

Le mille facce della leucemia



Assunta Tornesello*, Maria Giuliano**, Angela Mastronuzzi***

* Oncoematologia Pediatrica P.O. Vito Fazzi Lecce, Clinica Pediatrica Università Cattolica Sacro Cuore Roma;

** Pediatra di Famiglia Napoli; *** Oncoematologia Pediatrica Ospedale Pediatrico Bambin Gesù Roma

Le leucemie acute comprendono un gruppo eterogeneo di malattie che hanno in comune la natura clonale e l'origine dalla cellula staminale emopoietica. Rappresentano la neoplasia più frequente dell'età pediatrica ma soprattutto, nelle mille sfaccettature, le leucemie testimoniano i progressi registrati in oncologia pediatrica negli ultimi vent'anni: le migliorate conoscenze della biologia

delle cellule neoplastiche e le basi della medicina di precisione; l'importanza della stratificazione dei pazienti per consentire di intensificare la terapia nelle forme a più alto rischio e ridurre il carico delle terapie nelle forme a più basso rischio; la suscettibilità genetica all'insorgenza di neoplasie; le molteplici possibilità del trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche.

È la neoplasia più frequente dell'età pediatrica

La leucemia acuta rappresenta il 30% di tutte le neoplasie nell'età compresa tra 0 e 14 anni e la sua incidenza subisce un incremento annuale dello 0,9%. La forma più frequente è la leucemia linfoblastica acuta (51%), mentre la leucemia mieloide acuta rappresenta il 25% dei tumori che colpiscono l'età pediatrica. Il rischio di contrarre la leucemia nella fascia di età tra 0 e 14 anni è pari allo 0,79‰. L'andamento dell'incidenza per età è quello delle leucemie linfoblastiche acute con un picco nella classe di età tra 1 e 4 anni. Il trend di sopravvivenza cumulativa a 5, 10 e 15 anni è pari a 86%, 85% e 83% rispettivamente (Figura 1). Se consideriamo la fascia di età compresa tra 15 e 19 anni allora la leucemia acuta rappresenta solo l'11% delle neoplasie. La sopravvivenza cumulativa a 5 anni è diversa a seconda del tipo di leucemia e dell'età alla diagnosi. La prognosi peggiore si osserva nel primo anno di vita (57%), mentre la migliore per la fascia di età alla diagnosi compresa tra 1 e 4 anni (91%). Le altre fasce di età hanno sopravvivenze intermedie che peggiorano con l'aumentare dell'età alla diagnosi (5-9 anni alla diagnosi: 85%; 10-14 anni: 80%; 15-19 anni: 72%).

Il trend di sopravvivenza è tuttavia in crescita e raggiunge, per i casi diagnosticati più recentemente, sopravvivenze a 5, 10 e 15 anni pari a 85%, 84% e 82% rispettivamente, valutate con la stima di periodo per una finestra di osservazione dal 2003 al 2008.

È una malattia genetica

Negli ultimi 20 anni è stato elaborato un modello darwiniano di storia naturale della leucemia infantile. Studi effettuati su spot di Guthrie e su cellule cordonali hanno permesso di tracciare l'origine prenatale della leucemia. Molto suggestiva è la teoria dell'origine fetale della leucemia elaborata da Greaves: il modello delle due 'lesioni', una prenatale che genera il clone pre-leucemico e una postnatale. Un'anomala risposta immune a comuni infezioni postnatali potrebbe costituire la causa di un secondo danno genetico e innescare quindi l'avvio della leucemogenesi. Sono stati studiati numerosi fattori ambien-

