di secondo tumore, evenienza rara, ma non eccezionale, specialmente in bambini sottoposti alla radioterapia (RT) o chemioterapia (CT). La valutazione retrospettiva della nostra casistica ha permesso di cogliere aspetti differenti di questo problema, in cui i fattori in gioco sono sicuramente molteplici e con aspetti talvolta peculiari.

Pazienti. Negli ultimi 5 anni, nel nostro centro, la diagnosi di secondo tumore è stata posta in 8 pz (3 M e 5 F) di età compresa tra 3 e 27 anni (mediana 16), e con un intervallo di tempo con la 1° diagnosi tra 9 e 22 anni (mediana 14). Due ragazzi (pz 1 e 2), 1 M ed 1 F di 17 e 27 anni, sono stati operati di meningioma intracranico a distanza di 16 e 15 anni dalla diagnosi di LLA, trattati secondo Prot. AIEOP LLA 8202 ed 8833, con RT cranica (18 e 24 Gy rispettivamente); nella pz 3 è stata posta diagnosi di meningioma parietale all'età di 19 anni, a 11 anni dalla diagnosi di PNET del IV ventricolo, trattato con CT ed RT craniospinale; il pz 4 ha sviluppato all'età di 24 anni un carcinoma indifferenziato metastatico a 22 anni dalla diagnosi di LLA sottoposta a CT secondo Prot. AIEOP LLA 7602 ed a successivi trattamenti di 2°, 3° e 4° linea per una prima recidiva SNC+BM, una 2° recidiva oftalmica (RT cranio 18 Gy) e una 3° recidiva midollare per la quale è stato sottoposto ad AuTMO, dopo condizionamento con ciclofosfamide e TBI (12 Gy). La pz 5 ha sviluppato un osteosarcoma condroblastico all'età di 15 anni, a circa 14 anni da un trattamento CT e RT (32 Gy) per una recidiva di fibrosarcoma infantile del gluteo,

trattato inizialmente con chirurgia e CT. La pz 6 ha presentato un 'Sarcoma Istiocitico' laterocervicale e mediastinico con metastasi polmonari bilaterali, 9 anni dopo la diagnosi di LLA-T, all'età di 26 mesi, trattata secondo Prot. AIEOP LLA 9133 (con RT cranio 24 Gy). Il pz 7 ha sviluppato un Linfoma non-Hodgkin T mediastino-polmonare a 12 anni dalla diagnosi di Ganglioneuroblastoma (GNB) nodulare surrene destro I stadio, sottoposto al solo intervento chirurgico. Nella pz 8 invece la diagnosi di 2 neoplasie è stata posta simultaneamente: ricoverata per massa toracica e pancitopenia, le indagini istologiche, citoimmunologiche ed immunoistochimiche hanno permesso di diagnosticare un associazione LLA pre-B/GNB; il 2° è stato asportato in modo radicale, per cui la bambina ha poi proseguito secondo Prot. LLA 2000.

Risultati. Sette degli 8 pz sono vivi. Soltanto il pz 4 è deceduto per la progressione del carcinoma indifferenziato metastatico. I pz 1 e 2 sono stati sottoposti con successo ad asportazione del meningioma. La pz 3 mostra una stabilità del meningioma da quasi 5 anni e non è stata sottoposta ad alcun trattamento. La pz 5 è giunta alla nostra osservazione dopo 2° recidiva omerale con metastasi polmonari bilaterali di un osteosarcoma condroblastico (il primitivo all'emibacino destro), sottoposto a CT e RT locale (70 Gy). La pz, è stata trattata con regime ICE modificato x 4 cicli, condizionamento con Thiotepa/Melphalan e reinfusione di CESP autologhe + chirurgia protesica della spalla; è viva in remissione completa (RC) a 12 mesi dallo stop terapia. La pz 6 è stata sottoposta a trattamento secondo Prot. ALCL 99, braccio 4, ed è in RC a 27 mesi dallo stop terapia. I pz 7 e 8 sono in RC in CT di mantenimento rispettivamente con il Prot. Euro LB 02 e LLA 2000.

Discussione. L'esame della nostra casistica mostra, come già segnalato in letteratura, che il problema secondo tumore può avere talvolta implicazioni differenti: nella maggior parte dei casi (pazienti 1-5) è abbastanza evidente il nesso causale tra trattamento, soprattutto radiante, ed oncogenesi. In altre situazioni (pazienti 6-8) i fattori genetici sono sicuramente prevalenti e possono favorire delle associazioni tra malattie molto rare senza implicazioni iatrogene.

LO09

TRATTAMENTO DEL NEUROBLASTOMA CERVICALE NEONATALE

Cozzi F, Schiavetti A, Spagnol L, Frediani S, Mele E, Cozzi DA

Dipartimento di Pediatria Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Italy

Scopo. Recenti studi suggeriscono che alcuni neuroblastoma, diagnosticati con diagnosi ecografica fetale o tramite screening di massa, possono regredire spontaneamente. Pertanto, alcuni di questi bambini con neuroblastoma surrenalico, sono comunemente seguiti senza alcun trattamento. In questo studio, abbiamo studiato se, in alcuni bambini con neuroblastoma congenito del collo, può essere giustificato un approccio più conservativo.

Metodi. Abbiamo confrontato le complicanze del trattamento chirurgico eseguito su tre neonati con neuroblastoma cervicale, seguiti presso il nostro istituto durante gli ultimi 40 anni, con le complicanze riscontrate in 19 neonati con neuroblastoma cervicale selezionati da una ricerca elettronica e manuale della letteratura inglese.

Risultati. Sette pazienti (incluso un caso personale) sono morti prima o immediatamente dopo la chirurgia. In tutti e 15 i pazienti sopravvissuti, l'adiacenza del neuroblastoma con organi e nervi nell'area cervicale ha creato peculiari compli-

canze prima o dopo la chirurgia. Le complicanze includono la sindrome di Horner, distress respiratorio, stridore, paralisi delle corde vocali, ipotrofia della lingua e disfagia orofaringea.

Conclusioni. Il trattamento del neuroblastoma cervicale diagnosticato nella vita perinatale deve essere individualizzato, prendendo in considerazione i rischi dell'escissione del tumore e la sua possibile regressione spontanea

L010

VALUTAZIONE PROGNOSTICA DEI TRASCRITTI EWS-FLI1 TIPO 1 E TIPO 2 NEL SARCOMA DI EWING/PNET DELLE PARTI MOLLI

Zin A, Sartori F, Bisogno G, Garaventa A, Donfrancesco A, Aricò M, Alaggio R, Carli M, Rosolen A

Clinica di Oncoematologia Pediatrica ed Istituto di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova; Medicina IV, IRCSS Gaslini, Genova; Ospedale Bambino-Gesù, Roma; Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Di Cristina, Palermo; per il CSS-Sarcomi Parti Molli AIEOP

Introduzione e obiettivi. Il sarcoma di Ewing/PNET è caratterizzato da un riarrangiamento cromosomico specifico che coinvolge i geni EWS/FLI1. Considerando i diversi siti di rottura dei geni, ne derivano molteplici trascritti chimerici di cui i più frequenti sono il trascritto di fusione tipo 1 e il tipo 2.

Metodi. Abbiamo studiato mediante RT-PCR 38 pazienti pediatrici con diagnosi di sarcoma di Ewing/PNET arruolati nel protocollo AIEOP sarcomi delle parti molli con almeno 6 mesi di follow-up. È stata valutata la prognosi in relazione al trascritto EWS-FLI1 tipo 1 verso il tipo 2. È stato inoltre valutato se vi era differenza significativa in EFS (event free survival) per i due sottogruppi nell'ambito degli stadi localizzati. La reazione RT-PCR per la ricerca del trascritto EWS-FLI1 si è basata sull'impiego dei primers: EWS 5'-GCAG-CAGCCTCCCAGTGA-3' e FLI1 5'-CAGGTGATA-CAGCTGGCGTGG-3'.

Risultati. 23/38 pazienti presentavano il trascritto di tipo 1 e 15/38 il trascritto di tipo 2. L'analisi della sopravvivenza su tutti i pazienti evidenzia un EFS a 5 anni del 30.1% (errore standard 15.4) per i pazienti che presentano il trascritto di tipo 1 e del 57.8% (errore standard 17.0) in quelli con trascritto di tipo 2 ($p=0.3$). L'OS (overall survival) a 5 anni è del 65.0% (errore standard 11.6) contro 54.6% (errore standard 17.6) dei pazienti con trascritto tipo 1 verso il 2 ($p=0.8$). Analizzando solo i pazienti con malattia localizzata abbiamo osservato un EFS a 5 anni del 42.7% (errore standard 19.6) per i pazienti che presentano il trascritto di tipo 1 e del 74.1% (errore standard 16.1) in quelli con trascritto di tipo 2 ($p=0.3$).

Conclusioni. Dall'analisi della nostra piuttosto limitata serie di pazienti non sembra che il sottotipo di trascritto EWS-FLI1 abbia un impatto significativo sulla prognosi in pazienti affetti da sarcoma di Ewing/PNET dei tessuti molli, indipendentemente dalla situazione di malattia localizzata vs. disseminata.

L011

MALATTIA DI HODGKIN: UN ESORDIO CON INSOLITA LOCALIZZAZIONE

Bianchi M*, Pagano M*, Bertin D*, Galletto C*, Piglione M*, Postini A*, Berta M*, De Filippi C°, Linari A^, Fagioli F*

** Divisione di Pediatria Oncologica - Osp. Inf. Regina Margherita - Torino; ° Servizio di Radiologia - Osp. Inf. Regina Margherita - Torino; ^ Servizio di Anatomia e Istologia Patologica - Osp. Inf. Regina Margherita - Torino.*

La malattia di Hodgkin (MH) è un processo neoplastico di raro riscontro in età pediatrica (6-7 casi/anno/10(e)6); all'esordio sono presenti per lo più adenopatie periferiche che risultano agevolmente indagabili a scopo diagnostico. Nel gennaio 2007 è giunto alla nostra attenzione un paziente di 9 anni e 10/12 con adenopatia sovraclavare destra (sede di biopsia diagnostica), in buone condizioni generali e con anamnesi negativa per febbre e calo ponderale. Le indagini radiologiche eseguite hanno evidenziato un importante impegno mediastinico e delle regioni ilo-parailari, presenza di tessuto patologico disposto a 'manicotto' pre e paravertebrale da T6 a T12, alterazione morfo-strutturale e aumento di densità del contenuto del canale vertebrale a livello di T8 e T9, con obliterazione dei forami intervertebrali, infiltrazione delle radici corrispondenti e modica compressione del midollo spinale, senza peraltro segni clinici. Erano inoltre presenti multiple opacità parenchimali polmonari bilaterali e alterazione strutturale dell'ala iliaca destra di aspetto litico. Per il rischio di cedimenti vertebrali, è stata posta indicazione all'uso di corsetto tipo 'Jewitt'. Diagnosi istologica: linfoma di Hodgkin a cellularità mista. L'aspetto della neoformazione in sede pre e paravertebrale, associato al coinvolgimento dei metameri corrispondenti, ha posto il sospetto di concomitante patologia tubercolare. L'intradermoreazione di Mantoux è risultata negativa. Si è comunque proceduto ad accertamento agobiottico della lesione, sotto guida TC, che ha escluso l'ipotesi infettiva. L'agobiopsia ossea e l'agoaspirato midollare effettuati a livello delle creste iliache posteriori sono risultati nella norma. Le valutazioni radiologiche effettuate in corso di trattamento secondo il gruppo terapeutico 3 del Protocollo Nazionale AIEOP LH 04 per stadio IV A di malattia, hanno evidenziato un progressivo e costante miglioramento delle lesioni; in particolare, già dopo il primo ciclo COPP/ABV, si è osservata una riduzione di oltre il 70% della formazione paravertebrale e scomparsa della componente endo-canale midollare. La PET-TC, effettuata dopo 4 cicli, non ha evidenziato presenza di malattia ad elevata attività metabolica. La MH può presentare, seppur raramente, un quadro di malattia accompagnato da localizzazioni atipiche che comportano difficoltà interpretative sulla base del solo dato radiologico.

L012

UN APPROCCIO DI RIABILITAZIONE COGNITIVA E PSICO-SOCIALE IN PAZIENTI IN ETÀ EVOLUTIVA CON ESITI DI TUMORE DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Battaglia M,¹ Viscardi E*, Grada C,¹ Russo E,¹ Cereda C,² Bisogno G,² Sainati L, Opocher E,² Martinuzzi A,¹ Perilongo G²

¹IRCCS "e medea", istituto la nostra famiglia, conegliano (tv); ²gruppo di neuro-oncologia pediatrica, dipartimento di pediatria, università di padova

Introduzione e obiettivi. Deficit cognitivi, disturbi psicopatologici e comportamentali costituiscono esiti frequenti in bam-

bini e adolescenti trattati per tumore primitivo del sistema nervoso centrale (SNC). Scopo della ricerca, finanziata dalla Fondazione Città della Speranza nel 2004, è di strutturare e testare in bambini fuori terapia per tumore cerebrale primitivo, un approccio integrato di riabilitazione neurocognitiva, individuando strategie operative rivolte anche al contesto di vita del bambino, basandosi sul modello della Compensazione di Backman & Dixon che prevede: definizione con il paziente e la famiglia di obiettivi, priorità e aspettative; riabilitazione della funzione cognitiva lesa; acquisizione di consapevolezza per funzioni integre e strategie vicarianti, intervento nell'ambito familiare e scolastico.