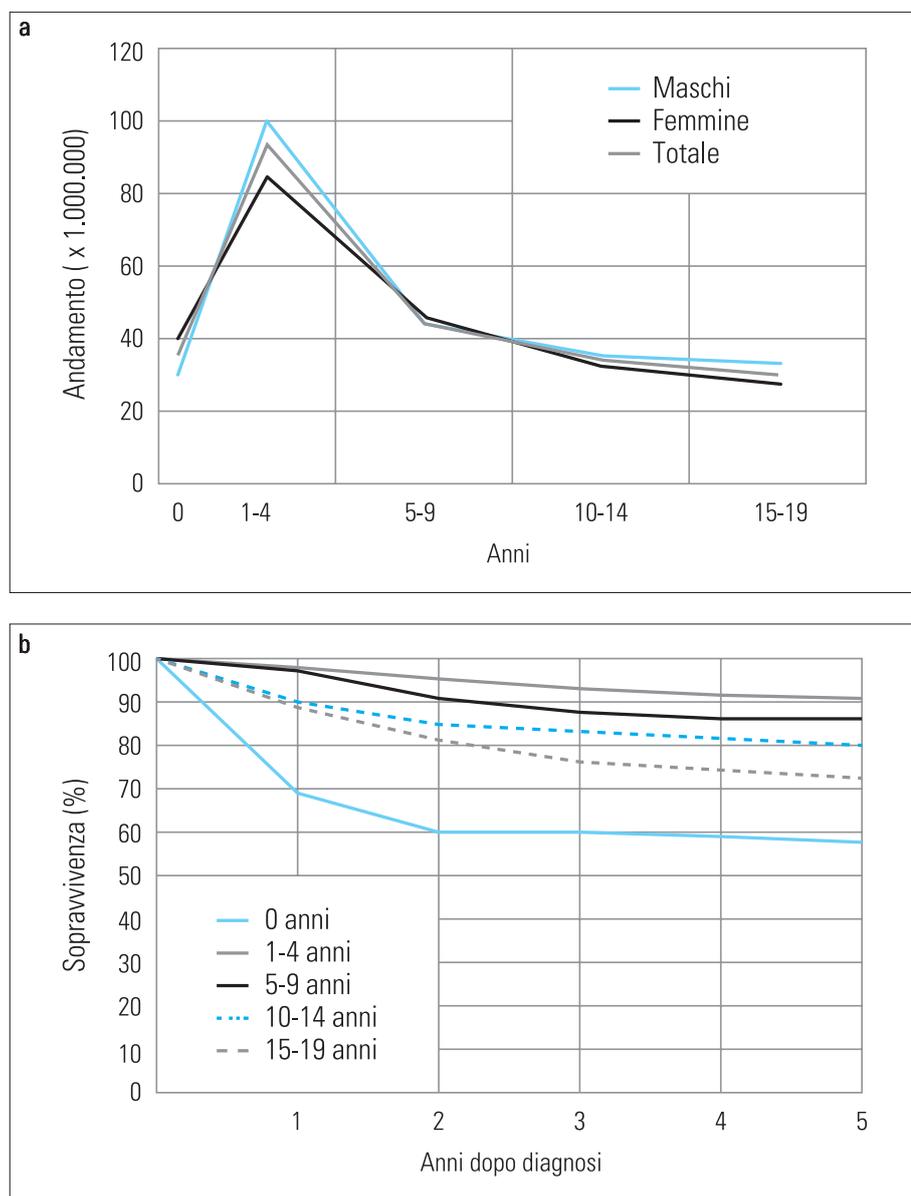


Figura 1. (a) Andamento dell'incidenza delle leucemie linfatiche acute in relazione all'età e al sesso e (b) sopravvivenza cumulativa a 5 anni dalla diagnosi in relazione all'età (dati AIRTUM 2012).

tali, anche se con pochi dati significativi. La conclusione è che è giusto adottare principi di precauzione volti a prevenire l'esposizione dei bambini a sostanze potenzialmente cancerogene come il fumo passivo di tabacco e i gas di scarico di motori diesel o benzina.

La leucemia è una malattia genetica: nella maggior parte dei casi è identificabile un'anomalia genetica e circa il 50% di queste anomalie sono ricorrenti (Figura 2). Inoltre alcune anomalie genetiche sono importanti come fattori prognostici e sono quindi considerate fondamentali per la classificazione e l'identificazione dei gruppi di rischio.

Non ci sono fattori genetici costituzionali significativamente associati a un incrementato rischio di leucemia acuta, a eccezione della trisomia 21: questi bambini hanno infatti un rischio 15 volte superiore di sviluppare la leucemia rispetto alla popolazione generale.

È una malattia estremamente eterogenea

La leucemia acuta è una patologia clonale della cellula staminale emopoietica. La trasformazione neoplastica può interessare la cellula staminale totipotente o le cellule già commissionate in senso linfoide (leucemia linfoblastica acuta – LLA), mieloide (leucemia mieloide acuta – LMA) (Tabella 1), più raramente linfoide e mieloide (leucemia bifenotipica). In età pediatrica le leucemie più frequenti sono le forme acute, mentre le forme croniche sono estremamente rare.

Le LLA, inizialmente differenziate in tre forme morfologiche in relazione alle caratteristiche nucleari e/o citoplasmatiche, sono attualmente caratterizzate in funzione dei marcatori immunologici di superficie e citoplasmatici. La trasformazione leucemica e l'espansione clonale possono infatti avvenire in qualsiasi fase del processo di differenziazione e maturazione dei linfociti B e T e, grazie all'uso di anticorpi monoclonali e allo sviluppo di nuove tecniche di citofluorimetria, è possibile classificare le LLA in base al grado di differenziazione del clone neoplastico.

Allo stesso modo le LMA sono distinte con il criterio morfologico e citofluorimetrico in 8 differenti forme in relazione allo stadio maturativo della cellula mieloide colpita. Merita particolare menzione una forma di LMA definita promielocitica: questa forma di leucemia si caratterizza per una buona prognosi rispetto alle altre forme mieloidi, per la tendenza a manifestarsi all'esordio con quadri imponenti di coagulazione intravascolare disseminata e per la presenza, nella maggior parte dei casi, di una traslocazione che coinvolge il recettore dell'acido retinoico. L'attivazione costitutiva del recettore dell'acido retinoico rende questa malattia sus-

scettibile di trattamento con l'acido retinoico tutto trans, il quale agisce come agente differenziante. Questa opzione ha aperto la strada a un possibile trattamento, che, per la prima volta in campo oncologico, non prevede l'utilizzo di chemioterapia: in forme selezionate e a basso rischio, infatti, è possibile trattare i pazienti con una combinazione di farmaci che non prevede citostatici classici.

Ogni forma di leucemia si caratterizza a sua volta per particolari alterazioni citogenetiche che possono coinvolgere sia il numero dei cromosomi (ploidia) sia riarrangiamenti strutturali: sebbene in alcuni casi non siano evidenziabili alterazioni citogenetiche con le tecniche attualmente disponibili, verosimilmente con il progresso della biologia molecolare saremo in grado di caratterizzare ogni clone neoplastico.

Una classificazione così complessa e articolata delle leucemie si traduce in pratica nella definizione di gruppi a rischio, importanti per la prognosi e per la scelta terapeutica.

In definitiva la lettura di una diagnosi di leucemia comprenderà il tipo (LLA o LMA), la cellula di origine, la morfologia, l'immunofenotipo, le caratteristiche citogenetiche, il gruppo di rischio.

Sebbene la leucemia sia una malattia clonale della cellula staminale emopoietica e quindi una patologia primitiva del midollo osseo, bisogna ricordare che esiste una condizione peculiare rappresentata dal sarcoma mieloide: questo è una forma particolare di LMA che si manifesta con localizzazione d'organo, generalmente l'osso, talvolta in assenza di un coinvolgimento midollare. In questi casi, l'assenza di una localizzazione midollare non deve trarre in inganno, trattandosi sempre di una forma leucemica e come tale deve essere trattata.

Segni e sintomi di allarme

I sintomi clinici e/o i rilievi semeiologici che talvolta possono o devono rappresentare un segnale di allarme, o almeno di sospetto di emopatia per il pediatra, sono diversi e spesso aspecifici.

È importante pertanto tentare di far chiarezza sulle situazioni in cui il pediatra può, ragionevolmente, tranquillizzare i genitori o quando è invece opportuno avviare accertamenti ematologici e/o strumentali e consultare il centro di onco-ematologia pediatrica più vicino.