Metodi. 1) Pazienti individuati presso il Centro di Oncoematologia del Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova affetti da tumore cerebrale primitivo, sottoposto a trattamento chirurgico e/o chemioterapico e/o radioterapico, fuori terapia da almeno 6 mesi, di età compresa tra i 4 e i 16 anni all'inclusione. 2) Valutazione clinica neurologica e pediatrica, valutazione neuropsicologica, pedagogica e psicodiagnostica, colloqui con i genitori, classificazione funzionale con questionario ICF CY (WHO 2006), presso l'I.R.C.C.S.E.Medeo di Conegliano (TV). 3) I pazienti con significativi deficit cognitivi e/o di apprendimento vengono avviati a specifici trattamenti riabilitativi e/o ad un intervento di sostegno al bambino e/o ai familiari. 4) Rivalutazione dopo 1 anno dei pazienti trattati.

Risultati preliminari. Da Gennaio 2005 a Febbraio 2007 sono stati reclutati 14 pazienti (vedi Tabella 1); in 12/14 si sono riscontrati deficit cognitivi e/o di apprendimento; 10/14 sono stati avviati ad un intervento riabilitativo. Il follow-up è stato effettuato nel 2006 per 5/14 pazienti. I risultati complessivi verranno valutati al termine della ricerca (Dicembre 2007).

Conclusioni. Si conferma, in pazienti in età evolutiva con esiti di tumore del SNC, l'importanza di un approccio valutativo e riabilitativo integrato che preveda percorsi mirati al potenziamento o al rinforzo di funzioni cognitive e interventi sull'ambiente per ridurre l'impatto dei deficit sul funzionamento globale e sulla qualità di vita del bambino.

L013

ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS CUTANEA E INTESTINALE: PERSISTENTE REMISSIONE NONOSTANTE RIGETTO DEL TRAPIANTO DI STAMINALI EMOPOIETICHE CORDONALI

Lanino E,¹ Conte M,¹ Barbino A,² Garaventa A,¹ Morreale G,¹ de Fazio V,¹ Calafiore L,¹ Haupt R,³

¹U.O. di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, ²U.O. di Gastroenterologia Pediatrica, ³Servizio di Epidemiologia e Biostatistica, IRCCS G. Gaslini, Genova

Introduzione. Il trapianto allogenico di cellule staminali con condizionamento ad intensità ridotta (RI HSCT) è stato proposto in casi di istiocitosi a cellule di Langerhans (LCH) resistenti. Alcuni studi hanno infatti riportato promettenti successi, tutti seguiti da attecchimento. Qui riportiamo un caso di persistente remissione di malattia nonostante rigetto del trapianto.

Materiali e Metodi. Ad una bimba di 20 mesi con scarso accrescimento, diarrea cronica muco ematica, anemia e infezione da CMV fu diagnosticata una LCH multisistemica confermata istologicamente e all'immunoistochimica (CD1A) su biopsie cutanee ed intestinali. La risposta dopo 6 settimane di trattamento secondo il braccio A del protocollo LCH III, fu di malattia attiva migliorata. Dopo il terzo ciclo di VBL/PDN la bimba ebbe una recidiva intestinale e fu quindi trattata secon-

do il braccio B del protocollo senza ottenere una remissione stabile. Il trattamento di salvataggio con C-Ara ad alte dosi e 2 CDA esitò in una transitoria remissione di 3 mesi. La paziente fu quindi ritenuta eleggibile per un RI HSCT eseguito con un'unità di sangue placentare non correlata HLA compatibile (A,B,DRB1 6/6). Dopo condizionamento secondo il protocollo LCH-HCT-2006, la piccola ricevette 8.9×10^7 /kg cellule nucleate ($CD34^+ = 0.5 \times 10^6$ /kg). Il post trapianto fu complicato da febbre dal giorno +5 a +44 e polmonite virale (CMV e RSV) al giorno +20. Al giorno +24 ($GB > 500$ /mm³) fu documentato solo chimerismo misto con prevalenza del ricevente (75%; STRs) sino a completo rigetto documentato al giorno +45. La completa ripresa ematologica venne raggiunta a +58, in assenza di malattia attiva e senza la necessità di ricorrere al back-up autologo criopreservato. La remissione, confermata con multiple biopsie gastrointestinali, persiste a 6 mesi dal trapianto.

Conclusioni. Questo caso conferma che l'età giovane e la localizzazione intestinale della LCH sono fattori prognostici sfavorevoli. La più lunga remissione di malattia documentata in questa paziente si è avuta dopo un RI HSCT non seguito da attecchimento allogenico. Si può ipotizzare che la persistente remissione, nonostante il rigetto, sia conseguenza di una ri-programmazione immunitaria indotta dalla chemio (fludarabina-melfalan) -immuno (Campath 1H) -terapia erogata durante la preparazione al trapianto.

L014

ENCEFALITE EBV CORRELATA IN PAZIENTE PEDIATRICO SOTTOPOSTO A TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE ALLOGENICHE (ALLO-TCSE) DA DONATORE NON FAMILIARE.

Menconi M, Casazza G, Nardi M, Biondi S, Coccoli L, Bertacca L, Favre C.

U.O. Oncoematologia Pediatrica; Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana Pisa

La malattia linfoproliferativa EBV correlata, rappresenta una complicanza precoce, potenzialmente mortale nel paziente sottoposto a TCSE. Raro è il coinvolgimento del SNC post trapianto.

Caso clinico. Nicola, 5 aa, affetto da LLA-T, veniva sottoposto a TCSE da banca per una recidiva T-mediastinica precoce. La sierologia EBV pre-TCSE era negativa. Condizionamento: TBI+Tio+Cy+ATG. Al g 0 infusione di $2,71 \times 10^8$ /kg NC. Profilassi GVHD: CsA e MTX short. Take dei PMN e PLT al g +18 e +28 rispettivamente. Il decorso post trapianto è stato regolare fino al g + 83 quando Nicola in apiressia, sviluppava afasia ed episodi critici subentranti caratterizzati da deviazione dello sguardo a sin. e attività di flessione e abduzione dell'arto superiore controlaterale con alterazione di coscienza. Non era presente aGVHD; gli esami ematochimici e la ciclosporinemia risultavano nella norma come TAC e RMN cranio. Il tracciato EEG mostrava crisi elettroclinica localizzata sull'emisfero di destra, l'es. chimico-fisico del liquor un lieve danno di barriera, mentre negativo era il citologico. Terapia: diazepam e fenitoina con lieve miglioramento della sintomatologia neurologica. Nel sospetto di infezione liquorale e/o neurotossicità iatrogena (CsA) in attesa delle ricerche virologiche su liquor e siero veniva sospesa momentaneamente la CsA. Il genoma di EBV (real time PCR), negativo ai precedenti controlli settimanali, si positivizzava sia nel sangue (414.000 copie/mL) che nel liquor (4.650). Iniziavamo terapia con Rituximab (375mg/mq/sett x 4 sett) e Cidofovir (5 mg/kg/sett x 4 sett) ottenendo una progressiva normalizzazione del qua-

dro clinico, strumentale (EEG) e infettivo (genoma virale). A 12 mesi di follow up, il bambino gode di buone condizioni generali, non presenta GVHD nè sequele neurologiche.

Discussione. La letteratura riporta casi sporadici di encefalite EBV correlata post TCSE, nessuno pediatrico. Il nostro report vuole evidenziare due aspetti peculiari di questo tipo di infezione: da un lato l'utilità della PCR sia nella diagnosi che nel monitoraggio della risposta terapeutica; dall'altro l'efficacia dell'utilizzo combinato dell'Ac monoclonale anti CD20 e del cidofovir. Entrambi questi aspetti offrono interessanti prospettive diagnostico-terapeutiche dell'encefalite da EBV nel paziente trapiantato.

L015

ASSOCIAZIONE TRA APLOTIPI DEL GENE DELLA β DEFENSINA-1 E SUSCETTIBILITÀ ALLE INFEZIONI IN PAZIENTI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

Tesse R,¹ Santoro N,² Cecinati V,² Giordano P,² de Leonardis F,² Arcamone G,² De Mattia D,² Armenio L¹

¹Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva - U.O. "S. Maggiora" - Università di Bari; ²Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva - U.O. "F. Vecchio" - Università di Bari

Introduzione e obiettivi. I bambini con leucemia linfoblastica acuta (LLA) sono a rischio di alta incidenza di complicanze infettive nel decorso della malattia. La β defensina umana di tipo 1 (hBD-1) rappresenta una proteina antimicrobica coinvolta nella modulazione della risposta immunitaria di tipo innato. Scopo dello studio è stato verificare la correlazione tra varianti genetiche polimorfiche della hBD-1 e la suscettibilità alle infezioni da herpes virus nei pazienti leucemici.

Metodi. Tra Marzo 2004 e Ottobre 2006 sono stati reclutati 40 bambini affetti da LLA (rapporto M/F 2:1, età media 4,9 anni) e 40 controlli sani. In tutti i soggetti arruolati è stata determinata su campioni di siero la immunizzazione contro herpes virus quali l'Herpes simplex (HSV) e il Citomegalovirus (CMV) con metodica ELISA. Inoltre sono stati analizzati i campioni di DNA della popolazione per la presenza di tre polimorfismi del promotore del gene che codifica la hBD-1, -52 (G/A), -44 (C/G) e -20 (G/A). La tipizzazione genomica è stata effettuata mediante *Polymerase chain reaction* e *Restriction fragment length polymorphism analysis*.

Risultati. La positività per anticorpi contro HSV e CMV nel siero è risultata significativamente superiore nei bambini con LLA rispetto ai controlli [HSV: 50% vs 24.2%, $p=0.04$, OR 3.1(1.01-9.6); CMV: 61.5% vs 27.3%, $p=0.008$, OR 4.2 (1.4-12.8)]. Dalla combinazione allelica dei polimorfismi originavano 3 aplotipi nella popolazione studiata: GCA, ACG, GGG. L'aplotipo GCA era associato ad un rischio significativamente superiore di sieropositività sia per CMV che per HSV nel gruppo dei pazienti rispetto ai controlli [CMV: OR 5.29 (1.53-18.29), $p=0.008$; HSV: OR 3.69 (1.03-13.21), $p=0.04$].

Conclusioni. I nostri dati mostrano che i leucemici hanno più alta frequenza di infezione da herpes virus rispetto ai soggetti sani, verosimilmente per una modulazione geneticamente determinata dell'espressione di molecole del sistema immunitario innato.

L016

BASSA PREVALENZA DI TIROIDITE AUTOIMMUNE IN PAZIENTI PEDIATRICI OFF-THERAPY PER LEUCEMIA LINFATICA ACUTA (LLA)

Santoro N, Cecinati V, Delvecchio M, Brescia L, Arcamone G, Cavallo L, De Mattia D

Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Università degli Studi di Bari

Introduzione e obiettivi. In letteratura è documentata la possibilità di una alterata funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisitiroidale in pazienti pediatriche trattate con chemioterapia (CT) associata a radioterapia craniale. I dati sulla funzionalità tiroidea in pazienti con LLA trattati esclusivamente con CT sono invece scarsi.

Metodi. Abbiamo voluto valutare alcuni parametri di funzionalità tiroidea in 73 pazienti pediatriche con le suddette caratteristiche. Sono stati dosati i livelli di TSH, T4 libera (FT4), anticorpi anti-tireoperossidasi (antiTPO) ed anti-tireoglobulina (antiTG) in 73 pazienti (44 M, 29 F;) off-therapy da almeno 3 mesi, senza recidiva o seconda malattia. Età media alla diagnosi: 5,9+3,4 anni; a fine terapia 7,8+3,4 anni; al prelievo 12,2+4,1 anni. Intervallo di tempo tra fine terapia e prelievo: 4,3+3,2 anni. In tutti i soggetti il gozzo è stato classificato G0; nessuno ha presentato sintomi clinici di patologia tiroidea.

Risultati. Livelli medi di FT4: 1,21+0,15 ng/dL (v.n. 0,8-1,8); TSH 2,6+1,6 microU/mL (v.n. 0,35-5,5). FT4 è risultata entro i limiti per tutti i pazienti, TSH entro i limiti in 67 pazienti (91,8 %) e al di sopra della norma (valore massimo 8,0 microU/mL) in 6 (8,2 %). Gli anticorpi antiTPO ed antiTG sono risultati negativi in tutti i pazienti.

Conclusioni. La nostra esperienza documenta una condizione di ipotiroidismo subclinico nell'8% circa dei pazienti, dato comparabile con il 12% riportato in uno studio multicentrico condotto su 199 soggetti pediatriche italiane. Tale ultimo studio documenta prevalenza di anticorpi antitiroidei nel 10% dei soggetti esaminati (a fronte della completa assenza degli stessi nei nostri pazienti e di percentuali comprese fra 1 e 10% in Europa). Secondo i risultati della nostra ricerca la CT non incrementerebbe il rischio di tiroidite autoimmune e sembrerebbe anzi esercitare effetto protettivo. Allo scopo di confermare o meno questa ipotesi la casistica sarà ampliata e sarà reclutato un gruppo di controllo con soggetti della stessa etnia.

L017

SORVEGLIANZA ANGIO-RMN DEGLI EVENTI TROMBOEMBOLICI CEREBRALI IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

Grassi M,¹ Giordano P,¹ Di Cuonzo F,² Cecinati V,¹ Del Vecchio GC,¹ Altomare M,¹ Carella A,² De Mattia D,¹ Santoro N¹

¹Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Università degli Studi di Bari; ²Unità Operativa di Neuroradiologia, Università degli Studi di Bari

Introduzione e obiettivi. Gli eventi tromboembolici (ETE) rappresentano una seria complicanza associata alla terapia della Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA) nei bambini. La maggior parte degli ETE cerebrali (ETEC) è rappresentata da trombosi dei seni venosi (TSV). Le TSV nei bambini sono a volte misconosciute perché paucisintomatiche o con sintomi aspecifici. Con questo studio abbiamo voluto confrontare il numero di ETEC riscontrati con una strategia basata sul riconoscimento delle sole manifestazioni cliniche e quindi confermati con

angioRM encefalo rispetto a quelli riscontrati con AngioRM encefalo seriate indipendentemente dall'obiettività clinica.

Metodi. Studio prospettico, caso-controllo non appaiati, non randomizzato. Pazienti: due gruppi di bambini, affetti da LLA, trattati secondo il protocollo AIEOP LLA 2000. Gruppo A: diagnosi di ETEC sospettata per la presenza di segni e sintomi suggestivi, e confermata con AngioRM encefalo; gruppo B: pazienti sottoposti a valutazioni seriate con AngioRM encefalo in assenza di sintomatologia. Ipotizzata una frequenza di ETEC del 1% nel gruppo A e una frequenza maggiore nel gruppo B nella misura del 35% e considerata una potenza del 80% e un livello di significatività del 95%, sono stati valutati 18 casi per ogni gruppo. Tempi dello studio: induzione del protocollo LLA 2000. Nel gruppo B valutazioni AngioRM encefalo: esordio (T0), +24 (T1), +36 (T2), +52(T3). Valutati i markers di attivazione trombinica (TAT) all'esordio. Dati espressi in mediana, minimo e massimo ed in percentuale e analizzati con test U di Mann-Whitney e test esatto di Fisher.

Risultati. Sono stati arruolati 18 pazienti nel gruppo A tra Gennaio 2003 e Marzo 2004 e 18 nel gruppo B tra Aprile 2004 e Agosto 2005. Abbiamo riscontrato un ETEC nel gruppo A e anche un ETEC nel gruppo B solamente però a seguito della comparsa di sintomatologia. Il nostro studio non ha evidenziato differenze significative nell'identificazione precoce di ETEC tra i pazienti sorvegliati e i pazienti non sorvegliati.

Conclusioni. non sembra utile sottoporre i bambini leucemici a valutazioni seriate AngioRM encefalo per identificare precocemente ETEC. Tali conclusioni dovranno essere tuttavia supportate da una casistica più ampia.

Tabella.

	Gruppo A	Gruppo B	p
Numero pazienti	18	18	
Sesso (M,F)	12 M, 6 F	11 M, 7 F	
Età (mediana; min, max)	7 (min 1; max 15)	5.5 (min 2; max 12)	NS
LLA-non T (n)	14	14	
LLA-T (n)	4 (22%)	4 (22%)	NS
TAT T0 (mediana; min, max)	5.2 (min 2.2; max 58)	6.75 (min 2.5; max 52.5)	NS
Eventi trombotici	1 (5%)	1 (5%)	NS

L018

RUOLO DI SUPPORTO DEL LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE PER LA CARATTERIZZAZIONE DIAGNOSTICA DEI BAMBINI AFFETTI DA LEUCEMIA ACUTA: ESPERIENZA MONOCENTRICA.

Mirabile E, Poli A, Tumino M, Bottino D, Lo Nigro L

Laboratorio di Biologia Molecolare; Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica; Azienda Policlinico; Università di Catania

Background. Le Leucemie Acute rappresentano la prima causa di malattia oncologica in età pediatrica. L'applicazione di protocolli polichemioterapici ha permesso il raggiungimento di una percentuale di lungo sopravvissuti superiore al 70%. Purtroppo il restante 30% presenta una recidiva di malattia che possiede caratteristiche generalmente più aggressive dell'esordio, compromettendo la guarigione. Le tecniche di bio-

logia molecolare permettono attualmente all'oncologo pediatrico di caratterizzare al meglio la leucemia al momento della diagnosi e di verificare in maniera accurata la qualità della remissione. L'analisi della malattia minima residua (MRM) durante la fase di Induzione ha permesso di stratificare i bambini con Leucemia Linfoblastica Acuta. Di contro la Leucemia Mieloide Acuta si affida alla caratterizzazione biologica della diagnosi, individuando sia casi a prognosi favorevole [t(8;21); inv(16); t(15;17)] che sfavorevole (FLT3-ITD o mutazione D835). Il ruolo del laboratorio di biologia in supporto di un Centro AIEOP medio-grande, come quello di Catania, diventa di fondamentale importanza alla luce dei futuri trattamenti basati su specifiche alterazioni biologiche.

Metodi e Risultati. Per questo motivo sono stati analizzati prospetticamente campioni (sia RNA che DNA) di bambini affetti da LAM, nel periodo gennaio 1999-2007, valutando i principali trascritti di fusione e le alterazioni di MLL, FLT3 e NPM, a specifico impatto prognostico. Sono stati studiati 46 casi con seguente distribuzione FAB: M1-M2 14 casi; M3 10 casi; M4-M5 16 casi; M7 5 casi e Dendritica 1 caso. Sono stati identificati: 24 trascritti di fusione 'esclusivi' (3 AML1-ETO; 2 CBF β ; 9 PML-RAR α ; 3 MLL-AF9; 4 MLL-AF10; 2 MLL-AF6; 1 MLL-PTD; 1 mutazione di NPM; 13 alterazioni di FLT3 (10 ITD; 3 D835). È stato identificato almeno 1 marker specifico di malattia in 38 casi su 46 (82%).

Conclusioni. Come dimostrato, il ruolo del laboratorio di biologia molecolare è cruciale nel supportare un Centro di emato-oncologia pediatrica che si occupa di diagnosi e cura delle leucemie acute, fornendo rapidamente informazioni biologiche indispensabili per caratterizzare la diagnosi, stratificare i pazienti, definire la risposta al trattamento e gettare le basi per terapie *tailored*.

L019

SUPPLEMENTAZIONE DI PROTEINA C CONCENTRATO IN PAZIENTI ONCOLOGICI PEDIATRICI IN CORSO DI NEUTROPENIA FEBBRILE

Giordano P, Santoro N, Cecinati V, Grassi M, Brescia L, Del Vecchio GC, Delvecchio M, De Leonardis F, De Mattia D

Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Università degli Studi di Bari

Introduzione e obiettivi. La neutropenia febbrile è una complicanza della chemioterapia utilizzata per la cura dei tumori infantili. Nel 50% dei pazienti neutropenici febbrili è presente una infezione occulta o dimostrata e in quest'ultimo caso è possibile parlare di sepsi. Uno stato di ipercoagulabilità è spesso presente in corso di sepsi. La proteina C attivata (PCa) svolge importanti ruoli nella modulazione della coagulazione. Diversi studi mostrano un severo deficit di PCa in corso di sepsi conclamata, correlato alla gravità dello stato settico, e l'efficacia della supplementazione con concentrati di proteina C nel ridurre la durata dello stato settico febbrile e nel migliorare l'outcome clinico di pazienti pediatrici settici. Scopo: confrontare la durata della febbre in neutropenia in pazienti oncologici pediatrici che hanno ricevuto supplementazione di proteina C concentrato (a valori di PCa <60%) rispetto a pazienti cui non è stata somministrata perchè non ancora disponibile.

Metodi. Studio retrospettivo caso-controllo. Pazienti: bambini affetti da leucemia, trattati presso il nostro centro AIEOP, che presentavano neutropenia (<500/mm³), febbre (>38°C) e condizioni cliniche scadenti (torpore, tachicardia, dispnea)

Risultati. Arruolati 6 pazienti, età 11.1 (2.7-16.3) anni, e 6 controlli storici, età 4.7 (2.1-13.6) anni. I pazienti mostravano

valori di PCa con mediana del 45.6% (29.7–58) e sono stati supplementati con proteina C concentrato. I controlli storici mostravano valori di PCa con mediana del 60% (21–78). In nessun caso le emocolture hanno permesso di isolare patogeni. La durata della febbre in neutropenia è stata di 4 giorni (3–5) nei pazienti e di 6 (3–9) nei controlli ($p=0.537$). I pazienti hanno mostrato un miglioramento più rapido delle condizioni cliniche generali rispetto ai controlli.

Conclusioni. Sebbene di dimensioni molto limitate e con risultati non statisticamente significativi, lo studio sembra mostrare che la supplementazione con proteina C concentrato nei pazienti oncologici selezionati con i suddetti criteri, possa abbreviare la durata della febbre in corso di neutropenia e migliorarne l'outcome clinico rispetto al gruppo controllo che mostrava, inoltre, un valore di PCa iniziale tendenzialmente maggiore rispetto al gruppo supplementato (60% vs 45.6%; $p=0.177$).

L020

PATOMORFOSI E DECORSO CLINICO DELLA VARICELLA IN 16 CASI DI LLA TRATTATI SECONDO IL PROTOCOLLO AIEOP LLA 2000: ESPERIENZA MONOCENTRICA

Colombini A, Citterio M, Spinelli M, Rizzari C, Rossi MR, Jankovic M, Conter V, Masera G

Clinica Pediatrica Università di Milano-Bicocca, A.O. S.Gerardo, Monza

Introduzione. In passato vari lavori hanno riportato casi di decorso estremamente severo e talora fatale della varicella in pazienti trattati con chemioterapia. Di recente si è reso disponibile un vaccino per la profilassi della varicella il cui uso in pazienti immunodepressi rimane controverso per le potenziali complicanze e per la necessità di interrompere la chemioterapia. In questo contesto può essere rilevante conoscere il decorso clinico della varicella in pazienti affetti da Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA) dopo l'introduzione nel trattamento della varicella di farmaci antivirali attivi sugli Herpes Virus.

Obiettivo. Valutare retrospettivamente il decorso clinico della varicella trattata con Acyclovir in pazienti sottoposti nel centro di Monza a chemioterapia per LLA.

Risultati. Nel periodo 01/09/2000-31/07/2006 sono stati trattati 208 bambini secondo il Protocollo AIEOP LLA 2000. 16 pazienti (7.7%) hanno sviluppato varicella: 2 concomitantemente all'esordio di LLA, 2 durante la prefase steroidea (g+3, g+4), 2 in Induzione (g+15 e g+33), 10 in mantenimento. Uno dei due pazienti con varicella alla diagnosi di LLA è deceduto dopo 2 giorni (in ottava giornata di esantema), prima di iniziare il trattamento chemioterapico, a causa di una polmonite progressiva nonostante l'uso tempestivo di Acyclovir. Nei restanti casi, tutti trattati con terapia antivirale (Prefase/Induzione: Acyclovir per via e.v., sempre associato a sospensione della terapia steroidea ed in 3/6 ad Immunoglobuline specifiche (VZIG); Mantenimento: Acyclovir per via orale, con sospensione della chemioterapia fino a risoluzione della sintomatologia) e nessuna complicanza (in particolare polmonite o encefalite) è stata riscontrata.

Conclusioni. Questi dati suggeriscono che le gravi complicanze della varicella, segnalate in passato, sono infrequenti se viene instaurata una adeguata e tempestiva terapia antivirale. L'uso estensivo della vaccinazione antivirale, che in questi pazienti può essere associato a complicanze potenzialmente gravi e fatali e che necessita di sospensione del trattamento chemioterapico, deve quindi essere valutata con cautela.