I principali disturbi riferiti dai genitori che possono suggerire al pediatra una emopatia

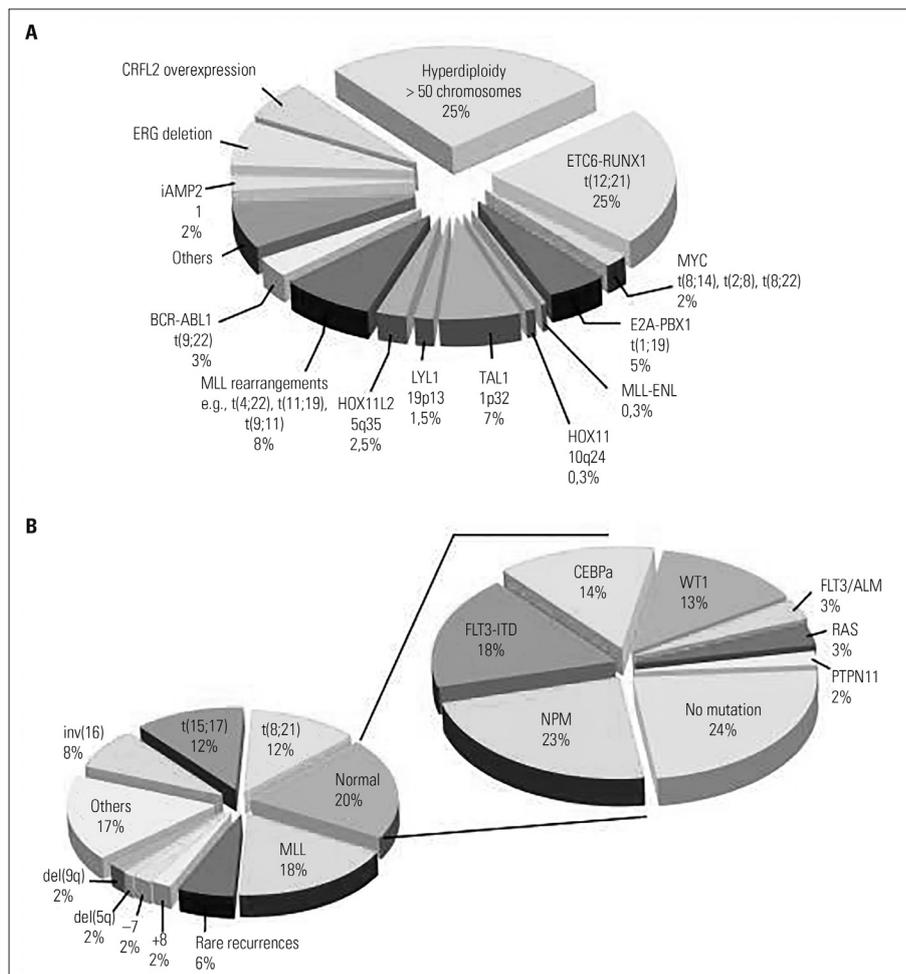


Figura 2 Frequenza stimata delle alterazioni genetiche nelle leucemie acute in età pediatrica: leucemie linfatiche acute (A) e mieloidi acute (B). (Pui, 2011).

TABELLA 1 Classificazione FAB delle leucemie acute

Leucemia Mieloide Acuta	
M ₀	Mieloide minimamente differenziata
M ₁	Mieloblastica senza maturazione
M ₂	Mieloblastica con maturazione
M ₃	Promielocitica tipica
M ₄	Mielomonoblastica
M ₅	Monoblastica
M ₆	Eritroblastica
M ₇	Megacarioblastica
Leucemia Linfoblastica Acuta	
L ₁	Piccoli blasti e con scarso citoplasma
L ₂	Blasti più grandi, di dimensioni variabili
L ₃	Blasti di grande dimensione e con citoplasma intenso

maligna sono rappresentati da: febbre, dolori ossei, pallore e stanchezza, addome globoso (Tabella 2).

Febbre: costituisce sicuramente il più frequente sintomo di consultazione del pediatra, ma anche il più frequente sintomo di esordio della leucemia (50-60% dei casi). Sebbene nella maggior parte dei casi la febbre sia legata a episodi banali e transitori, le bandierine rosse sono rappresentate dalla durata dell'episodio febbrile, dalla difficoltà a stabilire una chiara sede d'infezione, dopo aver effettuato le opportune indagini ematologiche e strumentali, dall'assenza di risposta alla terapia antibiotica impiegata o dalla comparsa successiva di un corteo sintomatologico fortemente sospetto per emopatia (es. petecchie e/o ecchimosi, linfadenopatia, epatomegalia o splenomegalia, masse addominali).

Dolori ossei: in oncologia il dolore, quale sintomo di esordio di una neoplasia, è quasi sempre da riferire a un dolore osseo. La prima distinzione necessaria va posta tra dolore osseo localizzato e dolori ossei diffusi e/o migranti. Nella prima evenienza la persistenza nel tempo, una limitazione nei movimenti, una tumefazione delle parti molli sovrastanti o l'associazione con febbre de-

vono sempre indurre all'esecuzione di esami radiografici e a un controllo ortopedico. È importante non sopravvalutare un trauma nella valutazione anamnestica. Nel caso invece di dolori diffusi è importante escludere una patologia reumatica, valutare con attenzione l'eventuale associazione con altri sintomi sistemici (febbre, epato-splenomegalia, linfadenomegalia, manifestazioni emorragiche a carico della cute e/o delle mucose) che devono indurre a richiedere con urgenza esami ematochimici ed eventualmente considerare l'esecuzione di un mieloaspirato. I dolori ossei diffusi, a causa dell'infiltrazione del periostio, delle ossa, delle articolazioni o dell'espansione dello spazio midollare da parte delle cellule leucemiche, costituiscono nel 33-50% dei casi il sintomo di esordio di una leucemia. Cosa sicuramente da NON FARE è la prescrizione di un trattamento cortisonico senza una certezza diagnostica: il cortisone infatti è un trattamento fondamentale della leucemia acuta e potrebbe quindi mascherare il quadro di esordio, ritardare la diagnosi, indurre resistenza nei blasti.

Pallore e astenia: una mamma su due si lamenta con il pediatra di pallore e inappetenza. Sono dei sintomi molto frequenti,

sicuramente bandierine rosse quando perdurano nel tempo e si accompagnano ad astenia (soprattutto se questa viene riferita durante il gioco) e/o alla presenza di manifestazioni emorragiche (petecchie, ecchimosi ecc.).