L021

EFFETTI TARDIVI IN PAZIENTI TRATTATI CON RADIO-CHEMIOTERAPIA PER LINFOMA DI HODGKIN: CASISTICA MONOCENTRICA

Di marzio A,¹ La Barba G,¹ Sau A,¹ Pulini S,¹ Chiarelli F,² Mohn A,² Di Marzio D,² Fioritoni G¹

¹U.O. Ematologia Clinica, Ospedale Civile Spirito Santo, Pescara,

²Clinica Pediatrica Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara, Italia

Introduzione e Obiettivi. Il trattamento del Linfoma di Hodgkin (LH) pediatrico ha raggiunto notevoli progressi negli ultimi anni, ottenendo la guarigione nella quasi totalità dei pazienti in stadi precoci. La sopravvivenza è, tuttavia, influenzata dalla possibilità di insorgenza di effetti tardivi: l'obiettivo di questo lavoro è di valutare le complicanze a lungo termine in pazienti pediatrici trattati per LH in un singolo centro.

Metodi. Dal 1983 al 2004, sono stati trattati, presso la nostra Unità Operativa, 29 pazienti con LH, 16 maschi e 13 femmine con età mediana alla diagnosi di 15 anni (range 6-18 anni); 12 pazienti erano in stadio precoce (I-IIA) e 17 in stadio avanzato; 26 pazienti sono stati trattati con chemio-radioterapia (CHT e RT) e 3 con la sola CHT; 9 sono stati arruolati nel protocollo AIEOP LH-04, 9 in quello AIEOP LH-96, 9 in quello AIEOP LH-89 e 1 in quello AIEOP LH-83; 1 paziente è stato trattato con 6 cicli ABVD.

Risultati. 27 pazienti hanno ottenuto una remissione completa (RC), 2 sono risultati refrattari e sono deceduti; 2 pazienti hanno presentato una recidiva a 6 e 12 mesi dalla sospensione della terapia di cui 1 è deceduto per progressione di malattia. Attualmente, dei 26 pazienti viventi e in RC, 5 (19%) presentano ipotiroidismo, uno dei quali con quadro di tiroidite, e uno solo necessita di terapia sostitutiva; 2 pazienti mostrano un quadro di broncopneumopatia cronica di tipo restrittivo, di questi, uno ha sviluppato una tubercolosi polmonare a 10 anni dalla diagnosi; 2 pazienti presentano oligozoospermia, nessuno presenta seconda neoplasia e/o cardiopatia. La probabilità di sopravvivenza ad oltre 10 anni è 89.7%, con un follow-up mediano di 30 mesi (range 10-300).

Conclusioni. Il nostro studio è in linea con i dati della letteratura riguardo l'incidenza di disfunzione tiroidea e la correlazione di questa con la RT sovradiaframmatica. L'assenza di seconde neoplasie è da imputare al breve follow-up mediano e alla bassa percentuale di pazienti che hanno effettuato RT extend-field ad alte dosi. La tubercolosi polmonare potrebbe suggerire un censimento più ampio per l'opportunità di effettuare un monitoraggio immunologico per evidenziare eventuali anergie. Non essendo disponibili protocolli ottimali di follow-up i Medici potrebbero beneficiare di aggiornamenti e siti web di riferimento.

L022

MICOSI CEREBRALI: AGGIORNAMENTO CLINICO DI DUE PAZIENTI AFFETTI DA LLA.

D'Ippolito C., Soresina R., Brusati M., Schumacher R.F., Marzollo R., Zanola S., Porta F.

Clinica Pediatrica Università degli Studi di Brescia

Introduzione. Le micosi cerebrali storicamente portavano a morte il 100% dei pazienti immunodepressi. Il trattamento nei pazienti affetti da Leucemia Linfatica Acuta (LLA) è complesso poiché la sospensione della chemioterapia potenzia sì l'effetto degli antifungini ma aumenta il rischio di ricaduta.

Casi clinici. Descriviamo i casi di due bambini di tre anni

affetti da LLA tipo Common, trattati secondo protocollo AIEOP LLA 2000, che hanno sviluppato micosi cerebrale in Induzione. *Caso 1:* T.F. maschio, diagnosi di LLA nel dicembre 2001; in G30 convulsioni generalizzate con stato di male. TC encefalo: infarto temporo-parieto-occipitale destro con evoluzione in ascesso cerebrale. Sospesa chemioterapia. Eseguito intervento di polectomia occipitale. Evidenza di ife fungine all'istologia, antigenemia dell'Aspergillo positiva. Iniziato Voriconazolo con miglioramento clinico, in assenza di disturbi neurologici maggiori e negativizzazione Ag aspergillo. Febbraio '02 nuovo intervento di toilette chirurgica. L'aspirato midollare mostrava remissione completa. Maggio '02 veniva ripresa chemioterapia terminata con successo nel maggio 2004. Nel Febbraio '05 sospeso Voriconazolo. A distanza di 6 anni dall'evento avverso il paziente è in remissione completa. *Caso 2:* U.M. maschio diagnosi di LLA il 20 maggio 2005; in G18, dolore continuo alla spalla sinistra. Eseguita TC torace: *esteso addensamento polmonare*; sospesa chemioterapia, iniziata terapia antibiotica associativa e Voriconazolo. Il 19.06 comparsa di emilato sinistro; TC encefalo: *lesione ischemica ai nuclei della base*. Coagulazione nella norma; sospetta micosi cerebrale. L'8.7.05 eseguita lobectomia polmonare con evidenza all'istologia di ife fungine, esami colturali negativi, Ag Aspergillo negativo. Il 02.08 asportazione ascesso cerebrale seguita da lento miglioramento clinico. Il 7.9.05, si riprendeva chemioterapia. Attualmente il paziente è in Mantenimento, è migliorato l'emilato sin., continua Voriconazolo.

Conclusioni. Diagnosi precoce, trattamento con farmaci antifungini sistemici, asportazione chirurgica delle masse fungine e prosecuzione della terapia antifungina durante il trattamento chemioterapico hanno migliorato notevolmente la prognosi dei pazienti affetti da LLA e micosi cerebrale.

L023

VALUTAZIONE CITOMETRICA DEGLI ERITROCITI E DEI RETICOCITI NELLA DIAGNOSI DELLE ANEMIE EMOLITICHE NEONATALI

Amendola G,¹ di Concilio R,¹ D'urzo G,¹ Nosari N,¹ Todisco N,¹ Di Palma A,² Danise P²

¹U.O.C. di Pediatria e Neonatologia e ²U.O.C. di Patologia clinica-Laboratorio di Ematologia, Ospedale Umberto I, Nocera Inferiore, Salerno

La valutazione citometrica degli eritrociti e dei reticolociti è di grande aiuto nella diagnosi differenziale delle anemie. Scopo di questo lavoro è la valutazione della utilità di queste informazioni nella diagnosi delle anemie emolitiche neonatali. Sono stati valutati 5 neonati con sferocitosi ereditaria, 2 con picnociotisi infantile, 3 con MEN ABO e 4 con ittero aspecifico severo, comparando i dati con quelli di 10 neonati sani. Le diagnosi sono state effettuate con gli usuali criteri clinici e laboratoristici; la valutazione degli indici eritrocitari e reticolocitari è stata effettuata mediante l'analizzatore ematologico Advia 120, Bayer Diagnostic. Nella sferocitosi ereditaria è stata osservata diminuzione della macrocitosi fisiologica neonatale e incremento marcato del contenuto medio dell'Hb, con conseguente aumento percentuale della sottopopolazione dei globuli rossi normocitici ipercromici. Nella picnociotisi infantile è stata osservato un quadro caratteristico di aumento percentuale della sottopopolazione delle emazie normocitiche ipercromiche con contestuale presenza di una curva addizionale nella zona ad elevata densità, determinante una evidente asimmetria della curva della concentrazione dell'Hb eritrocitaria; tale evidenza non era riscontrabile nella curva della concentrazione dell'Hb reticolocitaria, che era invece simme-

trica. Nella MEN ABO è stata osservato un ampliamento del citogramma eritrocitario, con evidenza quindi di anisocitosi e anisocromia, senza incremento prevalente di una singola sottopopolazione eritrocitaria; negli itteri aspecifici il quadro era del tutto sovrapponibile a quello dei neonati normali. In conclusione i dati dello studio, anche se preliminari e su una casistica limitata, sembrano indicare che la valutazione citometrica degli eritrociti e reticolociti, ottenuti routinariamente con l'emocromo, possa aiutare ad indirizzare la diagnosi nei neonati affetti da anemia emolitica.

L024

EFFICACIA DELLA TERAPIA CON RITUXIMAB IN CASI DI ANEMIA EMOLITICA AUTOIMMUNE RESISTENTI

Coletti V,¹ Funaro D,¹ Pansini V,¹ Nobile C,² Russo L.A.,¹ Luciani M,¹ Damico C³

¹U.O. Ematologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ²Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ³U.O. Ematologia – Università Campus Bio-Medico, Roma

Introduzione e obiettivi. L'anemia emolitica autoimmune (AEA) in età pediatrica è una patologia relativamente rara con un'incidenza stimata di 1-3 casi per 100.000/anno. Può essere idiopatica o legata ad infezioni, farmaci o secondaria ad altre patologie. Si manifesta in genere in forma acuta ed è nella maggior parte dei casi rispondente alla terapia immunosoppressiva soprattutto steroidea. In circa il 30% dei casi, soprattutto nei bambini più piccoli e negli adolescenti, l'AEA risulta resistente a più linee terapeutiche di immunosoppressione. Il Rituximab è un anticorpo monoclonale anti-CD20, utilizzato già ampiamente negli adulti in patologie linfoproliferative CD20 positive e nelle malattie autoimmuni. Rportiamo la nostra esperienza di due bambini e due giovani adulti affetti da AEA e Sindrome di Fisher-Evans trattati con successo con Rituximab.

Metodi. Caso 1: bambino di 2 mesi con diagnosi di AEA, trattato con Rituximab come IV linea terapeutica. Caso 2: bambina di 5 anni con diagnosi di Sindrome di Fisher-Evans trattata in III linea con Rituximab. Caso 3: ragazza con diagnosi di AEA all'età di 2 mesi e trattata con Rituximab a 21 anni come V linea e dopo splenectomia. Caso 4: ragazza con diagnosi di Talassemia Major ed evidenza di AEA dall'età di 10 anni e trattata a 29 anni con Rituximab dopo splenectomia e 4 linee terapeutiche.

Risultati. Il caso 1 ha manifestato un miglioramento/remissione parziale con netta riduzione del titolo anticorpale e soprattutto della necessità di terapia steroidea (follow-up di 6 mesi). Gli altri 3 casi (follow-up 60 mesi, 12 mesi e 20 mesi rispettivamente) hanno raggiunto la Remissione Completa (RC): solo nel caso 3 persiste una debolissima positività al test di Coombs diretto, senza segni di emolisi e necessità terapeutiche.

Conclusioni. I nostri casi pluritrattati e refrattari dimostrano l'efficacia e la sicurezza (maneggevolezza senza eventi avversi) della terapia con Rituximab nell'AEA e nella S. di Fisher-Evans. A tutt'oggi l'utilizzo del Rituximab in pediatria è circoscritto a forme resistenti e/o pluritrattate; in età pediatrica è tuttora off-label per patologie autoimmuni, incluse la Porpora Trombocitopenica e l'AEA, mentre potrebbe svolgere un ruolo terapeutico più precocemente, risparmiando ai piccoli pazienti prolungate terapie immunosoppressive.

L025**INFEZIONI RECIDIVANTI DA CANDIDA IN UN PAZIENTE AFFETTO DA ALPS**

Trizzino A, Farruggia P, Crescenzo N,¹ D'Angelo P, Salsa L,² Macaluso A, Grigoli A, Tropia S, Caselli D, Ramenghi U,¹ Aricò M

Onco Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo; ¹Ematologia pediatrica, Università, O.I.R.M., Torino; ²Malattie Infettive, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo

Introduzione. La sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS), descritta per la prima volta nel 1967 da Canale e Smith, è caratterizzata dall'associazione di linfadenopatia, splenomegalia e manifestazioni autoimmuni tra cui le più frequenti sono l'anemia emolitica autoimmune e la piastrinopenia. In questi pazienti è stato messo in evidenza un difetto di apoptosi che determina un abnorme accumulo di linfociti T $\alpha\beta$ CD4- CD8- doppi negativi, che è alla base della linfadenopatia, della splenomegalia e della selezione di cloni linfocitari potenzialmente autoreattivi. In questi pazienti è stato dimostrato, inoltre un rischio aumentato di linfoma. Noi descriviamo un caso atipico caratterizzato da linfadenopatia ed infezioni ricorrenti da candida.

Caso clinico. F.C. giunge alla nostra attenzione all'età di 7 anni, perché da qualche anno presentava linfadenopatia cervicale e candidosi mucosa recidivante e resistente alla terapia topica. All'esame obiettivo presentava multipli linfonodi laterocervicali, ascellari ed inguinali delle dimensioni intorno al cm e sino a circa 2 cm, di consistenza elastica, non dolenti. Al cavo orale chiari segni di candidosi. Non era presente organomegalia. Gli esami eseguiti erano risultati tutti nella norma ad eccezione di un elevato valore di IgG (1900 mg/dl), di una inversione del rapporto CD4/CD8. Il test di proliferazione ai mitogeni era nella norma. Gli esami infettivologici avevano dato tutti esito negativo ad eccezione della coltura da tampone del cavo orale positiva per *Candida albicans*. Gli autoanticorpi erano risultati negativi. I linfociti T $\alpha\beta$ CD4- CD8- doppi negativi erano invece assai elevati (19%). Il riscontro di una resistenza dei linfociti del paziente all'apoptosi, ha consentito di porre la diagnosi di ALPS; è tuttora in corso l'indagine genetica. Durante il follow-up F.C. ha presentato vari episodi di riattivazione della candidosi al cavo orale ed un episodio di meningite. La coltura del liquor ha dato esito positivo per candida. Si è inoltre osservato un progressivo aumento dei valori delle IgG sieriche, senza caratteri di monoclonalità e persistenza della linfadenopatia. È stata osservata saltuaria e debole positività degli ANA e del test di Coombs diretto, pur in assenza di segni di emolisi.

Conclusioni. Tutte le linfadenopatie croniche generalizzate devono far sorgere il sospetto clinico di ALPS pur in assenza di manifestazioni autoimmuni. Il nostro paziente ha inoltre presentato una predisposizione ad infezioni da candida che non era stata descritta in precedenza in altri pazienti con ALPS.

L026**MIELOFIBROSI IDIOPATICA GIOVANILE COMPLICATA DA TROMBOSI VENOSA PORTALE: UNA DIFFICILE GESTIONE**

Pulini S, Di Marzio A, La Barba G, Sau A, Falorio S, D'amico E,¹ Mereu M,² Basilico R,² Bacci F,³ Fioritoni G.

U.O. di Ematologia Clinica, Ospedale Civile "Spirito Santo", Pescara, Italia; ¹Unità di Epatologia, Ospedale Civile "Spirito Santo", Pescara, Italia; ²Dipartimento di Radiologia, Ospedale "SS. Annunziata", Università di Chieti, Italia; ³Unità di Ematologia ed Emopatologia, Ospedale "S. Orsola-Malpighi", Università Di Bologna, Italia

Introduzione e Obiettivi. La mielofibrosi idiopatica (MFI) e la trombosi venosa portale (TVP) sono raramente descritte nei ragazzi. Riportiamo una MFI giovanile, con una storia di oltre 20 anni, complicata da TVP, suggerendo la difficoltà diagnostica, prognostica e terapeutica di una tale tipologia di paziente, in relazione alla giovanissima età.

Metodi. Una bimba ha presentato trombocitosi isolata (PLT 700000/microL) dall'età di soli 2 anni; è stata posta inizialmente diagnosi di trombocitemia essenziale (TE). La paziente si è mantenuta stabile ed asintomatica per 2 decenni.

Risultati. A 21 anni si è avuto incremento della trombocitosi (1500000), leucocitosi (18000) in assenza di anemia, crescente splenomegalia. La BOM ha mostrato MFI I grado e la biologia molecolare eterozigosi per la mutazione V617F di Jak-2. È stata iniziata anagrelide. Per una colestasi la ragazza è stata sottoposta a RMN che ha mostrato infarti splenici ed aree epatiche patologiche (Figura 1a). La biopsia epatica ha mostrato metaplasia mieloide (Figura 2a, b) e lo studio vascolare un cavernoma della vena porta (Figura 1a, b, c). Sono stati indagati fattori trombofilici, risultati assenti; una nuova BOM ha dimostrato una MFI in II grado (Figura 2c, d) e la terapia è stata modificata in idrossiurea (HU) e warfarin.

Conclusioni. È prospettabile che il ridotto flusso epatoepeto, secondario alla ostruzione sinusoidale causata dalla emopoiesi ectopica, sia predisponente per la TVP, insieme alla trombofilia propria della MFI; inoltre la mutazione Jak-2 è spesso rinvenibile nei pazienti con TVP. L'anagrelide è ottima per la TE; tuttavia l'HU, pur forse gravata da un temuto ma non accertato rischio leucemogeno, è efficace nel ridurre fibrosi e splenomegalia della MFI e nel prevenire le ricorrenze trombotiche; per fronteggiare queste ultime è stata iniziata profilassi con warfarin, verosimilmente da mantenere indefinitivamente. Nonostante secondo i criteri di Cervantes per i giovani (anemia, blasti, sintomi sistemici) la paziente appartenga ad un basso rischio, è questa una malattia progressiva (fibrosi, metaplasia epatica, infarti splenici, TVP), per cui è stata intrapresa la ricerca di donatore per trapianto allogenico, che costituisce l'unica possibilità di guarigione, gravata però da una elevata mortalità: la scelta rimane sempre molto problematica.



Figura 1. a) La RMN ha mostrato moderata splenomegalia con multipli infarti splenici. Il fegato ha mostrato un aspetto disomogeneo con aree ipointense in T2 ed iperintense in T1, in assenza di lesioni nodulari. a,b,c) Lo studio RMN ed Eco-color-doppler hanno mostrato nell'area pancreatica numerosi vasi convoluti rivolti verso la convergenza spleno-mesenterica-portale a costituire un grande cavernoma portale associato a multipli circoli venosi collaterali e con la trasformazione fibrotica della vena porta (tronco comune e rami destro e sinistro) ed una vena splenica filiforme con flusso ematico conservato ma ridotto

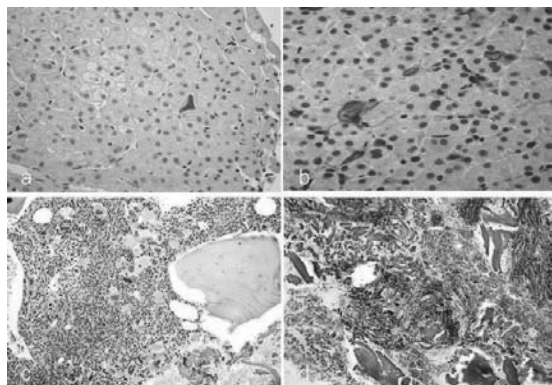


Figura 2. a,b) Agobiopsia epatica mostrante in a) colorazione ematossilina-eosina 40x: epatociti e grandi elementi cellulari inquadrabili in megacariociti morfologicamente atipici, b) colorazione immunoistochimica per LAT (linker for activation of T cells): i megacariociti atipici erano LAT positivi e negativi per mieloperossidasi e glicoforina, come caratteristico della emopoiesi extramidollare focale epatica. c,d) L'ultima biopsia osteomidollare (BOM): incremento della fibrosi: MFI grado II anatomo-patologico. c) ematossilina-eosina 20x: cluster di megacariociti distrofici con forme iperlobulate; d) incremento della fibrosi, emopoiesi intravascolare.

L027

L'INTERFERON α NEL TRATTAMENTO DI UN CASO DI SINDROME PHACES: EFFETTI DELLA TERAPIA E COMPLICANZE EPILETTICHE DELLA SINDROME

Portaleone D, Taroni F, Cognizzoli P, Pedrazzini A, Micheli S.

Il Clinica Pediatrica. Clinica Pediatrica De Marchi, Fondazione Policlinico-Mangiagalli-Regina Elena, Università degli Studi di Milano.

Introduzione. D.A., 4 mesi, affetta da sindrome PHACES, che è caratterizzata da emangiomi, malformazioni della fossa cranica posteriore, anomalie arteriose, cardiache, oculari e coar-

tazione dell'aorta, manifestava un angioma del volto con occlusione completa palpebrale e le anomalie tipiche sindromiche. Inefficace il prednisone alla dose di 3mg/kg/die con quadro clinico ingravescente iniziava IntronA sottocute 3000000 UI/mq per 5 giorni alla settimana e l'angioma si riduceva del 70% dopo 3 mesi ottenendosi apertura palpebrale. Dieci giorni dopo l'ultimo controllo si presentavano crisi comiziali.

Obiettivo. Dimostrare eziopatogenesi delle crisi comiziali valutando la possibile responsabilità dell'interferon- α .

Metodi. Ponevamo la bimba in terapia anticomiziale, avendo escluso fatti metabolici, infettivi, emorragici. Praticavamo gli esami laboratoristici e strumentali del caso elencati in tabella I. In diagnosi differenziale ponevamo un'alterazione ischemica cerebrale versus tossicità iatrogena.

Risultati. Gli esami di laboratorio sono risultati nell'ambito della normalità. L'angio-RMN cerebrale dimostrava riduzione dell'angioma, aree ischemiche cerebrali. L'arteriografia selettiva dimostrava malformazioni congenite delle carotidi interne con circoli collaterali prenatali (arteria trigeminale) con forame carotideo destro assente e a sinistra la carotide era ipoplasia e l'angioma provocava importante furto ematico. Terapeutidicamente ritenevamo opportuno favorire l'apertura dei circoli collaterali impostando iperidratazione forzata con fisiologica 3L/mq/die. Subito migliorava la clinica e dopo 15 giorni l'angiografia cerebrale selettiva dimostrava un netto miglioramento della circolazione cerebrali. La terapia con interferon non è stata ripresa a causa del raggiungimento di un'età in cui gli angiomi risultano in spontanea involuzione dimensionale. Attualmente D.A sta bene e l'angioma si è ridotto del 90%.

Conclusioni. L'interferon è considerato dalla letteratura farmaco pericoloso per l'insorgenza di epatotossicità, alterazioni della crisi ematica, diplegia spastica, epilessia. L'arteriografia selettiva ha riconosciuto una eziologia malformativa congenita determinante ischemia cerebrale a ha posto in relazione alla malattia di base anche le manifestazioni epilettiche.

Tabella 1: esami praticati per indagare eziopatogenesi delle crisi epilettiche

Esami ematochimici	PCR emocromo elettroliti coagulazione glicemia creatinina transaminasi FT3, FT4, TSH Amilasi Pseudocolinesterasi Proteine totali
Indagini neuroradiologiche	RMN encefalo* ANGIO RMN* Arteriografia selettiva dei vasi cerebrali*
Indagini cardiologiche	Elettrocardiogramma Ecocardiogramma Holter
Altro	Elettroencefalogramma Rachicentesi Rx torace

*indagini che hanno dato esito patologico (vedi testo)

L028**L'ASSISTENZA AL BAMBINO CON PATOLOGIA TUMORALE: QUALE QUALITÀ DI VITA**

Massucco G, Caprino D

Dipartimento di Ematologia Oncologia Pediatrica Ist.G.Gaslini Genova

Introduzione e obiettivi. L'esigenza di misurare la qualità della vita dei pazienti oncologici deriva dall'aumento delle percentuali di sopravvivenza e dalla necessità; di sondare la percezione della malattia e del trattamento da parte dei piccoli pazienti e delle loro famiglie, per migliorare sia il trattamento che la qualità di vita. Si è voluto realizzare un programma mirato alla valutazione della qualità della vita in bambini ed adolescenti affetti da patologia neoplastica, e a proporre interventi migliorativi in questo ambito.

Metodi. Si è utilizzato il KINDL-Questionnaire (Raven-Sieberer, Bullinger, 1998), all'interno del Dipartimento di Ematologia Oncologia dell'Istituto G. Gaslini di Genova. Sono entrati nello studio 3 gruppi di pazienti di età compresa tra 4 e 16 anni: 1) pazienti italiani che afferiscono al Dipartimento di Ematologia e Oncologia pediatrica dell'Istituto G. Gaslini al termine del primo ricovero dopo la diagnosi; 2) pazienti italiani che proseguono le terapie in regime di Day Hospital; 3) pazienti e loro genitori in assistenza domiciliare.

Risultati. Lo strumento ha presentato limiti di comprensione e difficoltà di attenzione nei bambini più piccoli; alcuni di loro hanno presentato ansia da separazione dai genitori. I bambini appartenenti alla fascia intermedia di età hanno messo in atto meccanismi di difesa nei confronti di un coinvolgimento emotivo, dando risposte più immediate e prevedibili. Molti adolescenti hanno dimostrato un'elevata sensibilità e consapevolezza, ed hanno esternato un maggior grado di sofferenza. Il questionario, ha facilitato lo scambio di emozioni infrangendo il tabù di non dire, non esprimere il disagio, la sofferenza. I genitori, in alcuni casi, hanno dato valutazioni completamente diverse rispetto ai figli, dimostrando un meccanismo di difesa, i figli d'altra parte sviluppano comportamenti protettivi nei loro confronti.

Conclusioni. Lo strumento scelto meriterebbe una revisione soprattutto per la fascia di età 4-7 anni. La somministrazione richiede un setting adeguato, una cornice spazio-temporale per instaurare un'empatia, che faciliti la somministrazione del questionario. La patologia acuisce le problematiche tipiche delle diverse età. In quasi tutti i pazienti l'apparente mancanza di consapevolezza corrisponde ad una misura difensiva.