Linfadenopatie: l'aumento di dimensioni di uno o più linfonodi periferici costituisce un reperto molto frequente in età pediatrica. La risposta del tessuto linfatico ai diversi stimoli antigenici in questo periodo della vita è particolarmente vivace ed è caratterizzata da una notevole variabilità soggettiva. La quasi totalità dei bambini tra i 2 e i 12 anni di età presenta linfonodi palpabili in sede latero-cervicale, inguinale o ascellare in relazione a processi infettivi o a piccoli traumi o escoriazioni. Pertanto nella maggior parte dei casi una linfadenomegalia è secondaria a processi infettivi (nel 52% circa dei casi), o è aspecifica (23-33% dei casi). In una piccola percentuale di casi (12-23%), invece, una linfadenomegalia può rappresentare il sintomo di esordio di una patologia neoplastica maligna. Essenzialmente tre sono i parametri che possono costituire il criterio d'interessamento "patologico" di uno o più linfonodi: la sede, le dimensioni e la semiologia. Relativamente alle dimensioni ogni linfonodo > 2 cm è meritevole di attenzione, anche se linfonodi di dimensioni più piccole ma in sedi sospette devono rappresentare un allarme. Le sedi definite sospette sono rappresentate dalle regioni sovraclaveare, epitrocleare, poplitea e preauricolare. Anche la semiologia può dare un ulteriore aiuto nell'indirizzare il clinico verso una maggiore attenzione. La rivalutazione clinica periodica del paziente deve mirare al rilievo di eventuali modifiche delle caratteristiche del linfonodo riguardo a forma, consistenza e mobilità. Sicuramente un progressivo aumento della consistenza del linfonodo, la presenza di margini bozzuti, senza segni di flogosi, e una maggiore fissità ai piani sottostanti devono destare maggiore preoccupazione e attenzione rispetto a una linfadenomegalia che presenta evidenti segni di flogosi e di iniziale colliquazione. Anche la persistenza nel tempo di linfadenomegalie di dimensioni superiori o uguali a 2 cm in sedi sospette, senza una diagnosi eziologica di certezza, per un periodo superiore alle 2-4 settimane, deve indurre un approfondimento diagnostico con eventuale biopsia linfonodale. Segno sicuro di allarme è rappresentato dall'associazione con epato-splenomegalia, masse addominali, pallore, sintomatologia respiratoria, dolori ossei diffusi e manifestazioni emorragiche. Di qui l'importanza, anche in presenza di una linfadenomegalia localizzata, di un attento e completo esame obiettivo. È fondamentale infatti un'atten-

TABELLA 2 Sintomatologia clinica all'esordio delle leucemie acute

Sintomo o segno	LLA (%)	LMA (%)
Pallore	55	25
Perdita di peso	13	22
Stanchezza	50	19
Anoressia	33	22
Febbre	61	34
Manifestazioni emorragiche	48	18
Dolori osteoarticolari	23	18
Dolori addominali	19	13
Adenopatia	50	14
Splenomegalia	63	>50
Epatosplenomegalia	68	>50

ta valutazione delle caratteristiche presenti all'esordio e delle eventuali modifiche di tali caratteristiche osservate nel tempo. In questo caso sarà opportuno effettuare una consulenza presso un onco-ematologo pediatrico per concordare l'integrazione con indagini di II livello quali un mieloaspirato o una biopsia linfonodale diagnostica.

Masse addominali: una leucemia acuta in età pediatrica può caratterizzarsi anche per la presenza di una massa addominale legata all'infiltrazione dei parenchimi addominali e/o dei linfonodi addominali da parte dei blasti leucemici. L'epato-splenomegalia è la manifestazione d'esordio in più del 60% dei casi. Nella diagnosi differenziale bisogna considerare forme particolari come la sindrome da attivazione macrofagica o un quadro di mononucleosi infettiva.

Masse mediastiniche: molti tumori benigni e maligni possono avere come sede primitiva il torace e il mediastino rappresenta il sito di maggior frequenza. Nel 50% dei casi si tratta di lesioni benigne e il reperto è casuale, ma nel restante 50% dei casi può trattarsi di neoplasie maligne. Talvolta sono associate a segni d'interessamento respiratorio quali tosse, respiro corto, superficiale, dispnea, o a sindrome da compressione mediastinica. In quest'ultima evenienza diventa importante valutare la sede della massa (mediastino anteriore, medio o posteriore) e l'età del paziente. L'esclusione di un'eventuale causa infettiva deve indurre all'esecuzione di indagini strumentali, anche invasive, se necessario, nell'ottica di ottenere una diagnosi di certezza. Le leucemie linfoblastiche acute a cellule T spesso all'esordio si manifestano con una massa mediastinica.

Masse extranodali nel sottocutaneo: alcune forme di LMA possono manifestarsi con lesioni cutanee fino a veri e propri noduli dolenti più o meno diffusi sulla superficie corporea, fino ad arrivare, soprattutto in alcuni casi di leucemia congenita, a una condizione nota come *leukemia cutis* che entra in diagnosi differenziale con le altre cause di *blueberry muffin syndrome*.

Alterazioni del cavo orale: un attento esame obiettivo di un bambino non può prescindere dalla ispezione della cavità orale. Localizzazioni tonsillari, sebbene più tipiche di alcune forme di linfoma come il linfoma di Burkitt, possono manifestarsi nelle leucemie. Le leucemie mieloidi, inoltre, in alcune forme, possono dare localizzazioni gengivali imponenti.

Tumefazione dei testicoli: nei bambini di sesso maschile un incremento volumetrico di uno o entrambi i testicoli potrebbe far sospettare una neoplasia primitiva testicolare (generalmente un unico testicolo interessato) o una localizzazione di malattia leucemica.

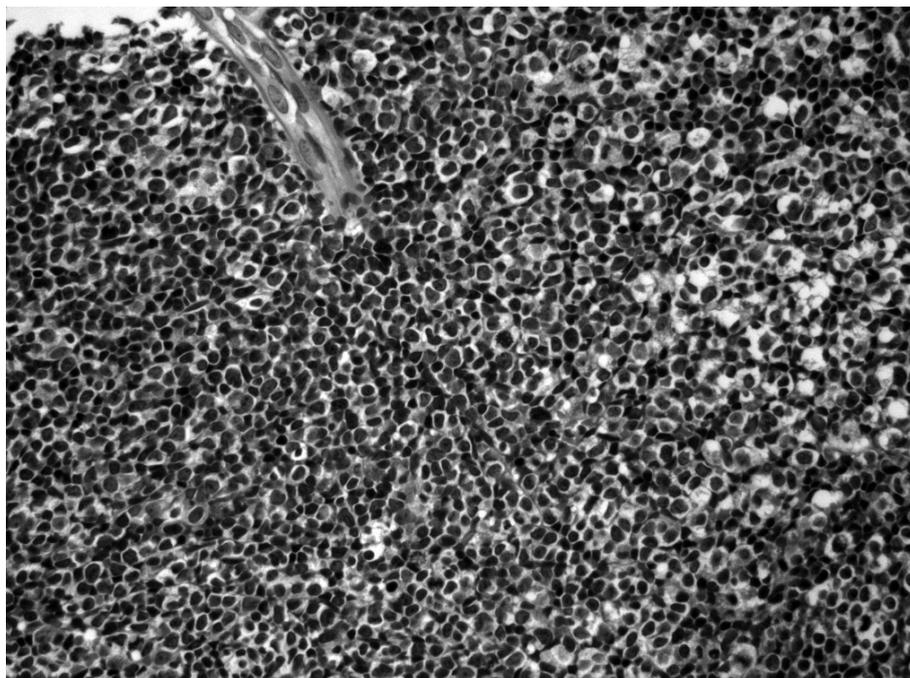


Figura 3. Biopsia osteo-midollare. La normale cellularità midollare è completamente sostituita da cellule blastiche di tipo linfoide, caratterizzate da un grande nucleo con evidenti nucleoli e scarso citoplasma.

Ha una fase diagnostica articolata

L'esame di primo livello nel sospetto di leucemia acuta è l'emocromo, meglio se completato dall'esame dello striscio periferico. Una citopenia mono o plurilineare è spesso presente alla diagnosi: l'anemia, le alterazioni della conta e/o della formula leucocitaria e la piastrinopenia sono spesso coesistenti e dovute alla sostituzione degli elementi cellulari midollari normali da parte dei blasti leucemici. Tuttavia l'esame dirimente per la diagnosi di una leucemia è l'agoaspirato midollare: talvolta l'infiltrazione blastica midollare alla diagnosi è talmente importante da rendere difficoltoso il prelievo. In caso di *punctio sicca* è necessario effettuare più agoaspirati oppure eseguire una biopsia osteo-midollare.

I rilevanti progressi terapeutici ottenuti nella cura delle leucemie acute sono principalmente dovuti alle conoscenze biologiche che hanno permesso da un lato una migliore stratificazione dei pazienti, dall'altro l'identificazione di target suscettibili di trattamenti mirati. Lo standard diagnostico attuale prevede necessariamente, accanto alla valutazione della morfologia, quella dell'immunofenotipo, della citogenetica classica e della biologia molecolare.

L'esame morfologico del midollo osseo costituisce ancora oggi il cardine della diagnostica delle leucemie. Ha il vantaggio di essere rapido e poco costoso. La presenza di una popolazione cellulare monomorfa, le caratteristiche del nucleo e del citoplasma delle cellule, l'eventuale presenza di corpi di Auer nel citoplasma delle cellule, permettono non solo di formulare una diagnosi di

leucemia acuta ma anche di caratterizzare la malattia dal punto di vista fenotipico (Figura 3).

La citometria a flusso è attualmente la metodica più accurata per identificare e contare le cellule leucemiche: è relativamente poco costosa, rapida, sensibile e specifica, ma operatore-dipendente.

La citogenetica classica ma soprattutto le tecniche molecolari come la RT-PCR e la FISH permettono di identificare i prodotti di fusione derivanti dalle più frequenti traslocazioni o eventuali perdite o accumulo di materiale genetico in specifiche regioni del genoma.

La nuova frontiera della diagnostica molecolare delle leucemie si basa sulla possibilità di miniaturizzare l'analisi di espressione dei geni attraverso i microarray. Questa tecnica consente di analizzare l'espressione di migliaia di geni simultaneamente. Allo stato attuale non è ancora possibile distinguere tra ciò che è veramente necessario per la diagnosi e l'approccio terapeutico e ciò che è destinato a rimanere nell'ambito della ricerca. Sicuramente si avvicina il momento in cui gli array di espressione entreranno nella pratica quotidiana insieme alla morfologia e alla citometria di flusso per un più sofisticato approccio diagnostico delle leucemie.

La terapia è stratificata sul rischio

Lo straordinario sforzo dei gruppi cooperativi nazionali e internazionali ha consentito di aumentare considerevolmente le conoscenze biologiche della leucemia e conseguentemente di stratificare più adeguatamente i pazienti: nella LLA gli studi

collaborativi che si sono succeduti nell'arco di 35 anni hanno consentito di portare i tassi di sopravvivenza da poco più del 10 all'80%.

Una corretta stratificazione dei pazienti assume un ruolo fondamentale nel trattamento della leucemia acuta, permettendo quindi di realizzare un trattamento mirato per ogni singolo paziente al fine di aumentare l'efficacia delle terapie ma anche di ridurre la tossicità acuta e tardiva legata ai trattamenti. È infatti esperienza comune rilevare quadri di tossicità tardiva nei giovani adulti che sopravvivono a una neoplasia pediatrica. Un esempio su tutti è rappresentato dalla tossicità cardiaca fino a quadri di cardiomiopatie fatali o che richiedono il trapianto cardiaco a seguito dell'utilizzo di antracicline, farmaci fondamentali nel trattamento della malattia del sistema emolinfopoietico. Trattare i pazienti con un carico di terapia proporzionale all'aggressività biologica della malattia permette di aumentare le percentuali di sopravvivenza e di migliorare significativamente la qualità della vita dei lungo-sopravvissuti. La qualità della vita è un obiettivo primario in patologie curabili e guaribili come le leucemie acute dell'infanzia e dell'età giovane adulta.

Indipendentemente dal tipo di leucemia, il trattamento, basato su una combinazione di farmaci differente sulla base del tipo di leucemia, è adattato al rischio in rapporto alle caratteristiche molecolari e morfologiche della malattia e alla risposta al trattamento valutata soprattutto nelle prime fasi di terapia.

Il concetto dei "santuari"

Esistono delle sedi, denominate santuari, dove un microambiente protettivo determinato dalla presenza di barriere fa sì che le cellule leucemiche vengano protette dalla chemioterapia: il sistema nervoso centrale e il testicolo sono infatti protetti da agenti tossici come i chemioterapici rispettivamente dalla barriera emato-encefalica ed emato-testicolare.