L029**ARTETERAPIA: ESPERIENZA IN UN CENTRO DI ONCOLOGIA PEDIATRICA**

Camera F, Pinto A, Gallo S, Parlato G, Barbuto C, Orlando R

Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli

Introduzione. Il corpo è il luogo in cui si agitano emozioni, vissuti, conflitti. È il mediatore delle potenzialità comunicative che si esprimono al di là del verbale. Infatti, è proprio utilizzando liberamente il corpo, i suoi gesti, le sue sonorità, le sue produzioni che l'individuo può comunicare le proprie emozioni e gestire l'insieme di esperienze identificative e introiettive che caratterizzano la sua personalità. La malattia oncologica rappresenta un grave attacco al corpo reale e fantasmatico, che rende inascoltabili i segnali inviati, non più traducibili ed integrabili all'interno della strutturazione della per-

sonalità. L'arteterapia (AT) che ha nel corpo il suo ambito elettivo di intervento allarga lo spazio di comunicazione e permette di riprendere e modificare la qualità dei messaggi e il canale utilizzato.

Obiettivi e metodi. Nel Dipartimento viene utilizzata l'AT nelle sue molteplici forme, musicoterapia attiva analitica, danzaterapia, laboratori di manipolazione, con la strutturazione di spazi espressivo-comunicativi rivolti a gruppi di bambini e adolescenti. Il progetto ha un duplice obiettivo diagnostico e terapeutico: il 1° finalizzato all'esplorazione dell'universo corporeo emozionale del bambino e la sua recettività, il 2° alla mobilitazione dell'energia creativa, la stimolazione della partecipazione e della comunicazione riorganizzando l'accettazione di sé e del corpo. *Conclusioni.* Aprire il bambino oncologico ad una reale consapevolezza del proprio corpo, sviluppare nei sanitari la capacità di lettura dei messaggi comunicativi espressi attraverso il corpo proprio e dell'altro, permette di ampliare gli spazi di accoglienza di bisogni e desideri, ridefinendo la malattia alla luce del suo vissuto corporeo. L'esperienza ha mostrato come principale risultato una partecipazione costante ed impegnata, non sempre ottenibile con altri mezzi terapeutici, specialmente in adolescenza. L'AT può svolgere, quindi, un ruolo facilitatore aprendo la strada ad interventi classici psicoterapeutici. Sicuramente interessante sul piano della valutazione psicologica è stata l'analisi delle dinamiche messe in atto e in particolare il gioco delle relazioni e la possibilità di contattare le nuclearità emotive più profonde.

L030**REFLESSIONI SU UNA PROCEDURA PSICOLOGICA: COMUNICAZIONE DELLA DIAGNOSI AL BAMBINO LEUCEMICO**

Pinto A, Camera F, Barbuto C, Orlando R, Gallo S, Parlato G

Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli

Introduzione. La leucemia è una di quelle quelle patologie oncologiche che per la *silenziosità* dei sintomi d'insorgenza non è percepita dal paziente come una malattia grave, tanto che non è infrequente riscontrare nei bambini rifiuto per il ricovero, difficoltà di accettazione delle terapie, forte irascibilità e diffidenza. L'equipe di psicologi del Dipartimento, nell'intento di favorire l'accettazione della malattia ed il processo di cura, ha elaborato una specifica procedura d'informazione sulla malattia, cercando di coniugare il metodo con la prassi scientifica ed il linguaggio più in voga tra i bambini (PC) con la verifica dei risultati.

Metodi e scopi. È stato ideato un percorso strutturato e interattivo con il quale è stato illustrato al paziente, mediante il software di grafica *paint* il sistema circolatorio ed il suo funzionamento, la malattia, l'utilità di esami e terapie, l'importanza della profilassi. Nell'illustrare tutto ciò è stato chiesto ai bambini d'interagire, attraverso l'utilizzo di alcune funzioni grafiche, chiedendo in seguito allo stesso d'indicare il gradimento. Tale procedura, proposta nel biennio 2005/06 a tutti i bambini tra 5 e 12 anni affetti da Leucemie, è stata sottoposta in anteprima ai genitori, dopo la comunicazione della diagnosi medica e dopo averne raccolto il consenso.

Risultati e conclusioni. Sono stati riscontrati i seguenti indicatori di efficacia: il 70% dei genitori dopo aver visionato la procedura ha subito dato il consenso ritenendo anche utile per se stessi la metodologia come un momento di ulteriore chiarificazione delle informazioni mediche. In specialmodo i bambini nella fase del pensiero operatorio, tra 5/9 anni, hanno mostra-

to un buon livello di attenzione e di comprensione, specie se per la prima volta avvicinavano il programma di grafica. In seguito è stato osservato un miglioramento della compliance per il 35% dei casi, là dove era stato rilevato un rifiuto per le medicine ed una difficoltà a parlare della propria malattia. In alcuni casi gli stessi bambini, hanno utilizzato questo approccio per parlare della loro malattia ai fratelli.

L031

VERIFICA DELL'EFFICACIA DELLE PROCEDURE PSICOLOGICHE ATTIVATE CON PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIE

Pinto A, Camera F, Barbuto C, Orlando R, Gallo S, Parlato G

Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli

Introduzione. L'intervento psicologico, un tempo respinto dalle famiglie per la grande aspettativa riposta nel farmaco, è entrato in scena solo quando l'intero mondo scientifico si è reso conto che di tumore si può morire emotivamente anche quando si continua a vivere. Ciò ha orientato gli psicologi del Dipartimento verso l'elaborazione di percorsi standardizzati tesi a coniugare la prassi medico-scientifica con l'assessment psicologico, i bisogni emotivi del paziente con i tempi e le criticità imposte dalla malattia.

Scopi e Obiettivi. Nel convincimento che l'aiuto funzioni meglio se integrato, immediato e continuativo, l'équipe di psico-oncologi, insediatasi nel 2000 ha attivato modalità d'intervento accresciutasi di vari e articolati segmenti che nel tempo hanno dato luogo all'elaborazione di specifiche procedure d'intervento, ripetibili e confrontabili sia in termini quantitativi che qualitativi.

Metodi e Scopi. In sintonia con quanto indicato dalle linee guida SIPO e sulla base dell'esperienza maturata sul campo, sono state identificate le fasi critiche che vanno dalla diagnosi alla conclusione del ciclo terapeutico, quindi è stato predisposto, per tutti i pazienti leucemici, un protocollo in cui sono stati scanditi timing, strumenti, strategie attraverso la stesura di procedure d'intervento.

Risultati e Conclusioni. Attraverso le procedure psicologiche attivate *Accoglienza, supporto alla comunicazione della diagnosi ai genitori, supporto alla comunicazione della malattia ai bambini, referito psicodiagnostico e piano d'intervento integrato, preparazione al trapianto, intervento psico-sociale* abbiamo ottenuto i seguenti risultati.

- Miglioramento della compliance, con riduzione del 20 % del rifiuto delle terapie
- Riduzione del 40% dell'intervento su crisi in camera sterile;
- Incremento di accessi ai laboratori di arteterapia del 60% del numero dei bambini;
- Implementazione delle richieste di counseling per i fratelli dei pazienti;
- Incremento del 60% delle richieste d'intervento psicosociale.

L032

ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGHERANS IN UN PAZIENTE PEDIATRICO AFFETTO DA SINDROME TROMBOCITOPENIA-ASSENZA DEL RADIO

Cecinati V, Santoro N, Grassi M, De Leonardi F, Arcamone G, Caponio M, De Mattia D, Giordano P

Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Università degli Studi di Bari

La sindrome trombocitopenia-assenza del radio (TAR) è

una rara condizione clinica, caratterizzata da trombocitopenia ipomegacariocitica e aplasia bilaterale del radio con entrambi i pollici. L'espressione clinica della TAR è variabile e comprende cardiopatie congenite, bassa statura, anomalie scheletriche, renali ed ematologiche. La TAR è considerata una malattia a trasmissione autosomica recessiva; alcuni autori hanno suggerito una ereditarietà autosomica dominante con penetranza variabile; in un recente lavoro è stata evidenziata un'associazione tra TAR e delezione della regione cromosomica 1q21.1. È descritta l'associazione clinica tra TAR e leucemia, in particolare leucemia mieloide acuta. Riportiamo il caso di un bambino di undici anni affetto da TAR con diagnosi di istiocitosi a cellule di Langherans all'età di nove anni. Il bambino è stato seguito presso il nostro centro, sin dai primi mesi di vita, per la trombocitopenia. Il paziente presentava anche stenosi aortica corretta con intervento cardiocirurgico secondo Ross. A nove anni il paziente ha presentato lipotimia associata ad afasia; gli esami TC cranio ed RM encefalo evidenziavano la presenza di due lesioni osteolitiche del cranio. L'esame istologico deponeva per istiocitosi a cellule di Langherans. Il paziente è stato arruolato nel protocollo AIEOP LCH III che prevedeva la somministrazione di prednisone (40 mg/m²/die per os) e vinblastina (6 mg/m²/a settimana e.v.). Dopo la prima fase di terapia le lesioni apparivano ridotte di dimensioni pertanto il paziente proseguiva il trattamento secondo il braccio *better continuation therapy*. Dopo quattro mesi il paziente ha presentato una recidiva ed è stato sottoposto nuovamente alla fase iniziale del protocollo; al termine di questo trattamento le lesioni osteolitiche erano ancora presenti e pertanto il paziente è stato considerato chemioterapia dipendente. Attualmente il paziente è sottoposto ad un protocollo personalizzato con somministrazione di Metotrexate (20 mg/m²/una volta a settimana per os) e 6-mercaptopurina (50 mg/m²/die per os). Riportiamo il primo caso pediatrico descritto in letteratura di associazione clinica tra TAR e istiocitosi a cellule di Langherans.

L033

L'ANORESSIA NEGLI ADOLESCENTI CON TUMORE: DESCRIZIONE DI UN CASO

Giuliano M, De Benedetta G, Abate V, Ruggiero C, Di Pinto D, Fusco C, Pota E, Oreste M, Savarese R, Casale F.

Servizio di Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli

Introduzione. Nei pazienti oncologici il rifiuto del cibo si manifesta con modalità eterogenee senza necessariamente configurare un quadro psicopatologico e cioè fasi anoressiche associate a progressione della malattia e/o a terminalità o anoressia transitoria legata a fasi di *criticità*, fisica e psichica, durante il decorso della malattia o conseguenza del suo trattamento. Tali evenienze non rientrano nell'area della psicopatologia che si configura, invece, nel momento in cui il non alimentarsi diventa un comportamento stabile, sostenuto da idee psicotiche.

Caso clinico. Si tratta di un'adolescente di 15 anni (S.B.), affetta da osteosarcoma che alla diagnosi si presentava come una ragazza carina e curata, attenta alla linea ma senza eccessi. Inizialmente l'appetito era scarso e poteva essere correlato alla neoplasia e/o alla terapia. Il rifiuto definitivo del cibo si è evidenziato nella fase peri-operatoria (protesi femorale) ma sottovalutato dai genitori. Tale problematica è emersa quando un ciclo di chemioterapia è stato rinviato per denutrizione. Si è resa pertanto indispensabile una psicoterapia sull'intero

nucleo familiare, per intervenire sia a livello intrapsichico che relazionale. L'intervento psicoterapeutico è risultato, però, difficile per la poca disponibilità dei genitori a partecipare agli incontri per cui è stata utilizzata, non riuscendo la famiglia ad usufruire dell'aiuto offerto, l'adolescente stessa come elemento trainante. Il potere assoluto di B sui familiari e la sua volontà ad iniziare una psicoterapia sono risultati fondamentali per ottenere la partecipazione anche dei genitori. Attualmente la paziente continua la chemioterapia alimentandosi regolarmente.

Commento. Creare un'alleanza con la paziente, e di conseguenza con la famiglia, è stato possibile in quanto l'intervento psicologico è avvenuto all'interno di una relazione significativa precedentemente costruita. Riteniamo però necessaria la prosecuzione della psicoterapia attribuendo l'anoressia di B. a fattori indipendenti dalla malattia oncologica, anche se da questa probabilmente slatentizzati e potenziati. La segnalazione ci sembra importante in quanto i primi segnali di una anoressia, in adolescenti con cancro, potrebbero essere sotto-stimati dallo stato di emergenza creato dalla neoplasia.

L034

UMANIZZAZIONE DEL RICOVERO E MUSICOTERAPIA IN ONCOLOGIA PEDIATRICA

Casale F, De Benedetta G, Ruggiero C, Di Pinto D, Di Martino M, Affinita MC, Oreste M, Savarese R, Giuliano M, Abate V

Servizio di Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli

Introduzione. I bambini ed adolescenti, affetti da patologie oncologiche, vivono i ricoveri ospedalieri con disagio e malessere per cui è necessario, al fine di rendere meno brusco l'impatto con la realtà *non familiare* dell'ospedale e più piacevole la degenza, promuovere attività ludiche e di animazione. La continuità con la scuola, il gioco, e il disegno aiutano i bambini a non focalizzarsi solo sulla malattia, a stimolare la creatività e favorire l'espressione delle emozioni.