Particolare attenzione quindi deve essere posta alla diagnosi di malattia per identificare localizzazioni in questi organi e sistemi poiché necessitano di terapie mirate. In particolare per il sistema nervoso centrale è attualmente pratica consolidata l'utilizzo di una profilassi in caso di assenza di localizzazioni per evitare che i blasti leucemici si annidino al suo interno. La profilassi si basa sull'utilizzo di farmaci somministrati per via intratecale secondo un timing stabilito dai differenti protocolli e con farmaci differenti in rapporto alla patologia di base. Una opzione terapeutica in casi particolarmente selezionati di malattia a livello del

sistema nervoso centrale o a livello testicolare è rappresentata dalla radioterapia. In taluni casi è necessario curare la malattia testicolare mediante orchietomia.

I moderni protocolli di trattamento permettono una adeguata classificazione delle localizzazioni d'organo e i presidi terapeutici da utilizzare nei differenti casi.

La malattia minima residua

Nella diagnostica di una leucemia la morfologia è fondamentale. L'occhio umano però riesce a distinguere cellule leucemiche in una soglia inferiore al 5% di infiltrato midollare. Un occhio esperto può anche riconoscere una percentuale di blasti compresa tra il 2% e il 5% ma generalmente, soprattutto nella valutazione della risposta al trattamento, è fondamentale andare oltre la sensibilità dell'occhio umano per essere sicuri di aver eradicato il clone neoplastico.

Sebbene la remissione di malattia venga ancora identificata con la sola morfologia, la citofluorimetria permette di recuperare anche i casi in cui persistono cellule leucemiche in percentuale tra l'1% e il 5%.

Questo ancora non è sufficiente per identificare eventuali cellule residue dopo ogni ciclo di terapia. All'esordio di malattia tutte le leucemie vengono studiate per riconoscere delle specifiche alterazioni tipiche della cellula neoplastica. In particolare nelle leucemie linfoblastiche acute, particolari riarrangiamenti delle catene delle immunoglobuline (nelle LLA B) e del TCR (nelle LLA T) ci permettono di seguire la risposta al trattamento identificando anche poche (nell'ordine di 10^4) cellule leucemiche residue che sfuggono alla morfologia e alla citofluorimetria. Questa quota di malattia residua, definita malattia residua minima, riveste un ruolo fondamentale non solo nel monitoraggio al trattamento ma anche nell'identificazione dei pazienti che richiedono una intensificazione delle cure. Di più difficile caratterizzazione è la malattia residua minima nelle leucemie mieloidi acute perché in questi casi è più difficile identificare dei marcatori di superficie come nelle LLA. Nonostante ciò, utilizzando delle tecniche differenti, anche nelle LMA la malattia residua minima è diventata fondamentale nel monitorare la risposta al trattamento e nell'eventuale intensificazione dello stesso.

Le terapie più avanzate: il trapianto di midollo osseo

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) allogenico ha significativamente contribuito a modificare la prognosi di molti pazienti affetti da malattie ema-

tologiche, rappresentando, in alcuni casi, l'unica terapia salvavita e, in altri (come nelle leucemie acute ad alto rischio), la terapia più efficace per ridurre la probabilità di recidiva di malattia nei pazienti che raggiungono una remissione.

Nel corso degli anni si è documentato come l'effetto terapeutico del TCSE allogenico sia attribuibile all'azione dei linfociti appartenenti all'immunità innata o adattiva del donatore; essi contribuiscono in maniera determinante all'eradicazione delle cellule tumorali del ricevente (effetto *Graft versus Leukemia*, GvL) sopravvissute ai trattamenti chemio-radioterapici impiegati nella fase di preparazione al trapianto (regime di condizionamento).

Sebbene l'effetto antileucemico del trapianto di cellule spleniche fosse stato documentato già negli animali negli anni '50, fino alla fine degli anni '60 solo poche decine di trapianti allogenici furono realizzati a causa dell'elevata mortalità per complicanze peritrapiantologiche (sia tossiche legate ai trattamenti, sia immunologiche legate al trapianto), registrata nei primi pazienti trapiantati.

Da allora, numerosissimi sono stati i passi avanti fatti per ridurre la tossicità dei regimi di condizionamento e le complicanze immunologiche legate al trapianto, rappresentate dalla malattia del trapianto contro l'ospite (*Graft versus Host Disease*, GvHD), una condizione in cui le cellule del donatore riconoscono come estranei i tessuti del ricevente.

L'identificazione del complesso maggiore di istocompatibilità (*Human Leukocyte Antigen system*, sistema HLA) e la conseguente possibilità di selezionare donatori identici hanno portato a una notevole riduzione delle reazioni immunomediate trapianto-correlate. L'introduzione della ciclosporina e di altri farmaci immunosoppressori ha permesso un ulteriore miglioramento nella profilassi della GvHD.

La disponibilità di nuovi farmaci antimicrobici, quali antibiotici ad ampio spettro, antivirali e antifungini, ha inoltre permesso di migliorare la profilassi e la terapia delle complicanze infettive legate all'immunodepressione prolungata che si evidenzia nei pazienti trapiantati.

Tutto ciò è associato a nuovi farmaci utilizzati nel regime di condizionamento, dotati al contempo di effetti antitumorali e di capacità immunosoppressiva a fronte di minore tossicità sui tessuti sani.

Numerosi sono i pazienti che necessitano di un TCSE allogenico (Tabella 3). A fronte di questa numerosità non sempre è disponibile un donatore in ambito familiare utilizzabile per la procedura trapiantologica. Per motivi genetici, infatti,

la possibilità di avere un donatore HLA identico in ambito familiare è pari al 25%: uno dei due genitori è fenotipicamente identico ai figli solo nell'1% dei casi.

Circa il 70-75% di coloro che necessitano di un TCSE allogeneo, quindi, non ha a disposizione un donatore HLA compatibile in ambito familiare. Per questo motivo, grazie alla solidarietà, sono stati istituiti i Registri di midollo osseo a partire dai primi anni '70: oggi i Registri, collegati tra loro in rete, annoverano oltre 20.000.000 di potenziali donatori.