Obiettivi. In questa ottica, nel Servizio di Oncologia Pediatrica della Seconda Università di Napoli (SUN) è stato accolto il *progetto Benone*, progetto regionale di educazione alla musica e socio-animazione rivolto ai bambini e alle bambine lungodegenti nei reparti di pediatria oncologica della Regione Campania. Il *dottor Benone*, da cui il progetto prende nome, è un pupazzo a grandezza naturale, a forma di leone, che offre di sé un'immagine giocosa ma al tempo stesso rassicurante e protettiva che propone ai bambini attività di socio-animazione. Il progetto prevede l'attivazione di moduli operativi di due giorni a settimana, di tre ore ciascuno, per un totale di venticinque settimane. Tra gli obiettivi c'è quello di far sperimentare i potenziali espressivi, comunicativi ed educativi della musica. La relazione musicale, pur partendo dalla proposta del musicista, si sviluppa come in una conversazione tra pari, due o più persone che condividono un momento musicale, non una musica *per* la persona ma *della* persona. Bambini e genitori diventano musicisti improvvisati e la pratica musicale condivisa diventa un'esperienza di relativo benessere che offre conforto ed agisce come cassa di risonanza per le emozioni vissute.

Commento. Per una cura globale del bambino sono rilevanti i ruoli di tutti gli operatori, medici, infermieri, psicologi, volontari e musicisti in modo da offrire una continuità alle parti sane del paziente durante tutto l'iter terapeutico e favorire una possibile integrazione e compromesso evolutivo con la malattia.

L035

LA NUOVA SFIDA NELLA PRESCRIZIONE DEI FARMACI IN ONCOLOGIA PEDIATRICA

Paolucci P,¹ Cano C,¹ Cioni V,¹ Zini A,¹ Iolascon A,² Catapano M,³ Ceci A³

¹U.O. di Ematologia e Oncologia Pediatrica, Policlinico, Modena; ²CEINGE-Biotecnologie Avanzate, Napoli; ³CVBF-Consorzio per le Valutazioni Biologiche e Farmacologiche, Pavia

La cura del cancro in età evolutiva inizia negli anni '60, con farmaci come vincristina, metotrexate, purinetolo, arricchendosi poi con sostanze sviluppate per l'adulto: oggi, il 75 % dei bambini con cancro all'esordio può conseguire la guarigione. Benchè i pediatri oncologi siano esperti nell'anticipare gli effetti collaterali della chemioterapia, esistono pochi studi formali di farmacologia in pediatria, perchè le industrie non hanno sponsorizzato trials clinici pediatrici per la registrazione dei farmaci nè per dimostrarne l'efficacia contro specifici tumori del bambino, creandosi così un'area *orfana* di innovazione. In Europa viene stimato che oltre l'80 % dei farmaci attualmente impiegati non possiedono informazioni circa l'impiego pediatrico nella licenza di prodotto e sono pertanto impiegati come *off-label*. Ne è derivata una tendenziale sottostima di alcuni aspetti importanti, anche sul piano etico, primo fra tutti il problema della tossicità dei trattamenti effettuati, a breve e a lungo termine, e l'attenzione dei pediatri oncologi si è concentrata più sull'efficacia dei trattamenti, piuttosto che sulla sicurezza e su una adeguata farmacovigilanza. Dall'analisi dei trials clinici più significativi e della letteratura scientifica, seppure validabili secondo i criteri Cochrane, si può concludere che tali studi sono adeguati per dimostrare l'efficacia delle terapie attuate, rimanendo irrisolti numerosi aspetti inerenti la sicurezza dei farmaci impiegati in oncologia pediatrica. Pertanto, esiste un'indiscutibile esigenza di investigare nell'età evolutiva la farmacocinetica e la farmacodinamica, la dose in base alle fasce di età pediatrica, le formulazioni per i bambini, nonchè la tossicità precoce e a lungo termine, per un'adeguata valutazione del profilo del beneficio-rischio nei trattamenti *off-label* dei tumori di neonati, bambini e adolescenti.

Dati di letteratura suggeriscono che i soggetti guariti da tumore curato in età pediatrica hanno un maggiore rischio di eventi sanitari avversi che possono interferire sulla qualità di vita, donde la necessità di acquisire le necessarie informazioni, farmacologiche, cliniche e farmacogenetiche, dallo studio specifico dei farmaci impiegati in questi soggetti, al fine di potere attivare adeguati programmi di prevenzione secondaria nei soggetti guariti, oltre che a favorire il disegno di nuove strategie terapeutiche che, a parità di effetto antitumorale, possano ridurre gli effetti a distanza.

Indice degli autori

- Abate V 67, 68
 Abdelrazik H 15
 Accordi B 19, 36
 Acerno S 1
 Acquaviva A 54, 55
 Addari MC 18
 Affinita MC 4, 22, 56, 68
 Aglietta M 14
 Aglio V 7
 Agostini C 47
 Aiuti A 42
 Alaggio R 55, 58
 Alba L 37
 Albino D 3
 Altomare M 60
 Amendola A 40
 Amendola G 32, 38, 63
 Amendolara M 32
 Andolfo I 1, 11
 Andreacchio A 51
 Angelini P 3, 4
 Anselmino A 17
 Arcamone G 30, 60, 67
 Arcamone P 3
 Argenton F 25
 Argioli F 18
 Aricò M 7, 24, 27, 29, 31, 33, 36, 46, 52, 57, 58, 64
 Armenio L 60
 Aschero S 11
 Astolfi A 28
 Avanzini MA 45, 49
 Axia G 21, 40
 Azzalli M 44

 Bacci F 64
 Bacigalupo A 49
 Badiali M 18
 Baffelli R 50
 Bagnasco F 11, 49
 Baldassarre G 32
 Balice-Gordon R 25
 Balistreri A 55
 Balsamo F 24, 46
 Balter R 1
 Barbino A 59
 Barbuto C 44, 66, 67
 Barisone E 24, 27, 28
 Baronci C 24
 Barone A 2
 Barra S 12
 Bartram CR 19
 Basilico R 64
 Basso D 20
 Basso E 11

 Basso G 9, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 36
 Battaglia MF 4
 Battaglia M 58
 Bergami E 14
 Berger M 14, 41
 Bernardi S 26
 Bernardo ME 14, 49
 Bernini G 4, 55
 Berta M 51, 52, 58
 Berta S 50
 Bertacca G 12
 Bertacca L 51, 59
 Bertin D 5, 58
 Berto P 20
 Bertolini P 12, 30
 Bertorello N 28
 Bertuna G 54
 Biagi E 22
 Bianchi M 2, 3, 58
 Biassoni V 1, 8
 Bicciato S 20
 Biondi A 19, 20, 22, 23, 24, 25, 27
 Biondi S 51, 59
 Bisogno G 4, 9, 58
 Boccacci s 42, 56
 Boetti T 37
 Boffi P 52
 Bolda F 50
 Boldini R 9
 Bollini S 45
 Bomarzo A 55
 Bombardieri E 8
 Bonassi S 3
 Bonetti F 14
 Bonichini S 21
 Bonvini P 29
 Borgna C 37
 Borgna-Pignatti C 44
 Bornstein MH 40
 Bosi A 50
 Bossi G 45
 Bosticardo M 42
 Bottino D 23, 61
 Brach Del Prever A 51, 52
 Brescia L 60, 61
 Bruno G 31
 Brusati m 42, 56, 62
 Buffardi S 29
 Bulleri M 26
 Bungaro S 20
 Burlando O 34, 49
 Burnelli R 12, 30
 Byrne J 41

 Caffi L 43
 Calafiore L 11, 59
 Caliogna L 14
 Calò A 15

 Calore E 15
 Cama A 1, 11, 12
 Camera F 44, 66, 67
 Camerin C 9
 Campo Dell'Orto M 20, 26, 36
 Cannella S 31, 36
 Cano C 68
 Capello F 40
 Caponio M 67
 Capra V 11
 Caprino D 66
 Carbone E 17
 Carciotto T 53
 Cardinale F 45
 Carella A 60
 Caridi G 34, 35
 Carli M 15, 21, 39, 40, 45, 47, 55, 58
 Carraro F 2
 Carsetti R 45
 Carugi A 54
 Caruso R 26
 Casale F 4, 10, 22, 24, 27, 48, 56, 67, 68
 Casazza G 51, 59
 Caselli D 24, 46, 57, 64
 Casotti V 43
 Castellano A 3, 6, 7, 16, 43
 Catapano M 68
 Cavagnini s 42, 52, 56
 Cavalleri L 3, 43
 Cavallo L 60
 Cavazzana A 3, 12
 Caviglia I 41
 Cazzaniga G 19, 20
 Cecchetto G 4, 9
 Cecere F 48
 Ceci A 68
 Cecinati V 60, 61, 67
 Cellini M 29
 Cereda C 58
 Cesaro S 15, 46, 47
 Chen HL 9
 Chesler M 41
 Chiarelli F 62
 Chiesa R 42
 Chini L 45
 Chiriaco D 4, 55
 Ciliberti A 34, 36
 Cinalli G 1, 11, 12
 Cioni V 68
 Cipollaro M 10
 Cipollina MD 32, 37
 Citarella S 38
 Citterio M 27, 62
 Coccoli L 12, 59
 Coco S 3, 11
 Codazzi D 43
 Cognizzoli P 65
 Col M 22

- Colaizzo D 34
Coletti V 63
Colledan M 3
Collini P 13
Colombini A 62
Cometa AM 41, 49
Comunanza V 17
Congiu R 36
Consarino R 30
Consolini R 45, 47
Conte M 3, 4, 9, 59
Conter V 19, 24, 27, 29, 30, 31, 62
Conti G 53
Corcione A 34, 49
Cordero di Montezemolo L 5, 28, 32
Cornelli P 3, 43
Cornelli Pe 42
Corradini R 9
Corrias A 51
Corti A 42, 56
Cossu F 42
Costantino V 38
Cozza R 6, 7, 16, 55
Cozzi DA 10, 55, 57
Cozzi F 10, 57
Crescenzo N 5, 32, 64
Crisci S 10, 22, 56
Cucciola V 38
Cugno C 14
Cusanelli E 1
Cuzzubbo D 54
- D'Angelo P 9
D'Ambrosio G 10, 55
D'Amico E 64
D'Amico S 54
d'Amore ES 29
D'Angelo P 2, 3, 7, 30, 57, 64
D'Angelo V 10, 22, 56
D'Angiò GJ 41
D'Angiò M 40
D'Arcangelo L 48
D'Ippolito C 56, 62
D'Urzo G 32, 63
Daidone MA 49
Dallorso S 16, 41
Dama E 46
Damico C 63
Danise P 32, 63
De Benedetta G 67, 68
De Bernardi B 3, 4, 11
De Carolis G 51
De Coppi P 45
De Falco G 54
De Fazio C 16
De Fazio R 17
de Fazio V 59
De Filippi C 58
- De Fusco C 31
De Grandis E 4
De Ioris MA 6, 7, 16
De Laurentis C 6, 7, 16
De Laurentis T 9
de Leonardis F 60, 61, 67
de Martiis d 42, 52
De Mattia D 42, 60, 61, 67
De Rossi G 27
De Santis R 29, 34, 36
De Sio L 6, 7, 16
De Vellis A 40
De Vito L 38
Deidda A 18
Del Vecchio GC 60, 61
Del Vecchio L 1
Delattre O 1
Della Ragione F 38
Delvecchio M 60, 61
Demartis FR 36
Desogus MF 36
Destro R 39
Devito R 6, 55
Di Cataldo A 2, 3, 54, 55
Di Cesare A 14
Di Cesare S 45
Di Concilio R 32, 63
Di Cristofano C 3
Di Cuonzo F 60
Di Duca M 16
Di Feo A 38
Di Martino D 15, 16
Di Martino M 4, 56, 68
Di Marzio A 62, 64
Di Marzio D 62
Di Palma A 63
Di Pinto D 22, 38, 67, 68
Di Quirico D 26
Di Tullio MT 23, 25
Dini G 15, 16, 34, 35
Donfrancesco A 4, 6, 7, 16, 43, 55, 58
Doria A 5, 32
Dorotea 39
Draghici E 42
Dufour C 24, 34, 35, 40, 49
Dupré L 42
- Ekema G 56
Emanueli T 41
Espina V 19
- Fabbri G 19, 27
Facchetti F 56
Facchinetti F 13
Fagioli F 2, 14, 17, 23, 25, 30, 41, 58
Falorio S 64
Fandi A 5
Fappani L 42, 52
- Faraci M 15, 16
Farinasso L 28
Farruggia P 33, 57, 64
Fatteth S 1
Favara Scacco C 41, 49, 53
Favre C 1, 2, 12, 26, 30, 51, 59
Federici S 2
Felix CA 25
Femiano P 48
Ferrara M 56
Ferraro M 38
Ferrero GB 32
Ferrero I 14, 17
Ferretti E 34, 49
Fidani P 6, 7, 16, 43
Finocchiaro G 13
Fiori B 26
Fioritoni G 48, 62, 64
Flohr T 19
Foà R 40
Foco M 4
Foglia C 43
Foglia L 5, 32, 35
Forino C 52
Formica S 28
Forni M 1, 11, 13
Fossati-Bellani F 2
Francesco M 22, 56
Franzoni M 28
Frascella E 23, 25
Frediani S 57
Funari D 26
Funaro D 63
Fusco C 10, 22, 67
Fusco M 48
- Gabelli M 39
Gadner H 19
Galanello R 32, 36, 37
Galderisi U 10
Galeone L 1
Galletto C 28, 58
Gallo S 44, 66, 67
Galy A 42
Gambini C 2, 3, 11
Gammaitoni L 14
Gandola L 1, 2, 8, 12
Gandolfo C 4
Garaci E 19
Garaventa A 4, 11, 29, 30, 58, 59
Garbarini L 35
Gargiulo E 22, 56
Garré ML 11, 12, 55
Garré ML 1
Garzia L 1
Gaspar HB 50
Gasparini P 13
Gazzola MV 39