I tempi della ricerca di un donatore sono "relativamente" lunghi: dal momento dell'attivazione in media passano circa 3-6 mesi prima dell'identificazione di un donatore compatibile non consanguineo. Questi tempi sono talvolta incompatibili con l'aggressività della patologia leucemica.

Per far fronte a questo nel corso del tempo la ricerca traslazionale ha identificato sorgenti differenti di cellule staminali emopoietiche, oltre che potenziali donatori differenti.

Il processo che porta all'identificazione di un donatore compatibile è spesso lungo e prevede tappe obbligate. L'introduzione di metodiche ad alta risoluzione per gli alleli di classe I e II del sistema HLA permette attualmente di identificare donatori sempre più compatibili con il ricevente. In assenza di un donatore familiare HLA compatibile, è possibile attivare la ricerca di un donatore sui Registri nazionali e internazionali dei donatori di midollo osseo o sulle banche cordonali (sono oltre 600.000 le unità di sangue cordonale crioconservate e caratterizzate sia per quantitativo cellulare sia immunologicamente).

Il sangue cordonale o placentare, fonte alternativa di cellule staminali emopoietiche, presenta una serie di vantaggi come per esempio la pronta disponibilità dell'unità cordonale, essendo questa già 'bankata'. Non esiste il rischio di indisponibilità alla donazione; il sangue cordonale è ricco di cellule staminali emopoietiche; non avendo mai incontrato antigeni è potenzialmente inerte dal punto di vista immunologico, tanto da poter utilizzare unità di sangue cordonale con qualche differenza rispetto al ricevente. L'altra faccia della medaglia è però rappresentata dal fatto che i pazienti che ricevono sangue cordonale allogeneo hanno una ricostituzione ematologica e immunologica più rapida rispetto ai pazienti che ricevono staminali emopoietiche periferiche o midollari. Sebbene ricco di staminali, il sangue cordonale è raccolto in piccole quantità. Pertanto questo tipo di trapianto è più indicato nei bambini di basso peso corporeo, anche se, attualmente, utilizzando algoritmi di se-

lezione delle unità cordonali, è possibile infondere nello stesso ricevente anche due unità differenti.

Tra le attività di ricerca traslazionale, rilevanti sono quelle che hanno portato all'identificazione di tecniche innovative di manipolazione delle cellule e che, oggi, consentono una buona sicurezza ed efficacia anche per TCSE realizzati impiegando un donatore familiare HLA-parzialmente compatibile (**trapianto aploidentico**).

Per donatore aploidentico si intende un donatore che condivide con il ricevente la metà dei geni HLA (i quali, essendo localizzati sul braccio corto del cromosoma 6, vengono ereditati in blocco): questi donatori sono solitamente i genitori, i fratelli o la prole del ricevente. Il trapianto da donatore aploidentico (o donatore familiare HLA-parzialmente compatibile) presenta, rispetto ad altri tipi di trapianto, una serie di vantaggi, tra i quali: l'immediata disponibilità del donatore, salvo casi eccezionali, la possibilità di scelta del miglior donatore tra i familiari disponibili e la possibilità di far ricorso al donatore in caso di necessità di terapie cellulari.

Per motivi immunologici questo tipo di trapianto presenta diverse problematiche che si traducono in un'augmentata incidenza di rigetto e di GvHD. Sono state di conseguenza messe a punto delle tecniche in grado di ottenere una deplezione dei T linfociti dal graft selezionando "positivamente" solo le cellule CD34 positive. La persistenza nel graft di cellule *Natural Killer* (NK) alloreattive consente di mantenere l'effetto immunologico del trapianto contro eventuali cellule maligne residue (GvL).

Il ridotto numero di linfociti T trasferiti con il graft è a sua volta responsabile di una ritardata ricostituzione immunologica che si traduce sul piano clinico in una maggiore vulnerabilità a infezioni e a riattivazioni virali e, in assenza di alloreattività delle cellule NK, in un maggior rischio di recidiva della malattia di base.

Ma a questo punto la ricerca avanza su due importanti filoni di ricerca, rappresentati dal trapianto aploidentico "T-repleto" (in cui il graft non viene T-depletato) e "T-depleto".

Il **trapianto aploidentico T-repleto** è un trapianto da aploidentico eseguito senza una deplezione dei linfociti T, ma implementando le strategie di profilassi della GvHD, agendo sia sul donatore sia sul ricevente. Allo stato attuale, sono stati sviluppati diversi protocolli basati su questa metodica, cui va comunque associata una rilevante immunosoppressione, che comprende la combinazione, oltre che di siero antilinfocitario (ATG), di numerosi farmaci. Per facilitare la ricostituzione immunologica, in questo tipo di trapianto è possibile generare linfociti T del donatore patogeno-specifici (nei confronti dei principali patogeni causa di riattivazione quali citomegalovirus, adenovirus ed EBV e nei confronti dell'aspergillo); utilizzare linfociti T "ingegnerizzati" con geni suicidi (attivabili da farmaci o sostanze inerti nel caso si sviluppi una GvHD non controllabile con le terapie convenzionali) o linfociti T regolatori (al fine di accelerare la ricostituzione immunologica).

A cavallo tra il trapianto T-repleto e quello T-depleto è stata recentemente svi-

TABELLA 3 Indicazioni al trapianto allogeneo di cellule staminali emopoietiche nei pazienti pediatrici (< 18 anni)

STATO DI MALATTIA	INDICAZIONE
Leucemia mieloide acuta	
CR1, basso rischio	N
CR1, rischio intermedio	C
CR1, alto rischio	S
CR2 ⁺	S
Non in remissione	C
Leucemia acuta promielocitica, recidiva	R
Leucemia linfoblastica acuta	
CR1, rischio standard	N
CR1, alto rischio	S
CR2	S
CR3 ⁺	C
Non in remissione	C

(da Majhail NS, 2015)

N = generalmente non indicato; C = evidenze cliniche disponibili; S = trattamento standard; R = trattamento standard, indicazione rara; CR1 = prima risposta completa; CR2 = seconda CR; CR3 = terza CR.