- Genitori L 1, 13
 Germano G 25
 Giangaspero F 1, 12, 13
 Giannelli R 26
 Gibson F 41
 Giliani s 42, 52
 Giona F 40
 Giordano A 54
 Giordano P 60, 61, 67
 Giorgiani G 14
 Giraldi E 3, 30, 43
 Giuliano M 3, 10, 29, 48, 56, 67, 68
 Giuliano MG 3
 Grada C 58
 Grandone E 34
 Grassi M 60, 61, 67
 Grassi V 42, 56
 Graziani S 45
 Griffiths GM 31
 Grigoli A 7, 24, 33, 46, 57, 64
 Grisafi D 45
 Grotto P 30
 Gunetti M 14, 17

 Hadjistilianou T 55
 Hanau G 11
 Haupt R 3, 11, 12, 41, 59

 Iannacchino M 16
 Iannelli A 12
 Ilari I 6, 9, 16, 43
 Ilaria I 7
 Indolfi P 2, 4, 9, 10, 22, 55, 56
 Ingrosso A 4, 55
 Inserra A 7, 9
 Iolascon A 1, 7, 11, 68
 Iori AP 49
 Italia S 49

 Jankovic M 41, 42, 62
 Jenkner A 7, 16, 43

 Koehler R 19
 Kohlmann A 26
 Konrad M 19

 La Barba G 48, 62, 64
 La Rocca M 45
 La Spina M 12, 53
 Ladogana S 30, 34, 36, 42
 Lanciotti M 34, 35, 49
 Lanfranchi A 50
 Lanino E 15, 16, 59
 Lanza T 33, 34, 35
 Lazzareschi I 42
 Leszl A 20, 23
 Levrero P 40
 Li R 26

 Liberati P 4
 Libri V 9
 Licciardello M 23, 54
 Linari A 51, 58
 Liotta LA 19
 Lippi A 29, 49
 Lisini D 14
 Liu W 26
 Livadiotti S 26
 Livio A 13
 Lo Curto M 9
 Lo Nigro L 20, 23, 24, 25, 27, 29, 61
 Locasciulli A 49
 Locatelli F 14, 23, 24, 25, 27, 38, 49, 53
 Locci M 42
 Loffredo P 42
 Lombardi A 26, 29
 Longo F 37
 Longo L 11
 Longoni D 49
 Luciani M 23, 25, 63
 Luzzi A 54

 Macaluso A 7, 57, 64
 Maccario R 14, 49
 Madon E 2, 11
 Magro E 39
 Mainardi C 30
 Manara E 27
 Mancardi M 4
 Manetta T 17
 Maniaci G 46
 Mantovani A 22
 Marangoni F 42
 Marangoni P 45
 Marconi M 45
 Mareschi K 17
 Marinello S 46, 47
 Marino N 1
 Marrone A 1
 Marson P 15
 Martinetti A 8
 Martini AM 26
 Martini N 20
 Martino S 45, 47
 Martinuzzi A 58
 Martone A 2
 Maruzzi M 34, 36
 Marzollo R 47, 56, 62
 Mascarin M 1, 30
 Masera G 19, 24, 27, 41, 62
 Maserati E 24
 Masetti R 25
 Massaglia P 41
 Massimino M 1, 8, 12, 13
 Massimo L 41
 Massucco G 66
 Mazza C 42

 Mazzolari E 42, 43, 52
 Melchionda F 2, 28
 Mele E 57
 Melone M 10
 Menconi M 51, 59
 Meniconi M 51
 Menna G 23, 25, 48
 Mereu M 64
 Mereuta OM 2
 Messina C 15, 24, 27, 39
 Micalizzi C 23, 24, 25, 27, 31, 41
 Micheli S 65
 Midena E 55
 Migliavacca M 22
 Miglionico L 2, 34, 36
 Migliorati R 1
 Milanaccio C 12
 Milani G 19
 Mina T 14
 Minervini M 34
 Mirabile E 23, 61
 Misuraca A 49
 Modena P 13
 Modena PG 1
 Mohn A 62
 Moleti ML 40
 Montagna D 14
 Montini E 14
 Morali L 3, 43
 Morana G 4
 Moratto d 42
 Morello W 30
 Morerio C 24
 Moretta A 14, 49
 Moretti S 3
 Morreale G 15, 16, 59
 Morterra G 17
 Moschese V 45, 47
 Munda S 23
 Muraro M 2
 Murra R 29
 Mussolin L 29, 30

 Naldini L 42
 Nantron M 2
 Nardi M 12, 29, 59
 Nardo D 19
 Navas L 1
 Nobile C 63
 Nobili B 32, 38
 Nosari N 63
 Notarangelo LD 31, 42, 43, 52
 Novara F 49
 Nozza P 1, 11, 12

 Oliva A 38
 Onnis A 54
 Onofrillo D 48

- Opocher E 58
 Oreste M 67, 68
 Origa R 32
 Orlando R 66, 67
 Orlando S 44
 Orlotti N 7
 Orofino MG 18
 Orzan E 44
- Paganin M 19, 27
 Pagano M 51, 52, 58
 Pallotti F 8
 Palumbo G 40
 Panarello C 24
 Panaroni C 42
 Panchision DM 9
 Pansini V 26, 63
 Panzarella V 14
 Panzer-Grumayer R 19
 Paolucci P 68
 Parasole R 24, 27
 Parlato G 44, 66, 67
 Parodi E 28, 35
 Pascarella C 22, 56
 Pasquali F 24, 50
 Passaro I 38
 Pastore G 41, 46
 Pastore M 34, 36
 Pedrazzini A 65
 Pedretti S 44
 Pegoiani E 52
 Peloso A 52
 Penazzato M 47
 Pende D 31
 Penn A 41
 Peretta P 1, 51
 Peri G 22
 Perilongo G 1, 12, 58
 Perla G 34
 Perotti D 2
 Perrotta A 38
 Perrotta S 32, 38
 Perseu L 32, 36
 Pessagno A 4
 Pession A 2, 4, 9, 20, 23, 24, 25, 27, 28, 30, 46, 47, 48, 55
 Pessolano R 6, 7, 16
 Petricoin III EF 19
 Petris MG 55
 Pezzolo A 11
 Piacibello W 14
 Piastra M 53
 Piccoli M 45
 Pierani P 4, 30
 Pietrini D 53
 Pietrogrande MC 47
 Piga A 37
 Pigazzi M 27
- Piglione M 29, 58
 Pignata C 45
 Pigullo S 34, 35, 49
 Pillon M 15, 21, 29, 30, 40, 49
 Pinelli D 3
 Pinto A 44, 66, 67
 Pistoia V 11, 49
 Pistollato F 9
 Pistorio L 53
 Piva L 2, 4, 9
 Plebani A 45, 47
 Poggi G 1
 Poggi V 48
 Polato K 19, 27
 Poli A 23, 61
 Pontrelli G 26
 Porretti L 33
 Porta F 42, 50, 56, 62
 Porta G 50
 Portaleone D 65
 Postini A 51, 52, 58
 Pota E 10, 22, 67
 Pozzobon M 45
 Prete A 3
 Priolo G 55
 Provenzi M 2, 3, 43
 Pucci A 2
 Pulini S 48, 62, 64
 Purgato S 9
 Putnik D 40
 Putti C 23, 25, 31, 45, 47
 Puxeddu E 18
- Quarello P 35
 Quinti I 47
- Rabusin M 42
 Radice P 2
 Rambaldi A 43
 Ramenghi U 35, 49, 64
 Rapella A 24
 Raso A 11
 Ravasio E 3, 43
 Rea M 40
 Reaman G 41
 Reibaldi A 55
 Renga D 28, 35
 Ricotti E 5
 Rigosa C 50
 Risso M 35
 Rivetti E 28, 35
 Rizzari C 23, 24, 25, 27, 30, 62
 Rizzo A 2
 Rizzo GF 18
 Robinson BW 25
 Roggero S 37
 Roma C 1
 Romano M 6, 10, 22
- Romanzo A 6
 Roncarolo Mg 42
 Rondelli R 25, 27, 46, 47
 Ronzoni L 38
 Rosolen A 29, 30, 58
 Rossi C 32
 Rossi F 38
 Rossi L 47
 Rossi MR 22, 62
 Rossi P 45
 Ruggeri M 43
 Ruggiero C 67, 68
 Russo D 33, 46, 57
 Russo E 58
 Russo LA 63
 Russo M 22, 56
 Rustichelli D 14, 17
- Sacchetti C 28
 Saglio F 5, 28, 35
 Sainati L 58
 Sala A 29
 Salsa L 64
 Salutari P 48
 Salvo I 53
 Samperi P 23
 Sandri A 1, 11, 55
 Sandri S 12
 Sanna MA 18
 Santamaria G 35
 Santoro A 31, 36
 Santoro B 51
 Santoro N 2, 23, 24, 25, 27, 29, 60, 61, 67
 Sanzo M 1
 Saracco P 28
 Sardi I 1
 Sartori F 58
 Satta S 32, 37
 Sau A 48, 62, 64
 Savarese R 56, 67, 68
 Scalzulli P 34
 Scaramuzza S 42
 Scarpa M 45
 Scarsello G 55
 Scarso L 15, 41
 Scaruffi P 3
 Scarzello G 1, 12
 Schiavetti A 4, 10, 55, 57
 Schrappe M 19
 Schrauder A 19
 Schumacher RF 56, 62
 Scoccianti S 1
 Scommegna S 42
 Scrimin S 40
 Scudieri AC 38
 Serafini G 53
 Serra A 6, 16, 43

- Serrafero Bovini MP 41
Serravalle S 9
Shiha K 42, 56
Siano M 4, 10, 56
Silengo M 32
Silvestri D 22, 24, 27
Siracusa F 9
Solero CL 1
Sollaino MC 36
Song Y 25
Soresina A 42, 45, 47
Soresina R 56, 62
Sozzi G 1, 13
Spadaro G 47
Spagnol L 10, 57
Sperli D 30
Spinelli M 19, 62
Spinetta JJ 41
Spinosa E 48
Spirito A 34, 36
Spreafico F 1, 2, 4, 8, 9
Squillaro T 10
Stanulla M 19
Stoppa F 53
Striani M 48
Stroppa P 3
Sutton R 19
Svahn J 34, 35, 49
- Taddeo I 15
Tamaro P 2, 9
Tamburrini A 3
Taormina C 24, 46
Taroni F 65
- Tassano E 24
Te Kronnie G 19, 20, 26, 36
Terenziani M 2, 9
Terranova MP 15, 16
Tesse R 60
Testi AM 23, 24, 25, 27, 40
Tettoni K 2, 3, 30, 56
Timeus F 5, 14, 32
Todisco N 63
Tomanin R 45
Tomei G 40
Tonelli R 9
Tonini G 7
Tonini GP 3, 11
Tornesello A 53
Torre G 3, 43
Tortori A 9
Tosi P 54
Toti P 54, 55
Totonelli G 10, 55
Tovo PA 5
Tremolada M 21
Trentin L 26, 36
Tridello G 15, 29, 30, 46, 47
Trifari S 42
Trizzino A 7, 24, 31, 33, 36, 45, 46, 57, 64
Trizzino N 47
Tropia S 7, 33, 46, 57, 64
Truini M 3
Tumino M 61
Turin I 14
- Ugazio AG 47
- Vadalà P 6
Vairo D 52
Valetto A 16
Vallero S 35
Valsecchi MG 19, 24, 27, 41
van Der Velden V 19
Van Dongen JJM 19
Van Lint MT 34, 49
Varotto S 15, 21, 29
Veerman AJP 41
Veneselli E 4
Vielmi V 42
Villa A 42
Villa G 11
Villa R 49
Viscardi E 3, 58
Vitale A 48
- Zaffaroni N 49
Zanazzo G 3, 29
Zanesco L 30, 39, 45
Zangrande A 20
Zangrando A 26, 36
Zanola S 56, 62
Zecca M 14, 23, 24, 25, 27, 30, 45
Ziino O 46, 57
Zimmermann M 19
Zin A 58
Zini A 68
Zollo EM 1
Zollo M 7, 11
Zorzi G 53
Zuffardi O 49