TABELLA 4 Effetti tardivi dopo terapia per leucemia acuta

Effetti tardivi	Agente associato con la tossicità
Alterazioni neurocognitive	Terapia mirata per il sistema nervoso centrale (chemioterapia intratecale, methotrexate ad alte dosi, radioterapia)
Tossicità cardiaca	Antracicline (doxorubicina, daunorubicina)
Alterazioni scheletriche (osteonecrosi, osteoporosi)	Corticosteroidi
Cataratta	Corticosteroidi, radioterapia
Obesità, sindrome metabolica	Corticosteroidi, radioterapia
Bassa statura	Radioterapia (ma è stata osservata anche senza radioterapia)
Danno neuromuscolare	Vincristina, chemioterapia intratecale
Secondo tumore	Radioterapia, agenti alchilanti, epifillotossine

luppata una terza strategia rappresentata dalla **deplezione dei linfociti TcR $\alpha\beta$ /CD19**. Questo approccio si basa sulla sola eliminazione dal graft, delle cellule effettrici della GvHD, ovvero i linfociti T $\alpha\beta$ 2, mantenendo al contempo nell'inoculo altre popolazioni cellulari utili ai fini dell'*outcome* trapiantologico (principalmente cellule NK, linfociti T $\gamma\delta$ 3 e, in misura minore, cellule dendritiche). Dato che tali cellule sono funzionalmente mature, possono espletare il loro effetto immediatamente dopo il trapianto.

Il TCSE allogeneico rappresenta ancora oggi la terapia più efficace per guarire definitivamente pazienti affetti da leucemie ad alto rischio. Parallelamente alla migliore caratterizzazione molecolare delle cellule leucemiche che attualmente permette di attribuire con maggior precisione ogni paziente a una specifica classe di rischio, il numero dei pazienti che possono beneficiare di una procedura trapiantologica aumenta.

La ricerca immunologica traslazionale ha fatto grandi passi avanti non solo nell'offrire l'opzione trapiantologica anche a coloro per i quali non è possibile reperire un donatore compatibile, ma anche nel ridurre significativamente le complicanze trapianto-correlate sia in termini di rischi immunologici (manipolando il graft e/o implementando l'immunosoppressione per ridurre l'incidenza di GvHD, permettendo però al graft di espletare l'effetto GvL, parte integrante del trattamento di una leucemia ad alto rischio), sia in termini di problematiche infettivologiche correlate al trapianto. Tutte queste metodiche, largamente in uso nei più specializzati centri di trapianto di cellule staminali emopoietiche pediatriche, permettono di ottenere analoghi risultati anche e soprattutto in termini di cura della leucemia.

Selezionate sono le indicazioni al TCSE allogeneico di cellule staminali emopoietiche nelle leucemie acute (Tabella 2); attualmente il trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche, invece, è confinato soltanto a casi eccezionali.

Il bilancio tra cure e cure

Il notevole miglioramento della prognosi della leucemia acuta nell'età pediatrica, in particolare per quanto riguarda la LLA, rappresenta sicuramente il più grande successo dell'oncologia pediatrica negli ultimi 50 anni. Tuttavia l'estensione del follow-up oltre 25-30 anni dalla fine delle cure ha messo in evidenza l'altra faccia della medaglia e cioè che circa il 35% dei soggetti fuori terapia possono presentare effetti collaterali tardivi cronici, in particolare complicanze cardiache, alterazioni neurocognitive, disturbi endocrinologici e della fertilità, secondi tumori. In pratica un soggetto sopravvissuto a una leucemia acuta contratta in età pediatrica ha un rischio aumentato rispetto alla popolazione normale di 15 volte di morire per un secondo tumore, di 7 volte per un problema cardiaco, di 2,6 volte per altri motivi medici (Tabella 4). Questi dati sono relativi a una popolazione di lungo-sopravvissuti sottoposti a terapia tra gli anni '70 e '80 e hanno già condizionato l'evoluzione dei protocolli successivi dove è stata applicata maggior attenzione nella scelta dei farmaci e delle dosi da somministrare; per lo stesso motivo la radioterapia è utilizzata solo in casi selezionati. Le modifiche dei protocolli hanno certamente ridotto la frequenza e la severità di molti degli effetti tardivi: rimane tuttavia il rischio di alterazioni neurocognitive, la cardiotoxicità subclinica ma potenzialmente evolutiva e le alterazioni a carico delle articolazioni, come l'osteonecrosi. Strategie quali l'utilizzo di schemi alternativi di somministrazione dei corticosteroidi hanno sicuramente contribuito a limitare gli effetti a lungo termine senza compromettere l'efficacia delle terapie. Così come è incoraggiante l'osservazione che il rischio di secondi tumori è diminuito in relazione al sempre minor utilizzo della radioterapia.

Gli schemi futuri saranno sicuramente guidati da una sempre migliore conoscenza biologica sia della leucemia che dei fattori predisponenti alla tossicità da farmaci e

tragheranno anche la terapia delle leucemie sempre di più verso la medicina di precisione.

Athale UH, Gibson PJ, Bradley NM, et al. Minimal residual disease and childhood leukemia: standard of care recommendations from Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group. *Ped Blood Cancer*; 2016 Feb 23.

AA. VV. I tumori in Italia. Rapporto AIR-TUM 2012. I tumori dei bambini e degli adolescenti. *Epidemiol Prev* 2013;37(1):Suppl. 1.

Conter V, Valsecchi MG, Parasole R, et al. Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the AIEOP ALL 2000 study. *Blood* 2014; 123:1470-8.

Hjorth L, Haupt R, Skinner R, et al. Survivorship after childhood cancer: PanCare: A European network to promote optimal long-term care. *Eur J Cancer* 2015; 51:1203-11.

Hudson MM, Neglia JP, Woods WG, et al. Lesson from the past: opportunities to improve childhood cancer survivors care through outcomes investigations of historical therapeutic approaches for pediatric hematological malignancies. *Ped Blood Cancer* 2012; 58:334-43.

Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* 2015;125:3977-87.

Locatelli F, Pende D, Maccario R, et al. Haploidentical hemopoietic stem cell transplantation for the treatment of high-risk leukemias: how NK cells make the difference. *Clin Immunol*. 2009; 133:171-8.

Majhail NS, Farnia SH, Carpenter PA, et al. Indications for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1863-9.

Pui C, Carroll W, Meshinchi S, et al. Biology, risk stratification and therapy of pediatric acute leukemia: an update. *J Clin Oncol* 2011;29:551-65.

Zwaan CM, Kolb EA, Reinhardt D, et al. Collaborative efforts driving progress in pediatric acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2015;33:2949-62